

Determinantes de la exposición humana a bajas dosis de contaminantes ambientales y sus implicaciones en el desarrollo de enfermedades crónicas asociadas a la obesidad

RUTH ECHEVERRÍA ORELLANA
TESIS DOCTORAL

Director: Juan Pedro Arrebola Moreno

Programa de doctorado en
Medicina Clínica y Salud Pública



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

Determinantes de la exposición humana a bajas dosis
de contaminantes ambientales y sus implicaciones en
el desarrollo de enfermedades crónicas asociadas a
la obesidad

Ruth Echeverría Orellana

Tesis doctoral

Programa de Doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública

Director: **Juan Pedro Arrebola Moreno**



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

Granada, 2022

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales.

Autora: Ruth Echeverría Orellana

Autora portada: Victoria Concepción Echeverría

Junio, 2022

ISBN: 978-84-1117-517-3

URI <https://hdl.handle.net/10481/77162>

Determinantes de la exposición humana a bajas dosis de
contaminantes ambientales y sus implicaciones en el
desarrollo de enfermedades crónicas asociadas a la
obesidad

Memoria que presenta para optar al grado de Doctora dentro del
Programa de Doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública de la
Universidad de Granada, la Licenciada en Física

RUTH ECHEVERRÍA ORELLANA

Dirección:

Juan Pedro Arrebola Moreno

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública
Universidad de Granada

Granada, 2022

Trabajos realizados en el marco de esta Tesis Doctoral

1. Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Iribarne-Durán, L. M., Fiket, Ž., Dolenc, M., Martín-Olmedo, P., Olea, N. & Arrebola, J. P. (2019). Levels and determinants of adipose tissue cadmium concentrations in an adult cohort from southern Spain. *Science of The Total Environment*, 670, 1028-1036. Factor de impacto (IF): 7.963. CiteScore Percentile: 96. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.114>.
2. Salcedo-Bellido, I., Gómez-Peña, C., Pérez-Carrascosa, F. M., Vrhovnik, P., Mustieles, V., Echeverría, R., Fiket, Ž., Pérez-Díaz, C., Barrios-Rodríguez, R., Jiménez-Moleón, J.J. & Arrebola, J. P. (2021). Adipose tissue cadmium concentrations as a potential risk factor for insulin resistance and future type 2 diabetes mellitus in GraMo adult cohort. *Science of The Total Environment*, 780, 146359. IF: 7.963. CiteScore Percentile: 96. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146359>.
3. Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Pérez-Carrascosa, F. M., Gómez-Peña, C., Fiket, Ž., Martín_olmedo, P., Olea, N., Fernández, M.F. & Arrebola, J. P. (2021). Associations of residential and occupational history with the distribution of persistent pollutant mixtures in adipose tissue samples. *Environmental Research*, 194, 110687. IF: 6.498. CiteScore Percentile: 90. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110687>.
4. Echeverría, R., Salcedo-Bellido, I., Pérez-Carrascosa, F.M., Requena, P., Barrios-Rodríguez, R., Ramos, J.J., Olea, N., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Arrebola, J.P. Associations of internal Persistent Organic Pollutant levels with sex hormones: an analysis by sex and menopausal status in a Spanish cohort. (En revisión)
5. Echeverría, R., Pérez-Carrascosa, F.M., Kouiti, M., Requena, P., Rodríguez-Pérez, C., Barrios-Rodríguez, R., Salcedo-Bellido, I., Arrebola, J.P. Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla. Microproyecto UGR.
6. Larrea-Killinger, C., Echeverría, R., Arrebola, J.P., 2020. Contaminantes químicos ambientales y maternidad. El impacto de la información entre profesionales y mujeres embarazadas y lactantes. Asociación Observatorio de la Alimentación (ODELA) de la Universidad de Barcelona.
http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/Informe_encuesta.pdf
7. Arrebola, J.P., Echeverría, R., Larrea-Killinger, C., 2020. Contaminantes químicos ambientales presentes en el día a día. Guía de recomendaciones a mujeres embarazadas y lactantes. Asociación Observatorio de la Alimentación (ODELA) de la Universidad de Barcelona.
http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/ES_guia_emba.pdf

*“Imagination will often carry us to worlds that never were.
But without it we go nowhere”*

Carl Sagan

“Never tell me the odds”

Han Solo

Agradecimientos

Muchos son quienes han hecho mi vida avanzar (y, a veces, retroceder, en apariencia), pero debo reconocerle el mérito del primer impulso hacia mi carrera científica a Carl Sagan, que de niña me inspiró como nadie y me hizo creer que podía llegar a Marte si quería. Con ese sueño todavía en mi corazón, he deambulado entre las matemáticas, la física y la salud, y en el camino, pasando por Granada, han sido varias las personas de las que he aprendido en muchos sentidos: académico, humano, culinario... Inma, mapeando en su pecera; Pilar, con aquellos chai latte en leche (no con leche); Rocío, siempre sonriente y de tan dulce inteligencia; Malak, que me llevó a tomar mi primer té viendo la luna sobre la Alhambra; Paco, riendo y sufriendo desde el principio hasta el final con la tesis que es la vida... Y Helena, con aquellas noches frías de mantita, serie y sopa de fideos. Tengo mucho que agradecer a mis maestros, Ezequiel, Pilar, Esther y Cristina, por todo lo que me han enseñado desde tiempo antes de enrolarme en esta batalla; y, muy especialmente, a Juan Pedro, por darme las armas para pelearla y lo que es más importante: enseñarme a usarlas. Gracias a todos en la UGR por la acogida y por hacerme sentir no tan lejos de casa. Y gracias a los amigos que dejé lejos, porque también han marcado de alguna manera la velocidad y el rumbo de mis pasos.

Reconozco y agradezco el apoyo de mi familia. Mi madre y mi padre, quienes también han sido mis maestros con sus lecciones de supervivencia; y mis hermanos: Luchito, quien despertó mis oídos a la magia de la música, y David, que me dejó cuidar de él (no lo suficiente) y que ha cuidado de mí cuando ha tocado. Gracias a mi tía Liliana, toda bondad, por enseñarme el valor del amor y la tranquilidad cuando más lo necesitaba. A mi tía Chaba, por mostrarme la fuerza sinérgica que tiene la palabra directa acompañada de una sonrisa amable. A mi tío Johnny, que subía conmigo a la noria a pesar de que le aterraba, que me torturaba con la ensalada y que siempre vivirá en un rinconcito de mi alma tocando su guitarra. Y gracias a Pauline por ser lo más suave del mundo y permitirme acariciarla de vez en cuando... con eso compensa todos los cables roídos ;)

Pero a quien de verdad debo todo esto es a mis hijas, porque desde nuestro primer abrazo en el hospital hasta ahora, sois mi energía, mi motor incombustible, mis estrellas perennes en el firmamento, a donde siempre miro para no perderme. Viki y Lidia, gracias por regalarme vuestro amor, vuestras risas y tantas vivencias únicas. Gracias por darme motivos de sobra para vivir y por no dejar que me rinda ni un solo día. Sin vosotras yo, simplemente, no sería.

Dejo para el final al último en llegar, quien me ha mostrado en sus ojos todo lo que hay por delante en mi vida, quien me ha dado el apoyo moral y logístico al final de esta etapa con paciencia y amor infinitos. Hanamis, tortillas, ibones, puyos... Mira que el universo es grande, pero por mucho que buscara, no podría haber encontrado un compañero mejor que tú, Alberto.

*Quédate junto a mí,
haz mi vida durar,
haz que brille tu luna en mi mar...*

Índice

Resumen.....	3
Abstract	7
I. Introducción	11
1.1. Exposición humana a contaminantes ambientales.....	11
1.2. Efectos para la salud relacionados con la obesidad.....	12
1.2.1. Disrupción endocrina	12
1.2.2. Obesidad	13
1.2.3. Síndrome metabólico	14
1.2.4. Diabetes mellitus tipo 2	14
1.3. Información y percepción del riesgo.....	15
1.4. Caracterización de la exposición	16
1.4.1. Metales y metaloides	16
1.4.2. Bifenilos policlorados no similares a dioxinas.....	16
1.4.3. Pesticidas organoclorados.....	17
1.4.4. Sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas.....	17
1.5. Biomonitorización de la exposición humana a contaminantes ambientales.....	17
1.5.1. Medición de contaminantes en tejido adiposo.....	18
1.6. Cohorte GraMo	19
2. Justificación e hipótesis.....	21
3. Objetivos	23
3.1. Objetivo general.....	23
3.2. Objetivos específicos.....	23
4. Metodología	25
4.1. Investigación en el marco de la cohorte GraMo.....	25
4.1.1. Población de estudio: descripción de la cohorte GraMo.....	25
4.1.2. Muestras biológicas y análisis químico	28
4.1.3. Metodología de los trabajos realizados	29
4.2. Información sobre contaminantes ambientales y percepción del riesgo.....	32
4.2.1. Población objetivo.....	33
4.2.3. Metodología de los trabajos realizados para alcanzar el objetivo 4.....	34
4.3. Aspectos éticos.....	37
5. Resultados	39

TRABAJO 1 (Objetivo 1)	41
TRABAJO 2 (Objetivo 3)	61
TRABAJO 3 (Objetivos 1 y 2)	85
TRABAJO 4 (Objetivos 2 y 3)	117
TRABAJO 5 (Objetivo 4)	159
TRABAJO 6 (Objetivo 4)	167
TRABAJO 7 (Objetivo 4)	175
6. Discusión	191
6.1. Exposición a contaminantes ambientales: niveles, determinantes y patrones	191
6.1.1. Exposición a metales y sus mezclas	191
6.1.2. Exposición a PCBs y sus mezclas	193
6.1.3. Exposición a OCPs y sus mezclas	193
6.1.4. Exposición a PFAS	194
6.2. Exposición y enfermedades asociadas con la obesidad	195
6.2.1. Asociación entre exposición a Cd y desarrollo de DM2	195
6.2.2. Alteraciones en hormonas sexuales asociadas a la exposición a PCBs, OCPs y PFAS	196
6.3. Información a la ciudadanía y percepción del riesgo	200
6.3.1. Prioridades para la ciudadanía en general	200
6.3.2. Exposición a contaminantes y maternidad	201
7. Conclusiones	203
8. Bibliografía	205
ANEXO 1	229
ANEXO 2	235
ANEXO 3	239

Resumen

Los contaminantes persistentes se han convertido en un motivo de preocupación real por sus consecuencias en el medio ambiente y en la salud humana. La exposición a bajas dosis de estos compuestos de forma continuada, algo a menudo inevitable dada su ubicuidad, se relaciona con el desarrollo de enfermedades crónicas, entre ellas, la obesidad o la diabetes, que afectan a una fracción creciente de la población desde edades tempranas. Fenómenos como la disrupción endocrina, es decir, la alteración hormonal por acción de sustancias ajenas al organismo, podrían estar detrás de ello, lo que plantea serios problemas al no existir una dosis segura y al tratarse de efectos a largo plazo, e incluso transgeneracionales. Por ese motivo, las autoridades ponen sus esfuerzos en la regulación de este tipo de contaminantes, si bien todavía es necesario profundizar en la caracterización de la exposición y conocer los mecanismos de acción subyacentes.

Esta tesis doctoral se centra en el estudio de los patrones de exposición a mezclas de contaminantes persistentes, familias entre las que se encuentran metales y metaloides, bifenilos policlorados (PCBs), pesticidas organoclorados (OCPs) y sustancias per- y polifluoroalquiladas (PFAS). La cohorte GraMo, sobre la que se ha realizado esta investigación, es una cohorte de 387 participantes adultos reclutados en 2003-2004 en dos hospitales públicos de la provincia de Granada (España). La exposición de cada participante se estimó mediante biomonitorización, analizando los niveles de contaminantes en tejido adiposo o suero, según correspondiera. Además, se obtuvo información sociodemográfica, clínica, de estilo de vida y dieta mediante cuestionarios, y se realizó una revisión de los registros médicos del Servicio Andaluz de Salud.

El objetivo principal de esta tesis es realizar un abordaje integral de la exposición humana a mezclas de contaminantes persistentes mediante una caracterización de los patrones de exposición y determinantes de la misma, y sus posibles implicaciones en el desarrollo de enfermedades crónicas asociadas a la obesidad. Además, el trabajo ha sido complementado con un estudio de la percepción del problema por parte de la población y una difusión del conocimiento científico al público general.

En primer lugar, se procedió al estudio de determinantes y patrones de exposición a 15 contaminantes persistentes que incluían cadmio (Cd) y otros metales/metaloides, PCBs y OCPs cuantificados en muestras de tejido adiposo. El análisis de datos se llevó a cabo mediante regresiones lineales multivariantes para los contaminantes individuales y ajustando por variables como sexo, edad, índice de masa corporal (IMC), hábitos de dieta y consumo de tabaco. También se introdujeron otras variables relacionadas con la ocupación laboral y el lugar de residencia, siendo esta última evaluada de forma adicional utilizando sistemas de información geográfica aplicados a la provincia de Granada. Las mezclas se estudiaron por medio de análisis de componentes principales, lo que resultó en 3 grupos de contaminantes: uno formado por aluminio (Al), arsénico (As), cromo (Cr), níquel (Ni) y plomo (Pb); el segundo, que incluía los OCPs hexaclorobenceno (HCB), β -hexaclorociclohexano (β -HCH), *p,p'*-diclorodifenildicloroetileno (*p,p'*-DDE); y el tercero, con tres congéneres de PCBs: PCB-138, PCB-153 y PCB-180, a lo que se sumaban cadmio (Cd), cobalto (Co) y cromo (Cr). El tabaquismo resultó ser un factor determinante en los niveles de Cd en tejido adiposo, que también se asociaba positivamente con la edad, el sexo femenino o el consumo de huevos, mientras que la asociación con el IMC resultó inversa. El análisis de mezclas de contaminantes persistentes confirmó que existen

diferencias entre los niveles hallados en los participantes y su lugar de residencia y ocupación laboral. Residir en zonas rurales se asoció con niveles bajos de la mezcla de PCBs y metales, mientras que los vecinos de zonas industriales y con tráfico denso mostraron niveles elevados de la mezcla de metales y metaloides. Curiosamente, vivir en zonas rurales se asoció con niveles bajos de OCPs. La vida laboral desarrollada en la agricultura y la industria alimentaria se asoció con niveles elevados de la mezcla de metales y metaloides, pero eran los trabajadores del motor y la industria los que mostraban mayores niveles de la mezcla de OCPs. Las personas que trabajaron en limpieza durante largos periodos, ya fueran profesionales o amas de casa, presentaron niveles menores de la mezcla de PCBs y metales.

En base a las asociaciones encontradas en los primeros trabajos, que sugerían una posible relevancia clínica de los biomarcadores de exposición estudiados, se procedió a investigar la posible asociación de la exposición a Cd con el riesgo padecer resistencia a la insulina y diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Para ello se combinaron dos abordajes: uno transversal, en el que se estudió la relación entre niveles de Cd en tejido adiposo y marcadores de resistencia a la insulina y función de las células β por medio de evaluación de modelo homeostático (HOMA), y otro longitudinal, en el que se investigó la asociación entre niveles de Cd y la incidencia de DM2 y resistencia a la insulina a lo largo de 16 años, para lo que se consultaron los registros médicos de los participantes de la cohorte GraMo para ese periodo y se contó con datos sobre los niveles de glucosa en suero en ayunas, insulina y péptido C en el momento del reclutamiento. Los participantes en el último cuartil de concentraciones de Cd mostraron un incremento no significativo del riesgo de DM2 frente a los del primer cuartil de 1.97 (HR, 95%CI: 0.69,5.66). En fumadores, el resultado era aún más claro (HR:2.19; 95%CI:0.98,4.98). En el segundo tercil los fumadores mostraron un incremento de resistencia a la insulina (beta T2 vs T1: 0.52; 95%CI: 0.07, 0.97), y mayores niveles de insulina tras transformación logarítmica (beta T2 vs T1: 0.52; 95% CI: 0.08, 0.95). De estos resultados se deduce que la exposición a Cd, concretamente en fumadores, puede ser un factor de riesgo para DM2.

Por otro lado, y siguiendo la línea de estudio del potencial disruptor endocrino, se procedió a investigar de forma transversal la relación entre la exposición a mezclas de contaminantes persistentes (PCBs y OCPs medidos en tejido adiposo y PFAS medidos en suero) y los niveles séricos de hormonas sexuales. Los análisis de regresión lineal multivariante permitieron conocer las asociaciones individuales previamente, para después aplicar una técnica de regresión cuantílica ponderada (WQS, por sus siglas en inglés: Weighted Quantile Sum Regression) y así estimar el efecto mezcla de los distintos contaminantes. Los análisis fueron aplicados de forma estratificada por sexos, y entre las mujeres se analizaron por separado premenopáusicas y postmenopáusicas, siempre que el tamaño muestral lo permitió. En mujeres se encontraron asociaciones de concentraciones de PCBs, OCPs y PFAS con niveles reducidos de las hormonas folículo estimulante (FSH), luteinizante (LH) y globulina fijadora de hormonas sexuales (SHBG), así como con aumento de testosterona total. Por el contrario, en los hombres se observó una asociación positiva entre la exposición a mezclas de PCBs y OCPs con los niveles de FSH. Estas alteraciones podrían repercutir negativamente en la salud al relacionarse con problemas como infertilidad, resistencia a la insulina o enfermedad cardiovascular.

Finalmente, en esta tesis se abordó la cuestión de la percepción del riesgo y la difusión de la información sobre contaminantes ambientales a la población. A este respecto y en el marco de dos proyectos diferentes, se diseñaron y realizaron dos estudios de percepción del riesgo a través de dos encuestas online destinadas a conocer el grado de conocimiento y preocupación de los participantes en cuestiones relacionadas con medio ambiente y salud.

La encuesta “Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla” ha contado con 573 respuestas completas realizadas entre julio de 2020 y mayo de 2022, y ha puesto de relieve que los problemas que más preocupan a los vecinos son la limpieza, el ruido y la calidad del aire, mientras que los que más vinculan con su salud son las enfermedades contagiosas, la calidad del aire y la calidad de los alimentos. Los encuestados atribuyeron la mayor parte de la responsabilidad a las autoridades locales y regionales, pero también a los propios vecinos, lo que abre la puerta a acciones basadas en la educación para la mejora del medio ambiente y la propia salud.

La encuesta “Contaminantes químicos ambientales y embarazo”, se realizó en el último trimestre de 2020 y estaba dirigida a mujeres embarazadas/lactantes y profesionales sanitarios. Se trataba de un cuestionario anónimo y breve, de 23 preguntas, en su mayoría cerradas. Las respuestas de los 151 encuestados arrojaron datos preocupantes, como que el 22% de los profesionales no había recibido nunca ninguna información sobre los efectos de los contaminantes ambientales en el embarazo y la lactancia. Pero también ofreció algunos datos esperanzadores, como que el 23% de quienes habían leído una guía anterior sobre el tema se vieron impulsados a modificar sus hábitos en relación a la reducción del uso de plásticos o al aumento del consumo de alimentos ecológicos.

El conocimiento adquirido durante el desarrollo de esta tesis y el estudio “Contaminantes químicos ambientales y embarazo”, dio lugar finalmente a la guía para embarazadas y lactantes “Contaminantes ambientales presentes en el día a día”, que buscaba ser una herramienta informativa para ellas, pero también para los profesionales sanitarios que las atendían durante el embarazo. La difusión de la guía se realizó entre quienes participaron en la encuesta, a través de redes sociales y en varios hospitales de España. Su distribución continúa ampliándose, ya que se ha empleado como material divulgativo y formativo en las intervenciones con mujeres embarazadas del Estudio EMBA (Estilo de vida, medio ambiente y embarazo), un proyecto intramural de CIBER de Epidemiología y Salud Pública (Instituto de Salud Carlos III).

En conjunto, y a pesar de las limitaciones del tamaño muestral en el caso de algunos contaminantes y de la adaptación de parte de las actividades a la situación de pandemia, gracias a esta investigación se ha podido llegar a conclusiones muy relevantes que pueden contribuir a conocer mejor el riesgo que entraña la exposición a mezclas de contaminantes persistentes en relación con enfermedades asociadas a la obesidad. Ello ha requerido un enfoque interdisciplinar que ha involucrado a personas y técnicas de campos complementarios, como epidemiología, análisis clínicos, análisis de datos, sistemas de información geográfica, encuestas, entrevistas y diseño de materiales divulgativos. Se ha podido constatar la necesidad de que los resultados de la investigación trasciendan el mundo académico a través de intervenciones informativas/educativas en la población, estableciendo un diálogo directo entre investigadores, ciudadanía y gobernantes, lo que puede dar frutos muy positivos en materia de prevención de enfermedades ambientales.

Abstract

Persistent pollutants have become a matter of real concern due to their consequences on the environment and human health. Exposure to low doses of these compounds continuously, something often unavoidable given their ubiquity, is related to the development of chronic diseases, including obesity and diabetes, which affect a growing fraction of the population from an early age. Phenomena such as endocrine disruption, that is, hormonal alteration due to the action of external substances, could be behind it. This poses a serious problem as there is no safe dose and since it involves long-term and even transgenerational effects. For this reason, the authorities put their efforts into the regulation of this type of contaminants, although it is still necessary to deepen the characterization of the exposure and to know the underlying mechanisms of action.

This doctoral thesis focuses on the study of the patterns of exposure to mixtures of persistent pollutants, families that include metals and metalloids, polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides (OCPs) and per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS). The GraMo cohort, on which this research has been carried out, is a cohort of 387 adult participants recruited in 2003-2004 in two public hospitals in the province of Granada (Spain). The exposure of each participant was estimated by biomonitoring, analyzing the levels of contaminants in adipose tissue or serum, as applicable. In addition, sociodemographic, clinical, lifestyle and diet information was obtained through questionnaires, and a review of the medical records of the Andalusian Health Service was carried out.

The main objective of this thesis is to perform a comprehensive approach to human exposure to mixtures of persistent pollutants through a characterization of exposure patterns and their determinants, and their potential implications in the development of obesity-related chronic diseases. In addition, the work has been complemented with a study of the problem perception by the population and a dissemination of scientific knowledge to the general public.

Firstly, the determinants and patterns of exposure to 15 persistent pollutants including cadmium (Cd) and other metal(loid)s, PCBs and OCPs were studied in dipose tissue samples. Data analysis was carried out using multivariate linear regressions on individual pollutants and adjusting for variables such as sex, age, body mass index (BMI), dietary habits, and smoking habit. Other variables related to employment and place of residence were also introduced, the latter being additionally evaluated by means of geographic information systems applied to the province of Granada. The mixtures were studied through principal component analysis, which resulted in 3 groups of contaminants: one constituted by aluminum (Al), arsenic (As), chromium (Cr), nickel (Ni) and lead (Pb); the second, which included the OCPs hexachlorobenzene (HCB), beta-hexachlorocyclohexane (β -HCH) and *p,p'*-dichlorodiphenyldichloroethylene (*p,p'*-DDE); and the third, with three congeners of PCBs: PCB-138, PCB-153 and PCB-180, along with cadmium (Cd), cobalt (Co) and chromium (Cr). Smoking turned out to be a determining factor in adipose tissue Cd levels, which was also positively associated with age, female sex and egg consumption, while the association with BMI was inverse. The analysis of mixtures of persistent pollutants confirmed that there exist differences between levels found in the participants and their place of residence and their occupation. Living in rural areas was associated with low levels of mixed PCBs and metals, while residents of industrial and heavily trafficked areas showed high levels of the mixture of metal(loid)s. Interestingly, living in rural areas was associated with low levels of OCPs.

Working in agriculture and the food industry was associated with high levels of the mixture of metal(loid)s, but motor and industry workers showed higher levels of mixed OCPs. People who worked in cleaning for long periods, whether they were professionals or housewives, had lower levels of the mixture of PCBs and metals.

Based on the associations found in the first studies, which suggested a possible clinical relevance of exposure biomarkers, we proceeded to investigate the possible association of Cd exposure with the risk of insulin resistance and type 2 diabetes mellitus (T2DM). With this aim, two approaches were combined: a cross-sectional one, in which the relationship between adipose tissue Cd levels and insulin resistance and β -cell function markers was analyzed by means of homeostatic model assessment (HOMA); and a longitudinal study, in which the association between Cd levels and the incidence of T2DM and insulin resistance over 16 years was investigated. In order to achieve this, the medical records of the GraMo cohort participants for that period were consulted, as well as data on fasting serum glucose, insulin, and C-peptide levels at recruitment. Participants in the last quartile of Cd concentrations showed a non-significant increased risk of T2DM versus those in the first quartile of 1.97 (HR, 95%CI: 0.69, 5.66). In smokers, result was even clearer (HR:2.19; 95%CI:0.98,4.98). In the second tertile, smokers showed increased insulin resistance (beta T2 vs T1: 0.52; 95%CI: 0.07, 0.97), and higher insulin levels after logarithmic transformation (beta T2 vs T1: 0.52; 95%CI: 0.08, 0.95). From these results it can be deduced that exposure to Cd, specifically in smokers, may be a risk factor for T2DM.

On the other hand, and following the line of research on potential endocrine disruption, the relationship between exposure to mixtures of persistent pollutants (PCBs and OCPs measured in adipose tissue and PFAS measured in serum) and serum sex hormone levels was investigated cross-sectionally. The multivariate linear regression analyses allowed us to know the individual associations previously, to later apply a weighted quantile regression technique (WQS), thus estimating the mixing effect of the different pollutants. The analyses were stratified by sex, and premenopausal and postmenopausal women were analyzed separately, if the sample size allowed it. In women, we found associations of PCBs, OCPs, and PFAS concentrations with reduced levels of follicle-stimulating hormones (FSH), luteinizing hormones (LH), and sex hormone-binding globulin (SHBG), as well as with increased total testosterone. In contrast, in men, a positive association was observed of the exposure to mixtures of PCBs and OCPs with FSH levels. These alterations could have a negative impact on health, as they are related to problems such as infertility, insulin resistance and cardiovascular disease.

Finally, this thesis addressed the issue of risk perception and information dissemination on environmental contaminants to the population. In this regard, and within the framework of two different projects, two online surveys were carried out to find out the degree of knowledge and concern of the participants in matters related to the environment and health.

The survey "Let's talk about the environment: the voice of the neighborhoods of Granada and Melilla" has had 573 complete responses between July 2020 and May 2022, and has highlighted that the most concerning problems for residents are cleanliness, noise and air quality, while the most linked to their health are contagious diseases, air quality and food quality. Those surveyed attributed most of the responsibility to local and regional authorities, but also to the neighbors themselves, which opens the door to education-based actions to improve the environment and their own health.

The survey "Environmental chemical contaminants and pregnancy" was carried out in the last quarter of 2020 and was aimed at pregnant/lactating women and health professionals. It was an anonymous and short questionnaire, with 23 questions, most of them closed. The responses of the 151 participants showed worrying data, such as the fact that 22% of professionals had never received any information about the effects of environmental pollutants on pregnancy and lactation. But it also offered some encouraging data, such as that 23% of those who read a previous guide about it changed their habits, reducing the use of plastics and increasing organic food consumption, for instance.

The knowledge acquired during the development of this thesis and the study "Environmental chemical contaminants and pregnancy", finally gave rise to the guide for pregnant and lactating women "Environmental contaminants present in daily life", which aimed to be an informative tool for them, but also for the health professionals caring during pregnancy. The guide was disseminated among those who participated in the survey, through social media and in several hospitals in Spain. Its distribution continues to expand, as it has been used as informative and training material in interventions with pregnant women in the EMBA Study (Lifestyle, Environment and Pregnancy), a CIBERESP project in Spain (Instituto de Salud Carlos III).

As a whole, and despite the limitations of the sample size in the case of some pollutants and the adaptation of part of the activities to the pandemic situation, thanks to this research it has been possible to reach very relevant conclusions that can contribute to better understanding the risk of the exposure to persistent pollutant mixtures associated with obesity-related diseases. This has required an interdisciplinary approach that has involved people and techniques from complementary fields, such as epidemiology, clinical analysis, data analysis, geographic information systems, surveys, interviews, and design of informative materials. It has been possible to ascertain the need for research results to transcend the academic world through informative/educational interventions in the population, establishing a direct dialogue between researchers, citizens and decision-makers, which can offer very positive results in terms of prevention. of environmental diseases.

I. Introducción

1.1. Exposición humana a contaminantes ambientales

La contaminación del ambiente que rodea e impregna la vida en nuestro mundo es una preocupación creciente en la sociedad. No solo por lo que implica para las condiciones de habitabilidad del planeta y para la riqueza de la fauna y la flora, sino también por los efectos que se observan en los organismos humanos.

Dejando a un lado la clara evidencia de algunos de estos efectos biológicos tras grandes desastres ambientales accidentales o intencionados, como el escandaloso caso del napalm como arma química en la guerra de Vietnam en 1965 (Neilands, 1970) o la contaminación por arsénico del agua de Bangladesh, que comenzó en 1985 y que todavía hoy es un problema sin resolver con millones de personas en riesgo de envenenamiento (Hossain, 2006), hoy se conocen las consecuencias de la exposición crónica a bajas dosis de ciertos compuestos químicos cuya toxicidad fue demostrada décadas después de su uso continuado por parte de la población.

Rachel Carson en su libro “Primavera silenciosa” fue pionera en recoger en sus investigaciones los efectos nocivos de contaminantes ambientales y comunicarlos, favoreciendo que surgieran cuestiones como el *principio de precaución* en el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea (UE), gracias al cual hoy en día la UE cuenta con una de las legislaciones más garantistas del mundo en cuestión de protección de la salud ciudadana frente a estos contaminantes.

Un caso conocido es el del plaguicida organoclorado dicloro difenil tricloroetano (DDT), cuyas propiedades insecticidas propiciaron su uso generalizado contra los piojos desde la 2ª Guerra Mundial hasta su prohibición en los años 70, motivada por sus consecuencias sobre el sistema nervioso, la reproducción, el sistema hormonal o el desarrollo de cáncer, entre otras (Beard, 2006). A pesar de ello, restos de DDT, al igual que de otras sustancias bioacumulables y persistentes, todavía pueden encontrarse en aire, agua, suelos, alimentos y tejidos humanos (Turusov et al., 2002), como se ha comprobado en el desarrollo de esta tesis.

El grupo de las sustancias denominadas Tóxicas, Persistentes y Bioacumulativas (TPB), entre las que se encuentran pesticidas organoclorados como el DDT, ha planteado un reto para los organismos encargados de controlar la seguridad de los productos que se producen, comercializan y consumen (Matthies et al., 2016), dado que no existen niveles seguros de exposición de la población. Las sustancias TPB, como indica su nombre, se caracterizan por su toxicidad, su elevada persistencia en el medioambiente y su bioacumulación en los organismos, favorecida por el carácter lipofílico de muchas de ellas, que permite su entrada en la cadena trófica y que se produzca un fenómeno de biomagnificación a través de la misma.

El conjunto de estas sustancias incluye los Contaminantes Orgánicos Persistentes (POPs, por sus siglas en inglés: Persistent Organic Pollutants), rebautizados como los “forever chemicals” dada su elevada vida media, que puede llegar a varias décadas en los suelos (Jones and de Voogt, 1999a). Así, es posible hablar de ubicuidad en el entorno y de una exposición generalizada y continua a bajas dosis de contaminantes a través de múltiples vías de exposición, cuyas fuentes abarcan, entre otras:

- Agua y alimentos, incluyendo sus envases. Suponen más del 90% de la exposición humana. (W. Guo et al., 2019)
- Aire contaminado interior y exterior.
- Placenta y leche materna.
- Productos de limpieza.
- Productos de higiene y cosméticos.
- Tejidos.
- Materiales de construcción y decoración.
- Dispositivos electrónicos y juguetes.

La Convención de Estocolmo, del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente, estableció en 2001 el primer marco legal vinculante para la regulación de POPs en el mundo a través de la elaboración de una lista inicial de 12 compuestos, los llamados “Dirty Dozen”, a los que se han ido añadiendo otras sustancias de riesgo cuya reducción es un compromiso real para los firmantes del acuerdo (Lallas, 2001). Gracias a este y otros compromisos, la presencia de POPs en muchas zonas se ha ido reduciendo paulatinamente, aunque la exposición humana persiste y sigue siendo un problema por sus efectos para la salud.

1.2. Efectos para la salud relacionados con la obesidad

Muchos son los efectos biológicos que se han observado por exposición crónica a bajas dosis de POPs. Entre ellos, podríamos destacar una serie de patologías que están muy relacionadas entre sí, como problemas reproductivos y del desarrollo, cáncer, enfermedades cardiovasculares, alteración endocrina y enfermedades como la obesidad o la diabetes (W. Guo et al., 2019). Es este último grupo de patologías vinculadas con la obesidad en el que se ha centrado esta tesis.

1.2.1. Disrupción endocrina

Algunos POPs presentan características de disruptores endocrinos (EDCs, por sus siglas en inglés: Endocrine Disrupting Chemicals), lo que significa que son sustancias ajenas al organismo capaces de alterar el funcionamiento del sistema hormonal, no solo mimetizando o antagonizando la acción de las hormonas endógenas, sino afectando a cualquiera de sus procesos: síntesis, secreción, transporte, unión a receptores, metabolismo, o eliminación, como indica la US Environmental Protection Agency (EPA) (Harding et al., 2006). Como consecuencia, se produce un desequilibrio en el balance hormonal en el organismo que, a su vez, afecta a otros sistemas, como el reproductor, el nervioso o el inmune. Ello es debido especialmente a la interferencia con el eje

hipotálamo-pituitaria-gonadal y a la alteración del tejido adiposo, lo que afecta directamente al metabolismo (Lauretta et al., 2019).

Existen algunos momentos clave en los que la exposición a EDCs supone un especial problema, como durante el desarrollo embrionario o la niñez temprana, en los que estas alteraciones pueden tener consecuencias a lo largo de toda la vida del individuo (Gore et al., 2015) e incluso para su descendencia, dados sus efectos transgeneracionales (Xin et al., 2015). Otras características especiales de los EDCs son el llamado “efecto cóctel”, es decir, el efecto combinado de varias sustancias EDCs que puede diferir de la simple adición de los efectos de cada una de forma independiente (Le Magueresse-Battistoni et al., 2018); y la relación dosis-respuesta no monotónica, lo que dificulta el establecimiento de dosis seguras, si existieran (Lagarde et al., 2015).

Si bien los mecanismos de acción todavía no están absolutamente claros, ya se han documentado algunos, como la capacidad de los EDCs para unirse a receptores nucleares endocrinos actuando como agonistas o antagonistas total o parcialmente (Balaguer et al., 2019), o el incremento de la cantidad y tamaño de los adipocitos, reduciendo el metabolismo basal y modificando la sensación de apetito (Janesick and Blumberg, 2011). Precisamente, en base a este aspecto a los EDCs se les otorga el calificativo de “obesógenos” (Grün and Blumberg, 2006).

1.2.2. Obesidad

Según la Encuesta Europea de Salud en España, el índice de masa corporal (IMC) de la población española mayor de 18 años en 2020 indicaba que un 16,5% de hombres y un 15,5% de mujeres padecen obesidad ($IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$), y un 44.9% de hombres y un 30,6% de mujeres padecen sobrepeso ($25 \text{ kg/m}^2 \leq IMC < 30 \text{ kg/m}^2$) (Instituto Nacional de Estadística, 2021a). A nivel mundial, la obesidad se considera responsable de 2,8 millones de muertes en 2021 por su relación directa con enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, trastornos neurológicos, problemas respiratorios y trastornos digestivos. Debido a la relevancia de estas cifras, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha emitido recientemente un Plan de Aceleración (World Health Organization, 2022a) que acompaña a las recomendaciones de la Asamblea General para la Prevención y Control de Enfermedades No Transmisibles (World Health Organization, 2022b), con el fin de ayudar a los gobiernos a implementar las medidas necesarias que permitan prevenir y tratar la obesidad con urgencia.

La obesidad tiene un origen multifactorial y se conoce su vínculo con cuestiones genéticas, hábitos de dieta y sedentarismo (Turcot et al., 2018), pero es plausible que los factores ambientales tengan un peso decisivo en el rápido desarrollo que esta enfermedad ha tenido en las últimas décadas entre adultos y, especialmente, en niños (Heindel and Blumberg, 2019; Ren et al., 2020).

De hecho, el fenómeno de la disrupción endocrina afecta al balance energético, la distribución de grasa y su acumulación en el cuerpo (Maradonna and Carnevali, 2018). Algunas hormonas sexuales, como el estradiol, también influyen en el metabolismo y

en la obesidad, ya que modifican el apetito, la distribución y acumulación de grasa, y el balance de glucosa e insulina, entre otros (Heindel et al., 2017). Algunos mecanismos de acción propuestos se dan durante el desarrollo embrionario y afectan a la vida adulta: aumento de la diferenciación de adipocitos de células madre, alteración de cantidad de adipocitos, incremento de almacenaje de triglicéridos en los adipocitos y alteración de la tasa de formación de adipocitos frente a destrucción (Heindel and Blumberg, 2019). Otros mecanismos a citar incluyen inactivación de la termogénesis, diferenciación de adipocitos disfuncionales o alteración del llamado punto fijo metabólico, lo que hace que, ante la exposición a un obesógeno, el organismo tienda a ganar peso nuevamente tras una dieta de adelgazamiento (Liu et al., 2018).

1.2.3. Síndrome metabólico

Descrito por primera vez por Kylin en los años 20 y tras una falta de consenso inicial en su diagnóstico, el síndrome metabólico se define actualmente como un conjunto de alteraciones metabólicas que incluye al menos tres de los siguientes factores: obesidad abdominal, hipertrigliceridemia, hipertensión, resistencia a la insulina y niveles bajos de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (colesterol HDL) (Alberti et al., 2006; Eckel et al., 2005; Wang et al., 2020). A pesar de no tratarse de un indicador de riesgo absoluto, las personas que lo presentan tienen el doble de riesgo de padecer enfermedad cardiovascular en los siguientes 5 a 10 años que los individuos sanos, y el riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se quintuplica (Alberti et al., 2009). Según el estudio DARIOS realizado en España entre los años 2000 y 2010, la prevalencia del síndrome metabólico en este país era del 32% en hombres y del 29% en mujeres (Fernández-Bergés et al., 2012; Grau et al., 2011).

Dado el papel del tejido adiposo en el metabolismo de lípidos y la función endocrina, la acumulación de POPs en dicho tejido puede explicar procesos implicados en el síndrome metabólico, como la obesidad o la resistencia a la insulina, como ya han mostrado algunos estudios (Lee et al., 2011; Mustieles et al., 2017a; Ruiz et al., 2016).

1.2.4. Diabetes mellitus tipo 2

Según estimaciones recientes de la International Diabetes Federation, la prevalencia de la diabetes en el mundo alcanza al 10.5% de los adultos (536.6 millones) y se prevé que llegue al 12.2% en 2045, con un impacto mayor en personas de edad avanzada y en hombres frente a mujeres para edades inferiores a 70 años (Sun et al., 2022). El mismo informe indica que España se encuentra en segundo lugar en el top 5 de países según la prevalencia de personas entre 20 y 79 años con diabetes, tras ajustar por edad (10.3%). Concretamente, un 90% de los diabéticos padecen DM2, un tipo de diabetes que se caracteriza especialmente por un defecto en la secreción y/o acción de la insulina (Hurtado and Vella, 2019).

En su desarrollo influyen factores tanto genéticos, como medioambientales, pero estos últimos, que son potencialmente modificables, parecen tener un rol relevante (Alonso-Magdalena et al., 2011; Sargis and Simmons, 2019). Por ejemplo, una dieta hipercalórica, el sedentarismo o la adiposidad están muy implicados en la resistencia a

la insulina, lo que supone un incremento del riesgo de padecer DM2 (Chatterjee et al., 2017), y la exposición a algunos contaminantes, como metales tóxicos o POPs, también puede aumentar su prevalencia (Arrebola et al., 2013b; Franks and McCarthy, 2016). Además, parece que el tejido adiposo está implicado en la DM2, ya que una acumulación excesiva de tejido adiposo visceral se asocia con mayor riesgo metabólico y desarrollo de enfermedades como DM2. Esto se produce a través de las células inmunes, que son fuente de citoquinas y otras sustancias proinflamatorias, que pueden afectar local y sistémicamente al organismo (Cinkajzlová et al., 2022).

1.3. Información y percepción del riesgo

Según el Eurobarómetro Especial 501 de diciembre de 2019, el 94% de los ciudadanos de la UE considera que la protección del medio ambiente es importante o muy importante para ellos y el 78% cree que los problemas medioambientales tienen repercusiones sobre su vida diaria y su salud, llegando a ser el 80% los que se preocupan por el impacto de sustancias químicas en su salud (Comisión Europea, 2019). Las cifras que publica dicha encuesta para España indican un grado mayor de preocupación en nuestro país que en el conjunto de la UE y, sin embargo, la preocupación por el creciente volumen de residuos o por el uso de pesticidas es inferior. En cuanto a las maneras más efectivas de afrontar los problemas medioambientales, un 24% de los encuestados en toda la UE (22% en España) cree que ayudaría el disponer de más información y formación al respecto y el 72% de los españoles consultados cree que la solución está en cambiar la forma de consumir, producir y comerciar.

El grado de preocupación de los individuos frente a un problema ambiental o sanitario tiene mucho que ver con lo que se denomina percepción del riesgo. La British Medical Association, en su libro "Living with risk", definía el riesgo como "Una expresión de la probabilidad de que tenga lugar un suceso desagradable" (Coggon, 1988). La percepción de un riesgo es reflejo no solo de las estadísticas numéricas que una persona pueda conocer sobre un asunto, sino también de sus experiencias personales, y su actitud dependerá de cuál de las dos cosas tenga más peso para la persona o cuente con más información disponible (Tversky and Kahneman, 1973). Dicha información puede aparecer a través de distintos canales: TV, radio, libros y revistas en el pasado y, actualmente, internet y redes sociales (Dutta-Bergman, 2004). No obstante, se sigue confiando en los comentarios de familia y amigos y, cuando se trata de la salud, en los profesionales sanitarios.

Algunos estudios sugieren que la percepción del riesgo es un determinante de la conducta en cuestión de salud, aunque ello puede depender de las percepciones de diferentes tipos de riesgo y la exactitud de dichas percepciones (Ferrer and Klein, 2015). Según los resultados de la encuesta Annenberg National Health Communication Survey realizada entre 2005 y 2012, la información procedente de internet y de las empresas farmacéuticas se asociaba significativamente con un mejor estado de salud (Bounsanga et al., 2016). Un estudio más reciente con mujeres embarazadas en España constató que la motivación para modificar su dieta de cara a evitar la exposición a contaminantes ambientales se fundamentaba en el deseo de mejorar su salud, la creencia de la importancia de una dieta variada y la evitación de posibles riesgos (Fontalba-Navas et al., 2020). La falta de comprensión del riesgo hacía difícil el proceso de proporcionarles recomendaciones para evitarlos, obstáculo al que se

sumaba la sobrecarga de información sobre otros aspectos que habitualmente recibe la mujer embarazada o lactante. Por otra parte, en este estudio también se observó una falta de información en los propios profesionales de la salud y mayores dificultades en la comprensión del riesgo por parte de personas con problemas socioeconómicos.

1.4. Caracterización de la exposición

Los contaminantes objeto de estudio en esta tesis han sido seleccionados por tratarse de sustancias que actualmente se encuentran reguladas o en proceso de regulación por sus posibles efectos para la salud pública. En concreto, se trata de compuestos químicos vinculados de una u otra manera a procesos que tienen que ver con la obesidad o sobrepeso, el síndrome metabólico y/o la diabetes. Son un total de 27 compuestos pertenecientes a 4 grupos:

1.4.1. Metales y metaloides

Los metales y metaloides constituyen un grupo heterogéneo de elementos químicos de distinta procedencia de los que una parte suponen un riesgo para la salud. La contaminación de suelos, agua y alimentos debido al uso y liberación de metales en actividades industriales, minería, plaguicidas y transporte es patente y ha sido objeto de estudio (Castro-González and Méndez-Armenta, 2008; Lokeshappa et al., 2012; Peris et al., 2007). En esta tesis se consideraron 7 metales y metaloides por su potencial acción sobre la salud humana: aluminio (Al), arsénico (As), cadmio (Cd), cobalto (Co), cromo (Cr), níquel (Ni) y plomo (Pb). Para parte de ellos no se conoce la función que pueden desempeñar en el organismo, si la tuvieran, y son considerados tóxicos incluso en concentraciones muy bajas, como es el caso de Al, As, Cd, Ni y Pb. En otros casos, como Co y Cr, se sabe que participan en algunos procesos biológicos pero, en ciertas dosis, podrían contribuir al desarrollo de algunas patologías como enfermedad cardiovascular, cáncer, problemas de neurodesarrollo o daño renal, entre otros (Agarwal et al., 2011; Byrne et al., 2013; Freire et al., 2018; Jaishankar et al., 2014). Algunos estudios epidemiológicos indican que la exposición a metales o metaloides tóxicos puede estar relacionada con la incidencia de obesidad y síndrome metabólico, como sería el caso de As, Cd y Pb (Tinkov et al., 2021).

1.4.2. Bifenilos policlorados no similares a dioxinas

Este tipo de bifenilos policlorados (PCBs, por sus siglas en inglés: Polychlorinated Biphenyls), son compuestos orgánicos que comenzaron a ser fabricados en la década de 1930 debido a su buena resistencia al calor y la combustión. Se emplearon como componentes en lubricantes, líquidos hidráulicos, resinas aislantes y equipos electrónicos (Cetin et al., 2007) hasta su prohibición en los años 80, 1986 en España. En esta tesis se han considerado tres congéneres de PCBs: PCB-138, PCB-153 y PCB-180, que pertenecen al grupo de los PCBs no similares a dioxinas. La exposición humana a este tipo de compuestos proviene de la alimentación en más de un 90%. Aunque los niveles hallados en comida y leche materna han ido disminuyendo desde su

prohibición, la ingesta diaria media de PCBs en adultos europeos se estima entre 10 y 45 ng/kg de peso corporal y la de niños alimentados con leche materna podría ser hasta dos órdenes de magnitud mayor, según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (European Food Safety Authority, 2005). Los PCBs se han relacionado con enfermedades como DM2, enfermedad metabólica y obesidad (Shan et al., 2020; Wolf et al., 2019)

1.4.3. Pesticidas organoclorados

Los pesticidas organoclorados (OCPs, por sus siglas en inglés: Organochlorinated Pesticides) son un grupo de plaguicidas ampliamente utilizados en cultivos de todo el mundo desde su síntesis en 1939 por Mueller. A pesar de las restricciones de uso que existen desde los años ochenta, sus características de persistencia, baja polaridad, baja solubilidad en agua y alta lipofilia han propiciado su empleo para control de plagas y vectores en países como India, China, Sudáfrica, Australia y Argentina, y se calcula que alrededor de 11000 personas mueren cada año por intoxicaciones agudas involuntarias (Boedeker et al., 2020). Se han seleccionado 5 pesticidas organoclorados para su estudio en esta tesis: hexaclorobenceno (HCB), α -hexaclorociclohexano (α -HCH), β -hexaclorociclohexano (β -HCH), *p,p'*-diclorodifenildicloroetileno (*p,p'*-DDE) y dicofol.

1.4.4. Sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas

Las sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas (PFAS, por sus siglas en inglés: Per- and Polyfluoroalkyl Substances) son un grupo de compuestos químicos que se emplean en la industria en la fabricación de recubrimientos antiadherentes y resistentes al agua. La mayor parte de la exposición a estas sustancias viene de la comida y el agua, ya que se bioacumulan en plantas y animales, pero también de los envases de alimentos (Qi et al., 2020). Algunos de ellos han sido incluidos en la Convención de Estocolmo del Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente con el fin de limitar su uso (Fiedler et al., 2019). Los PFAS escogidos para su estudio en esta tesis han sido: ácido perfluoropentanoico (PFPeA), ácido perfluorohexanoico (PFHxA), ácido perfluoroheptanoico (PFHpA), ácido perfluorooctanoico (PFOA), ácido perfluorononanoico (PFNA), ácido perfluorodecanoico (PFDA), ácido perfluoroundecanoico (PFUdA), ácido perfluorododecanoico (PFDoA), ácido perfluorobutananosulfónico (PFBS), ácido perfluorohexanosulfónico (PFHxS), ácido perfluoroheptanosulfónico (PFHpS) y ácido perfluorooctanosulfónico (PFOS).

1.5. Biomonitorización de la exposición humana a contaminantes ambientales

La exposición humana a contaminantes ambientales procede de distintas fuentes y se produce por varias vías de manera conjunta. Su acumulación en el organismo depende de numerosos factores, como la concentración de un contaminante en un medio, su comportamiento en él, el tiempo de la exposición, el metabolismo... La cantidad de variables

a tener en cuenta hace que la biomonitorización se haya convertido en una herramienta imprescindible para conocer la carga corporal de sustancias que pueden provocar un daño en la salud (World Health Organization. Regional Office for Europe, 2015), definiéndose como “el método para evaluar la exposición humana a sustancias químicas o sus efectos midiendo estas sustancias, sus metabolitos o sus productos de reacción en especímenes humanos” (Centers for Disease Control and Prevention, 2005).

Por lo tanto, la medición de contaminantes en tejidos humanos es una forma de obtener datos sobre la exposición total a través de todas las vías posibles. Frente al inconveniente de no conocer la fuente o la vía de exposición exactos, proporciona datos sobre la cantidad de POPs acumulados en el organismo, a qué órganos afectan, e incluso el momento o duración de la exposición, dependiendo de la matriz escogida. Los métodos menos invasivos incluyen el análisis de orina, saliva, pelo, leche materna en mujeres lactantes o sangre menstrual. Por otra parte, el análisis de sangre ha sido el preferente durante mucho tiempo para la evaluación de POPs, dado que su extracción no resulta especialmente complicada y proporciona información sobre los contaminantes en circulación, si bien esta información presenta una elevada variabilidad y puede verse influida por factores como la ingesta de una determinada comida unas horas antes. Por ello, cuando se trata de sustancias lipofílicas, la elección más interesante es el tejido adiposo, mucho más estable en concentración de contaminantes que la sangre y cuyo contenido en grasa puede alcanzar un 95% frente al 0.5% de aquella (Barr et al., 2005). En el desarrollo de esta tesis se han empleado los resultados de análisis de contaminantes en dos matrices: suero y tejido adiposo, y este último merece una mención aparte por su importancia dentro de la cohorte GraMo con la que se ha trabajado.

1.5.1. Medición de contaminantes en tejido adiposo

Aunque inicialmente el tejido adiposo era considerado un órgano pasivo implicado únicamente en el almacenamiento de energía, desde principios del siglo XXI se conocen sus importantes funciones como órgano endocrino, responsable de la secreción de citoquinas que afectan al peso corporal, la inflamación, la presión arterial y la resistencia a la insulina, entre otros (La Merrill et al., 2013; Müllerová and Kopecký, 2007).

El carácter lipofílico de los POPs hace que el tejido adiposo blanco sea un lugar de almacenaje para estos contaminantes (Bourez et al., 2012), que de esta manera pueden influir en su función modulando la actividad de ciertos factores de transcripción. Es más, al tratarse de un órgano sometido a cambios por subidas de peso o dietas de adelgazamiento, causa modificaciones en la concentración de POPs en suero y en otros órganos (Lim et al., 2011), que pueden desembocar en situaciones de enfermedad (Kim et al., 2011).

La medición de contaminantes en tejido adiposo no es habitual, pero ha demostrado ser muy útil en la evaluación de la presencia histórica de POPs en los organismos, obteniendo un registro de la exposición que ha tenido lugar durante los años o décadas previas a la obtención de la muestra. Además, la evaluación en tejido adiposo blanco

de biomarcadores de oxidación, inflamación, inmunidad, adipoquinas y receptores nucleares podría facilitar la obtención de marcadores preclínicos de enfermedad (Mustieles and Arrebola, 2020a).

1.6. Cohorte GraMo

La cohorte GraMo es una cohorte de adultos que fueron reclutados entre los años 2003 y 2004 en dos hospitales públicos de la provincia de Granada (España): el Hospital Universitario San Cecilio, situado en la ciudad de Granada, y el Hospital Santa Ana, en la localidad costera de Motril. La heterogeneidad geológica, ocupacional, alimentaria y de estilos de vida permitió obtener una población en la que se podría estudiar los determinantes de la exposición a contaminantes ambientales y su posible asociación con enfermedades de manera diferenciada por sexo, edad, número de hijos, índice de masa corporal (IMC), dieta, lugar de residencia, ocupación, hábito tabáquico, consumo de alcohol y otros parámetros.

De los participantes reclutados se obtuvo muestras de tejido adiposo que complementaban la información que aportaban las de sangre. A las muestras biológicas se unió la aplicación de un cuestionario realizado por entrevistadores específicamente formados en el que el participante facilitaba el resto de los datos necesarios para la caracterización exhaustiva de la población.

La disponibilidad de muestras de tejido adiposo ha sido una característica clave en esta población y ha dado como resultado la publicación de más de 20 artículos científicos desde 2009 hasta la actualidad en los que se ha explorado desde los predictores de la exposición a contaminantes (Arrebola et al., 2013a, 2010, 2009; Echeverría et al., 2021, 2019; Freire et al., 2020; Rodríguez-Pérez et al., 2018; Salcedo-Bellido et al., 2022), hasta su relación con el desarrollo de enfermedades a través de biomarcadores y gasto sanitario (Arrebola et al., 2013b, 2014a, 2014b, 2015; Mustieles et al., 2017a; Pérez-Carrascosa et al., 2021, 2022). La descripción de la cohorte GraMo al completo y sus principales características puede encontrarse en la tabla 1, si bien los datos específicos para el estudio de ciertos contaminantes en concreto se encuentran en las publicaciones correspondientes.

Actualmente, la cohorte GraMo se está actualizando con un seguimiento a los participantes iniciales para comprobar de forma longitudinal en el tiempo los cambios que han podido sufrir en su estado de salud, sus hábitos y sus características sociodemográficas, junto a algunos parámetros biológicos.

2. Justificación e hipótesis

Las enfermedades crónicas asociadas a la obesidad, entre ellas, DM2, enfermedad cardiovascular o cáncer, continúan incrementando su incidencia en la población. Las campañas de información y prevención que se han llevado a cabo en los últimos años en relación con la dieta y el ejercicio físico como factores de protección frente a ellas, no han conseguido frenar esta tendencia y se hace imprescindible abordar el problema desde la perspectiva de los riesgos derivados de la exposición a ciertos contaminantes ambientales.

A pesar de que ya existe una gran cantidad de indicios sobre los efectos en la salud y los posibles mecanismos de acción detrás de estos problemas, todavía es necesario aumentar el conocimiento científico sobre las vías de exposición humana a dichos contaminantes, su funcionamiento en el organismo, los factores socioeconómicos y biológicos implicados y las repercusiones en la salud pública. A su vez, es necesario trasladar el conocimiento de manera fundamentada y objetiva a las autoridades y a la población general, de forma que los avances en la investigación se puedan traducir en una mejora del estado de salud y la calidad de vida de la ciudadanía.

La hipótesis de trabajo de esta investigación es que la exposición a bajas dosis de contaminantes persistentes puede suponer un factor de riesgo potencialmente prevenible en el desarrollo de enfermedades crónicas directa o indirectamente asociadas a la obesidad.

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

El objetivo general de esta tesis es realizar un abordaje integral de la problemática de la exposición humana a mezclas de contaminantes persistentes mediante una caracterización de los patrones de exposición y determinantes de la misma, sus posibles implicaciones en el desarrollo de enfermedades crónicas asociadas a la obesidad, así como un estudio de la percepción del problema por parte de la población y una campaña de difusión del conocimiento científico en la población.

3.2. Objetivos específicos

- 1) Estudiar los principales determinantes de la exposición a mezclas de contaminantes ambientales persistentes estimados a través de su análisis en diferentes matrices biológicas.
- 2) Analizar los patrones de exposición a POPs en relación con la distribución geográfica de los participantes de la cohorte GraMo.
- 3) Estudiar la relación entre los niveles de exposición a mezclas de POPs y los niveles de resistencia a la insulina, riesgo de diabetes mellitus tipo 2 y niveles de hormonas sexuales en la cohorte GraMo.
- 4) Analizar la percepción del riesgo en relación con la exposición a contaminantes ambientales en población general.
- 5) Diseñar estrategias de difusión del conocimiento científico en la materia a la población y, en concreto a grupos sensibles, como mujeres embarazadas.

4. Metodología

El abordaje de los objetivos planteados se ha llevado a cabo en dos líneas principales: por un lado, la caracterización de la exposición a mezclas y sus implicaciones para la salud dentro de la cohorte GraMo y, por otro, la transferencia del conocimiento y la recogida de información sobre la percepción de los riesgos para la salud por parte de población general y grupos específicos.

4.1. Investigación en el marco de la cohorte GraMo.

Los trabajos de investigación se realizaron por medio de la integración en el equipo de la cohorte GraMo, contando con fondos de los proyectos PI16/01858 y PI20/01568 del Instituto de Salud Carlos III y del programa Ramón y Cajal, a través del contrato del director de esta tesis, Juan Pedro Arrebola Moreno (RYC-2016-20155, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad). De esta manera, se procedió a la explotación de los datos recogidos en el momento del reclutamiento de la cohorte (2003-2004) y los resultados de los análisis en suero y tejido adiposo de metales, PCBs, OCPs y PFAS, así como marcadores de homeostasis de la glucosa y niveles de hormonas sexuales. También se contó con los resultados del cuestionario aplicado, los registros médicos de DIRAYA (sistema de información asistencial del Servicio Andaluz de Salud) y la información de la base de datos de prescripciones médicas del Servicio Andaluz de Salud.

En el desarrollo de esta parte de la tesis se realizaron 4 trabajos: 3 publicados en artículos científicos y 1 en revisión en la fecha de depósito de esta tesis. En su elaboración se emplearon medidas de exposición, medidas de efecto y variables potencialmente confusoras o modificadoras de efecto. Tras depurar y preparar la base de datos de GraMo, se utilizaron distintas técnicas estadísticas y sistemas de información geográfica para observar las posibles asociaciones entre exposición, niveles de contaminantes y efectos biológicos.

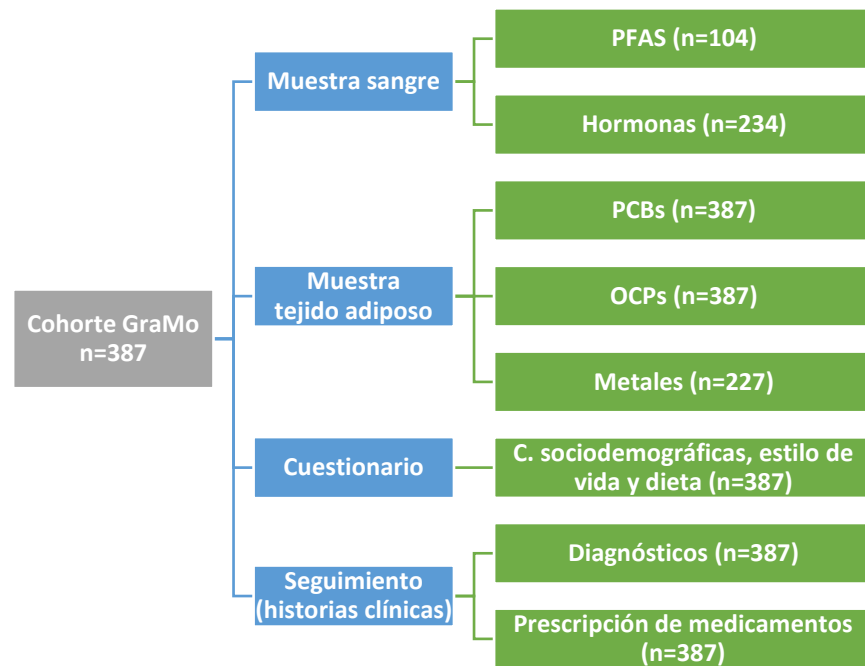
4.1.1. Población de estudio: descripción de la cohorte GraMo

La cohorte GraMo consta de un total de 387 individuos, de los 409 a quienes se solicitó su participación (94,6%). Se trataba de residentes en la provincia de Granada que acudían a dos hospitales públicos en las localidades de Granada y Motril para someterse a cirugía no relacionada con cáncer: hernias (41%), vesícula biliar (21%), venas varicosas (12%) y otras (26%). Los criterios de inclusión fueron:

- a) Edad superior a 16 años
- b) Ausencia de cáncer
- c) Residencia en las áreas de estudio durante al menos 10 años

La figura 1 muestra el número de individuos cuyas muestras de sangre y tejido adiposo fueron analizadas. Se trata de subconjuntos no excluyentes, por lo que la población seleccionada varía de unos estudios a otros, según las variables a analizar. Concretamente, el cuestionario se aplicó a la población completa (n=387), y también se analizaron PCBs y OCPs en tejido adiposo del conjunto total de participantes. Los análisis de metales en tejido adiposo fueron 227 (58.7%), y los análisis de PFAS y hormonas en suero se realizaron en un número de muestras de 104 (26.9%) y 234 (60.5%), respectivamente. Por último, los registros médicos se han consultado para todos los participantes de la cohorte (100.0%).

Fig. 1. Esquema de subconjuntos de población de la cohorte GraMo según variables analizadas.



La figura 2 presenta la distribución geográfica de los integrantes de la cohorte GraMo, en la que se han incluido las subáreas con más de 6 participantes. Las 6 subáreas en que se dividió la provincia fueron escogidas según criterios geográficos y poblacionales, con el fin de facilitar el trabajo con variables como ámbito rural/urbano, cercanía a explotaciones agrarias o industria, dieta, ocupación laboral y otras.

La Tabla 1 describe las características principales de la población de GraMo, si bien el detalle según los subgrupos implicados en cada trabajo se halla pormenorizado en las publicaciones correspondientes.

Fig. 2. Subáreas de estudio de la cohorte GraMo en la provincia de Granada

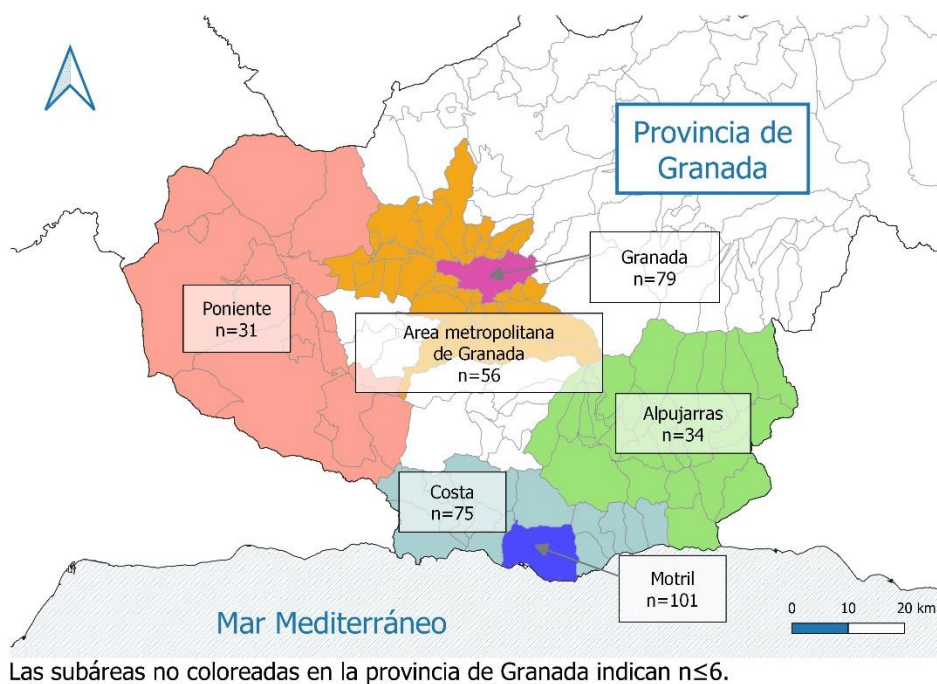


Tabla 1. Descripción de la cohorte GraMo. Características generales.

Características n=387		Media \pm DE	n (%)
Sexo	Hombres	---	197 (50.9)
	Mujeres	---	190 (49.1)
Edad (años)		50.7 \pm 17.1	---
Índice de masa corporal (Kg/m ²)		27.4 \pm 5.4	---
Nº hijos (solo mujeres)		2.5 \pm 1.6	---
Nivel educativo	Educación primaria incompleta	---	111 (28.7)
	Educación primaria	---	172 (44.4)
	Educación secundaria o superior	---	104 (26.9)
Vivienda próxima a actividad industrial		---	132 (34.1)
Vivienda próxima a actividad agrícola		---	216 (55.8)
Tabaquismo	Fumador/a	---	126 (32.6)
	No fumador/a o exfumador/a	---	261 (67.4)
Ha usado anticonceptivos orales alguna vez (solo mujeres)		---	68 (35.8)
Consume alcohol		---	200 (51.7)
Consume lácteos a diario		---	330 (85.3)
Tipo de agua para beber	Embotellada	---	91 (23.5)
	No embotellada	---	242 (62.8)
	Botellada y no embotellada	---	53 (13.7)

Consumo de huevos	≤ 1 por semana	---	151 (39.1)
	= 2 por semana	---	124 (32.0)
	> 2 por semana	---	112 (28.9)
Consumo de pescado o marisco	≤ 1 vez por semana	---	116 (30.0)
	= 2 veces por semana	---	132 (34.1)
	> 2 veces por semana	---	139 (35.9)
Consumo de carne	≤ 1 vez por semana	---	40 (10.3)
	= 2 veces por semana	---	100 (25.8)
	> 2 veces por semana	---	247 (63.9)
Consumo de fruta	≤ 2 porciones semanales	---	48 (12.4)
	> 2 porciones semanales	---	339 (87.6)
Consumo de verdura	≤ 1 porciones semanales	---	105 (27.1)
	= 2 porciones semanales	---	108 (27.9)
	> 2 porciones semanales	---	174 (45.0)

DE: desviación estándar

Las variables de dieta han sido recodificadas de acuerdo a criterios de adecuada distribución de la muestra de cara a los análisis posteriores.

4.1.2. Muestras biológicas y análisis químico

Las muestras de tejido adiposo que se emplearon para analizar concentraciones de metales/metaloideos fueron recogidas durante las cirugías a los participantes, en una cantidad de entre 5 y 10 g. Las muestras fueron inmediatamente codificadas y congeladas a -80°C, siendo sometidas a liofilización hasta alcanzar un peso estable y permaneciendo a -80°C hasta su análisis. Llegado el momento del análisis, que tuvo lugar en el Laboratorio de Geoquímica Ambiental Inorgánica y Geodinámica de Nanopartículas del Ruđer Bošković Institute (Zagreb, Croacia), se tomaron submuestras de 0.1 g. y se sometieron a digestión total en horno de microondas (Multiwave 3000, Anton Paar, Graz, Austria), tras haber sido acidificadas con HNO₃ al 2% (v/v) y tras añadir indio (1 µg/L) al estándar interno. En el análisis se empleó un instrumento Element2 (Thermo, Bremen, Alemania) que utiliza espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente de alta resolución (HR-ICP-MS). El proceso ha sido detallado en profundidad en estudios previos (Cukrov et al., 2008; Echeverría et al., 2021; Fiket et al., 2007; Rodríguez-Pérez et al., 2018).

El mismo procedimiento se empleó para las muestras de tejido adiposo en las que se midieron PCBs y OCPs, pero en este caso el análisis se realizó en el Laboratorio Analítico Bioquímico (LAB) en Almería (España). Concretamente, el instrumento era un sistema de trampa de iones Saturn 2000 (Varian, Walnut-Creek, CA, EEUU) que se basa en cromatografía de gas de alta resolución con un detector de espectrometría de masas en modo tándem. El procedimiento al completo ha sido descrito en publicaciones anteriores (Arrebola et al., 2010, 2013a, 2013b; León et al., 2019; Martínez Vidal et al., 2002; Moreno-Frías et al., 2004; Mustieles et al., 2017a; Phillips et al., 1989; Rivas et al., 2001).

En cuanto a las muestras de sangre para obtener el suero en el que se analizaron los niveles de PFAS, hormonas y marcadores de homeostasis de glucosa, estas fueron recogidas en el momento del reclutamiento en condiciones de 12 horas de ayuno. Se emplearon tubos S-Monovette neutros (Sarstedt, Nümbrecht, Alemania) y fueron centrifugadas en las 5 horas siguientes a su extracción y transportadas a 4°C, siendo almacenadas a -20°C hasta su análisis. Para el análisis de PFAS se mezclaron 100 µL de suero, 100 µL de acetonitrilo (ACN) para precipitación de proteínas y 25 µL de solución estándar. Se completó el volumen hasta los 270 µL con metanol (MeOH). La mezcla se agitó en el vortex y se centrifugó a una temperatura de 4°C. La capa orgánica sobrenadante se inyectó en el aparato de extracción en fase líquida (SPE) en línea con cromatografía de líquidos con espectrometría de masas de triple cuadrupolo (LC-MS/MS). Más detalles sobre la técnica se pueden consultar en el artículo de Bartolomé et al. (2016). El análisis de hormonas sexuales se realizó en el IBS GRANADA (España) a través de inmunoensayo in vitro realizado en el bioanalizador de electroquimioluminiscencia cobas e-411 (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Suiza)

Por último, el análisis de marcadores de homeostasis de glucosa se realizó 15 años tras el reclutamiento, en 2018, utilizando un método enzimático validado por medio de un bioanalizador cobas c311 (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Suiza). La cuantificación de insulina y péptido C se realizó mediante tests inmunológicos in vitro validados realizados con un bioanalizador cobas e-411 (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Suiza). La descripción completa ha sido detallada en otras publicaciones (Clark, 1999; Sapin, 2003; Wu, 2006).

4.1.3. Metodología de los trabajos realizados

Los trabajos desarrollados con los datos de la cohorte GraMo han sido 4, que pueden agruparse en dos bloques: caracterización de la exposición a cadmio (Cd) y su posible relación con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (trabajos 1 y 2); y caracterización de exposición múltiple a grupos de contaminantes persistentes y sus asociaciones con alteración de niveles de hormonas sexuales (trabajos 3 y 4).

Trabajo 1. Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Iribarne-Durán, L. M., Fiket, Ž., Dolenc, M., Martín-Olmedo, P., Olea, N. & Arrebola, J. P. (2019). **Levels and determinants of adipose tissue cadmium concentrations in an adult cohort from southern Spain.** *Science of The Total Environment*, 670, 1028-1036.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.114>.

En este estudio centrado en el Cd como contaminante, se caracterizó la exposición de la cohorte a este metal de forma individual con el fin de abordar parcialmente objetivo 1 (Estudio de determinantes de exposición a contaminantes ambientales persistentes). Se analizaron las asociaciones de las concentraciones de Cd en tejido adiposo (n=226) con las variables potencialmente predictoras: sexo, edad, índice de masa corporal, tabaquismo, exposición a pintura autopercibida, consumo de huevos, consumo de carne y consumo de pescado. Esto se comprobó utilizando la técnica LOWESS y modelos

aditivos generalizados (GAM). A continuación, se aplicaron modelos lineales multivariante con nivel de significancia $p=0.05$. Las concentraciones de Cd se introdujeron tras una transformación logarítmica. Los análisis se realizaron con R (v.3.6.0) con RStudio (v.1.2.1335) y SPSS Statistics (v.20.0). Los detalles de los análisis y sus resultados pueden consultarse en el artículo correspondiente.

Trabajo 2. Salcedo-Bellido, I., Gómez-Peña, C., Pérez-Carrascosa, F. M., Vrhovnik, P., Mustieles, V., Echeverría, R., Fiket, Ž., Pérez-Díaz, C., Barrios-Rodríguez, R., Jiménez-Moleón, J.J. & Arrebola, J. P. (2021). **Adipose tissue cadmium concentrations as a potential risk factor for insulin resistance and future type 2 diabetes mellitus in GraMo adult cohort.** *Science of The Total Environment*, 780, 146359.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146359>.

En este segundo trabajo, que se desarrolló de manera cronológicamente posterior al tercero, se continuó el estudio del Cd, pero desde la perspectiva de sus posibles implicaciones en el desarrollo de resistencia a la insulina y DM2 en 132 individuos de la cohorte, dando así respuesta parcial al objetivo 3 (Relación entre patrones de exposición y riesgo de padecer resistencia a la insulina y DM2). Para ello se empleó el análisis de la homeostasis de la glucosa en suero utilizando el modelo de evaluación de la homeostasis (HOMA), que fue aplicado por medio del HOMA Calculator v.2.2.3. para obtener 2 tipos de valores: uno de ellos resultante de la combinación de niveles de glucosa con insulina, y el otro, de niveles de glucosa con niveles de péptido C. Se realizó un análisis de posibles asociaciones entre la concentración de Cd en tejido adiposo y la incidencia de DM2 16 años después, empleando modelos de regresión de Cox que fueron ajustados por edad, índice de masa corporal, tabaquismo, nivel educativo, exposición a pinturas autopercebida y consumo de carne. De forma adicional, se elaboró un análisis de asociación entre concentraciones de Cd en tejido adiposo y marcadores de homeostasis de la glucosa por medio de modelos de regresión lineal multivariante ajustados por las variables anteriormente citadas. También se realizaron análisis estratificados según el hábito tabáquico, distinguiendo entre fumadores y no fumadores/exfumadores. Los modelos estadísticos fueron realizados en R (v.4.0.3). En el artículo referido puede encontrarse información adicional.

Trabajo 3. Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Pérez-Carrascosa, F. M., Gómez-Peña, C., Fiket, Ž., Martín_olmedo, P., Olea, N., Fernández, M.F. & Arrebola, J. P. (2021). **Associations of residential and occupational history with the distribution of persistent pollutant mixtures in adipose tissue samples.** *Environmental Research*, 194, 110687.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110687>.

En este tercer trabajo se introdujo el análisis de exposición múltiple a varios grupos de contaminantes junto con el estudio de la posible influencia de la localización geográfica y la ocupación laboral en la exposición, con lo que se completa el objetivo 1 (Estudio de determinantes de exposición a mezclas de contaminantes ambientales persistentes) con nuevos grupos de sustancias químicas y se aborda el objetivo 2 (Distribución geográfica de mezclas de contaminantes y patrones de exposición). Para ello se realizó una zonificación de la provincia de Granada (Fig. 2) con el fin de conocer las concentraciones

en tejido adiposo de 3 PCBs, 5 OCPs y 7 metales/metaloideos de los residentes. Asimismo, se distribuyó la población en 5 grupos de ocupación laboral: agricultura e industria alimentaria, limpieza y labores domésticas, construcción, motor e industria y trabajos de índole no manual. Por medio de sistemas de información geográfica se elaboraron mapas de concentraciones de contaminantes individuales con la herramienta QGIS (v.3.8.0 Zanzibar). Para el estudio de la exposición combinada, se aplicó un análisis de componentes principales que dio como resultado 3 grupos que representaban más del 50% de las contribuciones de los contaminantes: el primero, con metales y metaloides (Al, As, Cr, Ni, Pb); el segundo con OCPs (*p,p'*-DDE, HCB y β -HCH); y el tercero con una mezcla de PCBs y metales (PCB-1368, PCB-153, PCB-180, Cd, Co y Cr). Se realizó un análisis de regresión lineal multivariante para estudiar la asociación entre las subáreas de residencia y las ocupaciones laborales de los individuos con cada uno de los tres grupos resultantes del análisis de componentes principales. Los cálculos fueron realizados utilizando R (v.3.6.0) con RStudio (v.1.2.1335) y SPSS Statistics (v.20.0).

Trabajo 4. Echeverría, R., Salcedo-Bellido, I., Pérez-Carrascosa, F.M., Requena, P., Barrios-Rodríguez, R., Ramos, J.J., Olea, N., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Arrebola, J.P. **Associations of internal Persistent Organic Pollutant levels with sex hormones: an analysis by sex and menopausal status in a Spanish cohort** (Artículo en revisión).

El último trabajo con la cohorte GraMo, que en la fecha de depósito de esta tesis todavía se encuentra en revisión en la revista iScience (Factor de impacto: 5.458, Q1, percentil 88, área multidisciplinar), se enfoca en la evaluación de las asociaciones de las concentraciones en tejido adiposo de PCBs y OCPs y las concentraciones en suero de PFAS, con los niveles de algunas hormonas sexuales potencialmente vinculadas a enfermedades asociadas a la obesidad (estradiol, FSH, LH, SHBG y testosterona). Con ello se profundiza en el trabajo sobre el objetivo 3 (Relación entre patrones de exposición y riesgo de sufrir alteraciones en perfiles de hormonas sexuales) y además se introduce un nuevo grupo de contaminantes: los PFAS. Dadas las claras diferencias en el funcionamiento del sistema endocrino en hombres, mujeres premenopáusicas y mujeres postmenopáusicas, se comenzó con la división de la población de GraMo en estos subgrupos, y se aplicaron modelos de regresión lineal multivariante a los contaminantes individuales para estudiar las posibles asociaciones. Las covariables introducidas fueron: edad, índice de masa corporal, hábito tabáquico, nivel educativo, tipo de agua y consumo de alcohol, pescado, huevos, fruta, verduras y lácteos. Para el estudio del efecto combinado se usó WQS con las mismas covariables de ajuste. Dada la necesidad de contar con muestras de hormonas y contaminantes para cada individuo, la población analizada variaba entre 77 y 225 (el detalle se puede encontrar en el artículo correspondiente). Los cálculos se ejecutaron por medio de R (v.4.0.4) con RStudio (v.1.2.1335) y SPSS Statistics (v.20.0).

4.2. Información sobre contaminantes ambientales y percepción del riesgo.

En el abordaje del último objetivo de esta tesis, el **objetivo 4** (Diseño de estrategia de difusión de resultados obtenidos a la población general), se incluyeron dos proyectos que, si bien no han sido publicados siguiendo los cauces de los artículos anteriores, sí han dado como fruto 3 trabajos: dos estudios sobre percepción del riesgo, uno de ellos con un informe público, y una guía.

Proyecto A: Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla.

- **Análisis de percepción de riesgo en población general:** Echeverría, R., Pérez-Carrascosa, F.M., Kouiti, M., Requena, P., Rodríguez-Pérez, C., Barrios-Rodríguez, R., Salcedo-Bellido, I., Arrebola, J.P. Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla. Microproyecto UGR. **(Trabajo 5)**

Proyecto B: Contaminantes químicos y maternidad.

- **Análisis de percepción de riesgo en embarazadas y profesionales sanitarios:** Larrea-Killinger, C., Echeverría, R., Arrebola, J.P., 2020. Contaminantes químicos ambientales y maternidad. El impacto de la información entre profesionales y mujeres embarazadas y lactantes. Asociación Observatorio de la Alimentación (ODELA) de la Universidad de Barcelona. **(Trabajo 6)**
http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/Informe_encuesta.pdf
- **Guía para mujeres embarazadas y lactantes:** Arrebola, J.P., Echeverría, R., Larrea-Killinger, C., 2020. Contaminantes químicos ambientales presentes en el día a día. Guía de recomendaciones a mujeres embarazadas y lactantes. Asociación Observatorio de la Alimentación (ODELA) de la Universidad de Barcelona. **(Trabajo 7)**
http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/ES_guia_emba.pdf

Con ellos se buscaba evaluar el interés y el conocimiento de la población, así como informar sobre los posibles efectos de los contaminantes ambientales. El público objetivo era general y por ello se incluyó toda la población de las ciudades de Granada y Melilla en el trabajo 5, pero se quiso incidir especialmente en población de zonas desfavorecidas que podrían tener dificultades de acceso a información sobre salud y medio ambiente, bien por su nivel educativo, por dificultades de idioma, o por la denominada “barrera digital”. Por otro lado, las mujeres embarazadas y lactantes, son un colectivo de especial interés dada la importancia del momento de su exposición y los posibles efectos sobre su descendencia.

La financiación de esta parte de la investigación procedió de la convocatoria de microproyectos 2019-2020 del Vicerrectorado de Igualdad, Inclusión y Sostenibilidad de la Universidad de Granada (Proyecto A), del proyecto 17S05083-001 de la Universidad de Barcelona con fondos del Ayuntamiento de Barcelona (proyecto B) y del proyecto intramural de CIBERESP del Instituto de Salud Carlos III (ESP20PI05) (Proyecto B).

4.2.1. Población objetivo

Proyecto A

El municipio de Granada cuenta con unos 25.000 inmigrantes que en su mayoría residen en los distritos Norte, La Chana y El Zaidín debido al precio más asequible de la vivienda. Las personas de origen latinoamericano suelen escoger el Zaidín como lugar de residencia, mientras que en el Distrito Norte es mayoritaria la inmigración procedente del norte de África. En el caso de Melilla, la población inmigrante se encuentra altamente aislada del contexto de la población general, lo que se suma al aislamiento de la península. Con un PIB por habitante de 17.900 euros (Instituto Nacional de Estadística, 2021b), Melilla se sitúa como la tercera economía más pobre de España. La Cañada de Hidum, también llamada Cañada de la Muerte, de población mayoritariamente musulmana, es uno de los barrios más deprimidos de nuestro país con una elevada tasa de delincuencia y donde más de un 15% de la población no sabe leer. La población inmigrante y otros colectivos desfavorecidos sufren de forma habitual una carencia de información en lo relativo a medioambiente y salud debido a las diferencias en cuanto a idioma, educación y recursos económicos, lo que repercute en la percepción del problema y en la capacidad para trasladar sus demandas o sugerencias a las autoridades.

Por otro lado, durante las últimas décadas, en España se ha producido un marcado proceso de envejecimiento de la población, con un crecimiento paralelo en la prevalencia de patologías crónicas no transmisibles, particularmente en zonas de bajo poder adquisitivo. Diversos factores condicionan la relativa baja participación de este colectivo en la toma de decisiones comunitarias, que incluyen, además de impedimentos físicos, la falta de formación en el manejo de las tecnologías de la comunicación y una falta de concienciación acerca de la problemática medioambiental, especialmente a nivel local, como refleja el Ecobarómetro de Andalucía de 2018 (Red de Información Ambiental de Andalucía, 2019).

Proyecto B

Según datos del Instituto Nacional de Estadística, en 2018 había algo más de 250.000 mujeres embarazadas en España (Instituto Nacional de Estadística, 2018). Aunque no se trata necesariamente de población desfavorecida ni con dificultades de acceso a la información, es una población que requiere una atención especial, ya que la exposición a contaminantes ambientales en ese periodo puede resultar en efectos adversos sobre el bebé. Así lo han demostrado múltiples investigaciones que relacionan la exposición a contaminantes como los PCBs con alteraciones en el peso al nacer, pesticidas con anomalías congénitas o productos desinfectantes con muerte fetal (Nieuwenhuijsen et al., 2013). La evitación de dichas sustancias puede repercutir muy positivamente en el estado de salud de madre y bebé. De hecho, existen indicios de que una reducción de la exposición a EDCs durante el embarazo podría prevenir la obesidad en la niñez (Shafei et al., 2018).

En estos dos proyectos se pone el foco en la participación consultiva, a través de la cual se obtiene una retroalimentación por parte de las comunidades objeto de estudio. Esto sería

un primer paso hacia el empoderamiento de dichos grupos, que permite que tengan más control sobre las decisiones que afectan a su bienestar y a su salud.

4.2.3. Metodología de los trabajos realizados para alcanzar el objetivo 4.

Trabajo 5. Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla.

El objetivo de este microproyecto, financiado por el Vicerrectorado de Igualdad, Inclusión y Sostenibilidad de la Universidad de Granada, era proporcionar un cauce de comunicación para que los residentes en las principales zonas de estudio (barrios desfavorecidos de Granada y Melilla) pudieran manifestar sus percepciones, necesidades y demandas en materia de medioambiente y salud a la comunidad científica y autoridades, de forma que se facilitara el diálogo entre vecinos y autoridades e investigadores, de cara a mejorar las actuaciones en materia de salud ambiental en dichos barrios. El proyecto se llevaría a cabo mediante la aplicación presencial y online de cuestionarios, así como la aplicación de técnicas de investigación cualitativas por medio de grupos focales y entrevistas en profundidad con la colaboración de entidades que desarrollaban su actividad *in situ*. Con el fin de alcanzar la población objetivo, concentrada en los distritos Norte, Chana y Zaidín en Granada, y Cañada de Hidum en Melilla, se contó con la colaboración de:

- Centro de Servicios Sociales El Zaidín-Vergeles
- Federación de Asociaciones de Madres y Padres del Alumnado de Melilla (FAMPA Melilla)
- Asociación Almanjáyár en Familia (ALFA)

Tras su aprobación, el trabajo se inició en febrero de 2020 y, debido a la situación de pandemia por COVID-19 y tras una revisión de los plazos, fue pospuesto en varias ocasiones. Es más, a causa de la situación de confinamiento y, posteriormente, la baja actividad presencial en las organizaciones colaboradoras, tuvo que modificarse el alcance del proyecto, disminuyendo el tamaño de la población que participaría en las acciones presenciales y dando mayor peso al cuestionario online.

Teniendo en cuenta la heterogeneidad de la población objetivo, la aplicación del cuestionario (**Anexo 1**) se realizó de forma online y presencial. El cuestionario online se desarrolló en la plataforma LimeSurvey (v.3.19.2+191017) a través de la Universidad de Granada. El tiempo de respuesta para las 14 preguntas mayoritariamente cerradas de que constaba era inferior a 5 minutos y se dio prioridad a la claridad y brevedad, de forma que no se perdieran respuestas por agotamiento del participante. Las respuestas eran totalmente anónimas y no se recogió ningún dato personal que pudiera identificar al participante. El cuestionario fue elaborado en español y traducido a inglés, francés y árabe. Se realizó un piloto inicial con el fin de realizar las correcciones necesarias antes de proceder a su publicación en la web de la UGR (<https://encuestas.ugr.es/index.php/322697?lang=es>), donde a fecha de depósito de esta tesis todavía es accesible en sus cuatro idiomas. Al mismo tiempo, se realizó una versión en papel del cuestionario para ser aplicado por los colaboradores de las

entidades participantes, si bien finalmente optaron por rellenarlo online con ayuda de un entrevistador que formulaba las preguntas a quienes no disponían de herramientas para responder online, no entendían los idiomas, no sabían leer o presentaban dificultades en la comprensión de las preguntas. La difusión del mismo se realizó a través de las entidades colaboradoras y por medio del método “bola de nieve”.

El estudio cualitativo constó de grupos focales y de entrevistas en profundidad, a través de los cuales se pretendía recabar información complementaria a la recogida en los cuestionarios del estudio cuantitativo. Se llevaron a cabo en las sedes de las organizaciones participantes, que jugaron un papel protagonista en estas acciones. A las personas implicadas dentro de cada organización se les proporcionó una formación previa de forma telemática para conducir los grupos focales y ejecutar las entrevistas, para lo que contaban con guiones elaborados a tal fin (**Anexo 2**). Los participantes fueron debidamente informados y firmaron el consentimiento correspondiente que permitió grabar las entrevistas en audio y/o vídeo.

El proyecto se publicitó a través de:

- Carteles informativos en las sedes de las entidades participantes.
- Información en los sitios web de la UGR, UGR solidaria y de las entidades colaboradoras.
- E-mailing a las bases de datos de las entidades colaboradoras.
- Posts en twitter a través del perfil del grupo de investigación: @SapyamGI.

En una segunda fase de este proyecto se realizará un informe con el análisis completo de los resultados finales, del cual se presenta una muestra preliminar en esta tesis, y se distribuirá a las autoridades de Granada y Melilla.

El análisis de los resultados fue realizado con SPSS Statistics (v.20.0) y la elaboración de gráficos y mapas se llevó a cabo mediante excel (Office 2016) y QGIS3 (v.3.8.0 Zanzibar).

Trabajo 6. Análisis de percepción de riesgo: ***Contaminantes químicos ambientales y embarazo***. En el último trimestre de 2020 se elaboró y aplicó una encuesta que buscaba conocer el impacto de la primera edición de la guía “Contaminantes ambientales presentes en los alimentos”, tanto en profesionales de la salud, como en mujeres embarazadas y lactantes. El cuestionario se desarrolló en formato online en la plataforma LimeSurvey (v.3.19.2+191017) a través de la Universidad de Granada. En las 23 preguntas principalmente cerradas de que constaba, que en conjunto requerían un tiempo total de respuesta inferior a 5 minutos, se buscó la claridad y la sencillez para que los participantes respondieran sin necesidad de contar con entrevistadores entrenados. Las respuestas eran totalmente anónimas, sin requerir ningún dato personal que pudiera emplearse para identificar al participante. Tras un pilotaje inicial y la mejora de algunos aspectos formales y lingüísticos, el enlace al cuestionario en sus versiones en español y catalán fue enviado a través de email y redes sociales a los profesionales que habían recibido la primera edición de la guía, así como a grupos de

profesionales de la salud y de mujeres embarazadas y lactantes. Las organizaciones e instituciones contactadas de forma directa fueron:

- Hospital Sant Joan de Déu
- Federació Catalana Grups de Suport a la Lactància Materna
- Liga de la Leche
- Federación Española de Asociaciones pro-lactancia materna (FEDALMA)
- Asociación Española de Matronas
- Associació Catalana de Llevadores
- Associació de Doules de Catalunya
- Asociación Española de Ginecología y Obstetricia (AEGO)
- Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia (SEGO)
- Societat Catalana d'Obstetrícia i Ginecologia (SCOG)

De ellas, 4 comunicaron su aceptación y trasladaron el cuestionario a sus miembros/profesionales, entre ellas el Hospital Sant Joan de Déu y la Societat Catalana d'Obstetrícia i Ginecologia (SCOG). En otros casos, solo se obtuvo una respuesta vaga o informal y no fue posible comprobar si sus miembros participaron en la encuesta. Por cuestiones logísticas, el tiempo de funcionamiento del cuestionario era limitado, lo que dificultó la participación de algunas organizaciones cuya normativa interna requería un periodo de tiempo largo antes de la aprobación.

El cuestionario permaneció abierto durante 50 días en los que se recogieron 183 respuestas, de las que 151 se consideraron válidas (cuestionario completado y envíos no duplicados). El 75.5% de los participantes eran profesionales del ámbito hospitalario y de atención primaria, y más de la mitad de estos profesionales eran especialistas en ginecología y obstetricia. Durante la encuesta y al final de ella se invitó a los participantes a descargar la guía original o su actualización (Trabajo 7), ampliando así su difusión. Las secciones y preguntas de la encuesta se presentan en el **Anexo 3**.

Tras la finalización del periodo de recogida de información, se elaboró un breve informe que resumía los aspectos más relevantes, bajo el título: ***Contaminantes químicos ambientales y maternidad. El impacto de la información entre profesionales y mujeres embarazadas y lactantes***. El informe fue publicado a finales de diciembre de 2020 en la web de la Universidad de Barcelona en formato online y puede consultarse en:

http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/Informe_encuesta.pdf

Las herramientas empleadas en el análisis estadístico y la representación gráfica para este informe fueron SPSS Statistics (v.20.0), excel (Office 2016) y QGIS3 (v.3.8.0 Zanzibar).

Trabajo 7. Guía: ***Contaminantes químicos ambientales presentes en el día a día. Guía de recomendaciones a mujeres embarazadas y lactantes***. Se trata de una guía cuya primera versión se editó por primera vez en 2017 y cuyo objetivo era proporcionar una herramienta eficaz para que los profesionales sanitarios pudieran informar a las mujeres embarazadas sobre las sustancias químicas presentes en los alimentos a las

que podrían exponerse inadvertidamente y que podrían afectar a la salud de su bebé, con el fin de que pudieran evitarlas o reducir su impacto. El trabajo 7 consistió en la revisión, actualización, traducción y nueva maquetación de dicha guía, incluyendo nuevos puntos de interés, como los cosméticos o los tejidos, que no se habían abordado previamente. La guía se elaboró en español, catalán e inglés y se distribuyó en formato digital a través de la web de la Universidad de Barcelona (http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/ES_guia_emba.pdf), dándole difusión por medio de colectivos de profesionales y mujeres embarazadas, a los que se llegó por medio de email y redes sociales. También se envió a los profesionales que habían recibido la primera edición de la guía, tras invitarles a participar en la encuesta que constituyó el trabajo 6 de esta tesis.

4.3. Aspectos éticos

La investigación con la cohorte GraMo cuenta con el visto bueno del Comité de Ética de la Investigación Biomédica Provincial de Granada (CEI GRANADA), que dio su primera aprobación en 2016 (acta 8/2016) y que la reiteró con fecha 7 de diciembre de 2020. Los participantes han recibido desde el principio información detallada de objetivos y metodología de los estudios y todos firmaron el consentimiento informado correspondiente. En el caso de los proyectos de percepción del riesgo y difusión, se obtuvo la aprobación del Comité de Ética de la Investigación del Hospital Virgen de la Arrixaca de Murcia el 30 de junio de 2020 (acta 06/2020) y del Comité de Ética de la Investigación Biomédica Provincial de Granada (CEI GRANADA) con fecha 5 de octubre de 2021.

Todos los datos obtenidos son confidenciales y solo los conocen los participantes que lo soliciten y los responsables del estudio. Se siguen las normas descritas en la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. El estudio se ha llevado a cabo siguiendo las normas reconocidas por la Declaración de Helsinki (52ª Asamblea General en Edimburgo, Escocia, octubre 2000), las Normas de la Buena Práctica Clínica y cumpliendo la normativa vigente española que regula la investigación clínica en humanos (Ley de Investigación Biomédica, Real Decreto 561/1993 y 033/2004).

5. Resultados

Los resultados de esta tesis se presentan en los 4 artículos científicos, complementados con dos informes correspondientes a los estudios de percepción de la exposición y una guía informativa. El último artículo presentado (Trabajo 4) no ha sido aceptado para su publicación en el momento de depósito de esta tesis, motivo por el que se presenta el manuscrito pendiente de revisión.

TRABAJO 1 (Objetivo 1)

Levels and determinants of adipose tissue cadmium concentrations in an adult cohort from Southern Spain.

Ruth Echeverría^a, Petra Vrhovnik^b, Inmaculada Salcedo-Bellido^{a,c,d}, Luz María Iribarne-Durán^{a,c}, Željka Fiket^e, Matej Dolenc^f, Piedad Martin-Olmedo^{c,g}, Nicolás Olea^{a,c,d}, Juan Pedro Arrebola^{a,c,d,*}.

a University of Granada, Granada, Spain

b Slovenian National Building and Civil Engineering Institute (ZAG), Ljubjana, Slovenia

c Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada, Hospitales Universitarios de Granada, Spain

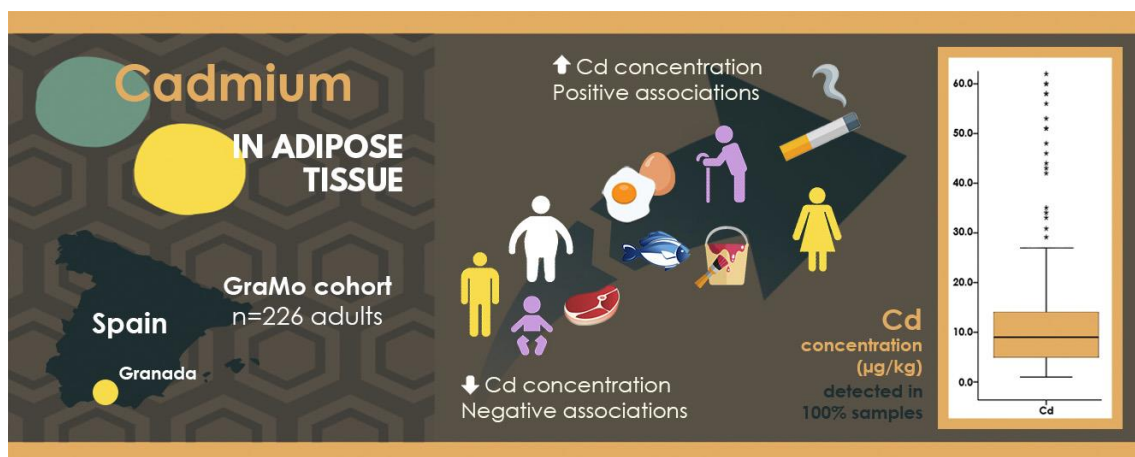
d CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain

e Ruđer Bošković Institute, Division for Marine and Environmental Research, Zagreb, Croatia

f University of Ljubljana, Faculty of Natural Sciences and Engineering, Department of Geology, Ljubljana, Slovenia

g Escuela Andaluza de Salud Pública, Granada, Spain

* Corresponding author



Publicado en *Science of the Total Environment*, 670 (2019) 1028–1036. Factor de impacto: 7.963, Q1, D1 (Pollution)

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.114>

HIGHLIGHTS

- We explored levels and determinants of adipose tissue Cd levels in 226 adults.
- Mean (\pm standard deviation) Cd concentration was 12.66 ± 18.91 $\mu\text{g}/\text{kg}$.
- Age, smoking, egg consumption and use of paints were positively associated with Cd.
- Obesity, sex = male, and meat consumption were negatively associated with Cd.
- Adipose tissue Cd concentrations might be an adequate proxy for long-term exposure.

ABSTRACT

This study was conceived as a first step to evaluate the suitability of adipose tissue cadmium (Cd) concentrations as a biomarker for the assessment of long-term exposure. Specifically, the aim of this work was to explore the socio-demographic, dietary, and lifestyle determinants of adipose tissue Cd concentrations.

The study population is a subsample of GraMo cohort. Adipose tissue samples were intraoperatively collected from 226 adult volunteers recruited in two public hospitals from Granada, Spain. Cd concentrations in adipose tissue were analyzed by High-Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (HR-ICP-MS). Data on socio-demographic characteristics, lifestyle, diet and health status were collected by face-to-face interviews. Predictors of Cd concentrations were assessed by multivariable linear regression with a stepwise variable selection.

We found detectable levels of Cd in the adipose tissue of all the study participants, with a mean concentration (\pm standard deviation) of 12.66 ± 18.91 $\mu\text{g}/\text{kg}$. Smoking habit at recruitment was associated with increased adipose tissue Cd concentrations (β for smokers= 0.669 , $p < 0.001$; β for former smokers= 0.502 , $p < 0.001$; reference= non-smokers). Age was positively associated with Cd concentrations ($\beta = 0.014$, $p < 0.001$), and men showed lower concentrations than women ($\beta = -0.424$, $p < 0.001$). Obesity, measured as Body Mass Index (BMI), showed an inverse association with Cd concentrations ($\beta = -0.038$, $p < 0.001$). Egg consumption ≥ 2 portions/week ($\beta = 0.241$, $p = 0.025$) was positively associated with Cd concentrations. Perceived exposure to paints was also positively associated with Cd concentrations. The observed associations with age, smoking habit, BMI, and egg and meat consumption did not substantially change after sex/gender stratification. Our results are consistent with currently-known Cd sources and suggest other potential pathways, which might be population specific.

As a whole, our findings underline the potential relevance of adipose tissue as a biological matrix for exposure characterization to Cd, as well as for the assessment of long-term clinical implications of the exposure, particularly in obesity-related diseases.

1. Introduction

Cadmium (Cd) is a metallic element widely used in industrial processes, such as certain paints, nickel-Cd batteries, as a stabiliser in thermoplastics (e.g. polyvinyl chloride), as well as in photography, lithography, tyres, and photoelectric cells in solar panels (Herron, 2003). Cd can also be found as an impurity in zinc, lead and copper ores and alloys, iron, steel, fossil fuels,

cement and some fertilizers (IARC, 2012). Phosphorus fertilizers are frequently used in greenhouses (Rodríguez-Martín et al., 2013), which can be a source of Cd contamination of soils, water, and, consequently, the trophic chain (Pan et al., 2010). Other anthropogenic sources include recycling, mining and smelting of zinc-bearing ores, the incineration of waste, the combustion of fossil fuels, and the releases of landfills, among others. The global Cd emission in the mid-90s was estimated in 3000 Tm, decreasing by a half in Europe in the period 1990–2003 (UNEP, 2008). Natural sources of Cd can be found in the Earth's crust and oceans with an average abundance of 0.1–0.2 mg/kg.

Diet and smoking are considered the main sources of Cd exposure in the general population. Ambient air, drinking-water, contaminated soils and dust can also contribute to the exposure, although to a lesser extent, but they could be more relevant for children (Schwartz, 2004). High concentrations of Cd are commonly found in leafy vegetables, starchy roots, cereals/grains, nuts and pulses, and also in specific animal products, e.g. kidney, liver and certain shellfish (IARC, 2012). The mean dietary exposure for the European general population is estimated in 2.04 µg/kg b.w. per week (EFSA, 2012), similar to the figures reported for the Spanish population (AESAN, 2011). Smoking is considered a relevant source of Cd exposure because of the relatively high concentrations in tobacco leaves. In 2009 the CONTAM Panel of the European Food Safety Authority (EFSA) established a tolerable weekly intake of 2.5 µg/kg b.w., which can be easily exceeded in vegetarians, smokers, children and people living in contaminated areas (EFSA, 2009).

Cd is a persistent pollutant, which is slowly degraded in the environment and living organisms (Järup, 2003). Consequently, some of the abovementioned uses have been restricted under the REACH regulation in the European Union in recent years (European Parliament and Council Directive 2013/56/EU; European Commission Regulation 494/2011). However, the majority of the general population still show detectable levels of Cd in blood and urine (López-Herranz et al., 2016; Pirard et al., 2018). Although the health effects of the chronic exposure to low doses of Cd (such as those occurring in the general population) remain unclear, there are certain evidences of renal dysfunction and urinary stone disease, hypertension, lung and prostate cancer, osteoporosis, low birth weight in the offspring, spontaneous miscarriage, obesity, and diabetes (Prozialeck and Edwards, 2012; IARC, 2012; Tinkov et al., 2017; Zang et al., 2019). Indeed, Cd is considered to be a “carcinogenic to humans”, by the International Agency for Research on Cancer (IARC, 2012).

Biomonitoring studies are frequently used to assess human exposure to environmental pollutants and their health implications, since internal levels of a pollutant typically account for the overall exposure from different sources and exposure pathways (Needham et al., 2007). The most common human biological matrices used to assess internal levels of Cd are blood and urine, although some research has been performed on hair, nails and saliva. The half-life of Cd strongly differs among biological compartments, e.g. from up to 60 years in the kidneys (Ramírez, 2002) to 3–4 months in blood (Talio et al., 2010). However, there is scant research on Cd concentrations in the adipose tissue, which is considered one of the main reservoirs of lipophilic pollutants as well as an important biological matrix in the development of certain chronic non-infectious diseases, e.g. cancer and metabolic syndrome. Nevertheless, research on adipose tissue concentrations of toxic and essential trace elements (TEs), as well as their biological implications, is still very scarce.

Considering the abovementioned statements, the present study was conceived as a first step to evaluate the suitability of adipose tissue Cd concentrations as a biomarker for the assessment of long-term exposure. Specifically, the aim of this work was to explore the sociodemographic, dietary, and lifestyle determinants of adipose tissue Cd concentrations.

2. Materials and methods

2.1. Study area, design and characteristics of participants

This study is part of a wider research which aims to analyse and identify environmental factors affecting the development of chronic diseases in GraMo, an adult cohort in Southern Spain. Study participants were recruited in two public hospitals from Granada province: San Cecilio University Hospital in the city of Granada (240,000 inhabitants, urban area), and Santa Ana Hospital in the town of Motril (50,000 inhabitants, semi-rural area). The recruitment has been extensively described elsewhere (Arrebola et al., 2009). The cohort was recruited in 2003–2004, from patients undergoing non-cancer-related surgery [hernias (41%), gallbladder diseases (21%), varicose veins (12%), and other conditions (26%)]. All subjects signed the informed consent forms and the study was approved by the Ethics Committee of Granada (Comité de Ética de la Investigación Biomédica de la Provincia de Granada).

Out of the 409 individuals contacted, 387 (95%) agreed to participate and were included in the initial cohort. Adequate adipose tissue samples for TE analyses were obtained from 226 (58%), that were used for cross-sectional analyses in the present study. Adipose tissue was collected from pelvic waist (50%), front abdominal wall (40%), and limbs (10%). There were no statistically significant differences in sex and age distributions between participants and non-participants. The main characteristics of the participants are shown in Table 1.

2.2. Independent variables

Socio-demographic characteristics, life-style, diet and health status data were gathered in face-to-face interviews, conducted by trained personnel at the recruitment during their hospital stay. Research procedures were standardised and validated in a pilot study with 50 subjects. The questionnaire was designed and validated in a previous investigation (Buckland et al., 2009; González and Riboli, 2010).

Body Mass Index (BMI) was expressed as weight/height squared (kg/m²). Participants were considered smokers or alcohol consumers at any level of consumption. Residence in the city of Granada at the time of the surgery was considered “urban” and residence in the area of Motril was considered “semi-rural”. The dietary section comprised a food frequency questionnaire that included the following food groups: meat, cold meats, fats, fish, eggs, milk, cheese, vegetables, legumes, fruit, bread, and pasta.

2.3. Sampling and Cd analyses

Samples of 5–10 g of adipose tissue were intra-operatively collected and immediately coded and stored at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. The adipose tissue samples were freeze-dried in a liophilizator for a minimum of 72 h, until they reached a plateau weight, at the Slovenian National Building and Civil Engineering Institute (ZAG) in Ljubljana (Slovenia), and kept at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ until their analysis. Subsamples of 0.1 g of adipose tissue underwent total digestion with a mixture of 7 mL of HNO_3 and 0.1 mL of HF in a microwave oven (Multiwave 3000, Anton Paar, Graz, Austria). After digestion samples were acidified with 2% (v/v) HNO_3 (65%, supra pur, Fluka, Steinheim, Switzerland), without further dilution, and indium (In, 1 $\mu\text{g/L}$) was added as internal standard. Acidification was used to achieve the stability of elements in the solution, while dilution factor was also important because very low Cd concentrations were quantified. The multielement analyses of the samples were performed in 2015 at the Laboratory for Inorganic Environmental Geochemistry and Chemodynamics of Nanoparticles, Ruđer Bošković Institute, Zagreb (Croatia), by High-Resolution Inductively Coupled PlasmaMass Spectrometry (HR-ICP-MS) using an Element 2 instrument (Thermo, Bremen, Germany). Further details on the methodology have been described elsewhere (Rodríguez-Pérez et al., 2018).

2.4. Statistical analyses

First, the shapes of the relationships between potential continuous predictors and Cd concentrations were visually evaluated through locally weighted scatterplot smoothing (LOWESS) and generalized additive models (GAM). Next, predictors of Cd concentrations were examined in multivariable linear regression models, using a combination of backward and forward stepwise variable selection techniques. In order to assess sex/gender-specific predictors, models were stratified by sex (men/women), and women-specific predictors (i.e., accumulated lactation time, gravidity, and menopausal status) were entered in the model for women. In pursuance to assess the potential influence of the different sources of adipose tissue (waist, abdomen and limbs) in the associations found, multivariable models were adjusted for this variable, but no relevant modifications in the coefficients were observed (data not shown in tables). The level of statistical significance was set at $p=0.050$ ($p=0.100$ as borderline significant). In the multivariable models, Cd concentrations were entered as a log-transformed variable.

Generalized standard-error inflation factors were used to verify the absence of collinearity between independent variables, while the homoscedasticity was tested by plotting residual against fitted values. The linearity of quantitative independent variables was checked with partial regression plots, and the normality of errors was verified using normal QQ plots with 95% confidence intervals. Data analyses were performed using R statistical computing environment v3.0 (R Core Team, 2013) and SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., 2013).

3. Results and discussion

3.1. Adipose tissue Cd concentrations in the study population

The adipose tissue concentrations of Cd and the characteristics of the study population are summarized in Table 1 and Fig. 1. We detected Cd in all (100%) the analyzed samples.

To the best of our knowledge, this is one of the very first epidemiological studies exploring Cd concentrations in human adipose tissue. Qin et al. (2010) observed mean adipose tissue Cd concentrations of 0.47 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in patients with uterine leiomyoma and of 0.38 $\mu\text{g}/\text{kg}$ in a control group. The concentrations in our population are higher, possibly due to the strong differences between the populations under study in terms of clinical background but also in the study regions, diet, and lifestyle of Southern Spain vs. Hong Kong, where the study of Qin et al. (2010) was performed.

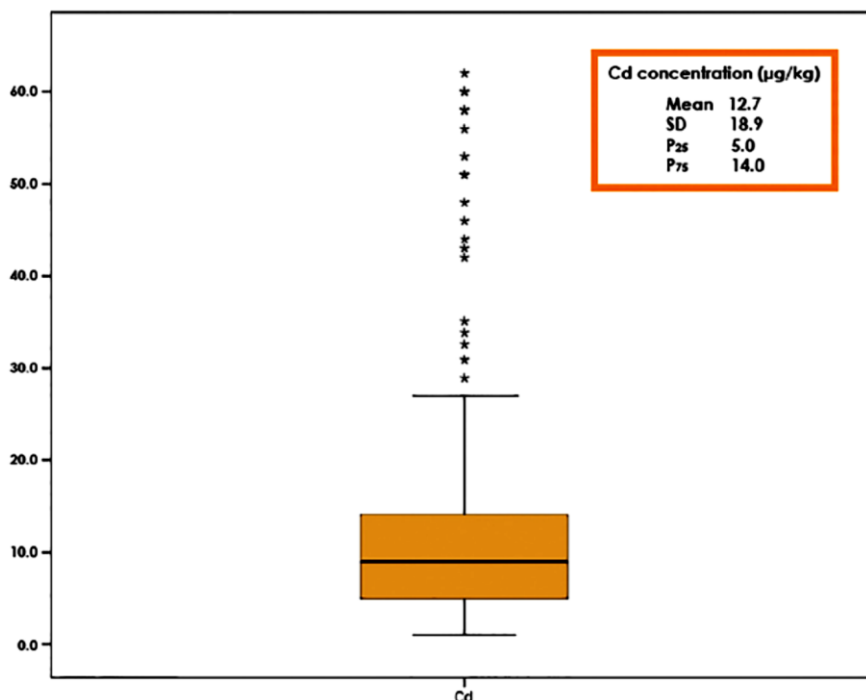


Fig. 1. Adipose tissue Cd concentrations in the study population ($\mu\text{g}/\text{kg}$)

Our results of detectable levels of Cd in all the study participants are in agreement with previous studies in other biological matrices. Previous research with healthy volunteers found Cd 5th–95th percentiles of 0.15–2.04 $\mu\text{g}/\text{L}$ in blood, 0.01–0.05 $\mu\text{g}/\text{L}$ in plasma, 0.06–0.79 $\mu\text{g}/\text{L}$ in urine, 0.004–0.17 ng/mg in hair (Goullé et al., 2005). Other authors report reference levels (95th percentile) of 0.55 $\mu\text{g}/\text{L}$ in blood, 0.32 g/L in urine, 0.41 ng/mg in hair, 0.018 ng/mg in nails and 0.43 $\mu\text{g}/\text{L}$ in saliva (Tirado et al., 2015). Our mean adipose tissue concentrations (12.66 $\mu\text{g}/\text{kg}$) are extremely difficult to compare to those obtained in other matrices, since relevant differences are expected according to the matrix composition.

Cd is considered a persistent and bioaccumulable element. After ingestion and absorption, Cd is mainly transported bound to certain lowmolecular-weight thiols, such as metallothionein (MT) and glutathione (Zalups and Ahmad, 2003). Around one third of Cd intake is transported to the kidneys, where Cd-MT complex is filtrated in the glomerulus, and reabsorbed in the proximal tubule, remaining in the tubulus cells for years (Cucu et al., 2011; Sabolić et al., 2010). Indeed, only 0,007% of the body burden is excreted via urine and 0.009% via feces (Kjellström and Nordberg, 1978). Cd is also partly secreted into the biliary tract in the form of Cd-Glutathione but, after enzymatic degradation to Cd-Cysteine complexes, Cd is reabsorbed in the small intestines. An estimated 50% of Cd body burden is accumulated in liver and kidneys, while the rest is distributed widely in other organs and tissues (Hammond and Beliles, 1980). Cd can also form aggregates with lipids (Kerek et al., 2017).

3.2. Predictors of adipose tissue Cd concentrations

Table 2 shows the results from the multivariable analysis of the potential predictors of adipose tissue Cd concentrations.

Table 2
Predictors of log-transformed adipose tissue Cd concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in GraMo cohort (men and women). Multivariable linear regression analysis.

	Beta	Standard error	p-Value
Sex = man	-0.424	0.106	<0.001
Age (years)	0.014	0.003	<0.001
BMI (kg/m^2)	-0.038	0.009	<0.001
Smoking habit ^a			
Former smoker	0.502	0.124	<0.001
Current smoker	0.669	0.127	<0.001
Egg consumption ^b ≥ 2 portions/week	0.241	0.107	0.025
Meat consumption ^c > 2 portions/week	-0.210	0.105	0.046
Fish consumption ^d ≥ 2 portions/week	0.160	0.108	0.140
Self-perceived exposure to paints	0.175	0.123	0.156

Multiple $R^2 = 0.2596$; adjusted $R^2 = 0.2284$; $p \leq 0.001$.

^a Reference category: non-smoker.

^b Reference category: egg consumption < 2 portions/week.

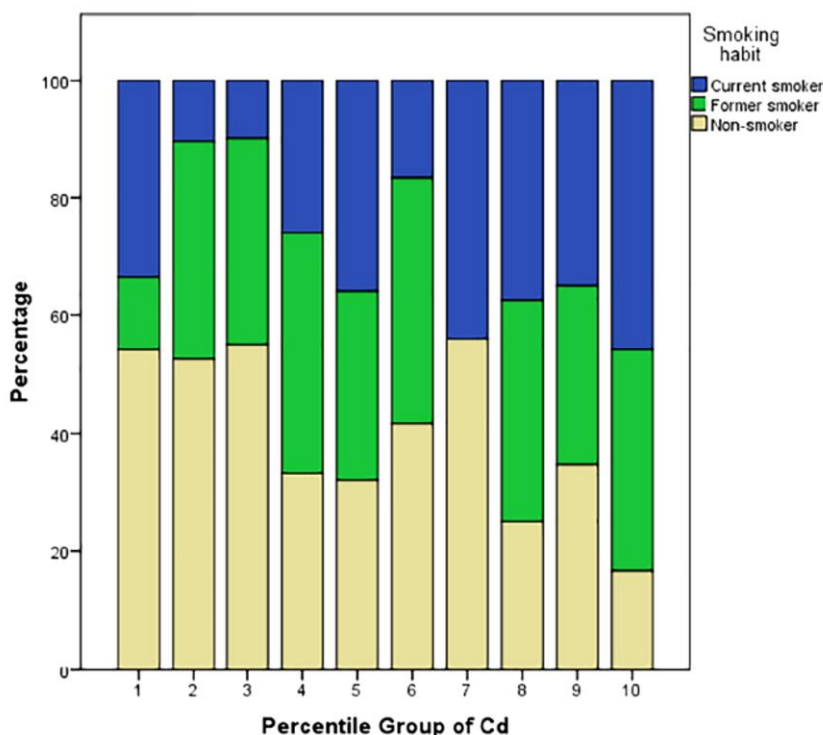
^c Reference category: meat consumption ≤ 2 portions/week.

^d Reference category: fish consumption < 2 portions/week.

Smoking habit emerged as a substantial predictor of Cd adipose tissue concentrations, in an apparently dose-response manner, with the current smokers showing the highest exposure levels (2-fold higher levels than non-smokers), followed by former smokers (1.7-fold higher levels). This finding is in agreement with previous investigations in other biological matrices, e.g. in blood, where smokers have been reported to exert even 4–5-fold higher Cd concentrations than nonsmokers (Järup et al., 1998). Actually, each cigarette is estimated to contain approximately 1.7 μg of Cd, and the smoker inhales up to 10% of this quantity (Morrow, 2001). The relatively strong positive association between smoking habit and adipose tissue Cd concentrations is depicted in Fig. 2, with an increasing number of smokers/former smokers in the upper deciles of Cd concentrations. Our results support the consideration of smoking as the most relevant determinant of Cd concentrations in the body, as previously suggested by other researchers (Marano et al., 2012; Satarug and Moore, 2004). In fact, Ratelle et al. have recently identified smoking as the main predictor of Cd concentrations in urine and blood in Northwestern Canadian communities population, even more important than a diet rich in animal organs, e.g. liver and kidney (Ratelle et al., 2018).

In the present study, we evidenced a positive association between age and Cd concentrations in adipose tissue. Despite the very limited previous research on adipose tissue, this finding is consistent with the bioaccumulative characteristics of this metal (Kjellström and Nordberg, 1978). Previous mathematical models in adult women predicted a lifespan monotonic curvilinear increase of urinary Cd with age until it leveled off at the age of 60–70 (Amzal et al., 2009). A similar plateau in renal Cd concentrations was found around the age of 50, consistent with the age-related degeneration of the kidney reabsorption function (Satarug et al., 2002). Results showing the increase of urinary Cd with age have been reported in the United States, Canada, China, Korea and Spain (US CDC, 2009; Health Canada, 2010; Sun et al., 2016; Lee et al., 2012; Huang et al., 2013; López-Herranz et al., 2016).

Fig.2. Smoking habit distribution according to deciles of adipose tissue Cd concentrations



In our opinion, the abovementioned findings in the multivariable models point to a certain degree of potential Cd bioaccumulation in adipose tissue, i.e. higher levels in the older participants as well as increased concentrations in former smokers vs non-smokers. Further research is warranted to confirm the existence and the extent of the potential bioaccumulation of Cd in adipose tissue, as well as to characterize predominant chemical forms and potential interactions with other metals, that could affect the biological implications of Cd concentrations (Yokel et al., 2006). For example, Cd can displace Zn already binded to MT to form Cd-MT (Funk et al., 1987), which could influence Zn bioaccumulation (Smidt et al., 2007). Furthermore, the complex Cu- Glutathione has the potential to remove both Zn and Cd from their MT-binded forms (Ferreira et al., 1993). In addition, co-exposure to Cd and Cr, or Cd and Pb, has been reported to reduce the glomerular filtration rate evenmore than when the exposure is limited to the individual TEs (Tsai et al., 2017).

Obesity was negatively associated with Cd concentrations, being consistent with the inverse associations found with Cd concentrations in urine (Padilla et al., 2010) and in blood (Garner and Levallois, 2016). A dilution effect might partially account for this observation, so that Cd concentrations in the adipose tissue would be diluted at very high levels of obesity, resulting in negative associations between BMI and the concentration of certain pollutants in adipose tissue (Arrebola et al., 2014; Wolff et al., 2000). Another feasible explanation of the negative association with BMI involves alterations found in the regulation of MT gene expression in obese and type 2 diabetes patients, and their influence on Zn concentrations (Do et al., 2002; Haynes et al., 2013; Szrok et al., 2016). Although results on this issue are not totally clear yet, similar mechanisms could alter Cd concentrations in adipose tissue, as Cd can easily displace Zn binded to MT. Indeed, the median BMI in GraMo cohort was 26.70, which is in the range of overweight as defined by the WHO (WHO, 2018). However, Cd has also been acknowledged as a potential obesogen and, therefore, capable of inducing obesity and obesity-related diseases (Green et al.,

2018). Future research should include other obesity measures, such as Waist Circumference, Waist-to-Hip Ratio, or Bioelectric Impedance, which could shed more light on this issue.

In our study we also evidenced some dietary predictors of Cd concentrations, although their influence was less evident in comparison to the rest of variables. We found a positive association of Cd adipose tissue concentrations with egg and meat consumption, but no statistically significant association was found with the intake of vegetables and legumes (data not shown). Previous studies have reported a major contribution of grains (26.9%) to dietary Cd intake in Europe, followed by vegetables (16.0%) and meat (7.7%) (EFSA, 2012).

Meat consumption is considered a relevant source of Cd exposure based on the sorption and retention of Cd^{2+} by amine groups in meat proteins (Lopes et al., 2007). Indeed, a previous study performed in Tenerife Island (Spain) by González-Weller et al. (2006) identified meat as a relevant exposure source. In contrast, we found a negative association in our population that needs to be further investigated, considering the specific types of meat products as well as the potential residual confounding effect of unmeasured variables.

Furthermore, our finding of a positive association between egg consumption and Cd concentrations was somehow unexpected. The grain-based diet of hens and the content of fat and albumin (which exerts high affinity to Cd) might explain this finding. The absorption of persistent pollutants by chickens and their excretion through eggs has been a matter of concern for decades (Van Eijkeren et al., 2006; Lovett et al., 1998). In fact, metal levels in bird eggs have been previously used as a marker of environmental contamination (Tsipoura et al., 2011; Gochfeld, 1997).

Despite the recent increasing concern regarding fish as a potential source of metal exposure (Perera et al., 2015), we found a positive but non-significant association of Cd adipose tissue concentrations with the frequency of fish consumption. This might be related to the fact that Cd concentrations in saltwater fish are lower than in fresh water fish. This is because Cd combines with chlorides to form $CdCl_2$, with less bioavailability for fish (the best form for direct uptake through fish gills is the free ion Cd^{2+} , which is more abundant in low salinity water) (Perera et al., 2015). Although we did not gather information on the fish origin, our study population is based on the Mediterranean coast, so that it is expected that saltwater fish is predominant in their diet. Noteworthy, because of its geological history, the Mediterranean Sea has an increased salinity in comparison to the Atlantic and other oceans in the world (Iorga and Lozier, 1999). Furthermore, large variability in the content of persistent pollutants in fish can be detected among fishing sites due to the differences in the exposure of sea fauna (Nicklisch et al., 2017), which might induce increased variability and, therefore, a certain degree of exposure misclassification. On the other side, previous studies have reported a predominant consumption of lean fish (49.5% women, 61.2% men) in inhabitants of Granada province, and a relatively low consumption of crustacea (18.0% woman, 12.1% men) or fatty fish (32.5% women, 26.5% men) (Welch et al., 2002), the latter traditionally considered to have a higher metal content (Olmedo et al., 2013). Indeed, our study population declared a higher consumption of lean than fatty fish (Table 1).

In the multivariable models, men showed lower Cd concentrations than women. This is in agreement with previous studies of Cd concentrations in blood, urine and kidneys (Vahter et al., 2007; López-Herranz et al., 2016). These differences might be related to sex (physiological) and/or gender-specific aspects (sociological). Interestingly, women at fertile age frequently show relatively decreased iron stores, which have been reported to induce gastrointestinal

absorption of Cd (Åkesson et al., 2002). In order to elucidate sex/gender-related differences in the predictors of the exposure, as well as the influence of women-specific characteristics, we further stratified the multivariable analyses by sex (Table 3), and tested women-specific variables in the models. We did not evidence any significant association of the number of pregnancies, number of children, months of breastfeeding, or menopausal status with Cd concentrations (data not shown).

Interestingly, those men that declared a frequent direct exposure to paints (including occupational and non-occupational exposure) showed increased Cd concentrations, although the association was only marginally significant. Other authors observed increased urinary Cd concentrations in individuals working with paints (Awodele et al., 2014), but the exposure can also be domestic since Cd is a common component in a number of pigments on the market (Faulkner and Schwartz, 2009). We believe that this finding also relates to socio-occupational aspects in the study region. In our study population, 29 men (23%) and only 14 women (14%) declared a frequent exposure to paints, which might hamper the finding of significant associations in women. However, the model coefficient in women was very far from the one in men, which also points to differences in the perception of the exposure among genders. Indeed, from those declaring frequent exposure, 7 (24%) men and only 1 (7%) woman were involved in occupations implying a daily handling of paints (professional painters). This could explain an increased occupational exposure in the male population.

Our findings reveal a generalized exposure to Cd in the study population, and highlight the potential relevance of adipose tissue Cd concentrations as a biomarker for exposure assessment. Despite our hospital-based cohort may not be entirely representative of the general population, as well as the cross-sectional design, which is susceptible of reversed-causality, most of the reported associations seem robust and consistent with previous research. Although this matrix might pose limitations in comparison to other biological compartments in terms of accessibility, we believe that adipose tissue Cd concentrations can provide relevant results on the potential long-term implications of the exposure. Indeed, adipose tissue concentrations are considered the most precise and stable estimator for the evaluation of accumulated exposure to other moderately lipophilic pollutants, such as persistent organic pollutants (Kohlmeier and Kohlmeier, 1995; Artacho-Cordon et al., 2015). Additionally, some TEs (e.g. vanadium, chromium) perform their biological effects in the adipose tissue (Tinkov et al., 2015; Wiernsperger and Rapin, 2010), and there are experimental evidences that some TEs in adipose tissue can induce insulin resistance and hypertriglyceridemia in *in vivo* models, suggesting a potential metabolic disrupting effect that should be confirmed in further epidemiologic studies (Hubler et al., 2015; Tinkov et al., 2015).

Table 3
Predictors of log-transformed adipose tissue Cd concentrations ($\mu\text{g}/\text{kg}$) in men and women from GraMo cohort. Multivariable linear regression analysis.

	Men			Women		
	Beta	Standard error	p-Value	Beta	Standard error	p-Value
Age (yrs)	0.017	0.004	<0.001	0.010	0.005	0.065
BMI (kg/m^2)	-0.029	0.013	0.021	-0.041	0.015	0.008
Smoking habit ^a						
Former smoker	0.491	0.181	0.008	0.440	0.202	0.032
Current smoker	0.642	0.179	<0.001	0.640	0.195	0.001
Egg consumption ^b ≥ 2 portions/week	0.210	0.151	0.167	0.197	0.161	0.226
Meat consumption ^c > 2 portions/week	-0.162	0.149	0.280	-0.282	0.150	0.063
Fish consumption ^d ≥ 2 portions/week	0.237	0.149	0.114	0.056	0.165	0.735
Self-perceived exposure to paints	0.287	0.165	0.085	-0.009	0.204	0.966

Men: multiple $R^2 = 0.3011$; adjusted $R^2 = 0.2529$; $p < 0.001$. Women: multiple $R^2 = 0.1981$; adjusted $R^2 = 0.1260$; $p = 0.009$.

^a Reference category: non-smoker.

^b Reference category: egg consumption < 2 portions/week.

^c Reference category: meat consumption ≤ 2 portions/week.

^d Reference category: fish consumption < 2 portions/week.

In this regard, the analysis of adipose tissue can shed light on the potential health effects of Cd, and can complement previous results in relevant matrices, such as urine and blood, which might have different biological meanings. Indeed, previous studies have suggested potential associations of long-term Cd exposure with the induction of oxidative stress (Liu et al., 2009), inflammation (Riemschneider et al., 2015), and endocrine disruption (Takiguchi and Yoshihara, 2006), as well as further development of certain obesity-related pathologies, such as metabolic syndrome (Tinkov et al., 2017) and cancer (Johnson et al., 2003), in which adipose tissue is believed to play an important (though not fully understood) role.

Further research is warranted on the clinical relevance of the adipose tissue Cd concentrations, as well as on specific aspects of their use as an exposure biomarker, such as the potential speciation in the matrix and concentrations in other populations from different regions. Considering previous studies, potential interactions between Cd and other TEs should be taken into account in the assessment of possible health effects (Tsai et al., 2017).

4. Conclusions

We detected Cd in all the adipose tissue samples from the study population, and identified certain predictors of the exposure, such as age, sex/gender, BMI, smoking habit, eggs and meat consumption and exposure to paints (the latter only in men). This points to a potential relevance of adipose tissue Cd concentrations for exposure characterization as well as for the assessment of long-term effects of chronic exposure to low levels of Cd, which are currently being studied in GraMo cohort.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgements

This study would have never been successful without the collaboration of the patients taking part in it. Dr. J.P. Arrebola is under contract within Ramon y Cajal program (RYC-2016-20155, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spain). This study was supported by research grants from CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III, Junta de Andalucía and European Regional Development Fund – FEDER (PI16/01858, BA15/00093, FIS PI-11/0610, EF-0428-2016 and PI-13/02406). This paper will be part of the Ph.D. thesis of Ruth Echeverria.

References

AESAN (Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición), 2011. Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a la evaluación del riesgo de la exposición de la población española a cadmio por consumo de alimentos. AESAN-2011-009.

http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/seguridad_alimentaria/evaluacion_riesgos/informes_comite/CADMIO_ALIMENTOS.pdf, Accessed date: 27 December 2018.

Åkesson, A., Berglund, M., Schütz, A., Bjellerup, P., Bremme, K., Vahter, M., 2002. Cadmium exposure in pregnancy and lactation in relation to iron status. *Am. J. Public Health* 92 (2), 284–287. <https://doi.org/10.2105/AJPH.92.2.284>.

Amzal, B., Julin, B., Vahter, M., Wolk, A., Johanson, G., Åkesson, A., 2009. Population toxicokinetic modeling of cadmium for health risk assessment. *Environ. Health Perspect.* 117, 1293–1301. <https://doi.org/10.1289/ehp.0800317>.

Arrebola, J.P., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Sánchez-Cantalejo, E., Jiménez-Ríos, J.A., Torne, P., Porta, M., Olea, N., 2009. Predictors of concentrations of hexachlorobenzene in human adipose tissue: a multivariate analysis by sex/gender/gender sex/gender in Southern Spain. *Environ. Int.* 35, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.009>.

Arrebola, J.P., Ocaña-Riola, R., Arrebola-Moreno, A.L., Fernández-Rodríguez, M., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N., 2014. Associations of accumulated exposure to persistent organic pollutants with serum lipids and obesity in an adult cohort from Southern Spain. *Environ. Pollut.* 195, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.08.003>.

Artacho-Cordon, F., Fernández-Rodríguez, M., Garde, C., Salamanca, E., Iribarne-Durán, L.M., Torné, P., Expósito, J., Papay-Ramírez, L., Fernández, M.F., Olea, N., Arrebola, J.P., 2015. Serum and adipose tissue as matrices for assessment of exposure to persistent organic pollutants in breast cancer patients. *Environ. Res.* 142, 633–643. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.08.020>.

Awodele, O., Popoola, T.D., Ogbudu, B.S., Akinyede, A., Coker, H.A., Akintonwa, A., 2014. Occupational hazards and safety measures amongst the paint factory workers in Lagos, Nigeria. *Saf. Health Work* 5 (2), 106–111. <https://doi.org/10.1016/j.shaw.2014.02.001>.

Buckland, G., González, C.A., Agudo, A., Vilardell, M., Berenguer, A., Amiano, P., Ardanaz, E., Arriola, L., Barricarte, A., Basterretxea, M., Chirlaque, M.D., 2009. Adherence to the Mediterranean diet and risk of coronary heart disease in the Spanish EPIC cohort study. *Am. J. Epidemiol.* 170 (12), 1518–1529. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp282>.

Cucu, D., D'Haese, P.C., De Beuf, A., Verhulst, A., 2011. Low doses of cadmium chloride and methallothionein-1-bound cadmium display different accumulation kinetics and induce different genes in cells of the human nephron. *Nephron Extra* 1, 24–37. <https://doi.org/10.1159/000330069>.

Do, M.S., Nam, S.Y., Hong, S.E., Kim, K.W., Duncan, J.S., Beattie, J.H., Trayhurn, P., 2002. Metallothionein gene expression in human adipose tissue from lean and obese subjects. *Horm. Metab. Res.* 34 (06), 348–351. <https://doi.org/10.1055/s-2002-33254>.

EFSA (European Food Safety Authority), 2009. Scientific opinion of the panel on contaminants in the food chain on a request from the European Commission on cadmium in food. *EFSA J.* 980, 1–139.

EFSA (European Food Safety Authority), 2012. Scientific report of EFSA: cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA J.* 10 (1), 2551. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2012.2551>.

European Commission Regulation (EU) No. 494/2011 of 20 May 2011 amending Regulation (EC) No. 1907/2006 of the European Parliament and of the Council on the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (REACH) as regards Annex XVII (Cadmium).

European Parliament and Council Directive 2013/56/EU of 20 November 2013 amending Directive 2006/66/EC of the European Parliament and of the Council on batteries and accumulators and waste batteries and accumulators as regards the placing on the market of portable batteries and accumulators containing cadmium intended for use in cordless power tools, and of button cells with low mercury content, and repealing Commission Decision 2009/603/EC.

- Faulkner, E.B., Schwartz, R.J. (Eds.), 2009. High Performance Pigments. John Wiley & Sons. Ferreira, A.M.D.C., Ciriolo, M.R., Marcocci, L., Rotilio, G., 1993. Copper(I) transfer into metallothionein mediated by glutathione. *Biochem. J.* 292 (Pt 3), 673–676. <https://doi.org/10.1042/bj2920673>.
- Funk, A.E., Day, F.A., Brady, F.O., 1987. Displacement of zinc and copper from copperinduced metallothionein by cadmium and by mercury: in vivo and ex vivo studies. *Comp. Biochem. Physiol. C Comp. Pharmacol.* 86 (1), 1–6. [https://doi.org/10.1016/0742-8413\(87\)90133-2](https://doi.org/10.1016/0742-8413(87)90133-2).
- Garner, R., Levallois, P., 2016. Cadmium levels and sources of exposure among Canadian adults. *Health Rep.* 27 (2), 10–18 Statistics Canada, Catalogue no. 82-003-X. <https://pdfs.semanticscholar.org/8c23/e6666ef2ba9c78474f0cb6c6a364191f67d6.pdf>, Accessed date: 26 December 2018.
- Gochfeld, M., 1997. Spatial patterns in a bioindicator: heavy metal and selenium concentration in eggs of Herring gulls (*Larus argentatus*) in the New York Bight. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 33 (1), 63–70. <https://doi.org/10.1007/s002449900224>.
- González, C.A., Riboli, E., 2010. Diet and cancer prevention: contributions from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. *Eur. J. Cancer* 46, 2555–2562. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.025>.
- González-Weller, D., Karlsson, L., Caballero, A., Hernández, F., Gutiérrez, A., González-Iglesias, T., Marino, M., Hardisson, A., 2006. Lead and cadmium in meat and meat products consumed by the population in Tenerife Island, Spain. *Food Addit. Contam.* 23 (8), 757–763. <https://doi.org/10.1080/02652030600758142>.
- Goullé, J.P., Mahieu, L., Castermant, J., Neveu, N., Bonneau, L., Lainé, G., Bouige, D., Lacroix, C., 2005. Metal and metalloid multi-elementary ICP-MS validation in whole blood, plasma, urine and hair: reference values. *Forensic Sci. Int.* 153 (1), 39–44. <https://doi.org/10.1016/j.forsciint.2005.04.020>.
- Green, A.J., Hoyo, C., Mattingly, C.J., Luo, Y., Tzeng, J.Y., Murphy, S.K., Buchwalter, D.B., Planchart, A., 2018. Cadmium exposure increases the risk of juvenile obesity: a human and zebrafish comparative study. *Int. J. Obes.*, 1 <https://doi.org/10.1038/s41366-018-0036-y>.
- Hammond, P.B., Beliles, R.P., 1980. Metals. In: Doull, J., Klaassen, C.D., Amdur, M.O. (Eds.), Casarett and Doull's Toxicology. Macmillan Publ. Co., Inc., New York, pp. 409–467. Haynes, V., Connor, T., Tchernof, A., Vidal, H., Dubois, S., 2013. Metallothionein 2a gene expression is increased in subcutaneous adipose tissue of type 2 diabetic patients. *Mol. Genet. Metab.* 108 (1), 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2012.10.012>.
- Health Canada, 2010. Report on Human Biomonitoring of Environmental Chemicals in Canada: Results of the Canadian Health Measures Survey Cycle 1 (2007–2009). <https://www.canada.ca/en/health-canada/services/environmental-workplacehealth/reports-publications/environmental-contaminants/report-human-biomonitoring-environmental-chemicals-canada-health-canada-2010.html>, Accessed date: 26 December 2018.
- Herron, N., 2003. Cadmium compounds. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology* <https://doi.org/10.1002/0471238961.0301041308051818.a01.pub2>.
- Huang, M., Choi, S.J., Kim, D.W., Kim, N.Y., Bae, H.S., Yu, S.D., Kim, D.S., Kim, H., Choi, B.S., Yu, I.J., Park, J.D., 2013. Evaluation of factors associated with cadmium exposure and kidney function in the general population. *Environ. Toxicol.* 28 (10), 563–570. <https://doi.org/10.1002/tox.20750>.
- Hubler, M.J., Peterson, K.R., Hasty, A.H., 2015. Iron homeostasis: a new job for macrophages in adipose tissue? *Trends Endocrinol. Metab.* 26, 101–109. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2014.12.005>.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 2012. Cadmium and cadmium compounds. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, Metals, Fibers and Dusts 100C,

pp. 121–141. IBM Corp. Released, 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. IBM Corp. Armonk, NY.

Iorga, M.C., Lozier, M.S., 1999. Signatures of the Mediterranean outflow from a North Atlantic climatology: 1. Salinity and density fields. *J. Geophys. Res. Oceans* 104 (C11), 25985–26009. <https://doi.org/10.1029/1999JC900115>.

Järup, L., 2003. Hazards of heavy metal contamination. *Br. Med. Bull.* 68 (1), 167–182. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>.

Järup, L., Berglund, M., Elinder, C.G., Nordberg, G., Vahter, M., 1998. Health effects of cadmium exposure—a review of the literature and a risk estimate. *Scand. J. Work Environ. Health* 24 (Suppl. 1), 1–51. <https://www.jstor.org/stable/40967243>, Accessed date: 26 December 2018.

Johnson, M.D., Kenney, N., Stoica, A., Hilakivi-Clarke, L., Singh, B., Chepko, G., Clarke, R., Sholler, P.F., Lirio, A.A., Foss, C., Reiter, R., 2003. Cadmium mimics the in vivo effects of estrogen in the uterus and mammary gland. *Nat. Med.* 9 (8), 1081. <https://doi.org/10.1038/nm902>.

Kerek, E., Hassanin, M., Zhang, W., Prenner, E.J., 2017. Preferential binding of inorganic mercury to specific lipid classes and its competition with cadmium. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1859 (7), 1211–1221. <https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2017.03.022>.

Kjellström, T., Nordberg, G.F., 1978. A kinetic model of cadmium metabolism in the human being. *Environ. Res.* 16 (1–3), 248–269. [https://doi.org/10.1016/0013-9351\(78\)90160-3](https://doi.org/10.1016/0013-9351(78)90160-3).

Kohlmeier, L., Kohlmeier, M., 1995. Adipose tissue as a medium for epidemiologic exposure assessment. *Environ. Health Perspect.* 103 (Suppl. 3), 99–106. <https://doi.org/10.1289/ehp.95103s399>.

Lee, J.W., Lee, C.K., Moon, C.S., Choi, I.J., Lee, K.J., Yi, S.M., Jang, B.K., Jun Yoon, B., Kim, D.S., Peak, D., Sul, D., 2012. Korea National Survey for environmental pollutants in the human body 2008: heavy metals in the blood or urine of the Korean population. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 215 (4), 449–457. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2012.01.002>.

Liu, J., Qu, W., Kadiiska, M.B., 2009. Role of oxidative stress in cadmium toxicity and carcinogenesis. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 238 (3), 209–214. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.01.029>.

Lopes, M.V., Korn, M., Pereira, M.D.G., Santana, E.P.D., Oliveira, F.S.D., Korn, M.D.G.A., 2007. Cadmium and lead retention in fresh and rotten red meat. *J. Braz. Chem. Soc.* 18 (4), 703–708. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532007000400006>.

López-Herranz, A., Cutanda, F., Esteban, M., Pollán, M., Calvo, E., Pérez-Gómez, B., Cortes, M.V., Castaño, A., Aleixandre, J.L., Aragonés, N., Bartolomé, M., 2016. Cadmium levels in a representative sample of the Spanish adult population: the BIOAMBIENT. ES project. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 26 (5), 471. <https://doi.org/10.1038/jes.2015.25>.

Lovett, A.A., Foxall, C.D., Creaser, C.S., Chewe, D., 1998. PCB and PCDD/DF concentrations in egg and poultry meat samples from known urban and rural locations in Wales and England. *Chemosphere* 37 (9–12), 1671–1685. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(98\)00233-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(98)00233-1).

Marano, K.M., Naufal, Z.S., Kathman, S.J., Bodnar, J.A., Borgerding, M.F., Garner, C.D., Wilson, C.L., 2012. Cadmium exposure and tobacco consumption: biomarkers and risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 64 (2), 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.07.008>.

Morrow, H., 2001. Cadmium and cadmium alloys. *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 5th ed. vol. 4. John Wiley & Sons, New York, pp. 471–507.

Needham, L.L., Calafat, A.M., Barr, D.B., 2007. Uses and issues of biomonitoring. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 210 (3–4), 229–238. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2006.11.002>.

- Nicklisch, S.C., Bonito, L.T., Sandin, S., Hamdoun, A., 2017. Geographic differences in persistent organic pollutant levels of yellowfin tuna. *Environ. Health Perspect.* 125 (6). <https://doi.org/10.1289/EHP518>.
- Olmedo, P., Pla, A., Hernández, A.F., Barbier, F., Ayouni, L., Gil, F., 2013. Determination of toxic elements (mercury, cadmium, lead, tin and arsenic) in fish and shellfish samples. Risk assessment for the consumers. *Environ. Int.* 59, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.05.005>.
- Padilla, M.A., Elobeid, M., Ruden, D.M., Allison, D.B., 2010. An examination of the association of selected toxic metals with total and central obesity indices: NHANES 99-02. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 7 (9), 3332–3347. <https://doi.org/10.3390/ijerph7093332>.
- Pan, J., Plant, J.A., Voulvoulis, N., Oates, J., Ihlenfeld, C., 2010. Cadmium levels in Europe: implications for human health. *Environ. Geochem. Health* 32, 1–12. <https://doi.org/10.1007/s10653-009-9273-2>.
- Perera, P.A.C.T., Kodithuwakku, S., Sundarabharathy, T., Edirisinghe, U., 2015. Bioaccumulation of cadmium in freshwater fish: an environmental perspective. *Insight Ecol.* 4 (1), 1–12.
- Pirard, C., Compere, S., Firquet, K., Charlier, C., 2018. The current environmental levels of endocrine disruptors (mercury, cadmium, organochlorine pesticides and PCBs) in a Belgian adult population and their predictors of exposure. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 221 (2), 211–222. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2017.10.010>.
- Prozialeck, W.C., Edwards, J.R., 2012. Mechanisms of cadmium-induced proximal tubule injury: new insights with implications for biomonitoring and therapeutic interventions. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 343 (1), 2–12. <https://doi.org/10.1124/jpet.110.166769>.
- Qin, Y.Y., Leung, C.K.M., Leung, A.O.W., Wu, S.C., Zheng, J.S., Wong, M.H., 2010. Persistent organic pollutants and heavy metals in adipose tissues of patients with uterine leiomyomas and the association of these pollutants with seafood diet, BMI, and age. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17 (1), 229–240. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0251-0>.
- R Core Team, 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria V 3.0. <http://www.R-project.org/>, Accessed date: 26 December 2018.
- Ramírez, A., 2002. Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos* Vol. 63, No. 1.
- Ratelle, M., Li, X., Laird, B.D., 2018. Cadmium exposure in first nations communities of the Northwest Territories, Canada: smoking is a greater contributor than consumption of cadmium-accumulating organ meats. *Environ. Sci. Process. Impacts* 20 (10), 1441–1453. <https://doi.org/10.1039/C8EM00232K>.
- Riemschneider, S., Herzberg, M., Lehmann, J., 2015. Subtoxic doses of cadmium modulate inflammatory properties of murine RAW264.7 macrophages. *BioMed Res. Int.* 2015, 295303 8 pages. <https://doi.org/10.1155/2015/295303>.
- Rodríguez-Martín, J.A., Ramos-Miras, J.J., Boluda, R., Gil, C., 2013. Spatial relations of heavy metals in arable and greenhouse soils of a Mediterranean environment region (Spain). *Geoderma* 200, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2013.02.014>.
- Rodríguez-Pérez, C., Vrhovnik, P., González-Alzaga, B., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Fiket, Ž., Kniewald, G., Arrebola, J.P., 2018. Socio-demographic, lifestyle, and dietary determinants of essential and possibly-essential trace element levels in adipose tissue from an adult cohort. *Environ. Pollut.* 236, 878–888. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.093>.
- Sabolić, I., Breljak, D., Škarica, M., Herak-Kramberger, C.M., 2010. Role of metallothionein in cadmium traffic and toxicity in kidneys and other mammalian organs. *Biometals* 23, 897. <https://doi.org/10.1007/s10534-010-9351-z>.

- Satarug, S., Moore, M.R., 2004. Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke. *Environ. Health Perspect.* 112 (10), 1099. <https://doi.org/10.1289/ehp.6751>.
- Satarug, S., Baker, J.R., Reilly, P.E.B., Moore, M.R., Williams, D.J., 2002. Cadmium levels in the lung, liver, kidney cortex and urine samples from Australians without occupational exposure to metals. *Arch. Environ. Health* 57, 69–77. <https://doi.org/10.1080/00039890209602919>.
- Schwartz, J., 2004. Air pollution and children's health. *Pediatrics* 113 (Supplement 3), 1037–1043. <https://doi.org/10.1542/peds.113.4.S1.1037>.
- Smidt, K., Pedersen, S.B., Brock, B., Schmitz, O., Fisker, S., Bendix, J., Wogensen, L., Rungby, J., 2007. Zinc-transporter genes in human visceral and subcutaneous adipocytes: lean versus obese. *Mol. Cell. Endocrinol.* 264 (1–2), 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.10.010>.
- Sun, H., Wang, D., Zhou, Z., Ding, Z., Chen, X., Xu, Y., Huang, L., Tang, D., 2016. Association of cadmium in urine and blood with age in a general population with low environmental exposure. *Chemosphere* 156, 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.013>.
- Szrok, S., Stelmanska, E., Turyn, J., Bielicka-Gieldon, A., Sledzinski, T., Swierczynski, J., 2016. Metallothioneins 1 and 2, but not 3, are regulated by nutritional status in rat white adipose tissue. *Genes Nutr.* 11 (1), 18. <https://doi.org/10.1186/s12263-016-0533-3>.
- Takiguchi, M., Yoshihara, S.I., 2006. New aspects of cadmium as endocrine disruptor. *Environ. Sci. Int. J. Environ. Physiol. Toxicol.* 13 (2), 107–116.
- Talio, M.C., Luconi, M.O., Masi, A.N., Fernández, L.P., 2010. Cadmium monitoring in saliva and urine as indicator of smoking addiction. *Sci. Total Environ.* 408 (16), 3125–3132. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2010.03.052>.
- Tinkov, A.A., Sinitskii, A.I., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., Gatiatulina, E.R., Skalnaya, M.G., Skalny, A.V., Nikonorov, A.A., 2015. Alteration of local adipose tissue trace element homeostasis as a possible mechanism of obesity-related insulin resistance. *Med. Hypotheses* 85 (3), 343–347. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.06.005>.
- Tinkov, A.A., Filippini, T., Ajsuvakova, O.P., Aaseth, J., Gluhcheva, Y.G., Ivanova, J.M., Bjørklund, G., Skalnaya, M.G., Gatiatulina, E.R., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., 2017. The role of cadmium in obesity and diabetes. *Sci. Total Environ.* 601, 741–755. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.224>.
- Tirado, L.R., González-Martínez, F.D., Martínez, L.J., Wilches, L.A., Celedón-Suárez, J.N., 2015. Niveles de metales pesados en muestras biológicas y su importancia en salud. *Rev. Nac. Odontol.* 11 (21), 83–99. <https://doi.org/10.16925/od.v11i21.895>.
- Tsai, T.L., Kuo, C.C., Pan, W.H., Chung, Y.T., Chen, C.Y., Wu, T.N., Wang, S.L., 2017. The decline in kidney function with chromium exposure is exacerbated with co-exposure to lead and cadmium. *Kidney Int.* 92 (3), 710–720. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.03.013>.
- Tsipoura, N., Burger, J., Newhouse, M., Jeitner, C., Gochfeld, M., Mizrahi, D., 2011. Lead, mercury, cadmium, chromium, and arsenic levels in eggs, feathers, and tissues of Canada geese of the New Jersey Meadowlands. *Environ. Res.* 111 (6), 775–784. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.05.013>.
- UNEP (United Nations Environment Program), 2008. Interim Review of Scientific Information on Cadmium. UNEP, Geneva.
- US CDC, 2009. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. Centers for Disease Control and Prevention. Department of Health and Human Services, USA <https://www.cdc.gov/exposurereport/pdf/fourthreport.pdf>, Accessed date: 26 December 2018.

- Vahter, M., Åkesson, A., Lidén, C., Ceccatelli, S., Berglund, M., 2007. Gender differences in the disposition and toxicity of metals. *Environ. Res.* 104 (1), 85–95. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.08.003>.
- Van Eijkeren, J.C., Zeilmaker, M.J., Kan, C.A., Traag, W.A., Hoogenboom, L.A.P., 2006. A toxicokinetic model for the carry-over of dioxins and PCBs from feed and soil to eggs. *Food Addit. Contam.* 23 (05), 509–517. <https://doi.org/10.1080/02652030500512045>.
- Welch, A.A., Lund, E., Amiano, P., Dorronsoro, M., Brustad, M., Kumle, M., Rodriguez, M., Lasheras, C., Janzon, L., Jansson, J., Luben, R., 2002. Variability of fish consumption within the 10 European countries participating in the European Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Public Health Nutr.* 5 (6b), 1273–1285. <https://doi.org/10.1079/PHN2002404>.
- WHO (World Health Organization), 2018. World Health Organization Fact Sheet N311: Obesity and Overweight. February 2018. <https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>, Accessed date: 26 December 2018.
- Wiernsperger, N., Rapin, J., 2010. Trace elements in glucometabolic disorders: an update. *Diabetol. Metab. Syndr.* 2 (1), 70. <https://doi.org/10.1186/1758-5996-2-70>.
- Wolff, M.S., Zeleniuch-Jacquotte, A., Dubin, N., Toniolo, P., 2000. Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev.* 9, 271–277.
- Yokel, R.A., Lasley, S.M., Dorman, D.C., 2006. The speciation of metals in mammals influences their toxicokinetics and toxicodynamics and therefore human health risk assessment. *J. Toxicol. Environ. Health B* 9 (1), 63–85. <https://doi.org/10.1080/15287390500196230>.
- Zalups, R.K., Ahmad, S., 2003. Molecular handling of cadmium in transporting epithelia. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 186 (3), 163–188. [https://doi.org/10.1016/S0041-008X\(02\)00021-2](https://doi.org/10.1016/S0041-008X(02)00021-2).
- Zang, Y., Devleeschauwer, B., Bolger, P.M., Goodman, E., Gibb, H.J., 2019. Global burden of late-stage chronic kidney disease resulting from dietary exposure to cadmium, 2015. *Environ. Res.* 169, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.005>.

TRABAJO 2 (Objetivo 3)

Adipose tissue cadmium concentrations as a potential risk factor for insulin resistance and future type 2 diabetes mellitus in GraMo adult cohort.

Inmaculada Salcedo-Bellido ^{a,b,c}, Celia Gómez-Peña ^d, Francisco M. Pérez-Carrascosa ^{a,c,e}, Petra Vrhovnik ^f, Vicente Mustieles ^{b,c,g}, Ruth Echeverría ^a, Željka Fiket ^h, Celia Pérez-Díaz ^a, Rocío Barrios-Rodríguez ^{a,b,c,*}, José Juan Jiménez-Moleón ^{a,b,c}, Juan Pedro Arrebola ^{a,b,c,*}

a Universidad de Granada. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Granada, Spain

b Consortium for Biomedical Research in Epidemiology and Public Health (CIBERESP), Madrid, Spain

c Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.Granada, Granada, Spain

d Unidad de Gestión Clínica de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario San Cecilio, Granada, Spain

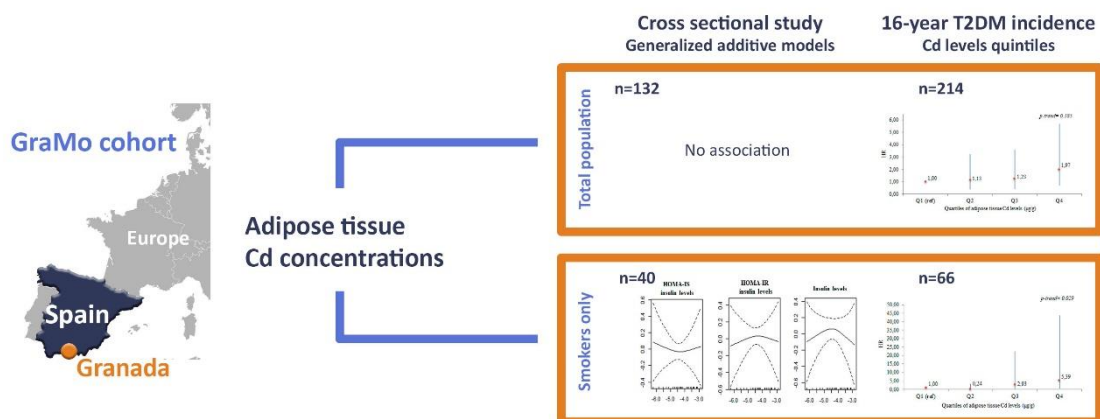
e Radiation Oncology Department, Virgen de las Nieves University Hospital, Granada, Spain

f Slovenian National Building and Civil Engineering Institute (ZAG), Ljubljana, Slovenia

g University of Granada, Center for Biomedical Research (CIBM), Granada, Spain

h Ruđer Bošković Institute, Division for Marine and Environmental Research, Zagreb, Croatia

* Corresponding authors



Publicado en Science of the Total Environment, 780 (2021) 146359. Factor de impacto: 7.963, Q1, D1 (Pollution) <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146359>

KEYWORDS

Cadmium, Type 2 diabetes mellitus, Adipose tissue, Biomonitoring, Insulin resistance, Insulin sensitivity.

ABSTRACT

Adipose tissue has been recently highlighted as a promising matrix for evaluation of cadmium's (Cd) long-term exposure although not frequently considered in epidemiological studies. The association between Cd exposure and type 2 Diabetes Mellitus (T2DM) remains unclear. This work aimed to explore the association between adipose tissue Cd levels and T2DM incidence over a 16-year follow-up in an adult cohort from Southern Spain considering smoking status. We also performed complementary cross-sectional analyses focused on subclinical markers of glucose homeostasis at recruitment.

Clinical information was obtained from hospital databases. Socio-demographic characteristics, lifestyle and diet were collected by face-to-face interviews. Homeostatic model assessment (HOMA) values of insulin sensitivity/resistance and β -cell function were calculated using fasting serum glucose, insulin, and C-peptide levels at recruitment. Adipose tissue Cd concentrations were quantified by inductively coupled plasma mass spectrometry. Statistical analyses were performed by means of Cox-regression and multivariable linear regression models.

Participants in the 4th quartile (Q4) of Cd concentrations showed a non statistically-significant increased T2DM risk (Hazard Ratio (HR) Q4 vs Q1: 1.97; 95% Confidence Interval (CI): 0.69, 5.66). This association was particularly strong and suggestive in current smokers (HR: 2.19; 95% CI: 0.98, 4.98). Interestingly, smokers in the 2nd tertile (T2) of adipose tissue Cd levels showed increased log-transformed insulin resistance (beta T2 vs T1: 0.52; 95% CI: 0.07, 0.97), as well as higher log-transformed insulin levels (beta T2 vs T1: 0.52; 95% CI: 0.08, 0.95).

We found evidences supporting that Cd exposure, particularly from tobacco smoking, could be a risk factor for T2DM. In addition, our results support the potential relevance of adipose tissue as a matrix for Cd exposure assessment.

1. Introduction

In 2019, the International Diabetes Federation estimated that 463 million adults aged 20–79 years lived with diabetes worldwide, and over 50% of them remained undiagnosed. The number of cases expected by 2030 is 578 million. Around 90% of diabetics have type 2 diabetes mellitus (T2DM) (IDF Atlas, 2019), characterized by a variable defect of insulin secretion and action in more than 90% of cases (Hurtado and Vella, 2019).

Although the etiology of T2DM is the result of complex interactions between environmental and genetic factors (Skyler et al., 2017), the evidences suggest that environmental modifiable factors could play a relevant role in its development (Alonso-Magdalena et al., 2011; Sargis and Simmons, 2019; Thayer et al., 2012). Unhealthy nutrition habits (Kolb and Martin, 2017), high-energy density diet, sedentary lifestyle and adiposity are critical contributors to insulin resistance and, therefore, higher risk of T2DM (Chatterjee et al., 2017). On the other hand, it has been suggested that exposure to environmental chemical pollutants such as heavy metals may also contribute to the growing T2DM prevalence (Franks and McCarthy, 2016).

Cadmium (Cd) is an ubiquitous heavy metal, highly persistent, and with known endocrine-disrupting potential (Järup and Åkesson, 2009; Sabir et al., 2019). Low-level chronic exposure to

Cd has been related to adverse health effects, including renal dysfunction, osteoporosis, cancer, cardiovascular diseases, obesity and cancer (Gallagher et al., 2008; IARC (International Agency for Research on Cancer), 2012; Navas-Acien et al., 2005; Maria et al., 2008; Zang et al., 2019). Concretely, several epidemiological studies and meta-analyses have reported a positive association between Cd levels and T2DM risk in several populations (Guo et al., 2019; Hansen et al., 2017; Li et al., 2017; Little et al., 2020; Tinkov et al., 2017), although the results are still controversial (Borné et al., 2014; Feng et al., 2015; Simić et al., 2017; Wu et al., 2017) and the role of Cd remains unclear yet. It is noteworthy that most of the published studies are cross-sectional and, therefore, their results found should be considered with caution.

Human exposure to Cd occurs through ambient air, drinking water, dust, soil and diet (Nordberg et al., 2015). In addition, smoking is considered a major non-occupational source of Cd exposure due relatively high levels in tobacco leaves (American Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2012; Echeverría et al., 2019). Human biomonitoring can be useful to estimate human exposure Cd from all possible routes and sources in the population (Yang et al., 2019). Despite urine and blood are the most common biological matrices to assess internal Cd levels (Echeverría et al., 2019), adipose tissue has recently gained attention as a potentially-relevant exposure matrix for Cd (Egger et al., 2019; Qin et al., 2010; Tinkov et al., 2015). In addition, experimental studies have reported associations of Cd adipose tissue levels with altered expression of key adipogenic markers (e.g., proliferator-activator receptor gamma [PPAR- γ]) (Lee et al., 2012), reduced adipocyte size, as well as decreased expression of adiponectin and leptin (Kawakami et al., 2013, Kawakami et al., 2010). Moreover, the clinical relevance of adipose tissue on T2DM pathogenesis relies on its relevant metabolic and endocrine activity (Abranches et al., 2015; Coelho et al., 2013; Frayn et al., 2007). Therefore, adipose tissue might represent a relevant target organ for metabolic disruptors (including Cd) (Mustieles and Arrebola, 2020; Tinkov et al., 2017), although it has been scarcely studied in epidemiological settings (Mustieles and Arrebola, 2020).

Human and laboratory studies indicated that chronic Cd exposure can induce modifications in adipose tissue physiopathology through several mechanisms, such as adipogenesis modification, lipid and carbohydrate metabolism alteration, and endocrine dysfunction, predisposing individuals to insulin resistance and subsequent T2DM (Tinkov et al., 2017). Indeed, adipose tissue is considered the most appropriate matrix for the assessment of chronic exposure to other lipophilic contaminants, such as persistent organic pollutants (Cano-Sancho et al., 2018; Kohlmeier and Kohlmeier, 1995; Mustieles and Arrebola, 2020).

In fact, we previously reported detectable Cd levels in all adipose tissue samples from GraMo adult cohort, that were associated with known Cd exposure sources (Echeverría et al., 2019). The present analysis aimed to investigate the potential association between adipose tissue Cd levels and T2DM risk over a 16-year follow-up, and to evaluate whether smoking status plays a role in this association. Additionally, we performed complementary cross-sectional analyses using subclinical markers of glucose homeostasis at recruitment.

2. Materials and methods

2.1. Study population and setting

The participants in this research belong to an ongoing longitudinal study in an adult cohort from Southern Spain (GraMo cohort), that was designed to investigate the distribution of environmental factors and their influence on the development of chronic diseases. The characteristics of GraMo cohort, including further details on participants' recruitment, have been described extensively (Arrebola et al., 2010, Arrebola et al., 2009; Artacho-Cordón et al., 2019, Artacho-Cordón et al., 2016; Echeverría et al., 2019; Freire et al., 2020). From 2003 to 2004, participants were recruited in two public hospitals in the province of Granada: San Cecilio University Hospital in Granada city (240,000 inhabitants, urban area) and Santa Ana Hospital in the town of Motril (50,000 habitants, semi-rural area). Samples were intra-operatively collected, and reasons for surgery included hernias (41%), gallbladder diseases (21%), varicose veins (12%) and other conditions (26%). Eligible participants had to meet the following criteria: 1) aged over 16 years; 2) absence of cancer; 3) non-receipt of hormonal therapy, and 4) residence in the study areas for at least 10 years. The research protocol was approved by the Ethics Committee of Granada (Comité de Ética de Investigación Clínica de Granada, 8/2016). Individuals that agreed to participate signed the informed consent prior to their inclusion in the study.

Fig. 1 depicts a flow-chart diagram summarizing the process that yielded to the final study population in this study. A total of 409 individuals were contacted, from which 387 (95%) agreed to participate. From these, an adequate adipose tissue sample for Cd determination was obtained from 226 (58%). Further, 12 participants had a T2DM diagnosis at recruitment, leaving a total of 214 participants for the longitudinal analyses. From these, and based on adequate serum sample availability, 132 participants were included in the complementary cross-sectional analyses.

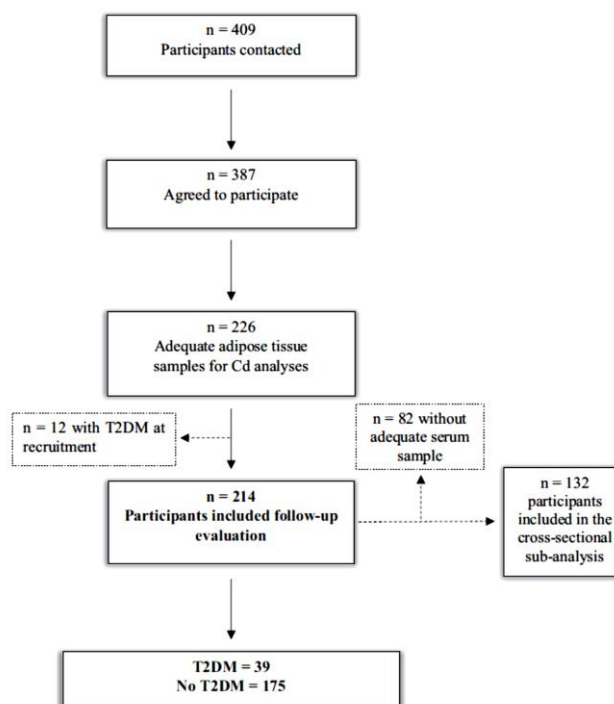


Fig. 1. Flow chart of the selection process of the study population. Cd: cadmium; T2DM: type 2 Diabetes Mellitus.

2.2. Data sources and variables

2.2.1. Sampling and Cd analyses

Adipose tissue samples (5–10 g) and 10 mL serum were collected and immediately coded and stored at –80 °C until chemical analysis. During a minimum of 72 h, samples were freeze-dried in a liophilizator until reached a plateau weight and then were kept at –80 °C until their analysis. Subsamples (0.1 g) of adipose tissue were subjected to total digestion in a microwave oven (Multiwave 3000, Anton Paar, Graz, Austria), by using a mixture of 7 mL HNO₃ (65%, supra pur) and 0.1 mL HF (48%, supra pur). Before analyses, samples were acidified with 2% (v/v) HNO₃ (65%, supra pur), and indium (1 µg/L) was added as the internal standard. Analyses of total Cd concentration in samples were performed at the Laboratory for Inorganic Environmental Geochemistry and Chemodynamics of Nanoparticles of Ruđer Bošković Institute (Zagreb, Croatia), by using High-Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (HR-ICP-MS) with an Element 2 instrument (Thermo, Bremen, Germany). Further details about analyses were described elsewhere (Arrebola et al., 2013; Echeverría et al., 2019; Freire et al., 2020; Rodríguez-Pérez et al., 2018).

Quality control of the analytical procedure was performed by simultaneous analyses of the blank and certified reference material (Mussel NCS ZC 78,005, Scallop (*Pecten maximus*) IAEA 452). Within analytical uncertainty ($\pm 10\%$), it was obtained a good agreement between all analyzed and certified levels for all elements.

2.2.2. Outcome assessment

Data from incident cases of T2DM were collected from: 1) DIRAYA clinical records database, that contents all clinical information for each person who uses the public health system, including primary and specialized care, with data on all diagnostic tests performed and pharmaceutical treatments of each patient; and 2) Medical prescriptions database. Data collection was performed in September and October 2019.

Criteria for incident T2DM diagnoses were: 1) T2DM diagnosis registered in DIRAYA database during the follow-up period, and/or 2) regular prescription of antidiabetic drugs registered in prescriptions database. A total of 26 patients with inconsistencies were found, which were further screened by a thorough double-check of clinical history sheets, consultation reports, laboratory data and other medical reports.

For those participants that developed T2DM, the time-to-event was defined as the period of time from the date of recruitment until the date of T2DM diagnosis and/or the initiation of chronic antidiabetic treatment. For the rest of participants, the time-to-event was defined as the period of time from the date of recruitment until the end of follow-up (15-October-2019) or death (whichever happened first). A total of 42 participants deceased during follow-up, from which 39 had developed T2DM.

2.2.3. Glucose homeostasis biomarkers

Biomarkers of glucose homeostasis (i.e., serum glucose, immunoreactive insulin (IRI) and C-peptide) were analyzed in serum samples collected at recruitment under 12-h fasting conditions and analyses were performed 15 years after recruitment (2018). Glucose was analyzed by means of a validated enzymatic method by using a Cobas c311 bioanalyzer (Roche, Spain) (Wu, 2006). Insulin and C-peptide were quantified by using validated in vitro immunological tests performed on a Cobas e-411 bioanalyzer (Roche, Spain) (Clark, 1999; Sapin, 2003). The Homeostasis Model

Assessment (HOMA) is considered a validated index of glucose homeostasis, which estimates steady state pancreatic beta cell function (%B) and insulin sensitivity (%IS), as percentages of a normal reference population. Based on previous articles, Levy et al., (1998) updated the HOMA model (HOMA2), taking into account variations in hepatic and peripheral glucose resistance, increases in the insulin secretion curve for plasma glucose concentrations above 180 mg/dL, and the contribution of circulating proinsulin. This model was recalibrated to also provide %B and %S values of 100% in normal young adults when using currently available assays for insulin, specific insulin or C-peptide (Levy et al., 1998). The HOMA2 Calculator v.2.2.3 was used to calculate HOMA-%B, HOMA-%IS and HOMA-IR (insulin resistance), the latter being the reciprocal or inverse of %IS ($100/\%IS$) values (<https://www.dtu.ox.ac.uk/homacalculator/>). In order to assess coherence and reduce potential bias, two types of HOMA-values were calculated by combining glucose levels with 1) insulin (HOMA- β (I), HOMA-IR (I), HOMA-IS (I)); and 2) C-peptide levels (HOMA- β (CP), HOMA-IR (CP), HOMA-IS (CP)) (Wallace et al., 2004).

2.2.4. Covariates

Covariates were collected by a structured questionnaire, administered face-to-face by trained interviewers at the recruitment during the hospital stay. We gathered information on sociodemographic and lifestyle characteristics, dietary habits, health status and known exposure to chemicals. Questionnaires were validated in previous researches (Buckland et al., 2009; Gonzalez and Riboli, 2010). In addition, participants completed a food frequency questionnaire that included the following food groups: meat, cold meats, fats, fish, eggs, milk, cheese, vegetables, legumes, fruit, bread, and pasta.

The covariates considered in this study were: age (years), educational level (incomplete primary, primary, higher), body mass index (BMI, Kg/m²), smoking habit (non-smokers, former smokers, current smokers), self-perceived habitual occupational or non-occupational exposure to paints (yes, no), and overall meat consumption (≤ 2 portions/week, > 2 portions/week). A participant was considered as smoker at any level of daily tobacco consumption (≥ 1 cig/day).

2.3. Statistical analysis

Descriptive analyses included median and interquartile range (IQR) (25-75th percentiles) for continuous variables and percentages for categorical variables.

Cox-regression models with time-to-events as the time variable were used to explore the association between adipose tissue Cd levels and the 16-year T2DM incidence. Hazard ratios (HRs) and their corresponding 95% confidence intervals (95% CI) were calculated. As part of the models' diagnostics, we tested the proportional hazards assumption by using the `cox.zph` function integrated in the R survival package (Therneau, 2021). Generalized additive models (GAM) were used to evaluate the functional form of the associations with `gamlss` package (Rigby and Stasinopoulos, 2005).

Cd concentrations were analyzed as log-transformed continuous variables for reducing the skewed distribution. Concentrations were also categorized in quartiles (1st quartile [Q1]: ≤ 5 ng/g; 2nd quartile [Q2]: 5.1–8 ng/g; 3rd quartile [Q3]: 8.1–15 ng/g; [Q4]: > 15 ng/g), considering Q1 as the reference category. In addition, p-trend values were calculated by entering the Cd levels in quartiles as an ordinal level indicator (i.e., 1, 2, 3, 4) in the models. We used the information from previous studies to identify a priori potential confounders (Echeverría et al., 2019). Covariates with p-value < 0.20 in the multivariable analysis were also retained in the models. Thus, models were finally adjusted for age, BMI, smoking habit, educational level, self-

perceived exposure to paints and meat consumption. Sex was not found to be a relevant confounder in the associations found.

The complementary analyses of the associations between adipose tissue Cd concentrations and markers of glucose homeostasis in 132 individuals were performed by means of multivariable linear regression models. We fit individual models considering each biomarker of log-transformed insulin resistance/sensitivity/beta-cell function as the dependent variable, and adipose tissue Cd levels in tertiles (1st tertile [T1]: ≤ 6 ng/g; 2nd tertile [T2]: 6.1–12 ng/g; 3rd tertile [T3]: >12 ng/g) as the independent variable. Models were adjusted for age, BMI, educational level, smoking habit, self-perceived exposure to paints and meat consumption. As part of the model diagnostics, generalized standard error inflation factors were used to assess the collinearity between independent variables, while homoscedasticity was tested by plotting residual against fitted values. The normality of errors was evaluated through normal QQ plots with 95% CI.

Once the overall adjusted models were fitted, we performed additional stratified analyses by smoking habit. Thus, individual models were fit for: 1) non-smokers/former smokers at recruitment and 2) smokers. We also performed sensitivity analyses by studying nonsmokers and former smokers separately. The rationale for the stratified analysis is based on our previous investigations supporting that smoking habit is, by far, the major source of adipose tissue Cd in smokers (Echeverría et al., 2019). Hence, expected health effects might differ considerably according to smoking status. The potential modifying effect of smoking habit on the associations found was tested by both entering in the model the product term of smoking habit * Cd levels as well as by stratified analyses. Considering the possibility that the associations found in smokers might be entirely an effect of the frequency of smoking, models for smokers were further adjusted for self-reported frequency of smoking (≤ 10 cig./day vs. >10 cig./day).

All statistical tests were two-sided and two levels of statistical significance were considered: $p \leq 0.050$ and $p \leq 0.100$ as borderline significant. R statistical computing environment v 4.0.3 (R Core Team, 2020) was used for data analyses.

3. Results

3.1. Characteristics of study participants

A summary of the general characteristics of total study participants ($n = 214$) is shown in Table 1. The median (IQR) time-to-event follow-up was 15.5 (11.4–16.0) years. Compared to participants in the Q1 of adipose tissue Cd levels, those in the Q4 were 1.2-fold older and had a 11.2% lower median BMI. In comparison to participants within the Q1 of Cd concentrations, there was a 2-fold increased proportion of smokers at recruitment in the Q4, as well as a 2-fold increased T2DM diagnoses over follow-up, 1.7-fold increased proportion of participants with incomplete primary studies, a slightly higher number of individuals reporting exposure to paints, and 62.9% higher meat consumers (≤ 2 portions/week). A similar distribution was found in the cross-sectional analyses with HOMA values (Supplementary Material, Table S1). At recruitment, smokers had significantly increased adipose tissue Cd concentrations, were younger and had lower BMI values (Supplementary Material, Table S2). In the overall population, 16 (69.6%) of individuals declared to habitually smoke >10 cig./day at recruitment (data not shown in tables).

Table 1
General characteristics of the study population in relation to quartiles (Q1–Q4) of cadmium adipose tissue concentrations (n = 214).

	Overall participants	Q1 (n = 54) ≤5 ng/g	Q2 (n = 53) 5.1–8 ng/g	Q3 (n = 54) 8.1–15 ng/g	Q4 (n = 53) >15 ng/g
Age (years), median (IQR)	52 (36–66)	48 (33–60)	49 (35–67)	51 (36–63)	59 (41–72)
BMI (kg/m ²), median (IQR)	27.2 (23.9–29.9)	28.5 (25.8–31.1)	27.4 (23.4–29.7)	27.2 (23.8–30.4)	25.3 (22.7–28.8)
Educational level, n (%)					
Incomplete primary	64 (29.9)	13 (24.1)	12 (22.6)	17 (31.5)	22 (41.5)
Primary	102 (47.7)	30 (55.6)	26 (49.1)	24 (44.4)	22 (41.5)
Secondary or higher	48 (22.4)	11 (20.4)	15 (28.3)	13 (24.1)	9 (17.0)
Smoking habit, n (%)					
Non-smokers	82 (38.3)	27 (50.0)	20 (37.7)	24 (44.4)	11 (20.8)
Former smokers	66 (30.8)	16 (29.6)	18 (34.0)	12 (22.2)	20 (37.7)
Current smokers	66 (30.8)	11 (20.4)	15 (28.3)	18 (33.3)	22 (41.5)
Self-perceived exposure to paints, n (%)					
No	171 (79.9)	46 (85.2)	41 (77.4)	41 (75.9)	43 (81.1)
Yes	43 (20.1)	8 (14.8)	12 (22.6)	13 (24.1)	10 (18.9)
Meat consumption, n (%)					
≤2 portions/week	79 (36.9)	15 (27.8)	18 (34.0)	22 (40.7)	24 (45.3)
>2 portions/week	135 (63.1)	39 (72.2)	35 (66.0)	32 (59.3)	29 (54.7)
T2DM at follow-up, n (%)					
No	175 (81.8)	48 (88.9)	43 (81.1)	44 (81.5)	40 (75.5)
Yes	39 (18.2)	6 (11.1)	10 (18.9)	10 (18.5)	13 (24.5)

Q: quartile; IQR: interquartile range (25th percentile–75th percentile); BMI: Body Mass Index; T2DM: type 2 Diabetes Mellitus.

3.2. Adipose tissue Cd levels and risk of T2DM

The results from the Cox-regression models of the influence of adipose tissue Cd levels on incident T2DM risk are provided in Table 2 (for log-transformed Cd levels) and Fig. 2 (using quartiles of Cd concentrations). Log-transformed Cd levels were positively but non-significantly associated with T2DM risk in overall participants (HR: 1.19; 95% CI: 0.74, 1.89, p-value: 0.474) (Table 2). A positive trend was further identified when considering quartiles of Cd concentrations, so that individuals in the highest quartile of Cd levels were at a nonsignificant increased risk of T2DM (HR Q4 vs Q1: 1.97; 95% CI: 0.69, 5.66, p-trend=0.185) (Fig. 2a, Fig. 3a). Adjusted models using Cd levels as continuous variable showed that age (HR: 1.06; 95% CI: 1.02, 1.10, p-value<0.001), BMI (HR: 1.14; 95% CI: 1.08, 1.21, p-value<0.001) and self-perceived exposure to paints (HR: 3.12; 95% CI: 1.59, 6.11, p-value = 0.001) were positively and significantly associated with T2DM risk (Supplementary Material, Table S3).

The potential modifying effect of smoking habit in the associations between adipose tissue Cd levels and T2DM incidence was tested both by entering in the model the product term “smoking habit (at recruitment) * Cd levels” and by stratified analyses. Although with different statistical significance, the two approaches yielded results in similar directions.

The interaction term was not significant at the conventional 0.05 level (HR: 1.82, 95% CI: 0.75, 4.44, p-value = 0.187). We found no significant association between Cd levels and T2DM in the non-smokers/former smokers group (HR: 0.85; 95% CI: 0.46, 1.58, p-value = 0.609, Table 2), neither when considering separately nonsmokers (HR: 0.89; 95% CI: 0.26, 3.13, p-value=0.861, Supplementary Material, Table S4) and former smokers (HR: 0.92; 95% CI: 0.40, 2.08, p-value = 0.839, Supplementary Material, Table S4). However, Cd concentrations were positively associated with T2DM risk in smokers (HR: 2.19; 95% CI: 0.98, 4.89, p-value=0.055) (Table 2). We performed additional analyses by using non-transformed Cd levels (ng/g) in order to ease the interpretability of results and similar results were obtained.

These analyses showed that an increase in one ng/g in Cd adipose tissue concentrations was associated with a 4% increase in T2DM risk among smokers (Supplementary Material, Table S5). Indeed, we observed a significant and positive trend of T2DM risk across adipose tissue Cd concentration quartiles (p-trend = 0.029, Fig. 2b, Fig. 3b), so that the highest Cd concentrations showed the highest T2DM risk (HR Q4 vs Q1: 5.39; 95% CI: 0.67, 43.60) (Fig. 2b). Further adjusted for self-reported frequency of smoking (≤ 10 cig./day; >10 cig./day) did not substantially modify the mentioned association (HR: 2.31; 95% CI: 0.94, 5.68, Supplementary Material, Table S4).

Table 2

Log-transformed cadmium adipose tissue concentrations (ng/g) and T2DM risk. Cox-regression models for overall participants and stratified by smoking habit.

Independent variable	Population group	n	Incident cases	HR (95% CI)	p-value
Log(Cadmium)	Overall participants	214	39	1.19 (0.74, 1.89) ^a	0.474
Log(Cadmium)	Non-smokers/former smokers	148	27	0.85 (0.46, 1.58) ^b	0.609
Log(Cadmium)	Smokers	66	12	2.19 (0.98, 4.89) ^b	0.055

T2DM: type 2 diabetes mellitus; HR: Hazard Ratio; 95% CI: confidence interval.

^a Adjusted for age, body mass index, educational level, smoking habit, self-perceived exposure to paints, meat consumption.

^b Adjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption.

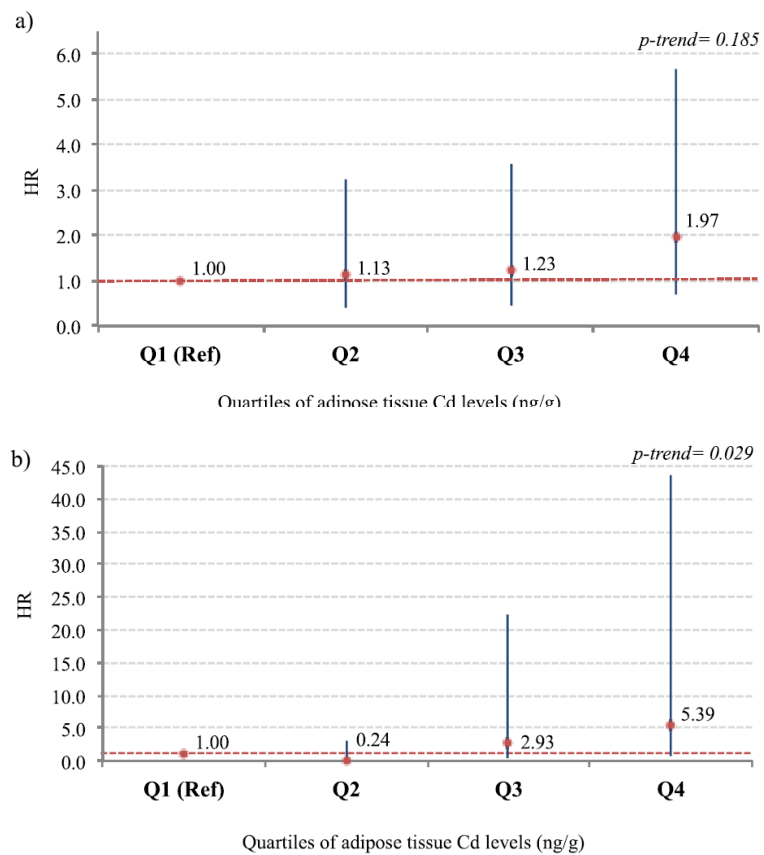


Fig.2. Quartiles of adipose tissue cadmium levels (ng/g) and T2DM risk in whole study population (a) and smokers (b). T2DM: type 2 Diabetes Mellitus; HR: Hazard Ratio; Q: Quartile; Ref: reference category. For each quartile of cadmium adipose tissue levels, hazard ratios with its corresponding 95% confidence intervals are represented. Model was adjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption (b) and smoking habit (a).

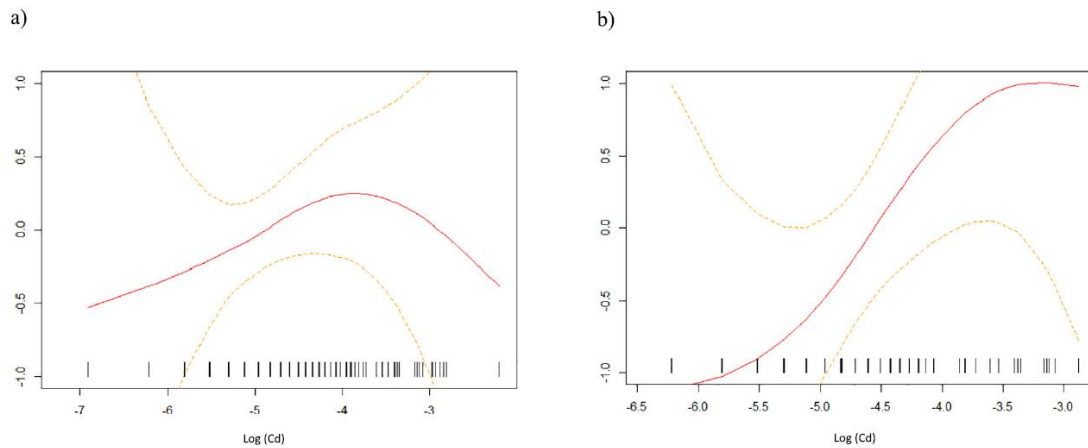


Fig. 3. Generalized Additive Models (GAMs) showing the relationship between adipose tissue cadmium levels and T2DM risk in the whole study population (a) and smokers (b). Cd: Cadmium; T2DM: type 2 Diabetes Mellitus. Model was adjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption (b) and smoking habit (a).

3.3. Relationship between HOMA-IR, HOMA-IS, HOMA- β and adipose tissue Cd levels

In the cross-sectional complementary analyses of adipose tissue Cd concentrations and glucose homeostasis markers, we observed no significant associations of Cd concentrations with HOMA-IR, HOMA-IS, HOMA- β , glucose, insulin and C-peptide levels when considering the whole study population. However, considering only smokers at recruitment, participants in the 2nd tertile of adipose tissue Cd levels showed 41% lower levels of HOMA-IS (I), 68% increased HOMA-IR (I), and 68% increased insulin in comparison to those in the 1st tertile (Supplementary Material, Table S6). These findings were observed only when HOMA-IR and HOMA-IS were calculated using basal (fasting) glucose and insulin levels and not when using C-peptide levels.

4. Discussion

Our results suggested that increased adipose tissue Cd levels might be related to an increased T2DM risk, predominantly in smokers. To the best of our knowledge, this is the first epidemiological study relating Cd levels in human adipose tissue with T2DM risk.

In this regard, our findings are in line with those from Li et al., 2017 who observed an increased T2DM risk in the 3rd tertile of plasma Cd levels (Odds Ratio (OR): 2.5, 95% CI: 1.5, 4.2). Additionally, in the third survey of the population-based Nord-Trøndelag Health Study, the prevalence of T2DM increased across quartiles of Cd blood levels (Ptrend: 0.027) (Hansen et al., 2017). Lastly, a recent research on 875 participants from a lead smelter community found that blood Cd levels were a significant predictor of T2DM risk (OR: 1.85, 95% CI: 1.14, 2.99) (Little et al., 2020). Conversely, urinary Cd was not associated to diabetes in a cross-sectional study with 2242 Chinese adults (Feng et al., 2015). Moreover, a prospective study with 4585 participants from the Malmö Diet and Cancer Study (1991–1994), did not observe an association across quartiles of Cd blood levels and 15-year diabetes incidence (Borné et al., 2014). Furthermore, a case-control study found a negative non-significant association between Cd blood levels and T2DM prevalence (OR: 0.61, 95% CI: 0.30, 1.23) (Simić et al., 2017). These discrepancies can also be observed in meta-analyses, with three reviews evidencing significant positive associations

between urinary Cd levels and diabetes risk (Guo et al., 2019; Little et al., 2020; Tinkov et al., 2017) but one reporting null results (Wu et al., 2017).

Discrepancies among studies might be partially related to the different sample sizes and study populations. The studied populations show specific and singular characteristics in relation to the exposure levels, sociodemographic, lifestyle and biological factors potentially affecting the susceptibility to the effect. Biological matrices sampled might also induce variability in the results, since blood Cd levels represent recent exposures whereas urinary Cd might be more representative of a wider exposure window (Guo et al., 2019). In this regard, our exposure estimation was based on adipose tissue Cd concentrations, that have been poorly studied in previous researches. However, adipose tissue may shed light on the metabolic potential of Cd and possible mechanisms of action (Egger et al., 2019; Tinkov et al., 2017). Moreover, adipose tissue is a metabolically active endocrine organ that plays a determinant role in the development of T2DM, since it has been described to send and respond to signals that modulate energy intake, insulin sensitivity and endocrine system among others (Abranches et al., 2015; Coelho et al., 2013). In fact, adipose tissue dysfunction is directly related to impaired insulin secretion and insulin resistance (Abranches et al., 2015).

Despite the mentioned uncertainties regarding the potential diabetogenic effect of Cd, several mechanisms of action have been proposed in experimental studies. Cd has been found to inhibit the glucose-6-phosphate dehydrogenase activity which can lead to diabetes (Santra et al., 2000; Vogiatzis and Loumbourdis, 1999). Moreover, Cd has been acknowledged to inhibit hexokinase during glycolysis, thus decreasing the availability of glucose-6-phosphate leading to a suppression of the phosphate pathway (Sabir et al., 2019). It has been reported that Cd tends to accumulate in β -cells in a dose-dependent manner, potentially affecting mitochondria function and, eventually, contributing to cellular dysfunction and decreased viability of β -cells (Jacquet et al., 2018). Cd exposure has also been reported to induce oxidative stress, proinflammatory signaling pathways and apoptosis in pancreatic β -cells, that can eventually result in insulin resistance and inhibited insulin secretion (Huang et al., 2019; Jacquet et al., 2016; Little et al., 2020; Tinkov et al., 2017). Furthermore, Cd exposure has also been documented to potentially disrupt glucose transport in insulin-independent and insulin-dependent tissues (Buha et al., 2020), such as hepatic GLUT2 (Tinkov et al., 2017) and GLUT4 in skeletal muscle and adipose tissue (Czech, 2020; Han et al., 2003; Petersen and Shulman, 2018).

Of particular importance is our observation of the potential effect modification of smoking habit on the relationship between adipose tissue Cd levels and T2DM, so that the effect of Cd was only evident in smokers at recruitment. Several biomonitoring studies have shown that smoking is the most important source of Cd exposure among smokers (Fatima et al., 2019; Nie et al., 2016; Paschal et al., 2000; Sabir et al., 2019; Son et al., 2015). Indeed, smokers present higher levels and variability of adipose tissue Cd concentrations, which might increase the likelihood of detecting significant associations (Fig. 4). It is noteworthy that a dose-response increase in adipose tissue Cd levels with smoking habit has already been observed in our study population, so that current smokers showed by far the highest Cd concentrations, followed by former smokers and, with the lowest concentrations, nonsmokers (Echeverría et al., 2019).

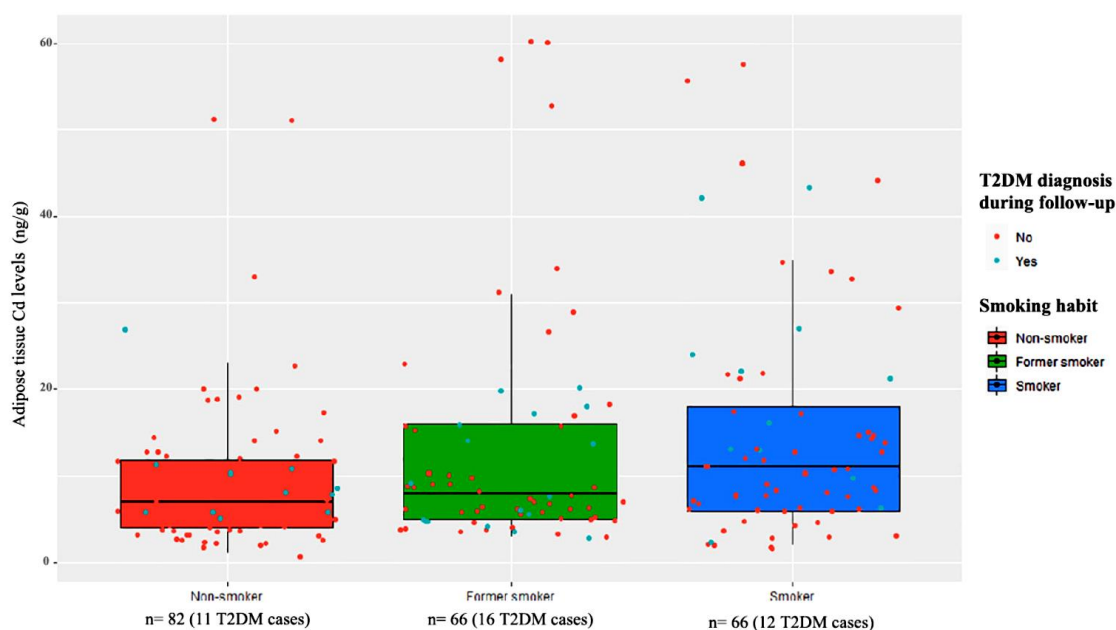


Fig. 4. Distribution of adipose tissue cadmium concentrations according to smoking habit at recruitment and T2DM diagnosis during follow-up. Boxplot T2DM: Type 2 Diabetes Mellitus. Median (black line) and 25th and 75th percentiles (IQR) (lower and upper hinge respectively) are represented as boxed. In order to avoid dot overlaps, each dot was shifted by a random value by using the `geom_jitter()` function of `ggplot2` package of R Statistical Computing Environment.

On the other hand, tobacco smoke can represent an independent T2DM risk factor, since it contains other potentially-diabetogenic chemicals such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and arsenic (Maddatu et al., 2017; Namand Kim, 2019; Xie et al., 2009). These exposures may act through different and/or converging mechanisms in relation to Cd, such as inhibition of glucose tolerance, insulin sensitivity, pancreatic beta cell function (Maddatu et al., 2017; Will et al., 2001), and induction of inflammatory and oxidative stress responses (Cheng et al., 2020). Therefore, it is certainly complex to isolate the effect of Cd from the mentioned exposures, and we cannot rule out a scenario in which Cd levels are a proxy of smoking habit, with the mentioned co-exposures accounting for the observed associations. In order to partially-address the confounding effect of smoking habit in the models for smokers, we performed additional analyses by adjusting for the frequency of smoking (≤ 10 cig./day; > 10 cig./day), that did not substantially change the previous Cd-T2DM association.

Interestingly, Trouiller-Gerfaux et al. (2019) evidenced an association between blood Cd concentrations and fasting blood glucose levels in current smokers (beta: 0.0032, 95% CI: 0.0005, 0.006, p-value: 0.02) but not in never-smokers (beta: -0.0021, 95% CI: -0.0063, 0.0021, p-value: 0.32). A study with 2398 participants of the 2009–2010 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) observed an association between urinary Cd and prediabetes (OR: 1.67, 95% CI: 1.12, 2.47), which was stronger among moderate smokers (OR: 1.95, 95% CI: 1.02, 3.72) (Wallia et al., 2014). Converging evidence was found in 8722 participants of 1988–1994 NHANES III with positive associations between urinary Cd levels ≥ 2 $\mu\text{g/g}$ creatinine and the prevalence of impaired fasting glucose and diabetes, both in ever-smokers (OR: 1.74, 95% CI: 1.29, 2.34) and non-smokers (OR: 1.40, 95% CI: 0.83, 2.35) (Schwartz et al., 2003). Conversely, in a cross-sectional study with 9447 participants from 1999 to 2010 NHANES no association

between urinary Cd levels and diabetes risk among either current or former smokers was observed (Menke et al., 2016). In addition, a prospective study with participants from the Malmö Diet and Cancer Study (1991–1994) did not evidence any association between Cd blood levels and the incidence of diabetes after stratification by smoking habit (Borné et al., 2014).

Our cross-sectional results did not entirely reproduce the findings in the longitudinal assessment, although we observed increased insulin resistance levels at intermediate Cd concentrations when using markers calculated by fasting glucose and insulin levels. Although we cannot rule out a non-monotonic relationship between Cd and insulin resistance, as previously for other potential endocrine disruptors (Lee et al., 2007, 2018), our findings might be related to a misclassification error in either exposure and effect, to which studies with very low sample sizes are more likely to be affected. In our study, HOMA values using insulin concentrations did not entirely coincide with those using C-peptide, although both showed similar directions. It is noteworthy that biochemical analyses were performed 15 years after recruitment, and C-peptide has been acknowledged to be more prone to degradation than insulin, even under strict $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ storage (Wallace et al., 2004).

Apart from those discussed above, our study presents certain limitations that should be considered in further researches. In fact, our relatively limited sample size could limit the statistical power to detect significant associations, although it allowed us to detect suggestive trends. On the other hand, despite the use of several clinical databases for the identification of incident T2DM cases, we cannot rule out a degree of underdiagnosis in our cohort, since previous reports have estimated the total prevalence of underdiagnosis of T2DM to be 6% in Spain (Soriguer et al., 2012). In our study, we did not account for changes in both exposure and covariates over the follow-up period, which is an inherent issue in longitudinal studies with a long follow up.

Nevertheless, these changes would cause a non-differential error, eventually leading the association measures to the null. We indeed used adipose tissue for exposure characterization on the bases that it has been acknowledged as a good estimator of long-term exposure to other persistent lipophilic pollutants, although further research is warranted in the particular case of Cd. In addition, we did not analyze the speciation status of Cd in adipose tissue, which could be helpful to assess the predominant chemical forms related to the observed outcomes. Finally, we cannot rule out residual confounding by co-exposure to other heavy metals or pollutants, or even to factors not yet identified.

5. Conclusions

We found evidences supporting that Cd exposure, particularly from tobacco smoking, could be a risk factor for T2DM. Despite the limitations, our suggestive results underline the potential of adipose tissue as a matrix for long-term exposure assessment to Cd, thus contributing to epidemiological research on the potential health effects.

CRedit authorship contribution statement

JPA: Conceptualization; JPA, ISB, CPD: Data curation, formal analysis; PV, ŽF, FMPC, CGP: Methodology; ISB: Writing - original draft; JPA, JJM: Supervision; PV, ŽF: Validation; VM, RE, RBR, JJM, FMPC, CGP, CPD: Writing – reviewing and editing.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

These results would not have been achieved without the selfless collaboration of the staff from Santa Ana and San Cecilio Hospitals and the participants who took part in the study. This work was supported by research grants from CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III and European Regional Development Fun-FEDER (PI16/01858, PI20/01568, PI18/01573) and Ministry of Higher Education, Science and Technology of the Republic of Slovenia (P2-0273). Dr. JPA is under contract within the Ramón y Cajal Program (RYC-2016-20155, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spain).

Appendix A. Supplementary data

Table S1. General characteristics of the subcohort included in the cross-sectional evaluation using glucose homeostasis markers (n=132). Results are presented for the whole sample as well as stratified by tertiles of adipose tissue Cd concentrations.

	Cross-sectional Overall participants	Tertiles of adipose tissue Cd concentrations		
		T1 (n=44) (≤ 6 ng/g)	T2 (n=44) (6.1-12 ng/g)	T3 (n=44) (>12 ng/g)
Age (years), median (IQR)	52 (36-63)	47 (34-59)	48 (34-61)	59 (41-70)
BMI (kg/m²), median (IQR)	27.3 (24.5-29.8)	27.7 (25.7-31.2)	27.3 (23.4-29.4)	26.1 (23.7-29.4)
Educational level, n (%)				
Incomplete primary	40 (30.3)	10 (22.7)	11 (25.0)	19 (43.2)
Primary	63 (47.7)	24 (54.6)	20 (45.5)	19 (43.2)
Secondary or higher	29 (21.9)	10 (22.7)	13 (29.6)	6 (13.6)
Smoking habit, n (%)				
Non-smoker	55 (41.7)	22 (50.0)	21 (47.7)	12 (27.3)
Former smoker	37 (28.0)	15 (34.1)	9 (20.5)	13 (30.0)
Current smoker	40 (30.3)	7 (15.9)	14 (31.8)	19 (43.2)
Self-perceived exposure to paints, n (%)				
No	110 (83.3)	39 (88.6)	35 (80.0)	36 (81.8)
Yes	22 (16.7)	5 (11.36)	9 (20.5)	8 (18.2)
Meat consumption, n (%)				
≤ 2 portions/week	54 (40.9)	16 (36.4)	16 (36.4)	22 (50.0)
> 2 portions/week	78 (59.1)	28 (63.6)	28 (63.6)	22 (50.0)
Glucose mg/dl, median (IQR)	93.7 (74.7-119.5)	92.5 (75.1-114.5)	96.5 (73.4-126.9)	86.8 (74.8-135.1)
Insulin μU/ml, median (IQR)	8.1 (5.7-13.0)	8.3 (5.7-12.4)	8.4 (6.0-15.5)	7.8 (5.6-12.7)
C-peptide ng/ml, median (IQR)	2.6 (2.1-3.7)	2.7 (2.0-3.9)	2.8 (2.0-3.7)	2.58 (2.2-3.7)
HOMA-β (CP), median (IQR)	146.5 (93.9-215.5)	153.4 (94.0-214.3)	133.8 (96.8-207.6)	143.5 (85.2-230.1)
HOMA-IS (CP), median (IQR)	50.6 (34.9-66.2)	48 (31.5-68.3)	48.8 (35.4-66.6)	54.7 (36.4-65.6)
HOMA-IR (CP), median (IQR)	1.9 (1.5-2.9)	2.1 (1.5-3.2)	2.1 (1.5-2.8)	1.8 (1.5-2.7)
HOMA-β (I), median (IQR)	93.9 (62.8-143.9)	91.1 (64.8-145.1)	101.4 (70.7-142.5)	84.2 (51.1-145.3)
HOMA-IS (I), median (IQR)	97.8 (55.9-134.9)	93.1 (59.5-144.7)	93 (45.5-130.4)	99.9 (57.2-134.1)
HOMA-IR (I), median (IQR)	1.9 (1.5-2.9)	1.1 (0.7-1.7)	1.1 (0.8-2.2)	1.0 (0.7-1.8)

T: Tertile; IQR: interquartile range (25th percentile-75th percentile); BMI: Body Mass Index; HOMA: homeostatic model assessment; (CP): values calculated using glucose and C-peptide levels; (I): values calculated using glucose and insulin levels.

Table S2. General characteristics of the population included in the longitudinal study and the subsample included in the cross-sectional study according to smoking status.

	Longitudinal study		Cross-sectional study	
	Non-smokers / former-smokers (n=148)	Smokers (n=66)	Non-smokers / former-smokers (n=92)	Smokers (n=40)
Cadmium (µg/g), mean (IQR)	7.5 (5-13.5)	11 (6-17)	7.5 (5-14)	11 (7-23)
Age (years), median (IQR)	57 (36-69)	42 (33-56)	55 (36-67)	46 (35-57)
BMI (kg/m²), median (IQR)	27.4 (24.1-30.1)	25.8 (23.1-29.9)	27.7 (24.7-29.4)	26.8 (23.1-30.9)
Educational level, n (%)				
Incomplete primary	47.0 (73.4)	17.0 (26.6)	28.0 (70.0)	12.0 (30.0)
Primary	69.0 (67.7)	33.0 (32.4)	44.0 (69.8)	19.0 (30.2)
Secondary or higher	32.0 (66.7)	16.0 (33.3)	20.0 (69.0)	9.0 (31.0)
Self-perceived exposure to paints, n (%)				
No	122.0 (71.4)	49.0 (28.7)	78.0 (70.9)	32.0 (29.1)
Yes	26.0 (60.5)	17.0 (39.5)	14.0 (63.9)	8.0 (36.4)
Meat consumption, n (%)				
≤ 2 portions/week	59.0 (74.7)	20.0 (25.3)	38.0 (70.4)	16.0 (29.6)
> 2 portions/week	89.0 (65.9)	46.0 (30.8)	54.0 (69.2)	24.0 (30.8)
Glucose mg/dl, median (IQR)			95.4 (74.9-116.3)	86.6 (74.7-136.4)
Insulin µU/ml, median (IQR)			8.3 (5.7-13.2)	8.0 (5.6-12.1)
C-peptide ng/ml, median (IQR)			2.7 (2.1-3.7)	2.4 (2.0-3.9)
HOMA-β (CP), median (IQR)			152.2 (94.0-222.1)	142.7 (93.6-169.9)
HOMA-IS (CP), median (IQR)			49.8 (36.3-66.3)	55 (32.8-67.4)
HOMA-IR (CP), median (IQR)			2.0 (1.5-2.8)	1.8 (1.5-3.1)
HOMA-β (I), median (IQR)			91.1 (64.8-149.6)	112.1 (53.5-140.5)
HOMA-IS (I), median (IQR)			97.6 (56.5-134.1)	97.8 (55.0-138.7)
HOMA-IR (I), median (IQR)			1.1 (0.8-1.8)	1.0 (0.7-1.8)

IQR: interquartile range (25th percentile-75th percentile); BMI: Body Mass Index; HOMA: homeostatic model assessment; (CP): values calculated using glucose and C-peptide levels; (I): values calculated using glucose and insulin levels.

Table S3. Effect of log-transformed adipose tissue Cd concentrations on T2DM risk in the whole study population (n=214). Cox-regression model with the independent variable and covariates.

	HR (95% CI)	p-value
Log-transformed Cd (ng/g)	1.19 (0.74, 1.89)	0.474
Age (years)	1.06 (1.02, 1.10)	<0.001
BMI (Kg/m²)	1.14 (1.08, 1.21)	<0.001
Educational level^a		
Primary	0.71 (0.32, 1.55)	0.388
Secondary or higher	2.15 (0.85, 5.39)	0.104
Smoking habit^b		
Current smoker	1.37 (0.64, 2.95)	0.416
Self-perceived exposure to paints	3.12 (1.59, 6.11)	0.001
Meat consumption > 2 portions/week^c	1.87 (0.92, 3.80)	0.082

Cd: Cadmium; T2DM: type 2 diabetes mellitus; HR: Hazard Ratio; 95% CI: confidence interval; BMI: body mass index. ^a Reference category: incomplete primary studies; ^b Reference category: non-smoker or former smoker; ^c Reference category: meat consumption ≤ 2 portions/week.

Table S4. Log-transformed cadmium adipose tissue concentrations (ng/g) and T2DM risk. Cox-regression models by smoking habit stratification.

Independent variable	Population group	n	Incident cases	HR (95% CI)	p-value
Log(Cadmium)	Non-smokers	82	11	0.89 (0.26, 3.13) ^a	0.861
Log(Cadmium)	Former smokers	66	16	0.92 (0.40, 2.08) ^a	0.839
Log(Cadmium)	Smokers	65	11	2.31 (0.94, 5.68) ^b	0.067

T2DM: type 2 diabetes mellitus; HR: Hazard Ratio; 95% CI: confidence interval. a: adjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption; b: adjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption, self-reported frequency of smoking (≤ 10 cig/day; > 10 cig/day). Information on smoking frequency was not gathered from two individuals, that were subsequently deleted from these analyses.

Table S5. Non-transformed cadmium adipose tissue concentrations (ng/g) and T2DM risk. Cox-regression models for overall participants, non-smokers and smokers.

Independent variable	Population group	n	Incident cases	HR (95% CI)	p-value
Cadmium	Overall	214	39	1.01 (0.98, 1.03) ^a	0.609
Cadmium	Non-smokers + Former smokers	148	27	0.98 (0.93, 1.02) ^b	0.305
Cadmium	Smokers	65	11	1.04 (0.99, 1.09) ^c	0.086

T2DM: type 2 diabetes mellitus; HR: Hazard Ratio; 95% CI: confidence interval. a: adjusted for age, body mass index, educational level, smoking habit (smoker; non-smokers+former smokers), self-perceived exposure to paints, meat consumption; b: adjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption; c: adjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption, self-reported frequency of smoking (≤ 10 cig/day; > 10 cig/day). Information on smoking frequency was not gathered from two individuals, that were subsequently deleted from these analyses.

Table S6. Associations of tertiles of adipose tissue cadmium levels (ng/g) with markers of insulin homeostasis in the whole study population and smokers. Linear regression models.

	Overall participants (n=132)		Smokers (n=40)	
	β^a (95% CI)	p-value	β^b (95% CI)	p-value
HOMA-β (CP) (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	-0.01 (-0.28, 0.26)	0.929	-0.04 (-0.56, 0.47)	0.867
T3	-0.05 (-0.34, 0.25)	0.744	-0.27 (-0.82, 0.28)	0.061
p-trend		0.746		0.364
HOMA-IS (CP) (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	0.03 (-0.17, 0.22)	0.798	-0.21 (-0.55, 0.14)	0.368
T3	0.02 (-0.19, 0.23)	0.853	0.01 (-0.35, 0.38)	0.835
p-trend		0.848		0.905
HOMA-IR (CP) (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	-0.03 (-0.22, 0.17)	0.798	0.21 (-0.14, 0.55)	0.250
T3	-0.02 (-0.23, 0.19)	0.852	-0.01 (-0.38, 0.35)	0.942
p-trend		0.846		0.906
HOMA-β (I) (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	0.10 (-0.19, 0.38)	0.508	0.17 (-0.35, 0.69)	0.526
T3	0.03 (-0.28, 0.34)	0.844	-0.32 (-0.87, 0.23)	0.259
p-trend		0.827		0.350
HOMA-IS (I) (Ref=T1)				

Cadmium				
T2	-0.11 (-0.37, 0.16)	0.436	-0.52 (-0.97, -0.07)	0.031
T3	-0.06 (-0.34, 0.23)	0.709	0.05 (-0.43, 0.53)	0.831
<i>p-trend</i>		0.692		0.881
HOMA-IR (I) (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	0.07 (-0.23, 0.36)	0.651	0.52 (0.07, 0.97)	0.031
T3	0.00 (-0.32, 0.32)	0.995	-0.05 (-0.53, 0.42)	0.825
<i>p-trend</i>		0.981		0.886
Glucose mg/dl (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	0.01 (-0.14, 0.17)	0.853	0.10 (-0.17, 0.37)	0.471
T3	0.02 (-0.15, 0.19)	0.811	0.14 (-0.15, 0.43)	0.360
<i>p-trend</i>		0.808		0.329
Insulin μU/ml (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	0.18 (-0.06, 0.42)	0.154	0.52 (0.08, 0.95)	0.026
T3	0.08 (-0.18, 0.34)	0.558	-0.09 (-0.55, 0.37)	0.705
<i>p-trend</i>		0.531		0.985
C-peptide ng/mL (Ref=T1)				
Cadmium				
T2	-0.02 (-0.19, 0.15)	0.824	0.18 (-0.14, 0.50)	0.287
T3	0.00 (-0.19, 0.18)	0.970	-0.06 (-0.41, 0.28)	0.717
<i>p-trend</i>		0.963		0.872

HOMA- β , HOMA-IS, HOMA-IR, glucose and insulin levels were log-transformed and included as a dependent variable in multiple linear regression model. HOMA: homeostatic model assessment; (CP): values calculated using glucose and C-peptide levels; (I): values calculated using glucose and insulin levels. Ref: Reference category; T1 (Tertile 1): ≤ 6 ng/g; T2 (Tertile 2): 6.1-12 ng/g; T3 (Tertile 3): > 12 ng/g; CI: confidence intervals; ^aAdjusted for age, body mass index, educational level, smoking habit, self-perceived exposure to paints, meat consumption; ^bAdjusted for age, body mass index, educational level, self-perceived exposure to paints, meat consumption.

References

- Abranches, M.V., de Oliveira, F.C.E., da Conceição, L.L., do Peluzio, M.C.G., 2015. Obesity and diabetes: the link between adipose tissue dysfunction and glucose homeostasis. *Nutr. Res. Rev.* 28, 121–132. <https://doi.org/10.1017/S0954422415000098>.
- Alonso-Magdalena, P., Quesada, I., Nadal, A., 2011. Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* 7, 346–353. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.56>.
- American Toxic Substances, Disease Registry (ATSDR), 2012. Toxicological Profile for Cadmium. *Am. Toxic Subst. Dis. Regist. Atlanta GA USA* 12–105.
- Arrebola, J.P., Martin-Olmedo, P., Fernandez, M.F., Sanchez-Cantalejo, E., Jimenez-Rios, J.A., Torne, P., Porta, M., Olea, N., 2009. Predictors of concentrations of hexachlorobenzene in human adipose tissue: a multivariate analysis by gender in southern Spain. *Environ. Int.* 35, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.009>.
- Arrebola, J.P., Fernandez, M.F., Porta, M., Rosell, J., de la Ossa, R.M., Olea, N., Martin-Olmedo, P., 2010. Multivariate models to predict human adipose tissue PCB concentrations in southern Spain. *Environ. Int.* 36, 705–713. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.05.004>.
- Arrebola, J.P., Pumarega, J., Gasull, M., Fernandez, M.F., Martin-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Fernández-Rodríguez, M., Porta, M., Olea, N., 2013. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of type 2 diabetes in adults from southern Spain. *Environ. Res.* 122, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.12.001>.

- Artacho-Cordón, F., León, J., Sáenz, J.M., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Arrebola, J.P., 2016. Contribution of persistent organic pollutant exposure to the adipose tissue oxidative microenvironment in an adult cohort: a multipollutant approach. *Environ. Sci. Technol.* 50, 13529–13538. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03783>.
- Artacho-Cordón, F., Ríos-Arrabal, S., León, J., Frederiksen, H., Sáenz, J.M., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N., Arrebola, J.P., 2019. Adipose tissue concentrations of non-persistent environmental phenols and local redox balance in adults from southern Spain. *Environ. Int.* 133, 105118. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105118>.
- Borné, Y., Fagerberg, B., Persson, M., Sallsten, G., Forsgard, N., Hedblad, B., Barregard, L., Engström, G., 2014. Cadmium exposure and incidence of diabetes mellitus—results from the Malmö diet and Cancer study. *PLoS One* 9, e112277. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112277>.
- Buckland, G., González, C.A., Agudo, A., Vilardell, M., Berenguer, A., Amiano, P., Ardanaz, E., Arriola, L., Barricarte, A., Basterretxea, M., Chirlaque, M.D., Cirera, L., Dorronsoro, M., Egües, N., Huerta, J.M., Larrañaga, N., Marin, P., Martínez, C., Molina, E., Navarro, C., Quirós, J.R., Rodríguez, L., Sanchez, M.-J., Tormo, M.-J., Moreno-Iribas, C., 2009. Adherence to the Mediterranean diet and risk of coronary heart disease in the Spanish EPIC cohort study. *Am. J. Epidemiol.* 170, 1518–1529. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp282>.
- Buha, A., Đukić-Ćosić, D., Ćurčić, M., Bulat, Z., Antonijević, B., Moulis, J.-M., Goumenou, M., Wallace, D., 2020. Emerging links between cadmium exposure and insulin resistance: human, animal, and cell study data. *Toxics* 8, 63. <https://doi.org/10.3390/toxics8030063>.
- Cano-Sancho, G., Labrune, L., Ploteau, S., Marchand, P., Le Bizec, B., Antignac, J.-P., 2018. The challenging use and interpretation of circulating biomarkers of exposure to persistent organic pollutants in environmental health: comparison of lipid adjustment approaches in a case study related to endometriosis. *Chemosphere* 200, 388–396. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.02.120>.
- Chatterjee, S., Khunti, K., Davies, M.J., 2017. Type 2 diabetes. *Lancet* 389, 2239–2251. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30058-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2).
- Cheng, M., Zhou, Y., Wang, B., Mu, G., Ma, J., Zhou, M., Wang, D., Meng, Y., Cao, L., Xie, L., Wang, X., Nie, X., Yu, L., Yuan, J., Chen, W., 2020. IL-22: a potential mediator of associations between urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites with fasting plasma glucose and type 2 diabetes. *J. Hazard. Mater.* 401, 123278. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123278>.
- Clark, P.M., 1999. Assays for insulin, proinsulin(s) and C-peptide. *Ann. Clin. Biochem.* 36 (Pt 5), 541–564. <https://doi.org/10.1177/000456329903600501>.
- Coelho, M., Oliveira, T., Fernandes, R., 2013. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch. Med. Sci. AMS* 9, 191–200. <https://doi.org/10.5114/aoms.2013.33181>.
- Czech, M.P., 2020. Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. *Mol. Metab.* 34, 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.12.014>.
- Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Iribarne-Durán, L.M., Fiket, Ž., Dolenc, M., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Arrebola, J.P., 2019. Levels and determinants of adipose tissue cadmium concentrations in an adult cohort from southern Spain. *Sci. Total Environ.* 670, 1028–1036. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.114>.
- Egger, A.E., Grabmann, G., Gollmann-Tepeköylü, C., Pechriggl, E.J., Artner, C., Türkcan, A., Hartinger, C.G., Fritsch, H., Keppler, B.K., Brenner, E., Grimm, M., Messner, B., Bernhard, D., 2019. Chemical imaging and assessment of cadmium distribution in the human body. *Metallomics* 11, 2010–2019. <https://doi.org/10.1039/C9MT00178F>.

- Fatima, G., Raza, A.M., Hadi, N., Nigam, N., Mahdi, A.A., 2019. Cadmium in human diseases: It's more than just a meremetal. *Indian J. Clin. Biochem.* 34, 371–378. <https://doi.org/10.1007/s12291-019-00839-8>.
- Feng, W., Cui, X., Liu, B., Liu, C., Xiao, Y., Lu, W., Guo, H., He, M., Zhang, X., Yuan, J., Chen, W., Wu, T., 2015. Association of Urinary Metal Profiles with altered glucose levels and diabetes risk: a population-based study in China. *PLoS One* 10, e0123742. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123742>.
- Franks, P.W., McCarthy, M.I., 2016. Exposing the exposures responsible for type 2 diabetes and obesity. *Science* 354, 69–73. <https://doi.org/10.1126/science.aaf5094>.
- Frayn, K.N., Tan, G.D., Karpe, F., 2007. Adipose tissue: a key target for diabetes pathophysiology and treatment? *Horm. Metab. Res.* 39, 739–742. <https://doi.org/10.1055/s-2007-990270>.
- Freire, C., Vrhovnik, P., Fiket, Ž., Salcedo-Bellido, I., Echeverría, R., Martín-Olmedo, P., Kniewald, G., Fernández, M.F., Arrebola, J.P., 2020. Adipose tissue concentrations of arsenic, nickel, lead, tin, and titanium in adults from GraMo cohort in southern Spain: an exploratory study. *Sci. Total Environ.* 719, 137458. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137458>.
- Gallagher, Carolyn M., Kovach, John S., Meliker, Jaymie R., 2008. Urinary Cadmium and Osteoporosis in U.S. Women ≥50 Years of Age: NHANES 1988–1994 and 1999–2004. *Environ. Health Perspect.* 116, 1338–1343. <https://doi.org/10.1289/ehp.11452>.
- Gonzalez, C.A., Riboli, E., 2010. Diet and cancer prevention: contributions from the European prospective investigation into Cancer and nutrition (EPIC) study. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 (46), 2555–2562. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.025>.
- Guo, F.-F., Hu, Z.-Y., Li, B.-Y., Qin, L.-Q., Fu, C., Yu, H., Zhang, Z.-L., 2019. Evaluation of the association between urinary cadmium levels below threshold limits and the risk of diabetes mellitus: a dose-response meta-analysis. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 19272–19281. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04943-3>.
- Han, J.C., Park, S.Y., Hah, B.G., Choi, G.H., Kim, Y.K., Kwon, T.H., Kim, E.K., Lachal, M., Jung, C.Y., Lee, W., 2003. Cadmium induces impaired glucose tolerance in rat by downregulating GLUT4 expression in adipocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 413, 213–220. [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(03\)00120-6](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(03)00120-6).
- Hansen, A.F., Simić, A., Åsvold, B.O., Romundstad, P.R., Midthjell, K., Syversen, T., Flaten, T.P., 2017. Trace elements in early phase type 2 diabetes mellitus—a populationbased study. The HUNT study in Norway. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 40, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.12.008>.
- Huang, C.-C., Kuo, C.-Y., Yang, C.-Y., Liu, J.-M., Hsu, R.-J., Lee, K.-I., Su, C.-C., Wu, C.-C., Lin, C.-T., Liu, S.-H., Huang, C.-F., 2019. Cadmium exposure induces pancreatic β-cell death via a Ca²⁺-triggered JNK/CHOP-related apoptotic signaling pathway. *Toxicology* 425, 152252. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2019.152252>.
- Hurtado, M.D., Vella, A., 2019. What is type 2 diabetes? *Medicine (Baltimore)* 47, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.10.010>.
- IARC (International Agency for Research on Cancer), 2012. Cadmium and cadmium compounds. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk to humans. Arsenic, Metals, Fibers and Dusts 100C, 121–141.
- International Diabetes Federation, 2019. IDF Diabetes Atlas. 9th edn. <http://www.diabetesatlas.org>.
- Jacquet, A., Ounnas, F., Lénon, M., Arnaud, J., Demeilliers, C., Moulis, J.-M., 2016. Chronic exposure to low-level cadmium in diabetes: role of oxidative stress and comparison with polychlorinated biphenyls. *Curr. Drug Targets* 17, 1385–1413. <https://doi.org/10.2174/1389450116666150531151228>.
- Jacquet, A., Cottet-Rousselle, C., Arnaud, J., Julien Saint Amand, K., Ben Messaoud, R., Lénon, M., Demeilliers, C., Moulis, J.-M., 2018. Mitochondrial morphology and function of the pancreatic β-cells INS-1 model upon chronic exposure to sub-lethal cadmium doses. *Toxics* 6, 20. <https://doi.org/10.3390/toxics6020020>.

- Järup, L., Åkesson, A., 2009. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicol. Appl. Pharmacol. New Insights into the Mechanisms of Cadmium Toxicity* 238, 201–208. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.04.020>.
- Kawakami, T., Sugimoto, H., Furuichi, R., Kadota, Y., Inoue, M., Setsu, K., Suzuki, S., Sato, M., 2010. Cadmium reduces adipocyte size and expression levels of adiponectin and Peg1/Mest in adipose tissue. *Toxicology* 267, 20–26. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2009.07.022>.
- Kawakami, T., Nishiyama, K., Kadota, Y., Sato, M., Inoue, M., Suzuki, S., 2013. Cadmium modulates adipocyte functions in metallothionein-null mice. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 272, 625–636. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.07.015>.
- Kohlmeier, L., Kohlmeier, M., 1995. Adipose tissue as a medium for epidemiologic exposure assessment. *Environ. Health Perspect.* 103, 99–106. <https://doi.org/10.1289/ehp.95103s399>.
- Kolb, H., Martin, S., 2017. Environmental/lifestyle factors in the pathogenesis and prevention of type 2 diabetes. *BMC Med.* 15, 131. <https://doi.org/10.1186/s12916-017-0901-x>.
- Lee, D.-H., Lee, I.-K., Porta, M., Steffes, M., Jacobs, D.R., 2007. Relationship between serum concentrations of persistent organic pollutants and the prevalence of metabolic syndrome among non-diabetic adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. *Diabetologia* 50, 1841–1851. <https://doi.org/10.1007/s00125-007-0755-4>.
- Lee, E.J., Moon, J.Y., Yoo, B.S., 2012. Cadmium inhibits the differentiation of 3T3-L1 preadipocyte through the C/EBP α and PPAR γ pathways. *Drug Chem. Toxicol.* 35, 225–231. <https://doi.org/10.3109/01480545.2011.591401>.
- Lee, Y.-M., Jacobs Jr., D.R., Lee, D.-H., 2018. Persistent organic pollutants and type 2 diabetes: a critical review of review articles. *Front. Endocrinol.* 9, 712. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00712>.
- Levy, J.C., Matthews, D.R., Hermans, M.P., 1998. Correct homeostasis model assessment (HOMA) evaluation uses the computer program. *Diabetes Care* 21, 2191–2192. <https://doi.org/10.2337/diacare.21.12.2191>.
- Li, X.T., Yu, P.F., Gao, Y., Guo, W.H., Wang, J., Liu, X., Gu, A.H., Ji, G.X., Dong, Q., Wang, B.S., Cao, Y., Zhu, B.L., Xiao, H., 2017. Association between plasma metal levels and diabetes risk: a case-control study in China. *Biomed. Environ. Sci.* 30, 482–491. <https://doi.org/10.3967/bes2017.064>.
- Little, B.B., Reilly, R., Walsh, B., Vu, G.T., 2020. Cadmium is associated with type 2 diabetes in a superfund site Lead smelter Community in Dallas, Texas. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17, 4558. <https://doi.org/10.3390/ijerph17124558>.
- Maddatu, J., Anderson-Baucum, E., Evans-Molina, C., 2017. Smoking and the risk of type 2 diabetes. *Transl. Res. J. Lab. Clin. Med.* 184, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.02.004>.
- Maria, Tellez-Plaza, Ana, Navas-Acien, Crainiceanu Ciprian, M., Eliseo, Guallar, 2008. Cadmium exposure and hypertension in the 1999–2004 National Health and nutrition examination survey (NHANES). *Environ. Health Perspect.* 116, 51–56. <https://doi.org/10.1289/ehp.10764>.
- Menke, A., Guallar, E., Cowie, C.C., 2016. Metals in Urine and Diabetes in U.S. Adults. *Diabetes* 65, 164–171. <https://doi.org/10.2337/db15-0316>.
- Mustieles, V., Arrebola, J.P., 2020. How polluted is your fat? What the study of adipose tissue can contribute to environmental epidemiology. *J. Epidemiol. Community Health* 74, 401–407. <https://doi.org/10.1136/jech-2019-213181>.
- Nam, Y.J., Kim, S.-H., 2019. 1638-P: urinary polycyclic aromatic hydrocarbon concentrations and risk of diabetes mellitus in Korean adults. *Diabetes* 68. <https://doi.org/10.2337/db19-1638-P>.

- Navas-Acien, A., Silbergeld, E.K., Sharrett, A.R., Calderon-Aranda, E., Selvin, E., Guallar, E., 2005. Metals in urine and peripheral arterial disease. *Environ. Health Perspect.* 113, 164–169. <https://doi.org/10.1289/ehp.7329>.
- Nie, X., Wang, N., Chen, Yi, Chen, C., Han, B., Zhu, C., Chen, Yingchao, Xia, F., Cang, Z., Lu, M., Meng, Y., Jiang, B., Jensen, D., Lu, M., 2016. Blood cadmium in Chinese adults and its relationships with diabetes and obesity. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 23, 18714–18723. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-7078-2>.
- Nordberg, G.F., Nogawa, K., Nordberg, M., 2015. Handbook on the toxicology of metals (Fourth Edition), in: Nordberg, G., Fowler, B., Nordberg, M. (Eds), chapter 32 - Cadmium. Academic Press, San Diego, pp. 667–716.
- Paschal, D.C., Burt, V., Caudill, S.P., Gunter, E.W., Pirkle, J.L., Sampson, E.J., Miller, D.T., Jackson, R.J., 2000. Exposure of the U.S. population aged 6 years and older to cadmium: 1988–1994. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 38, 377–383. <https://doi.org/10.1007/s002449910050>.
- Petersen, M.C., Shulman, G.I., 2018. Mechanisms of insulin action and insulin resistance. *Physiol. Rev.* 98, 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>.
- Qin, Y.Y., Leung, C.K.M., Leung, A.O.W., Wu, S.C., Zheng, J.S., Wong, M.H., 2010. Persistent organic pollutants and heavy metals in adipose tissues of patients with uterine leiomyomas and the association of these pollutants with seafood diet, BMI, and age. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17, 229–240. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0251-0>.
- R Core Team, 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rigby, R.A., Stasinopoulos, D.M., 2005. Generalized additive models for location, scale and shape. *J. R. Stat. Soc. Ser. C Appl. Stat.* 54 (3), 507–554. <https://doi.org/10.1111/j.1467-9876.2005.00510.x>.
- Rodríguez-Pérez, C., Vrhovnik, P., González-Alzaga, B., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Fiket, Ž., Kniewald, G., Arrebola, J.P., 2018. Socio-demographic, lifestyle, and dietary determinants of essential and possibly-essential trace element levels in adipose tissue from an adult cohort. *Environ. Pollut.* 236, 878–888. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.093>.
- Sabir, S., Akash, M.S.H., Fiayyaz, F., Saleem, U., Mehmood, M.H., Rehman, K., 2019. Role of cadmium and arsenic as endocrine disruptors in the metabolism of carbohydrates: inserting the association into perspectives. *Biomed. Pharmacother. Biomedicine Pharmacother.* 114, 108802. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108802>.
- Santra, A., Maiti, A., Chowdhury, A., Mazumder, D.N.G., 2000. Oxidative stress in liver of mice exposed to arsenic-contaminated water. *Indian J. Gastroenterol.* 19, 112–115.
- Sapin, R., 2003. Insulin assays: previously known and new analytical features. *Clin. Lab.* 49, 113–121.
- Sargis, R.M., Simmons, R.A., 2019. Environmental neglect: endocrine disruptors as underappreciated but potentially modifiable diabetes risk factors. *Diabetologia* 62, 1811–1822. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4940-z>.
- Schwartz, G.G., Il'yasova, D., Ivanova, A., 2003. Urinary cadmium, impaired fasting glucose, and diabetes in the NHANES III. *Diabetes Care* 26, 468–470. <https://doi.org/10.2337/diacare.26.2.468>.
- Simić, A., Hansen, A.F., Åsvold, B.O., Romundstad, P.R., Midthjell, K., Syversen, T., Flaten, T.P., 2017. Trace element status in patients with type 2 diabetes in Norway: the HUNT3 survey. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 41, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.03.001>.
- Skyler, J.S., Bakris, G.L., Bonifacio, E., Darsow, T., Eckel, R.H., Groop, L., Groop, P.-H., Handelsman, Y., Insel, R.A., Mathieu, C., McElvaine, A.T., Palmer, J.P., Pugliese, A., Schatz, D.A., Sosenko, J.M., Wilding, J.P.H.,

- Ratner, R.E., 2017. Differentiation of diabetes by pathophysiology, natural history, and prognosis. *Diabetes* 66, 241–255. <https://doi.org/10.2337/db16-0806>.
- Son, H.-S., Kim, S.-G., Suh, B.-S., Park, D.-U., Kim, D.-S., Yu, S., Hong, Y.-S., Park, J.-D., Lee, B.-K., Moon, J.-D., Sakong, J., 2015. Association of cadmium with diabetes in middle-aged residents of abandoned metal mines: the first health effect surveillance for residents in abandoned metal mines. *Ann. Occup. Environ. Med.* 27, 20. <https://doi.org/10.1186/s40557-015-0071-2>.
- Soriguer, F., Goday, A., Bosch-Comas, A., Bordiú, E., Calle-Pascual, A., Carmena, R., Casamitjana, R., Castaño, L., Castell, C., Catalá, M., Delgado, E., Franch, J., Gaztambide, S., Gibrés, J., Gomis, R., Gutiérrez, G., López-Alba, A., Martínez-Larrad, M.T., Menéndez, E., Mora-Peces, I., Ortega, E., Pascual-Manich, G., Rojo-Martínez, G., Serrano-Rios, M., Valdés, S., Vázquez, J.A., Vendrell, J., 2012. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia* 55, 88–93. <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2336-9>.
- Thayer, K.A., Heindel, J.J., Bucher, J.R., Gallo, M.A., 2012. Role of environmental chemicals in diabetes and obesity: a National Toxicology Program workshop review. *Environ. Health Perspect.* 120, 779–789. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104597>.
- Tinkov, A.A., Sinitskii, A.I., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., Gatiatulina, E.R., Skalnaya, M.G., Skalny, A.V., Nikonorov, A.A., 2015. Alteration of local adipose tissue trace element homeostasis as a possible mechanism of obesity-related insulin resistance. *Med. Hypotheses* 85, 343–347. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.06.005>.
- Therneau, T., 2021. A Package for Survival Analysis in R. R package version 3.2-10. <https://CRAN.R-project.org/package=survival>.
- Tinkov, A.A., Filippini, T., Ajsuvakova, O.P., Aaseth, J., Gluhcheva, Y.G., Ivanova, J.M., Bjørklund, G., Skalnaya, M.G., Gatiatulina, E.R., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., Vinceti, M., Skalny, A.V., 2017. The role of cadmium in obesity and diabetes. *Sci. Total Environ.* 601–602, 741–755. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.224>.
- Trouiller-Gerfaux, P., Podglajen, E., Hulo, S., Richeval, C., Allorge, D., Garat, A., Matran, R., Amouyel, P., Meirhaeghe, A., Dauchet, L., 2019. The association between blood cadmium and glycated haemoglobin among never-, former, and current smokers: a cross-sectional study in France. *Environ. Res.* 178, 108673. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.108673>.
- Vogiatzis, A.K., Loumbourdis, N.S., 1999. A study of glycogen, lactate, total fats, protein, and glucose concentration in the liver of the frog *Rana ridibunda*, after exposure to cadmium for 30 days. *Environ. Pollut.* 104, 335–340. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)00199-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)00199-7).
- Wallace, T.M., Levy, J.C., Matthews, D.R., 2004. Use and abuse of HOMA modeling. *Diabetes Care* 27, 1487–1495. <https://doi.org/10.2337/diacare.27.6.1487>.
- Wallia, A., Allen, N.B., Badon, S., El Muayed, M., 2014. Association between urinary cadmium levels and prediabetes in the NHANES 2005–2010 population. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217, 854–860. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.06.005>.
- Will, J.C., Galuska, D.A., Ford, E.S., Mokdad, A., Calle, E.E., 2001. Cigarette smoking and diabetes mellitus: evidence of a positive association from a large prospective cohort study. *Int. J. Epidemiol.* 30, 540–546. <https://doi.org/10.1093/ije/30.3.540>.
- Wu, A., 2006. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*. 4th ed. WB Saunders Co, Philadelphia.
- Wu, M., Song, J., Zhu, C., Wang, Y., Yin, X., Huang, G., Zhao, K., Zhu, J., Duan, Z., Su, L., 2017. Association between cadmium exposure and diabetes mellitus risk: a prisma-compliant systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 8, 113129–113141. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21991>.

Xie, X., Liu, Q., Wu, J., Wakui, M., 2009. Impact of cigarette smoking in type 2 diabetes development. *Acta Pharmacol. Sin.* 30, 784–787. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.49>.

Yang, K., Xun, P., Carnethon, M., Carson, A.P., Lu, L., Zhu, J., He, K., 2019. Low to moderate toenail arsenic levels in young adulthood and incidence of diabetes later in life: findings from the CARDIA trace element study. *Environ. Res.* 171, 321–327. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.01.035>.

Zang, Y., Devleeschauwer, B., Bolger, P.M., Goodman, E., Gibb, H.J., 2019. Global burden of late-stage chronic kidney disease resulting from dietary exposure to cadmium, 2015. *Environ. Res.* 169, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.005>.

TRABAJO 3 (Objetivos 1 y 2)

Associations of residential and occupational history with the distribution of persistent pollutant mixtures in adipose tissue samples.

Ruth Echeverría^a, Petra Vrhovnik^b, Inmaculada Salcedo-Bellido^{a,c,d}, Francisco M. Pérez-Carrascosa^{a,c}, Celia Gómez-Peña^c, Željka Fiket^e, Piedad Martín-Olmedo^{c,f}, Nicolás Olea^{c,d,g}, Mariana F. Fernández^{c,d,g}, Juan Pedro Arrebola^{a,c,d,*}

^a Universidad de Granada. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Granada, Spain.

^b Slovenian National Building and Civil Engineering Institute (ZAG), Ljubljana, Slovenia

^c Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Hospitales Universitarios de Granada, Spain

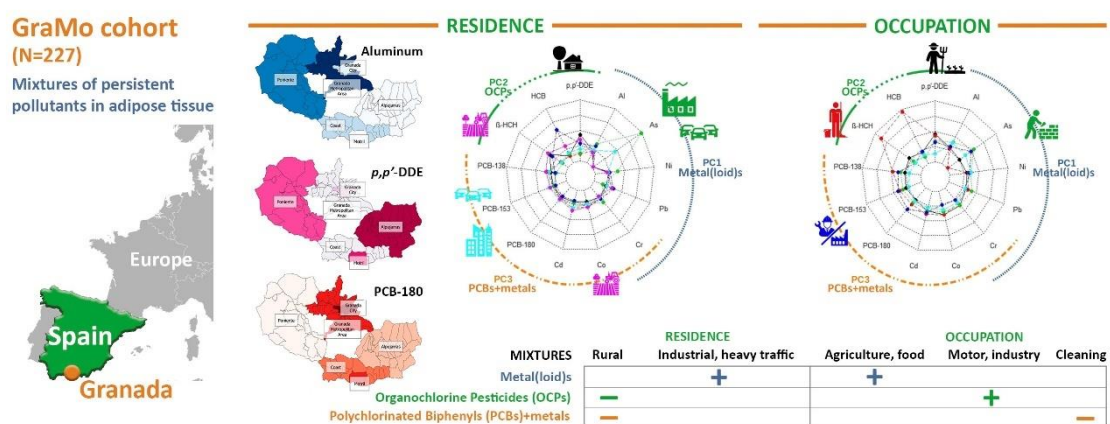
^d CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Spain

^e Ruđer Bošković Institute, Division for Marine and Environmental Research, Zagreb, Croatia

^f Escuela Andaluza de Salud Pública, Granada, Spain

^g Universidad de Granada. Departamento de Radiología y Medicina Física, Granada, Spain.

* Corresponding author



Publicado en Environmental Research, Vol. 194, 2021, 110687. Factor de impacto: 6.498, Q1, D1 (General Environmental Science).

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110687>.

KEYWORDS

Persistent toxic substances, pollutant mixtures, adipose tissue, residence, occupation.

ABSTRACT

This research aims to explore patterns of accumulation of a mixture of 15 Persistent Toxic Substances (PTS) in the adipose tissue of 227 individuals of an adult cohort from Granada Province (Southern Spain). Information about residence and occupation during participants lifetime was gathered by means of validated questionnaires. Clusters of pollutants in the study population were identified by Principal Component Analyses (PCA). PCA analyses revealed three major groups of pollutants: PC1 represented predominantly an assortment of metal(loid)s, namely aluminium, arsenic, chromium, nickel and lead; PC2 included mostly Organochlorine Pesticides (OCPs), such as HCB, β -HCH and *p,p'*-DDE; and PC3 gathered mainly a mixture of Polychlorinated Biphenyls (PCB-138, PCB-153 and PCB-180) and metals (cadmium, cobalt and chromium). The patterns of distribution of individual pollutants and their mixtures were explored through Geographic Information Systems and multivariable linear regression models. Living in rural areas was associated with decreased levels of the mixture of PCBs and metals. Residents of industrial and heavy traffic areas showed increased levels of the mixture of metal(loid)s. Those living in rural and semi-rural areas at recruitment had decreased levels of the OCP mixture. Occupational history related to agriculture and food industry was associated with increased levels of the mixture of metal(loid)s, whereas those who had been involved in motor and industrial activities showed increased levels of the OCP mixture. Participants who had worked in cleaning and housekeeping for long periods showed decreased levels of the mixture of PCBs and metals. Our research revealed suggestive clusters of exposure, that emphasized the need for further epidemiological studies to address the effect of environmental pollutants from a mixture perspective. Results also highlight the potential of adipose tissue as a matrix for exposure assessment to combinations of different families of contaminants.

Funding sources

This study was supported by research grants from Instituto de Salud Carlos III and European Regional Development Fund – FEDER (PI20/01568, PI18/01573, PI16/01858, PI16/01812). Dr. J.P. Arrebola is under contract within Ramon y Cajal program (RYC-2016-20155, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spain). This work was also supported by the Ministry of Higher Education, Science and Technology of the Republic of Slovenia (P2-0273).

All the individuals participating in this research signed an informed consent and the study protocol was approved by the Ethics Committee of Granada (Comité de Ética de la Investigación Biomédica de la Provincia de Granada, record 8/2016).

1. Introduction

Persistent Toxic Substances (PTS) are a group of chemicals of high concern due to their ubiquity in the environment, in addition to their toxicity, persistence, and bioaccumulation characteristics (Jones and de Voogt, 1999b; United Nations Environment Program, 2018; Wong et al., 2012). PTS include several pollutants particularly relevant for public health, such as Persistent Organic

Pollutants (POPs). POPs comprise Polychlorinated Biphenyls (PCBs), which have been used in several industrial applications (Cetin et al., 2007; Eljarrat et al., 2008); and Organochlorine Pesticides (OCPs), widely used in agriculture, seed preservation and public health campaigns in the past, but whose residues are still present nowadays in soils and animal tissues, including human tissues, in spite of strict legal restrictions on their production and uses since the 1980s decade (Arrebola et al., 2013a; Fernández et al., 2000; Luzardo et al., 2006; Mercado et al., 2013). As a result, human exposure to low levels of POPs is frequent and generalized (Centers for Disease Control and Prevention, 2009; Porta et al., 2008), and has been linked to several chronic diseases (Arrebola et al., 2013b; Charazac et al., 2019; Koskenniemi et al., 2015; Lee et al., 2014; Li et al., 2006; Porta, 2006).

On the other side, current and past toxic metal(loid) contamination in soils, water and food caused by industry, mining, pesticides and transports has been widely reported (Castro-González and Méndez-Armenta, 2008; Lokeshappa et al., 2012; Mohmand et al., 2015; Peris et al., 2007), and mitigation measures have been undertaken in order to reduce the exposure to these substances and their related health consequences. Some metal(loid)s, such as aluminium (Al), cadmium (Cd), nickel (Ni), lead (Pb), and arsenic (As), do not have a known biological function in the human organism and there are evidences of potential adverse effects for human health even at very low concentrations. Others, like chromium (Cr) and cobalt (Co), play a role in some biological processes, but at certain doses can contribute to the development of diseases (Agarwal et al., 2011; Byrne et al., 2013; Freire et al., 2018; Jaishankar et al., 2014; Sabath and Robles-Osorio, 2012; Tinkov et al., 2015).

Considering the ubiquity of the exposure to most PTS, human biomonitoring has become essential in order to assess the body burden of many different pollutants, since internal pollutant levels account for all possible exposure routes (Louro et al., 2019a). Human biomonitoring studies have traditionally focused on blood, serum, urine, nails and/or hair measurements, some of them providing meaningful information about severity and timing of the exposure (Clarkson et al., 2012; Porta et al., 2008). However, adipose tissue is considered a major matrix for long-term POP accumulation, offering promising insights for exposure assessment (Artacho-Cordón et al., 2016; Mustieles and Arrebola, 2020a). Nevertheless, adipose tissue POP concentrations have been scarcely used in the epidemiological context because of the invasive techniques required for sampling (Artacho-Cordón et al., 2015; La Merrill Michele et al., 2013; Lee et al., 2017; Mustieles and Arrebola, 2020a). On the other hand, little has been investigated about the biological meaning of metal(loid)s concentrations in adipose tissue, although it has been recently suggested as a potentially relevant matrix for exposure and effect assessment (Echeverría et al., 2019; Freire et al., 2020; Mustieles and Arrebola, 2020a; Qin et al., 2010; Rodríguez-Pérez et al., 2018; Tinkov et al., 2015).

General populations are frequently exposed to PTS through air, water and food produced in a contaminated area/soil, among others. Notable inter-regional differences have been found in the internal PTS levels that, interestingly, have also been reported in subgroups within the same geographical region, e.g., rural vs urban zones (Harner et al., 2004), near vs far from industry facilities (García-Pérez et al., 2007), as well as clean vs polluted drinking water from aquifers (Schwarzenbach et al., 2010).

Occupational exposure to PTS has been analyzed before, linking activities like agriculture, industry, cleaning and building with the internal levels of some contaminants (Okeme and Arrandale, 2019; Schettgen et al., 2018; Varona et al., 2010). Accordingly, some occupations might be considered to pose a higher risk of developing PTS-related diseases, such as mining and other industrial activities (Montano, 2014). Housekeeping and informal cleaning are usually thought to be less hazardous, although they involve frequent contact with products containing a number of highly toxic substances (Bello et al., 2009; Medina-Ramon et al., 2003).

It is noteworthy that the majority of the abovementioned information has been generated based on studies focused on individual pollutants, even when the overall mixture effects might be more important than the exposure to low doses of one single chemical (Kortenkamp, 2007; Solomon et al., 2016; Svingen and Vinggaard, 2016). Indeed, addressing human exposure characterization from a mixture perspective would help to identify clusters particularly exposed and, consequently, potentially vulnerable subpopulations.

This research is framed within GraMo adult cohort, in which our group has previously characterized exposure levels to different PTS and their potential health effects (Arrebola et al., 2015, 2014a, 2014b, 2010, 2009; Echeverría et al., 2019; Freire et al., 2020; Rodríguez-Pérez et al., 2018). Specifically, the present work aimed to perform a step forward on human exposure assessment by identifying clusters of individuals with similar co-exposure profiles, and studying their relationship with participants' occupational and residential history.

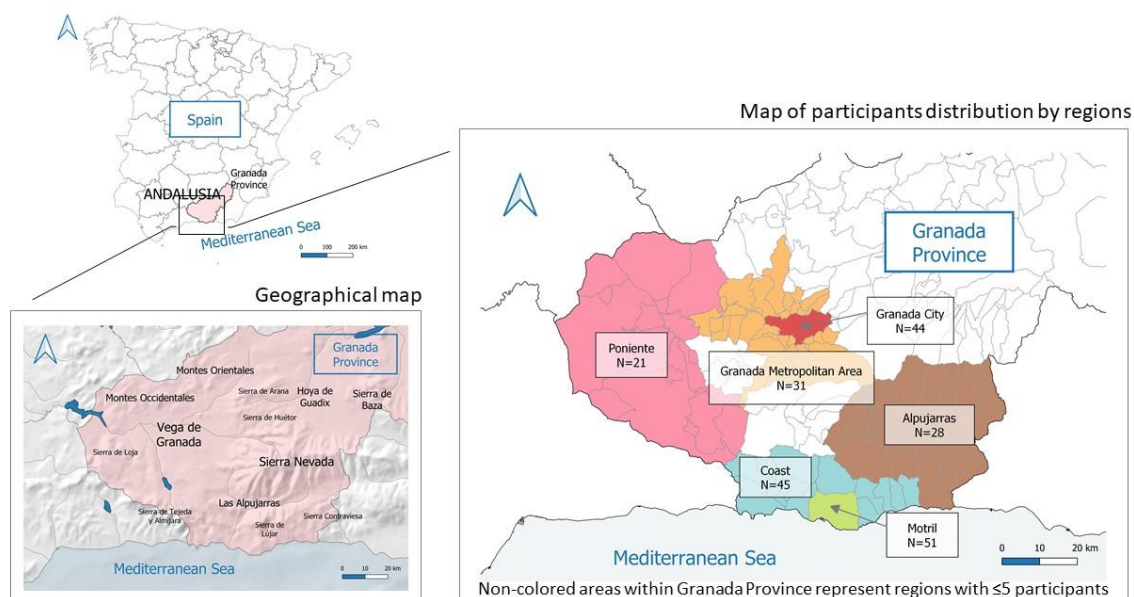
2. Materials and methods

2.1. Study area.

This study was conceived as part of a wider research aimed to analyze environmental factors affecting the development of chronic diseases in GraMo, an adult cohort set up in the province of Granada, Southern Spain (Figure 1).

Granada Province, in the South-West of Spain, includes rural, semi-rural and urban zones, with a population of over 915,000 inhabitants within an area of 12,531 km². Landscape and soil present strong variations between the Mediterranean coast, the interior valleys and the mountains of Sierra Nevada. The province is divided into two large-scale geological units: the Betic Cordillera and the Neogene Basin, with different soil materials and distribution of metal(loid)s (Díez et al., 2009). For the study purposes, participants' residence was divided into 6 main sub-areas: the cities of Granada and Motril, and 4 regions of the province of Granada (Alpujarras, Coast, Granada Metropolitan Area and Poniente).

Fig 1. Map of Granada Province (Spain) with the areas covered by this study showing geographical and administrative units.



Numbers on each sub-area indicate the number of recruited GraMo residents in which all Persistent Toxic Substances (PTS) families were analyzed.

Economic activity in Granada province is mainly based on tourism, agriculture/livestock/fishing, health services, public administration, education, industry and building, gathering over 75% of the employed population (Servicio Público de Empleo Estatal, Ministerio de Trabajo, Migraciones y Seguridad Social del Gobierno de España, 2019). Economy in the Coast region and Motril City, both areas in the Mediterranean coast, depends on tourism, agriculture (with large greenhouses and an intense use of pesticides) and, to a lesser extent, mining. At the recruitment and nowadays, industry and tourism are the major activities in Granada City and the surrounding Metropolitan Area, although this last area hosted an intense agricultural activity before the 21st century. Alpujarras and Poniente (both rural and inland areas) are the less populated, with an economy based on an increasing tourism and a historical/traditional agriculture.

2.2. Design and characteristics of participants

Participants were recruited in two public hospitals: San Cecilio University Hospital in the city of Granada (inland urban area), and Santa Ana Hospital in the town of Motril (semi-rural area in the Mediterranean coast). The recruitment procedure and methodology has been extensively described elsewhere (Arrebola et al., 2009). In brief, the cohort was recruited in 2003–2004 among patients undergoing non-cancer-related surgery [hernias (41%), gallbladder diseases (21%), varicose veins (12%), and other conditions (26%)]. Out of the 409 individuals contacted, 387 (95%) agreed to participate and were included in the initial cohort. The number of individuals with available adipose tissue pollutant concentrations varied depending on the pollutant family of interest. For the purposes of the present study, we selected a total of 227 individuals (59%), those with available data of the three target chemical families (OCPs, PCBs and metal(loid)s).

The characteristics of the participants are described in Table 1. Mean age and body mass index (BMI) of the population under study were 51.7 years and 27.8 kg/m², respectively. This BMI is similar to the BMI for Andalusian population in 1999 for ages ranging from 45 to 54 years (27.3 kg/m²) and from 55 to 64 years (27.7 kg/m²) (Junta de Andalucía - Consejería de Salud, 2004). A total of 68 individuals (30%) were smokers at recruitment, which is in accordance with the prevalence of daily tobacco consumption for Andalusian population in the period 1997-2007 (31%) (Sánchez Cruz et al., 2010).

2.3. Sampling and analyses

Three families of contaminants have been addressed in this study, including a total of 15 chemicals which are considered to pose a significant threat to human health (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2019):

- Seven metal(loid)s: aluminium (Al), arsenic (As), cadmium (Cd), cobalt (Co), chromium (Cr), nickel (Ni), and lead (Pb).
- Five Organochlorine Pesticides (OCPs): hexachlorobenzene (HCB), alpha-hexachlorocyclohexane (α -HCH), beta-hexachlorocyclohexane (β -HCH), *p,p'*-dichlorodiphenyldichloroethylene (*p,p'*-DDE) and dicofol.
- Three Polychlorinated Biphenyl (PCBs) congeners: PCB-138, PCB-153 and PCB-180.

Adipose tissue samples of 5–10 g were intra-operatively collected at the two participating hospitals, and immediately coded and stored at –80 °C. For metal(loid) analyses, sample preparation was performed at Slovenian National Building and Civil Engineering Institute (ZAG) in Ljubljana (Slovenia), and the multielement analyses were assessed at the Laboratory for Inorganic Environmental Geochemistry and Chemodynamics of Nanoparticles, Ruđer Bošković Institute, Zagreb (Croatia), by High-Resolution Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (HR-ICP-MS). Limits of detection were 1 ng/g for As, Cd, Co and Pb; 3 ng/g for Cr and Ni; and 500 ng/g for Al. The full analytical methodology has been described elsewhere (Cukrov et al., 2008; Echeverría et al., 2019; Fiket et al., 2007; Rodríguez-Pérez et al., 2018).

Residues of OCPs and PCBs in adipose tissue were quantified at Laboratorio Analítico Bioclínico (LAB) in Almería (Spain) by high-resolution gas chromatography with a mass spectrometry detector in tandem mode, using a Saturn 2000 ion trap system (Varian, WalnutCreek,CA). Limits of detection for each compound, sample lipid content and the complete methodology have been described elsewhere (Arrebola et al., 2009, 2010, 2013b, 2013a; León et al., 2019; Martínez Vidal et al., 2002; Moreno-Frías et al., 2004; Mustieles et al., 2017a; Phillips et al., 1989; Rivas et al., 2001). Moreover, a description of individual PTS concentrations in adipose tissue of the study population (GraMo cohort) can be found in previous investigations (Arrebola et al., 2010, 2009; Echeverría et al., 2019; Freire et al., 2020; Rodríguez-Pérez et al., 2018).

Table 1. Study population characteristics (N=227).

Sociodemographic (N=227)		N	%		
Sex	Women	100	44.1		
	Men	127	55.9		
Residence	Alpujarras	28	12.3		
	Coast	45	19.8		
	Granada City	44	19.4		
	Granada Metropolitan Area	31	13.7		
	Motril City	51	22.5		
	Poniente	21	9.2		
	Others	7	3.1		
Occupation	Agriculture and food	61	26.9		
	Cleaning and housekeeping	45	19.8		
	Building	22	9.7		
	Motor and industry	30	13.2		
	Non-manual work	54	23.8		
	Others	15	6.6		
Lifestyle					
Smoking	Non-smoker	91	40.0		
	Current smoker	68	30.0		
	Former smoker	68	30.0		
	MEAN	SD	MEDIAN	PERCENTILE 25th	PERCENTILE 75th
Age (years)	51.7	17.6	53.0	36.0	67.0
BMI (kg/m ²)	27.8	5.3	27.3	24.0	30.4

2.4. Covariates and independent variables

Socio-demographic characteristics, life-style, diet and health status data were gathered in face-to-face interviews, conducted by trained personnel at the recruitment during hospital stay. Research procedures were standardized and validated in a pilot study with 50 subjects. The questionnaire was designed and validated in a previous investigation (Buckland et al., 2009; Gonzalez and Riboli, 2010). BMI was expressed as weight/height squared (kg/m^2). Participants were considered current smokers at any level of daily tobacco consumption (≥ 1 cig/day).

According to their residence, individuals were classified in 6 sub-areas: Alpujarras, Coast, Granada City, Granada Metropolitan Area, Motril City and Poniente (Figure 1, Table 1). Sub-areas in the province with ≤ 5 participants (Alhama, Baza and Vallelecrín) were omitted from the main study and, thus, 7 participants were excluded from analyses. Accumulated residence time was calculated by summing the time living in each residence over the lifetime. For this study, this variable was categorized into 3 groups: 1) those who had never lived in a certain sub-area; 2) those who had lived in that sub-area for up to 15 years; and 3) those who had lived in that sub-area for more than 15 years.

Occupation was divided into 5 different groups according to the similarities among activities and likelihood of exposure (Montano, 2014): agriculture and food industry; cleaning and housekeeping; building; motor and industry; and non-manual work. Non-manual workers included students, clerks, office managers, teachers, Information Technology staff and similar workers. Retired and unemployed individuals at recruitment were classified according to their last occupation. The accumulated time in specific occupation groups was categorized in 3 levels: 1) those who had never worked in the referred occupation group; 2) those who had worked in the referred group for up to 15 years; and 3) those who had worked in the referred group for more than 15 years.

2.5. Statistical analyses and data representation

We firstly explored the correlations among pairs of PTS using Spearman rank correlation coefficients (Fig. 2). The distribution of concentrations by selected independent variables was also explored by means of radar plots. Considering the different magnitudes of PTS concentrations, which vary up to 5 orders of magnitude, data were transformed by the function $f(x)=\ln(x)+10$ in order to facilitate variable comparison. Thus, the radar plots show the transformed median PTS concentration after applying the mentioned function (Fig. 3). Each colored line in the figure represents relative concentrations of PTS for each place of residence or occupation, giving a graphical insight of the distribution of pollutant's concentration and making differences among them more obvious.

PTS distribution was further studied by means of Principal Component Analysis (PCA), which yielded a number of principal components that were considered as clusters of PTS (Table 3). With the aim of studying the distribution of PTS clusters according to the participant's residence(s) and occupation(s) multivariable linear regression models were performed, considering each principal component as the dependent variable. Model diagnostics included the assessment of

multicollinearity by means of Generalized standard-error inflation factors. The homoscedasticity was tested by plotting residual against fitted values. The linearity of quantitative independent variables was checked with partial regression plots, and the normality of errors was verified using normal QQ plots with 95% confidence intervals. Beta coefficients were interpreted as positive or negative associations with the PCs and, therefore, as a proxy of the associations with the chemicals mainly represented in each PC. All PTS concentrations were included in the PCA analyses, except dicofol and α -HCH, because of the low number of subjects with adipose tissue concentrations above the limit of detection (Table 2).

Statistical data analyses to obtain correlation matrix, PCA, radar charts and Generalized Linear Models (GLM), were performed using R v 3.6.0 with RStudio v 1.2.1335 (R Core Team, 2021), and SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., 2011). The R packages used were: ade4, vegan, gclus, ape, mvnrmtest, corrplot, tidyverse, caret, car, sjPlot, sjlabelled, sjmisc and fmsb.

Geographical distribution of PTS concentrations was also studied by using Geographic Information Systems, which showed the gradient of concentrations in the 6 geographical sub-areas (Fig. 4). Maps were created under QGIS version 3.8.0 Zanzibar (Free Software Foundation, 2018), on the basis of maps of administrative divisions provided by DERA, Datos Espaciales de Referencia de Andalucía for intermediate scales (Instituto de Estadística y Cartografía de Andalucía, 2014) and geographical maps by CARTOSIANE, Cartografía del Sistema de Información del Atlas Nacional de España (Instituto Geográfico Nacional, 2019).

3. Results and discussion

3.1. Adipose tissue concentrations of individual pollutants and their mixtures in the study population

Adipose tissue concentrations of the selected contaminants are listed in Table 2. Among the metal(loid)s, the highest median concentrations corresponded to Al (10100 ng/g adipose tissue), followed by Ni, Cr and Pb. As, Co and Cd were found in the lowest median concentrations (<10 ng/g adipose tissue). PCB-153 and PCB-180 were the POPs found in the highest median concentrations (>180 ng/g lipid), whereas α -HCH, β -HCH and dicofol accounted for the lowest (<10 ng/g lipid). The distribution of single pollutant concentrations as well as their comparison with other studies have been widely discussed in previous publications (Arrebola et al., 2013b, 2013a, 2010; Artacho-Cordón et al., 2015; Echeverría et al., 2019; Freire et al., 2020; Rodríguez-Pérez et al., 2018). Metals and *p,p'*-DDE were found in 100% of the analyzed samples, while PCBs, HCB and β -HCH were found in percentages ranging from 86.8% to 94.7% of the samples. Dicofol, α -HCH and As were detected in 21.1%, 23.3% and 51.1% of the population, respectively (Table 2). Consequently, both dicofol and α -HCH were excluded from the PCA and the graphical representation.

Table 2. Adipose tissue concentrations of metal(loid)s, Organochlorine Pesticides (OCPs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) (N=227).

PTS concentrations (N=227)	MEDIAN	PERCENTILE 25 th	PERCENTILE 75 th	MINIMUM	MAXIMUM	DETECTED (%)
Al ^a	10100.0	6800.0	16600.0	3100.0	84800.0	100.0
As ^a	3.0	<LOD	13.0	<LOD	46.0	51.1
Cd ^a	8.0	5.0	14.0	1.0	11.0	100.0
Co ^a	5.0	4.0	9.0	1.0	168.0	100.0
Cr ^a	386.0	204.0	621.0	65.0	7941.0	100.0
Ni ^a	554.0	385.0	1334.0	109.0	29749.0	100.0
Pb ^a	85.0	55.0	149.0	17.0	5793.0	100.0
HCB ^b	13.7	5.0	40.0	<LOD	230.4	93.8
α-HCH ^b	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	14.0	23.3
β-HCH ^b	9.5	4.3	22.3	<LOD	211.9	86.8
<i>p,p'</i> -DDE ^b	98.0	36.2	219.3	1.0	2260.3	100.0
Dicofol ^b	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	240.0	21.1
PCB-138 ^b	82.1	35.2	138.5	<LOD	482.3	90.7
PCB-153 ^b	216.0	142.5	330.2	<LOD	1477.6	94.7
PCB-180 ^b	180.4	109.6	279.2	<LOD	876.3	94.3

LOD: limit of detection

Al: aluminium; As: arsenic; Cd: cadmium; Co: cobalt; Cr: chromium; Ni: nickel; Pb: lead; HCB: hexachlorobenzene;

α-HCH: alpha-hexachlorocyclohexane; β-HCH: beta-hexachlorocyclohexane;

p,p'-DDE: *p,p'*-dichlorodiphenyldichloroethylene; PCB: polychlorinated biphenyl.

^ang/g adipose tissue

^bng/g lipid

Studies on adipose tissue POP concentrations are far more numerous than those on metal(loid)s. To the best of our knowledge, and despite previous research in animals (Tinkov et al., 2015), human adipose tissue metal(loid)s concentrations had only been previously assessed by Kizalaite et al. (2019) in obese Lithuanian people, and Qin et al. (2010) in a Chinese population. Kizalaite et al.(2019) observed concentrations of Al and Ni below LOD (<40 and <50 ng/g adipose tissue, respectively) in all studied samples, whereas Cr was determined in 86.3% of the samples with median concentrations ranging from 116 to 231 ng/g adipose tissue, below the levels found in our study. Co was only quantified in one sample with a concentration of 285 ng/g adipose tissue, which was higher than our results for this metal. Concentrations of As, Cd, Cr, Ni and Pb found by Qin et al. (2010) were respectively: 0.32±0.17, 0.27±0.09, 0.48±0.17, 3.50±1.00 and 3.36±1.30 ng/g subcutaneous fat, which are far below our results. Comparing the proportion of metal(loid)s found in our study with others is complicated because of the different origin of the adipose tissue samples analyzed. Nevertheless, both in our study and Qin's, Ni, Pb and Cr were found in higher concentrations than Cd and As.

On the other hand, Qin et al. (2010) reported adipose tissue HCB concentrations of 18.2 ± 8.68 ng/g fat in the control group (women not suffering from uterine leiomyoma) that are consistent with our findings, although the concentrations of *p,p'*-DDE and PCB-180 differ significantly. Our results on PCBs concentrations are in agreement with those obtained in human adipose tissue

in Belgium (Covaci et al., 2002), Finland (Smeds and Saukko, 2001), Turkey (Çok and Hakan Şatiroğlu, 2004) and Spain (Wingfors et al., 2000). Lifestyle, diet and environmental exposure are likely to explain the discrepancies, as revealed by the comparison between adipose tissue pollutants concentrations among countries in Asia, America and Europe (Qin et al., 2010).

The Spearman correlation tests among pairs of PTS (Fig. 2) revealed three markedly differentiated pollutant groups. The three PCB congeners were strongly correlated ($0.86 \leq \rho \leq 0.95$), as well as the group of OCPs: HCB, β -HCH and p,p' -DDE ($0.69 \leq \rho \leq 0.84$). The correlations amongst metals were markedly lower, except for Ni, Cr, and Co ($0.39 \leq \rho \leq 0.66$), which are indeed part of the lithogenic component and could be linked to the soil parent rock in addition to anthropogenic sources (Micó et al., 2006). Surprisingly, the metalloid As did not show any positive and significant correlation with any metal but Cr ($\rho=0.19$) and Al ($\rho=0.16$), whereas it was inversely correlated with Pb ($\rho=-0.28$) and with the group of PCBs ($-0.17 \leq \rho \leq -0.10$). This could be partly explained by the fact that 48.9% of the samples showed levels of As below the limit of detection.

The PCA analysis on the 227 individuals with available adipose tissue concentrations of all 13 PTS revealed interesting clusters, resulting in 6 main components, the first three of them gathering the majority of the explained variance (53%, Table 3). PC1 mainly represented a mixture of metal(loid)s (Al, As, Cr, Ni and Pb); while main contributors to PC2 were a group of OCPs (HCB, β -HCH and p,p' -DDE); and PC3 mainly represented a combination of PCBs and metals (PCB-138, PCB-153, PCB-180, Cd, Co and Cr).

Thus, the PCA analysis confirmed the results of the abovementioned Spearman correlation tests, with the first three components representing three groups very similar to those shown in the correlation matrix (Fig. 2).

3.2. Influence of residence and occupation on adipose tissue PTS mixtures

Regional and occupational differences among adipose tissue concentrations of PTS are displayed in Figures 3 and 4, and the results from the multivariable linear regression analyses are summarized in Table 4.

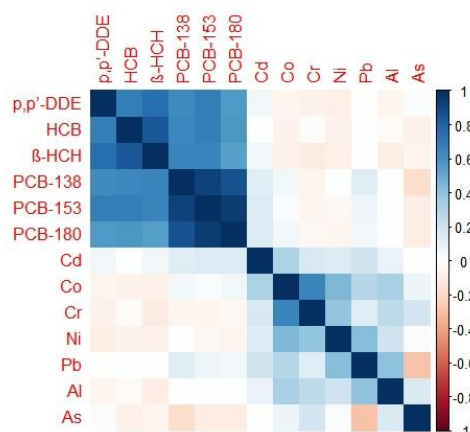


Fig. 2. Spearman's rank correlation coefficients among pairs of Persistent Toxic Substances (PTS). Correlation matrix

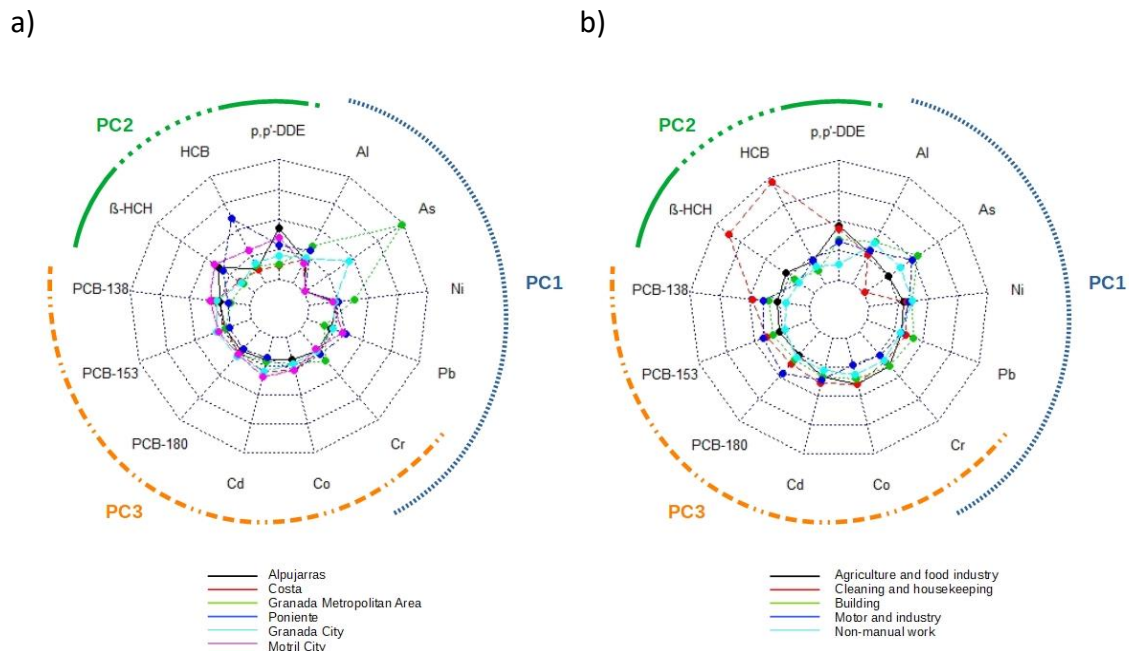
Table 3. Principal Component Analysis.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6
Eigenvalues	4.06	1.66	1.17	1.13	1.00	0.93
<i>p,p'</i> -DDE	-1.350	0.132	-0.910	-0.450	0.264	0.260
HCB	-1.597	0.089	-0.467	-0.305	0.090	0.441
β -HCH	-1.598	0.169	-0.777	-0.370	0.198	0.193
PCB-138	-1.891	-0.213	0.424	0.238	-0.175	-0.198
PCB-153	-1.856	-0.205	0.478	0.376	-0.107	-0.244
PCB-180	-1.730	-0.217	0.587	0.443	-0.118	-0.344
Cd	-0.070	-1.021	0.372	0.501	0.970	-0.466
Co	-0.014	-1.095	0.232	-1.172	-0.234	0.089
Cr	0.101	-1.113	0.360	-1.092	0.307	-0.300
Ni	0.142	-0.539	-1.105	0.025	-0.757	-1.318
Pb	0.205	-1.037	-0.528	0.819	-0.734	0.336
Al	0.068	-1.263	-0.060	0.375	-0.340	1.088
As	0.308	-0.531	-0.799	0.524	1.290	-0.051

Variance explained: PC1 (31.3%); PC2 (12.8%); PC3 (9.0%); PC4 (8.7%); PC5 (7.7%); PC6 (7.1%).

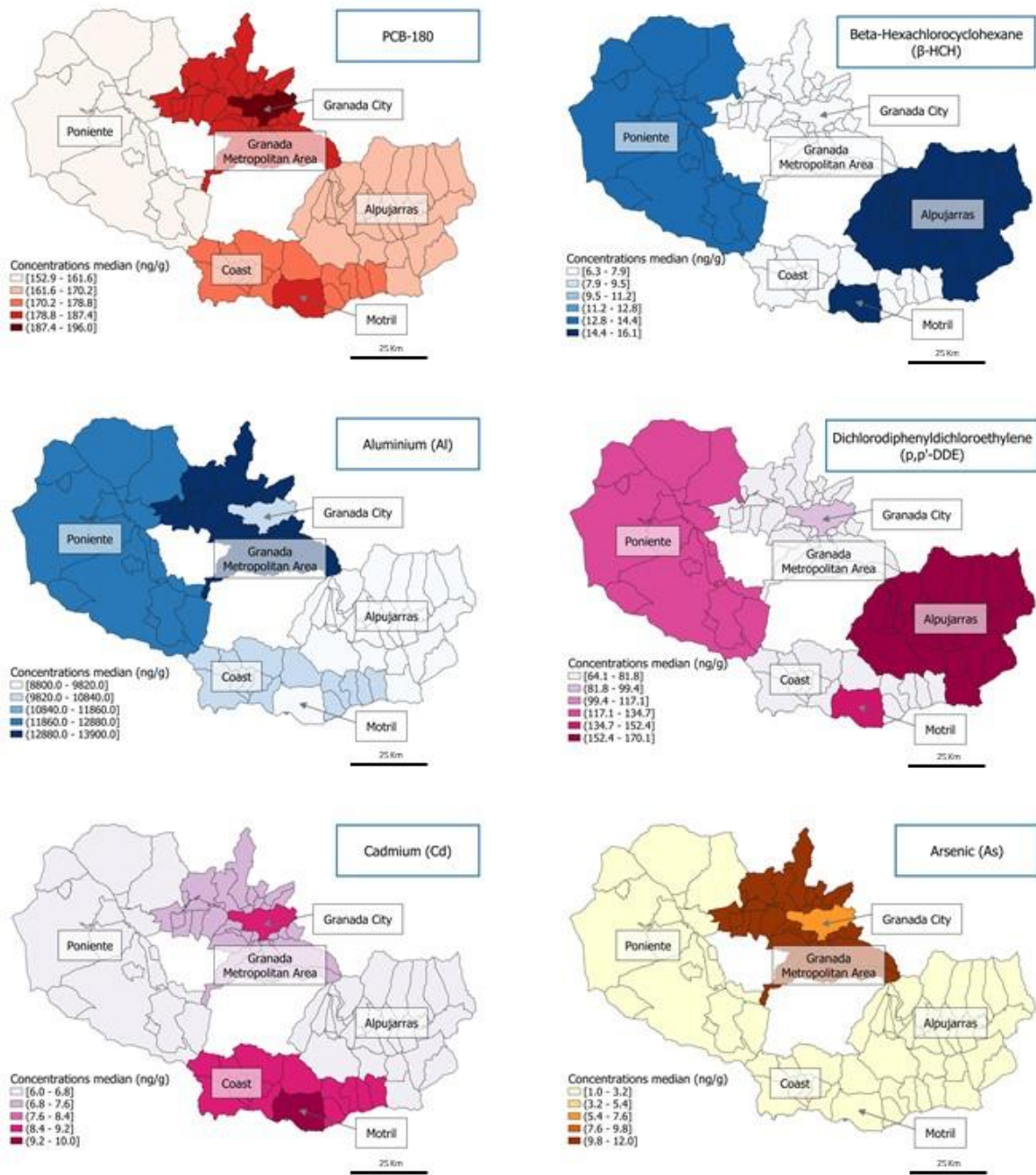
Numbers highlighted in bold represent a positive relation between variables.

Fig. 3. Comparison of Persistent Toxic Substances (PTS) concentrations at recruitment according to: a) residence; and b) occupation



In order to optimize the graphical representation, individual data were transformed by the function $f(x)=\ln(x)+10$. Dots represent median levels of transformed PTS concentrations for each category of residence or occupation, and lines linking dots allow the comparison among different PTS concentrations. The principal components PC1, PC2 and PC3 provide guidance on which PCA component was each chemical mainly represented by.

Fig. 4. Geographical distribution of adipose tissue Persistent Toxic Substances (PTS) concentrations according to the sub-area of residence at recruitment.



Considering the large number of PTS, only the most representative pollutants of each group are displayed, while the rest can be consulted in the supplementary material (Figs. 5, 6 and 7).

Table 4. Associations of residence and occupation with Persistent Toxic Substances (PTS) clusters (measured as Principal Components (PCs)). Multivariable linear regression analyses.

	PC1 (metal(loid)s) Adjusted R ² =0.28			PC2 (OCPs) Adjusted R ² =0.04			PC3 (PCBs and metals) Adjusted R ² =0.07		
	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value
Residence at recruitment									
Alpujarras	-0.108	0.114	0.345	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)
Coast	-0.133	0.104	0.203	-0.247	0.125	0.049	0.389	0.120	0.001
Granada Metropolitan Area	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	-0.199	0.133	0.137	0.318	0.128	0.014
Poniente	-0.079	0.122	0.518	-0.345	0.146	0.019	0.122	0.140	0.382
Granada City	-0.185	0.103	0.075	-0.024	0.128	0.851	0.376	0.123	0.003
Motril City	-0.226	0.101	0.026	-0.127	0.123	0.305	0.262	0.118	0.028
Occupation at recruitment									
Agriculture and food industry	0.109	0.091	0.232	0.017	0.107	0.872	-0.046	0.103	0.652
Cleaning and housekeeping	0.054	0.104	0.606	0.023	0.122	0.851	-0.085	0.117	0.470
Building	0.040	0.120	0.740	-0.118	0.141	0.402	0.018	0.135	0.897
Motor and industry	-0.101	0.105	0.337	0.166	0.123	0.179	0.191	0.118	0.109
Non-manual work	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)

SE: Standard Error

RC: Reference Category. Reference categories for residence were chosen in a way that the coefficients obtained for the rest of the categories showed the same sign (all positive or all negative). The reference category for occupation was "Non-manual work".

Results with p-Value≤0.01 are highlighted in bold.

Models were adjusted for sex (male vs. female), age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²) and smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker).

The observed associations with covariates (i.e., age, sex, Body Mass Index and smoking habit) can be consulted in Supplementary Table 5.

Results displayed in Table 4, supplementary Table 5 and all figures are focused on occupation/residence at recruitment. Over 75% of the individuals in the cohort resided in the same area for more than 15 years. As a result, when analyzing the influence of the residence places during a lifetime on the PTS clusters, findings were similar to those of the residence at recruitment. Lifetime changes in the occupation were more frequent: in the study population, over 75% of the people working in cleaning and housekeeping kept the same occupation for more than 15 years, while 41% of people doing non-manual work kept doing this kind of job for the same period (data not shown). Supplementary Table 6 summarizes the multivariable linear regression analyses of the influence of lifetime residence and occupation on the first three

pollutant clusters, as well as the associations with covariates (i.e., age, sex, BMI and smoking habit).

3.2.1 Mixture of Ar, Al, Cr, Ni and Pb (PC1)

Interestingly, the geographical distribution of concentrations of individual metal(loid)s in GraMo cohort was highly heterogeneous. In this regard, we found increased Al, As, Ni and Cr concentrations in people living in Granada Metropolitan Area compared to other sub-areas (Figs. 3a, 4 and Supplementary Fig. 7). Consistently, residents in Granada Metropolitan Area at recruitment exhibited the highest values of the component representing the mixture of metal(loid)s (PC1), while residents in Motril City showed the lowest (Table 4).

These results could be explained by the importance of industrial and traffic-related emissions in the Granada Metropolitan Area. Al, As, Cr, Ni and other metals are commonly utilized/manipulated in and/or released by industrial facilities based in the villages of this sub-area, where around 30 industrial estates are located (industrial equipment, pigments, fertilizers, pesticides, etc.) (Bencko and Yan Li Foong, 2017; Casares et al., 2005).

Contamination caused by traffic is essential when studying the exposure to Al, As, Cd, Cr and Ni found in the study population, due to the high levels of air pollution in Granada City and its Metropolitan Area, one of the most polluted regions in Spain regarding air contamination at the beginning of the 21st century, as described in the Environmental Profile of Spain 2005 (Ministerio de Medio Ambiente, 2006). Noteworthy, in the period 2011-2018 Granada city registered in three different years annual NO₂ and daily PM-10 particles concentrations over the limit values set by the European Union (Pascal et al., 2013; Subdirección General de Calidad del Aire y Medio Ambiente Industrial, Ministerio para la Transición Ecológica, 2019). Tire wear, asphalt, road surface abrasion and braking systems are associated with significant amounts of Al, As, Cd, Co, Cr, Ni and Pb, among others, in air and dust contamination near roads (Hjortenkrans et al., 2007). Recent investigations on bioaccumulation of heavy metals in lichens found higher concentrations of As, Cr, Ni, Pb and other metal(loid)s in heavy traffic streets in Granada City than in surrounding areas (Parviainen et al., 2020).

Those who had lived more than 15 years in Alpujarras, Poniente and Granada Metropolitan Area showed significantly higher levels of the component representing the mixture of metal(loid)s, compared to those who never lived there. We noticed the same association with having lived up to 15 years in Granada City (Supplementary Table 6). Alpujarras and Poniente are two rural regions in which agriculture, though diminishing in the last decades, has been the most important economic activity historically, with extended use of pesticides containing some of the metals analyzed.

In addition to the abovementioned, natural sources can contribute to the metal exposure through soils and water, some of them linked to human activities. For instance, As content in soils is higher in Alpujarras and Granada Metropolitan Area than in Motril, the Coast and Poniente. In addition, Poniente and Granada Metropolitan Area are sub-areas with high content of Cr in soils (Núñez et al., 2016). Pb mining is currently a relevant activity in Motril area, and could be responsible of the high concentrations of Pb in the zone (Fig. 3a and Supplementary

Fig. 7), while Pb and Cd were extracted in the past in the Alpujarras region and could contribute to some extent to the exposure in this sub-area (Instituto Geográfico Nacional, 2017).

Granada is a province with a huge number of mineral water resources and, noteworthy, more than half the population drink water coming from groundwater supplies. Thus, pollutant content in both superficial and groundwater could have an influence on the selected metal exposure levels. Aquifers in the areas of Poniente, Granada City and its Metropolitan Area are considered highly vulnerable to pollution due to the permeability of soil materials, mainly carbonated and dendritic (Instituto Tecnológico Geominero de España, 1998). Pesticides, industrial waste and wastewater can easily flow within the groundwater, increasing the levels of nitrates, metals and other pollutants, which can migrate from some areas to others via the hydrographic network. Although research about nitrates and physical-chemical data has been developed in the groundwater of Granada province (Castillo et al., 2004; García-Soldado, 2013), to the best of our knowledge there are no available data on the specific pollutants and regions included in our study.

As displayed in Figure 3b, participants involved in building-related occupations showed the highest concentrations of metals as Al, As, Cr, Ni and Pb, individually considered. In addition, we evidenced a positive and significant association of PC1 with the lifetime occupational history in agriculture and food industry. This might be explained by the presence of metals contained in the pesticides used in the production and conservation of food (Mercado et al., 2013). The association was stronger when the exposure was longer than 15 years (Supplementary Table 6).

3.2.2 Mixture of *p,p'*-DDE, HCB and β -HCH (PC2)

The sub-areas of Alpujarras, Poniente and Motril, with a marked rural and/or agricultural component, showed the highest concentrations of OCPs individually considered (Figs. 3a and 4), probably due to their extended use in past decades and their persistence in soils and groundwater (IGME, 2005). Specifically, the results for *p,p'*-DDE are consistent with previous studies in GraMo cohort which found higher levels of this substance in semi-rural versus urban subjects (Arrebola et al., 2013a).

Regarding the mixture of OCPs represented by PC2, Poniente was the sub-area where residents at recruitment showed the minimum levels, followed by the Coast, both compared to residents in Alpujarras, which showed the highest levels of the component PC2 (Table 4). The mixture also showed a significant negative correlation with having ever lived in Alpujarras, Coast, Granada Metropolitan Area and Poniente (Supplementary Table 6). These results are partly in disagreement with our findings for individual pollutants. Further research is needed, including novel methods and larger populations.

Furthermore, there was a significant positive association between the combination of OCPs mainly represented in PC2 and having worked in motor and industry for up to 15 years, whereas no association was found with working in agriculture for long periods (Supplementary Table 6). Our study, as previous reports within GraMo cohort, showed no significant association between OCP concentrations and occupation at recruitment. A research by Arrebola et al. (2013a) indicated that rural women are under higher risk of exposure to pesticides, as female

contribution to agriculture and housekeeping activities is commonly underestimated, thus masking a professional activity.

3.2.3 Mixture of PCBs congeners and Cd, Co and Cr (PC3)

Residents in the cities of Granada and Motril showed the highest levels of the three PCB congeners, Cd and Co individually, which, interestingly, were all mainly represented by PC3 (Figure 3). Indeed, these regional differences can be confirmed in Figure 4 and supplementary Figure 5, where the highest PCBs concentrations can be observed in these cities, and in Granada Metropolitan Area. This is the expected result in urban and densely populated areas, with high pollution levels caused by traffic, building and industrial activities (Dai et al., 2016).

The influence of the combination of PCBs and metals represented by PC3 was positive for those living in the Coast, Motril, Granada City and its Metropolitan Area when compared to Alpujarras (Table 4), which is in agreement with the maps showing the lowest concentrations of PCBs in the rural regions of Alpujarras and Poniente, and sustained by the higher emissions of PCBs in urban and industrial areas due to the traffic and industrial activities. This association is stronger when the residence time is longer than 15 years (Supplementary Table 6). We found no statistical differences between the Coast, Motril, Granada City and its Metropolitan Area, probably because the use of PCBs at recruitment was equally extended within these four areas.

Motor and industry occupations, along with cleaning and housekeeping, were associated with higher concentrations of the three congeners of PCBs individually than other occupations (Fig. 3b). In coherence, working in motor and industry had a borderline positive association with the levels of the component representing the mixture of PCBs and metals (PC3) (Table 4). A significant negative association was found between the mixture of PCBs and metals and working in cleaning and housekeeping for more than 15 years versus having never worked in this occupation (Supplementary Table 5). We interpret this inverse association as a consequence of the fact that this occupation, mainly performed by women for long periods of time (only 1 man worked as a housekeeper in the study population), might exclude others with higher risk of exposure to the selected pollutants, e.g., it is infrequent for a housewife to work in industry facilities, where the exposure to PCBs and metals might be higher.

3.3 Strengths and limitations of the study

This study has explored for the first time clusters of individuals according to the levels of PTS mixtures in adipose tissue, that are considered valid biomarkers for cumulative exposure to several persistent lipophilic pollutants, and play a relevant role in the development of chronic pathologies, as stated in previous studies (Mustieles and Arrebola, 2020a).

Co-exposure profiles and exposure sources, both modifiable and unmodifiable, have been unveiled in our study by different statistical and graphical means. Despite the potential underestimation of individual pollutants exposure sources, the multi-pollutant approach has revealed relevant possible interactions and mixture effects.

The size of the population in the GraMo cohort and the geographical areas under study could be one of the reasons behind the limitations of our approach in the description of pollutant

mixtures, especially those mainly represented by PC2. Furthermore, despite most of the associations are plausible and offer interesting findings on the mixture distribution, the establishment of the PCs was solely based on statistical criteria, which could imply a partial loss in the variability and hamper the results interpretation from the units' perspective. Thus, it is possible that part of the information provided do not entirely reflect a "real-life" scenario. Additionally, working in agriculture and cleaning is usually underestimated among women, especially in rural areas, which might have hindered some of our results (Joffe, 1992).

Even though the exposure patterns refer to historical data, they have allowed the identification of exposed population and pollutant clusters. As a next step, research on health effects based on the identified clusters of pollutants is currently being undertaken by longitudinal exposure-effect studies in GraMo cohort.

4. Conclusion

The present study offers novel insights on the distribution of clusters of PTS in adipose tissue of a widely characterized population from Southern Spain, and the influence of lifetime residence and occupation on them. These analyses will help further elucidation of the long-term potential health effects of these chemicals, as it is currently being performed in GraMo cohort.

Credit author statement

Ruth Echeverría: Software, Formal analysis, Visualization, Writing – original draft, Writing – review & editing; Petra Vrhovnik: Resources, Writing – review & editing; Inmaculada Salcedo-Bellido: Writing – review & editing; Francisco M. Pérez-Carrascosa: Data curation; Celia Gómez-Peña: Writing – review & editing; Željka Fiket: Resources, Writing – review & editing; Piedad Martín-Olmedo: Writing – review & editing; Nicolás Olea: Writing – review & editing; Mariana F. Fernández: Writing – review & editing; Juan Pedro Arrebola: Conceptualization, Methodology, Investigation, Supervision, Project administration, Funding acquisition.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgments

This research would have not been possible without the collaboration of the participants in GraMo cohort. This article will be part of the Ph.D. thesis of Ruth Echeverría in the context of the "Clinical Medicine and Public Health Program" of the University of Granada.

Supplementary materials

Table 5. Associations of occupation and residence with Persistent Toxic Substances (PTS) clusters (measured as PCs). Multivariable linear regression analyses (extended version - age, sex, BMI and smoking habit).

	PC1 (metal(loid)s) Adjusted R ² =0.28			PC2 (OCPs) Adjusted R ² =0.04			PC3 (PCBs and metals) Adjusted R ² =0.07		
	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value
Age (years)	-0.015	0.002	<0.001	-0.002	0.002	0.308	0.002	0.002	0.348
Sex = man	0.196	0.082	0.018	-0.015	0.096	0.873	0.053	0.092	0.568
BMI (kg/m²)	-0.003	0.006	0.683	0.023	0.007	0.002	-0.005	0.007	0.471
Smoking habit									
Former smoker	0.046	0.077	0.549	-0.052	0.090	0.566	0.089	0.086	0.306
Current smoker	0.001	0.082	0.989	-0.125	0.096	0.193	0.084	0.092	0.363
Non-smoker	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)
Residence at recruitment									
Alpujarras	-0.108	0.114	0.345	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)
Coast	-0.133	0.104	0.203	-0.247	0.125	0.049	0.389	0.120	0.001
Granada Metropolitan Area	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	-0.199	0.133	0.137	0.318	0.128	0.014
Poniente	-0.079	0.122	0.518	-0.345	0.146	0.019	0.122	0.140	0.382
Granada City	-0.185	0.103	0.075	-0.024	0.128	0.851	0.376	0.123	0.003
Motril City	-0.226	0.101	0.026	-0.127	0.123	0.305	0.262	0.118	0.028
Occupation at recruitment									
Agriculture and food industry	0.109	0.091	0.232	0.017	0.107	0.872	-0.046	0.103	0.652
Cleaning and housekeeping	0.054	0.104	0.606	0.023	0.122	0.851	-0.085	0.117	0.470
Building	0.040	0.120	0.740	-0.118	0.141	0.402	0.018	0.135	0.897
Motor and industry	-0.101	0.105	0.337	0.166	0.123	0.179	0.191	0.118	0.109
Non-manual work	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)	RC (0.000)

SE: Standard Error

RC: Reference Category. Reference categories for residence were chosen in a way that the coefficients obtained for the rest of the categories showed the same sign (all positive or all negative). The reference category for occupation was "Non-manual work".

Results with p-Value ≤ 0.01 are highlighted in bold.

Models were adjusted for sex (male vs. female), age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²) and smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker).

Table 6. Associations of occupation and residence during the lifetime with Persistent Toxic Substances (PTS) clusters (measured as PCs). Multivariable linear regression analyses.

	PC1 (metal(loid)s) Adjusted R ² =0.31			PC2 (OCPs) Adjusted R ² =0.04			PC3 (PCBs and metals) Adjusted R ² =0.09		
	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value
Age (years)	-0.016	0.002	<0.001	-0.001	0.002	0.652	0.004	0.002	0.072
Sex = man	0.140	0.077	0.068	0.023	0.090	0.802	0.081	0.088	0.356
BMI (kg/m²)	-0.002	0.005	0.692	0.017	0.006	0.007	-0.006	0.006	0.324
Smoking habit^a									
Former smoker	0.061	0.073	0.403	-0.052	0.086	0.550	0.062	0.084	0.462
Current smoker	0.031	0.476	0.683	-0.109	0.089	0.226	0.083	0.087	0.340
Accumulated residence^b									
Alpujarras									
Up to 15 years	0.141	0.177	0.429	-0.100	0.209	0.632	0.042	0.203	0.836
More than 15 years	0.230	0.104	0.028	-0.227	0.122	0.063	-0.495	0.119	<0.001
Coast									
Up to 15 years	0.121	0.146	0.407	-0.159	0.172	0.357	0.109	0.167	0.516
More than 15 years	0.131	0.093	0.160	-0.288	0.109	0.009	-0.114	0.106	0.282
Granada Metropolitan Area									
Up to 15 years	0.081	0.148	0.585	-0.141	0.174	0.418	-0.090	0.169	0.594
More than 15 years	0.282	0.106	0.008	-0.221	0.125	0.078	-0.079	0.121	0.515
Poniente									
Up to 15 years	0.105	0.195	0.589	-0.340	0.229	0.139	-0.146	0.223	0.514
More than 15 years	0.246	0.125	0.049	-0.369	0.147	0.013	-0.314	0.143	0.029
Granada City									
Up to 15 years	0.225	0.113	0.048	-0.016	0.133	0.903	-0.045	0.130	0.732
More than 15 years	0.135	0.091	0.138	-0.107	0.107	0.317	-0.122	0.104	0.242
Motril City									
Up to 15 years	0.162	0.142	0.255	0.155	0.167	0.353	-0.048	0.163	0.770
More than 15 years	0.028	0.094	0.763	-0.124	0.111	0.262	-0.144	0.108	0.182

Accumulated occupation^c									
Agriculture and food industry									
Up to 15 years	0.170	0.084	0.044	0.003	0.099	0.972	-0.032	0.096	0.739
More than 15 years	0.183	0.082	0.027	0.061	0.096	0.527	-0.114	0.094	0.226
Cleaning and housekeeping									
Up to 15 years	-0.056	0.137	0.684	0.107	0.161	0.508	0.108	0.157	0.493
More than 15 years	0.080	0.103	0.438	0.154	0.121	0.204	-0.198	0.118	0.094
Building									
Up to 15 years	-0.057	0.105	0.591	0.096	0.124	0.441	-0.091	0.120	0.451
More than 15 years	0.149	0.104	0.155	-0.121	0.123	0.324	0.175	0.120	0.146
Motor and industry									
Up to 15 years	-0.058	0.090	0.517	0.211	0.106	0.047	0.119	0.103	0.250
More than 15 years	0.001	0.108	0.989	0.148	0.127	0.248	-0.073	0.124	0.554
Non-manual work									
Up to 15 years	0.086	0.071	0.227	-0.021	0.083	0.802	-0.018	0.081	0.828
More than 15 years	0.043	0.086	0.619	-0.097	0.101	0.339	0.013	0.098	0.893

SE: Standard Error

^aReference category: non-smoker

^bReference category: never lived in that sub-area/city

^cReference category: never had that occupation

Results with p -Values ≤ 0.01 are highlighted in bold. Models were adjusted for sex (male vs. female), age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²) and smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker)

Fig. 5. Geographical distribution of adipose tissue pollutant concentrations according to the residence area at recruitment time. Polychlorinated biphenyls (PCBs).

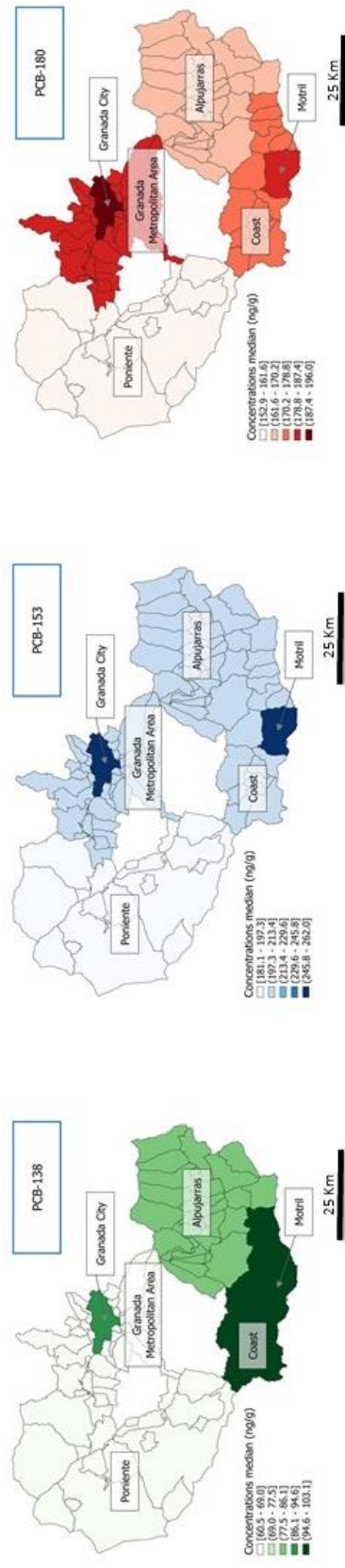


Fig. 6. Geographical distribution of adipose tissue pollutant concentrations according to the residence area at recruitment time. Organochlorine pesticides (OCPs).

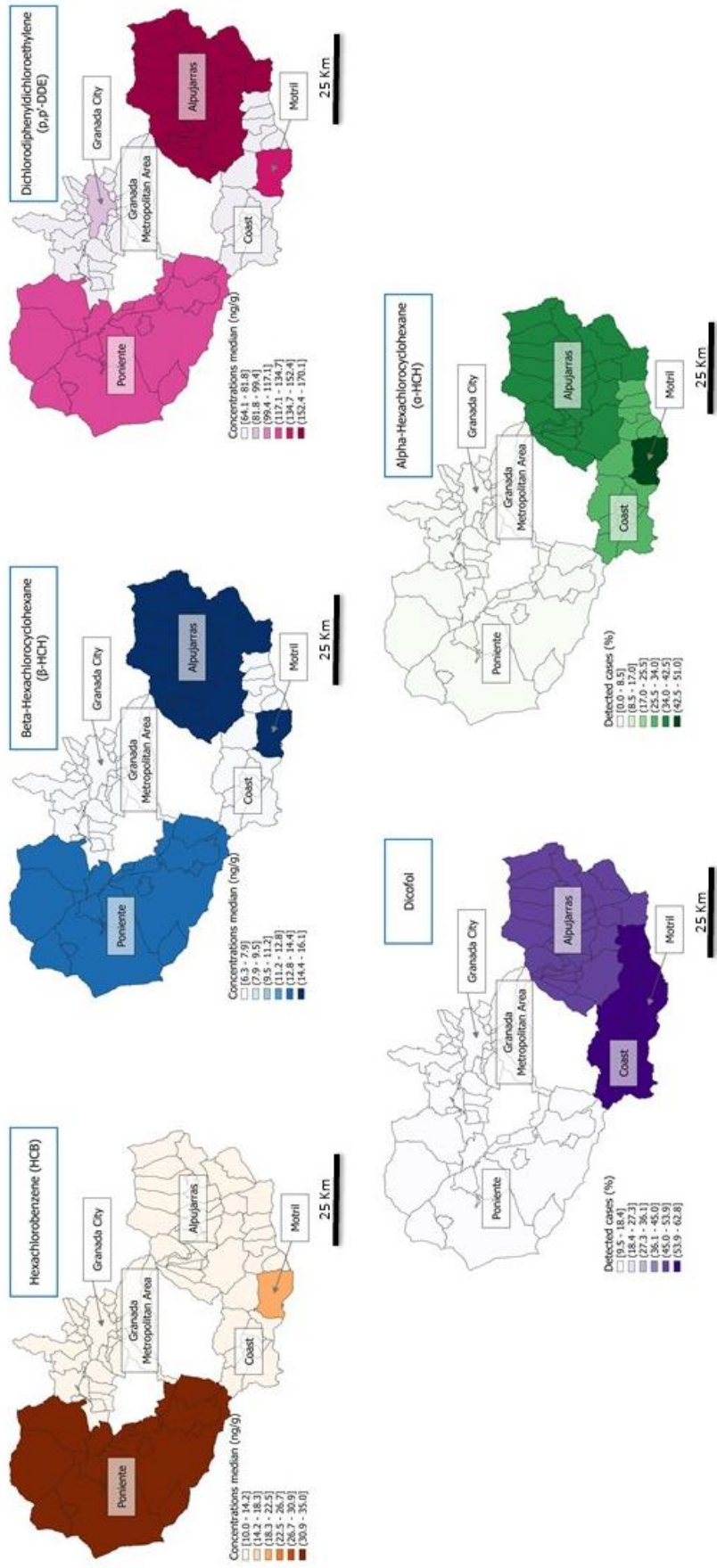
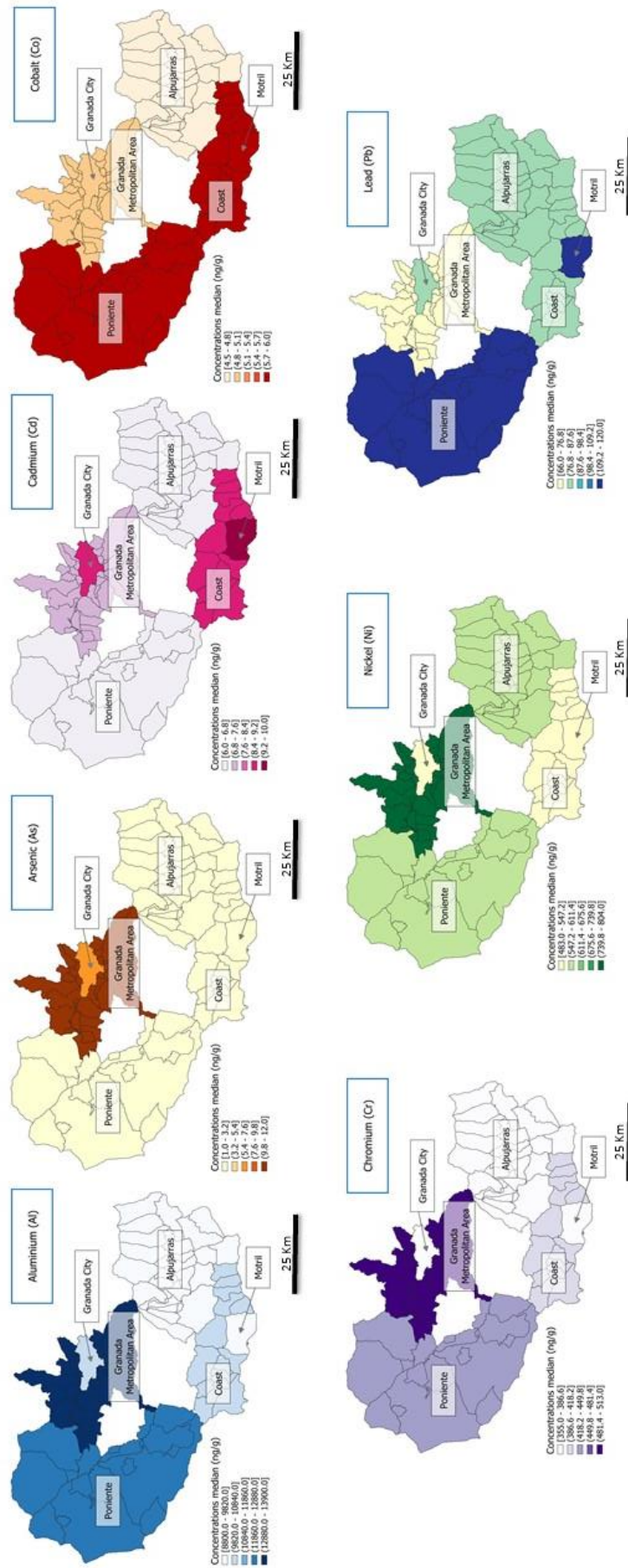


Fig. 7. Geographical distribution of adipose tissue pollutant concentrations according to the residence area at recruitment time. Metal(loid)s.



References

- Agarwal, S., Zaman, T., Murat Tuzcu, E., Kapadia, S.R., 2011. Heavy metals and cardiovascular disease: results from the national health and nutrition examination survey (NHANES) 1999-2006. *Angiology* 62, 422–429. <https://doi.org/10.1177/0003319710395562>.
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2019. Substance priority list | ATSDR [WWW document] (accessed 5.12.20). <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>.
- Arrebola, J.P., Martin-Olmedo, P., Fernandez, M.F., Sanchez-Cantalejo, E., Jimenez-Rios, J.A., Torne, P., Porta, M., Olea, N., 2009. Predictors of concentrations of hexachlorobenzene in human adipose tissue: a multivariate analysis by gender in Southern Spain. *Environ. Bar Int.* 35, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.009>.
- Arrebola, J.P., Fernandez, M.F., Porta, M., Rosell, J., de la Ossa, R.M., Olea, N., Martin-Olmedo, P., 2010. Multivariate models to predict human adipose tissue PCB concentrations in Southern Spain. *Environ. Bar Int.* 36, 705–713. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.05.004>.
- Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Olea, N., Ramos, R., Martin-Olmedo, P., 2013a. Human exposure to p,p' -dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p' -DDE) in urban and semirural areas in southeast Spain: a gender perspective. *Sci. Total Environ.* 458–460, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.001>.
- Arrebola, J.P., Pumarega, J., Gasull, M., Fernandez, M.F., Martin-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Fernández-Rodríguez, M., Porta, M., Olea, N., 2013b. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of type 2 diabetes in adults from Southern Spain. *Environ. Res.* 122, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.12.001>.
- Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Sánchez-Pérez, M.J., Sánchez-Cantalejo, E., Molina-Portillo, E., Expósito, J., Bonde, J.P., Olea, N., Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and total cancer risk in an adult cohort from Southern Spain: Preliminary data from year 9 of the follow-up, 2014a. *Sci. Total Environ.* 500–501, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.043>.
- Arrebola, J.P., Ocaña-Riola, R., Arrebola-Moreno, A.L., Fernández-Rodríguez, M., Martin-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N., Associations of accumulated exposure to persistent organic pollutants with serum lipids and obesity in an adult cohort from Southern Spain. *Environ.* 2014b. *Pollut* 195, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.08.003>.
- Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Martin-Olmedo, P., Bonde, J.P., Martín-Rodríguez, J.L., Expósito, J., Rubio-Domínguez, A., Olea, N., 2015. Historical exposure to persistent organic pollutants and risk of incident hypertension. *Environ. Res.* 138, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.02.018>.
- Artacho-Cordón, F., Fernández-Rodríguez, M., Garde, C., Salamanca, E., Iribarne-Durán, L.M., Torné, P., Expósito, J., Papay-Ramírez, L., Fernández, M.F., Olea, N., Arrebola, J.P., 2015. Serum and adipose tissue as matrices for assessment of exposure to persistent organic pollutants in breast cancer patients. *Environ. Res.* 142, 633–643. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.08.020>.
- Artacho-Cordón, F., León, J., Sáenz, J.M., Fernández, M.F., Martin-Olmedo, P., Olea, N., Arrebola, J.P., 2016. Contribution of persistent organic pollutant exposure to the adipose tissue oxidative microenvironment in an adult cohort: a multipollutant approach. *Environ. Sci. Technol.* 50, 13529–13538. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03783>.

Bello, A., Quinn, M.M., Perry, M.J., Milton, D.K., 2009. Characterization of occupational exposures to cleaning products used for common cleaning tasks—a pilot study of hospital cleaners. *Environ. Health* 8 (11). <https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-11>.

Bencko, V., Yan Li Foong, F., 2017. The history of arsenical pesticides and health risks related to the use of Agent Blue. *Ann. Agric. Environ. Med. AAEM* 24, 312–316. <https://doi.org/10.26444/aaem/74715>.

Buckland, G., González, C.A., Agudo, A., Vilardell, M., Berenguer, A., Amiano, P., Ardanaz, E., Arriola, L., Barricarte, A., Basterretxea, M., Chirlaque, M.D., Cirera, L., Dorronsoro, M., Egües, N., Huerta, J.M., Larrañaga, N., Marin, P., Martínez, C., Molina, E., Navarro, C., Quirós, J.R., Rodríguez, L., Sanchez, M.-J., Tormo, M.-J., Moreno-Iribas, C., Adherence to the Mediterranean Diet and Risk of Coronary Heart Disease in the Spanish EPIC Cohort Study, 2009. *Am. J. Epidemiol.* 170, 1518–1529. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp282>.

Byrne, C., Divekar, S.D., Storch, G.B., Parodi, D.A., Martin, M.B., 2013. Metals and breast cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 18, 63–73. <https://doi.org/10.1007/s10911-013-9273-9>.

Casares, M.L., Ulierte, N., Matarán, A., Ramos, A., Zamorano, M., 2005. Solid industrial wastes and their management in Asegra (Granada, Spain). *Waste Manag.* 25, 1075–1082. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.02.023>.

Castillo, A., Díaz, L.S., Chica, M., Espinar, J.A.L., 2004. Distribución espacial de nitratos en el acuífero de la Vega de Granada: análisis de las situaciones en 1983 y 2003. *Geogaceta* 115–118.

Castro-González, M.I., M´endez-Armenta, M., 2008. Heavy metals: implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.06.001>.

Centers for Disease Control and Prevention, 2009. Fourth national report on human exposure to environmental chemicals.

Cetin, B., Yatkin, S., Bayram, A., Odabasi, M., 2007. Ambient concentrations and source apportionment of PCBs and trace elements around an industrial area in Izmir, Turkey. *Chemosphere* 69, 1267–1277. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.064>.

Charazac, A., Hinault, C., Bost, F., Clavel, S., Chevalier, N., 2019. Low doses of persistent organic pollutants (PFOA and PCB153) increase the tumor aggressiveness of hormone-dependent cancer cells. *BioScientifica Presented at the 21st European Congress of Endocrinology*. <https://doi.org/10.1530/endoabs.63.P999>.

Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G.F., Sager, P.R., 2012. *Biological monitoring of toxic metals*. Springer science & business media.

Çok, I., Hakan Şatıroğlu, M., 2004. Polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue of primiparous women in Turkey. *Environ. Bar Int.* 30, 7–10. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00140-5](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00140-5).

IBM Corp, 2013. *IBM SPSS Statistics for windows. v. 22.0*. IBM Corp, Armonk, NY. Covaci, A., de Boer, J., Ryan, J.J., Voorspoels, S., Schepens, P., 2002. Distribution of organobrominated and organochlorinated contaminants in Belgian human adipose tissue. *Environ. Res.* 88, 210–218. <https://doi.org/10.1006/enrs.2002.4334>.

SánchezCruz, J.J., Sánchez-Villegas, P., Moya Garrido, M.N., Mayoral Cortés, J.M., 2010. La salud en Andalucía según las Encuestas Andaluzas de Salud (EAS): EAS-1999, EAS-2003 y EAS-2007.

Cukrov, N., Frančičskovič-Bilinski, S., Mikac, N., Roje, V., 2008. Natural and anthropogenic influences recorded in sediments from the Krka river estuary (Eastern Adriatic coast), evaluated by statistical methods. *Fresenius Environ. Bull.* 17, 855–863.

Dai, Q., Min, X., Weng, M., 2016. A review of polychlorinated biphenyls (PCBs) pollution in indoor air environment. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 66, 941–950. <https://doi.org/10.1080/10962247.2016.1184193>.

Datos Espaciales de Referencia de Andalucía (DERA) para escalas intermedias, 2014. Divisiones administrativas.

Díez, M., Simón, M., Martín, F., Dorronsoro, C., García, I., Van Gestel, C.A.M., 2009. Ambient trace element background concentrations in soils and their use in risk assessment. *Sci. Total Environ.* 407, 4622–4632. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.012>.

Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Iribarne-Durán, L.M., Fiket, Z., Dolenc, M., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Arrebola, J.P., 2019. Levels and determinants of adipose tissue cadmium concentrations in an adult cohort from Southern Spain. *Sci. Total Environ.* 670, 1028–1036. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.114>.

Eljarrat, E., Martínez, M.A., Sanz, P., Concejero, M.A., Piña, B., Quiós, L., Raldúa, D., Barceló, D., 2008. Distribution and biological impact of dioxin-like compounds in risk zones along the Ebro River basin (Spain). *Chemosphere* 71, 1156–1161. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.031>.

Fernández, M., Cuesta, S., Jiménez, O., García, M.A., Hernández, L.M., Marina, M.L., González, M.J., 2000. Organochlorine and heavy metal residues in the water/sediment system of the Southeast Regional Park in Madrid, Spain. *Chemosphere* 41, 801–812. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00004-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00004-7).

Fiket, Z., Roje, V., Mikac, N., Kniewald, G., 2007. Determination of arsenic and other trace elements in bottled waters by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Croat. Chem. Acta* 80 (1), 91–100.

Free Software Foundation, 2018. QGIS. version 3.8.0. Zanzibar.

Freire, C., Amaya, E., Gil, F., Fernández, M.F., Murcia, M., Llop, S., Andiarrena, A., Aurrekoetxea, J., Bustamante, M., Guxens, M., Ezama, E., Fernández-Tardón, G., Olea, N., 2018. Prenatal co-exposure to neurotoxic metals and neurodevelopment in preschool children: the Environment and Childhood (INMA) Project. *Sci. Total Environ.* 621, 340–351. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.273>.

Freire, C., Vrhovnik, P., Fiket, Z., Salcedo-Bellido, I., Echeverría, R., Martín-Olmedo, P., Kniewald, G., Fernández, M.F., Arrebola, J.P., 2020. Adipose tissue concentrations of arsenic, nickel, lead, tin, and titanium in adults from GraMo cohort in Southern Spain: an exploratory study. *Sci. Total Environ.* 719, 137458 <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137458>.

García-Pérez, J., Boldo, E., Ramis, R., Pollán, M., Pérez-Gómez, B., Aragonés, N., López-Abente, G., 2007. Description of industrial pollution in Spain. *BMC Publ. Health* 7 (40). <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-40>.

García-Soldado, 2013. Metodología basada en SIG para el desarrollo de un Sistema Soporte de Decisión en la gestión de la calidad de los recursos hídricos subterráneos de la “Vega de Granada.” Universidad de Granada.

Gonzalez, C.A., Riboli, E., 2010. Diet and cancer prevention: contributions from the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC) study. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl* 1990 (46), 2555–2562. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.025>.

Harner, T., Shoeib, M., Diamond, M., Stern, G., Rosenberg, B., 2004. Using passive air samplers to assess Urban-Rural trends for persistent organic pollutants. 1. Polychlorinated biphenyls and organochlorine pesticides. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4474–4483. <https://doi.org/10.1021/es040302r>.

Hjortenkrans, D.S.T., Bergback, B.G., Häggerud, A.V., 2007. Metal emissions from brake linings and tires: case studies of Stockholm, Sweden 1995/1998 and 2005. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5224–5230. <https://doi.org/10.1021/es070198o>.

IGME, 2005. VI Simposio del agua en Andalucía.

Instituto Geográfico Nacional, 2017. Mapa minero, Atlas nacional de España, 2017.

Instituto Geográfico Nacional, 2019. Cartografía del Sistema de Información del Atlas Nacional de España (CARTOSIANE).

Instituto Tecnológico Geominero de España, 1998. Mapa hidrogeológico de Andalucía.

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., Beeregowda, K.N., 2014. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscipl. Toxicol.* 7, 60–72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>.

Joffe, M., 1992. Validity of exposure data derived from a structured questionnaire. *Am. J. Epidemiol.* 135, 564–570. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116323>.

Jones, K.C., de Voogt, P., 1999. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ. Pollut.* 100, 209–221. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00098-6).

Junta de Andalucía - Consejería de Salud, 2004. Plan para la promoción de la actividad física y la alimentación equilibrada 2004–2008.

Kizalaite, A., Brimiene, V., Brimas, G., Kiuberis, J., Tautkus, S., Zarkov, A., Kareiva, A., 2019. Determination of trace elements in adipose tissue of obese people by microwave-assisted digestion and inductively coupled plasma optical emission spectrometry. *Biol. Trace Elem. Res.* 189, 10–17. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1450-7>.

Kortenkamp, A., 2007. Ten years of mixing cocktails: a review of combination effects of endocrine-disrupting chemicals. *Environ. Health Perspect.* 115, 98–105. <https://doi.org/10.1289/ehp.9357>.

Koskenniemi, J.J., Virtanen, H.E., Kiviranta, H., Damgaard, I.N., Matomäki, J., Thorup, J.M., Hurme, T., Skakkebaek, N.E., Main, K.M., Toppari, J., 2015. Association between levels of persistent organic pollutants in adipose tissue and cryptorchidism in early childhood: a case-control study. *Environ. Health* 14 (78). <https://doi.org/10.1186/s12940-015-0065-0>.

Lee, D.-H., Porta, M., Jacobs, D.R., Vandenberg, L.N., 2014. Chlorinated persistent organic pollutants, obesity, and type 2 diabetes. *Endocr. Rev.* 35, 557–601. <https://doi.org/10.1210/er.2013-1084>.

Lee, Y.-M., Kim, K.-S., Jacobs, D.R., Lee, D.-H., 2017. Persistent organic pollutants in adipose tissue should be considered in obesity research. *Obes. Rev.* 18, 129–139. <https://doi.org/10.1111/obr.12481>.

León, J., Sáenz, J.M., Artacho-Cordón, F., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Salamanca-Fernández, E., Gómez-Peña, C., Olea, N., Arrebola, J.P., 2019. Contribution of sociodemographic, occupational, lifestyle and dietary characteristics to the oxidative stress microenvironment in adipose tissue. *Environ. Res.* 175, 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.04.035>.

Li, Q.Q., Loganath, A., Chong, Y.S., Tan, J., Obbard, J.P., 2006. Persistent organic pollutants and adverse health effects in humans. *J. Toxicol. Environ. Health* 69, 1987–2005. <https://doi.org/10.1080/15287390600751447>.

A Lokeshappa, B., Shivpuri, K., Tripathi, V., Dikshit, K., 2012. Assessment of toxic metals in agricultural produce. *Food Publ. Health* 2, 24–29. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20120201.05>.

Louro, H., Heinala, M., Bessems, J., Buekers, J., Vermeire, T., Woutersen, M., van Engelen, J., Borges, T., Rousselle, C., Ougier, E., Alvito, P., Martins, C., Assunção, R., Silva, M.J., Pronk, A., Schaddelee-Scholten, B., Del Carmen Gonzalez, M., de Alba, M., Castaño, A., Viegas, S., Humar-Juric, T., Kononenko, L., Lampen, A., Vinggaard, A.M., Schoeters, G., Kolossa-Gehring, M., Santonen, T., 2019. Human biomonitoring in health risk assessment in Europe: current practices and recommendations for the future. *Int. J. Hyg Environ. Health* 222, 727–737. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.009>.

Luzardo, O.P., Goethals, M., Zumbado, M., Álvarez-León, E.E., Cabrera, F., Serra-Majem, LI, Boada, L.D., 2006. Increasing serum levels of non-DDT-derivative organochlorine pesticides in the younger population of the Canary Islands (Spain). *Sci. Total Environ.* 367, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.027>.

Martínez Vidal, J.L., Moreno Frías, M., Garrido Frenich, A., Olea-Serrano, F., Olea, N., 2002. Determination of endocrine-disrupting pesticides and polychlorinated biphenyls in human serum by GC-ECD and GC-MS-MS and evaluation of contributions to the uncertainty of the results. *Anal. Bioanal. Chem.* 372, 766–775. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1272-4>.

Medina-Ramon, M., Zock, J., Kogevinas, M., Sunyer, J., Anto, J., 2003. Asthma symptoms in women employed in domestic cleaning: a community based study. *Thorax* 58, 950–954. <https://doi.org/10.1136/thorax.58.11.950>.

Mercado, L.A., Freille, S.M., Vaca-Pereira, J.S., Cuellar, M., Flores, L., Mutch, E., Olea, N., Arrebola, J.P., 2013. Serum concentrations of p,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'-DDE) in a sample of agricultural workers from Bolivia. *Chemosphere* 91, 1381–1385. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.023>.

Merrill Michele, La, Claude, Emond, Ji, Kim Min, Antignac, Jean-Philippe, Bruno, Le Bizec, Karine, Clément, Birnbaum, Linda S., Robert, Barouki, 2013. Toxicological function of adipose tissue: focus on persistent organic pollutants. *Environ. Health Perspect.* 121, 162–169. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205485>.

Micó, C., Recatalá, L., Peris, M., Sánchez, J., 2006. Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere* 65, 863–872. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.016>.

Ministerio de Medio Ambiente, 2006. Perfil Ambiental de España 2005, Informe basado en indicadores [WWW Document] (accessed 6.4.20). <https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/informacion-ambiental-indicadores-ambientales/indicadores-ambientales-perfil-ambiental-de-espana/perfil-ambientalde-espana-2005/default.aspx>.

- Mohmand, J., Eqani, S.A.M.A.S., Fasola, M., Alamdar, A., Mustafa, I., Ali, N., Liu, L., Peng, S., Shen, H., 2015. Human exposure to toxic metals via contaminated dust: bio-accumulation trends and their potential risk estimation. *Chemosphere* 132, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.004>.
- Montano, D., 2014. Chemical and biological work-related risks across occupations in Europe: a review. *J. Occup. Med. Toxicol. Lond. Engl* 9 (28). <https://doi.org/10.1186/1745-6673-9-28>.
- Moreno-Frías, M., Torres, M.J., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., Olea-Serrano, F., Olea, N., 2004. Determination of organochlorine compounds in human biological samples by GC-MS/MS. *Biomed. Chromatogr.* 18, 102–111. <https://doi.org/10.1002/bmc.300>.
- Mustieles, V., Arrebola, J.P., 2020. How polluted is your fat? What the study of adipose tissue can contribute to environmental epidemiology. *J. Epidemiol. Community Health.* <https://doi.org/10.1136/jech-2019-213181>.
- Mustieles, V., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., González-Alzaga, B., Fontalba-Navas, A., Hauser, R., Olea, N., Arrebola, J.P., 2017. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. *Environ. Int.* 104, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.04.002>.
- Núñez, O., Fernández-Navarro, P., Martín-Méndez, I., Bel-Lan, A., Locutura, J.F., López-Abente, G., 2016. Arsenic and chromium topsoil levels and cancer mortality in Spain. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23, 17664–17675. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6806-y>.
- Okeme, J.O., Arrandale, V.H., 2019. Electronic waste recycling: occupational exposures and work-related health effects. *Curr. Environ. Health Rep* 6, 256–268. <https://doi.org/10.1007/s40572-019-00255-3>.
- Parviainen, A., Papaslioti, E.M., Casares-Porcel, M., Garrido, C.J., 2020. Antimony as a tracer of non-exhaust traffic emissions in air pollution in Granada (S Spain) using lichen bioindicators. *Environ. Pollut.* 263, 114482 <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114482>.
- Pascal, M., Corso, M., Chanel, O., Declercq, C., Badaloni, C., Cesaroni, G., Henschel, S., Meister, K., Haluza, D., Martín-Olmedo, P., Medina, S., 2013. Assessing the public health impacts of urban air pollution in 25 European cities: results of the Aphekom project. *Sci. Total Environ.* 449, 390–400. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.077>.
- Peris, M., Micó, C., Recatalá, L., Sánchez, R., Sánchez, J., 2007. Heavy metal contents in horticultural crops of a representative area of the European Mediterranean region. *Sci. Total Environ. Spanish Research on Soil Damage* 378, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.030>.
- Phillips, D.L., Pirkle, J.L., Burse, V.W., Bernert, J.T., Henderson, L.O., Needham, L.L., 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch. Environ. Contam. Toxicology* 18, 495–500. <https://doi.org/10.1007/BF01055015>.
- Porta, M., 2006. Persistent organic pollutants and the burden of diabetes. *Lancet* 368, 558–559. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69174-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69174-5).
- Porta, M., Puig domènech, E., Ballester, F., Selva, J., Ribas-Fitó, N., Llop, S., López, T., 2008. Monitoring concentrations of persistent organic pollutants in the general population: the international experience. *Environ. Bar Int.* 34, 546–561. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.10.004>.

Qin, Y.Y., Leung, C.K.M., Leung, A.O.W., Wu, S.C., Zheng, J.S., Wong, M.H., 2010. Persistent organic pollutants and heavy metals in adipose tissues of patients with uterine leiomyomas and the association of these pollutants with seafood diet, BMI, and age. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17, 229–240. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0251-0>.

R Core Team, 2019. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Austria, Vienna.

Rivas, A., Fernandez, M.F., Cerrillo, I., Ibarluzea, J., Olea-Serrano, M.F., Pedraza, V., Olea, N., 2001. Human exposure to endocrine disrupters: standardisation of a marker of estrogenic exposure in adipose tissue. *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand* 109, 185–197. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2001.090302.x>.

Rodríguez-Pérez, C., Vrhovnik, P., González-Alzaga, B., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Fiket, Z., Kniewald, G., Arrebola, J.P., 2018. Sociodemographic, lifestyle, and dietary determinants of essential and possibly-essential trace element levels in adipose tissue from an adult cohort. *Environ. Pollut.* 236, 878–888. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.093>.

Sabath, E., Robles-Osorio, M.L., 2012. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity. *Nefrol. Engl.* <https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2012.Jan.10928>, 32-279-286.

Schettgen, T., Alt, A., Schikowsky, C., Esser, A., Kraus, T., 2018. Human biomonitoring of polychlorinated biphenyls (PCBs) in plasma of former underground miners in Germany – a case-control study. *Int. J. Hyg Environ. Health* 221, 1007–1011. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.06.006>.

Schwarzenbach, R.P., Egli, T., Hofstetter, T.B., von Gunten, U., Wehrli, B., 2010. Global water pollution and human health. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 35, 109–136. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-100809-125342>.

Servicio Público de Empleo Estatal, 2019. Ministerio de Trabajo, Migraciones y Seguridad Social del Gobierno de España. In: Informe del mercado de trabajo de la provincia de Granada. Datos 2018.

Smeds, A., Saukko, P., 2001. Identification and quantification of polychlorinated biphenyls and some endocrine disrupting pesticides in human adipose tissue from Finland. *Chemosphere* 44, 1463–1471. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00313-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00313-1).

Solomon, G.M., Morello-Frosch, R., Zeise, L., Faust, J.B., 2016. Cumulative Environmental Impacts: Science and Policy to Protect Communities. *Annu. Rev. Public Health* 37, 83–96. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-032315-021807>.

Subdirección General de Calidad del Aire y Medio Ambiente Industrial, Ministerio para la Transición Ecológica, 2019. Evaluación de la Calidad del Aire en España 2018.

Svingen, T., Vinggaard, A.M., 2016. The risk of chemical cocktail effects and how to deal with the issue. *J. Epidemiol. Community Health* 70, 322–323. <https://doi.org/10.1136/jech-2015-206268>.

Tinkov, A.A., Sinitskii, A.I., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., Gatiatulina, E.R., Skalnaya, M.G., Skalny, A.V., Nikonorov, A.A., 2015. Alteration of local adipose tissue trace element homeostasis as a possible mechanism of obesity-related insulin resistance. *Med. Hypotheses* 85, 343–347. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.06.005>.

United Nations Environment Program, 2018. The Stockholm convention on persistent organic pollutants.

Varona, M.E., Díaz-Criollo, S.M., Lancheros-Bernal, A.R., Murcia-Orjuela, A.M., Henao-Londoño, G.L., Idrovo, A.J., 2010. Organochlorine pesticide exposure among agricultural workers in Colombian regions with illegal crops: an exploration in a hidden and dangerous world. *Int. J. Environ. Health Res.* 20, 407–414. <https://doi.org/10.1080/09603123.2010.491855>.

Wingfors, H., Lindström, G., van Bavel, B., Schuhmacher, M., Hardell, L., 2000. Multivariate data evaluation of PCB and dioxin profiles in the general population in Sweden and Spain. *Chemosphere* 40, 1083–1088. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00356-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00356-2).

Wong, M.H., Armour, M.-A., Naidu, R., Man, M., 2012. Persistent toxic substances: sources, fates and effects. *Rev. Environ. Health* 27, 207–213. <https://doi.org/10.1515/reveh-2012-0040>.

TRABAJO 4 (Objetivos 2 y 3)

Associations of internal Persistent Organic Pollutant levels with sex hormones: an analysis by sex and menopausal status in a Spanish cohort.

Ruth Echeverría^a, Inmaculada Salcedo-Bellido^{a,b,c}, Francisco M. Pérez-Carrascosa^{a,b,d}, Pilar Requena^{a,b,c}, Rocío Barrios-Rodríguez^{a,b,c}, Juan José Ramos^e, Nicolás Olea^{b,c,f}, Mariana F. Fernández^{b,c,f}, Piedad Martín-Olmedo^{b,g}, Juan Pedro Arrebola^{a,b,c,*}

a Universidad de Granada. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Granada, Spain.

b Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, Spain.

c CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, Spain.

d Servicio de Oncología Radioterápica, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, Spain.

e Área de Toxicología Ambiental, Centro Nacional de Sanidad Ambiental (CNSA), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

f Universidad de Granada. Departamento de Radiología y Medicina Física, Granada, Spain.

g Escuela Andaluza de Salud Pública, Granada, Spain

* Corresponding author

En revisión para su publicación en la revista iScience, Factor de impacto: 5.458, Q1 (Multidisciplinary).

ABSTRACT

Persistent organic pollutants (POPs) are a matter of concern due to their ubiquity in the environment and the health issues related to human permanent exposure to low doses of these chemicals, despite international regulations placed on some of them. Alterations on the endocrine balance produced by these chemicals are not totally elucidated and, in many cases, mechanisms of action remain unclear. In this research, we aimed to evaluate the associations of adipose tissue and serum concentrations of three families of POPs, namely polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides (OCPs), and per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS), with serum sex hormone levels in the GraMo adult cohort (Spain), considering sex and menopausal status. Individual contaminant analyses were performed by means of multivariable linear regression models, and weighted quantile sum regressions were calculated in a multipollutant approach, in order to obtain information about multiple exposure. Our results revealed a differential POPs accumulation, in which postmenopausal women showed the highest concentrations of PCBs and OCPs, whereas PFAS levels were higher in men than in women. We found the exposure to mixtures of POPs is associated with decreased FSH, LH and SHBG, and increased testosterone in women. In men, a positive association of the mixture of PCBs and OCPs with FSH was observed. With regards to individual pollutants, PCB-138, PCB-153 and PCB-180 were positively associated with estradiol, both in men and in women. In addition, we found positive associations of α -HCH with FSH in men and premenopausal women. In women, we observed positive associations of PCB-180 and PFHxS with testosterone, a negative association of PFHxS with SHBG, a positive association of PCB-138 with FSH in premenopausal women, and a borderline, positive association of dicofol with SHBG in postmenopausal women. Men showed negative associations of *p,p'*-DDE and α -HCH with SHBG, and a positive association of PFDA with testosterone. These results indicate that the accumulation of POPs in organisms, individually or combined, could be associated with modifications in sex hormone levels in different manners in men and women, which could have serious implications for public health.

KEYWORDS

Persistent organic pollutants, pollutant mixtures, sex hormones, adipose tissue.

Funding sources

This research was supported by grants from Instituto de Salud Carlos III and European Regional Development Fund – FEDER (PI20/01568, PI18/01573, PI16/01858, PI16/01812). Dr. J.P. Arrebola is under contract within Ramon y Cajal program (RYC-2016-20155, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spain).

1. Introduction

Persistent organic pollutants (POPs) are anthropogenic organic compounds that remain for extremely long periods in the environment and accumulate in flora and fauna around the planet, entering the food chain and contaminating food and water supplies. Low doses of POPs in humans can result on allergies, cancer, damage to the nervous system, reproductive disorders, alterations in the immune system and metabolic diseases (Alharbi et al., 2018; Qing Li et al., 2006). In 2001, the Stockholm Convention of the United Nations Environment Programme was adopted with the objective of protecting human health and the environment from POPs, by eliminating or restricting their production and use, as well as ensuring their safe destruction when their life cycle is ended (Lallas, 2001; Secretariat of the Stockholm Convention, 2020).

Some POPs are considered endocrine disrupting chemicals (EDCs), that is, exogenous substances that affect hormone activity in the body at different levels. Due to their structure and similarities with endogenous hormones, EDCs are capable of interacting with hormone receptors and signal transduction, causing epigenetic alterations and disrupted hormone synthesis, transport and breakdown (La Merrill et al., 2020). As a result, human exposure to these substances is thought to be linked to several diseases including cancer, reproductive impairment, neurological disorders and metabolic diseases, among others, although there are still a number of uncertainties regarding their effects and threshold levels in the general population (Kahn et al., 2020; Yilmaz et al., 2020; Zoeller et al., 2012).

Many POPs are ubiquitous and humans are frequently exposed to low levels through air and water, food, clothes, and cosmetics, among other sources. Consequently, human biomonitoring is a key tool in the assessment of the body burden of pollutants, taking into account that internal levels of pollutants represent all exposure routes simultaneously (Louro et al., 2019b). In this regard, adipose tissue gives meaningful information about the long-term accumulation of some POPs, despite the difficulties that sampling techniques might pose (Mustieles and Arrebola, 2020b). To date, the identification of POPs and EDCs has concerned international and national institutions worldwide, challenging scientists and regulators to find specific characteristics which allow to reduce population's exposure to these chemicals (La Merrill et al., 2020).

Organochlorine pesticides (OCPs) were extensively used in agriculture and public health campaigns until they were restricted or banned due to their high toxicity, persistence, and bioaccumulation. Human exposure to OCPs has been associated to higher risk of type 2 diabetes (Arrebola et al., 2013c; Han et al., 2020), metabolic disorders (Mustieles et al., 2017b), and obesity (Arrebola et al., 2014c; Pinos et al., 2021), among other diseases.

Non-dioxin-like polychlorinated biphenyls (PCBs) are organic compounds that started being manufactured in the 1930s as a component in lubricating oils, hydraulic fluids, insulating resins, paints and electronic devices, and were used in Spain until 1986, when they were banned. PCBs can show both estrogenic and antiestrogenic properties, their disrupting effects depending on different factors, such as adiposity (Hetemäki et al., 2017), and dose (Gore et al., 2002). PCBs have been linked to a number of health conditions, including type 2 diabetes, metabolic disorders and obesity (Shan et al., 2020; Wolf et al., 2019).

Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) are a group of synthetic chemicals used in industry for obtaining non-stick and waterproof coatings. Food and water are the main routes of exposure, due to the bioaccumulation in animal and plant-based food, and the use of PFAS in food packaging as well (Qi et al., 2020), but occupational exposure is not negligible. PFAS are chemicals of concern in the European Union because of their suspected effects on reproduction, cancer development and cardiometabolic conditions (Christensen et al., 2019; Tian et al., 2019). Some PFAS are currently being listed in the Stockholm Convention of the United Nations Environment Programme (Fiedler et al., 2019).

Human adipose tissue, where many POPs accumulate due to their lipophilicity, plays a key role in the production and regulation of certain hormones (Hetemäki et al., 2017). In addition, men and women differ in the amount and type of fat in their bodies: women generally have higher fat percentage than men, while a higher proportion of visceral adipose tissue is usually found in men vs. women, being more similar after women's menopause (Palmer and Clegg, 2015). Consequences on human health of alterations of sex hormone levels include reproductive and neurodevelopment problems, cardiometabolic diseases, cancer, bone health conditions and others (Auchus and Sharifi, 2020; Brand and van der Schouw, 2010; Lizneva et al., 2019; Qu and Donnelly, 2020; Venken et al., 2008; Verkasalo et al., 2001).

In this study, we aimed to explore the associations of internal concentrations of a selection of OCPs, PCBs and PFAS, with the levels of sex hormones in a Spanish adult cohort, considering sex and menopausal status.

2. Materials and methods

2.1. Study area

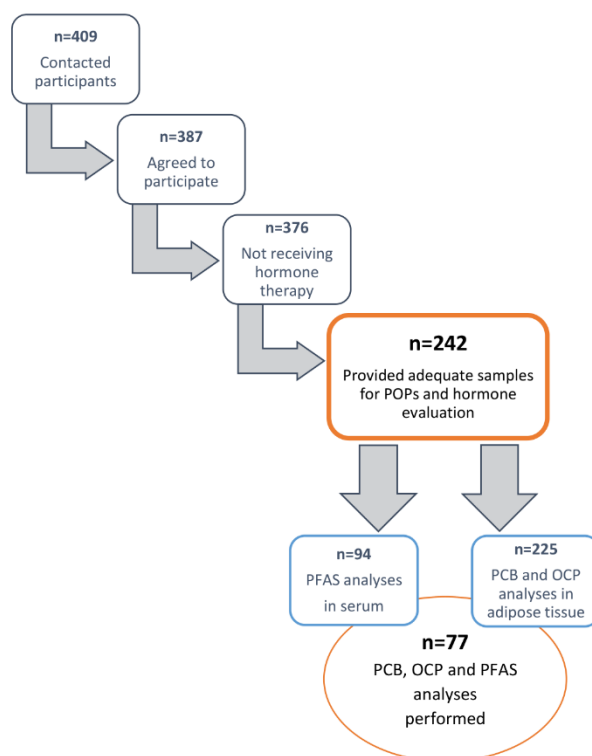
This research has been conducted within GraMo adult cohort in the province of Granada, Southern Spain, in which our group has previously characterized the exposure levels to different POPs and their potential health effects (Arrebola et al., 2015, 2014a, 2014c, 2013a, 2013c, 2010, 2009; Echeverría et al., 2021; Mustieles et al., 2017b; Salcedo-Bellido et al., 2022).

Granada Province includes rural, semi-rural and urban zones, with a population of over 915,000 inhabitants within an area of 12,531 km². The differential exposure to POPs among selected areas in Granada Province has been previously addressed (Echeverría et al., 2021).

2.2. Design and characteristics of participants

Recruitment was performed in two public hospitals in Granada Province: San Cecilio University Hospital in the city of Granada (inland urban area), and Santa Ana Hospital in the town of Motril (semi-rural area in the Mediterranean coast). Recruitment procedure and methodology have been fully described elsewhere (Arrebola et al., 2009). The cohort was recruited in 2003 and 2004 including patients undergoing non-cancer-related surgery, namely hernias (41%), gallbladder diseases (21%), varicose veins (12%), and other conditions (26%).

Fig.1. Selection process diagram, including participants with sex hormones, polychlorinated biphenyls (PCBs), organochlorine pesticides (OCPs) and/or per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) samples.



As described in Figure 1, out of a first set of 409 individuals asked, 387 (94.6%) agreed to participate in the GraMo study. Considering the changes caused in hormone levels by menopause hormone therapy (Fait, 2019), 11 women receiving this therapy were excluded from our study, leaving a total of 376 individuals. The number of participants providing samples for POP measurement, as well as serum samples for hormone evaluation, was 242 (64.4%). 225 of them (93.8%) provided adipose tissue samples for OCP/PCB analyses (Subgroup 1: 113 men, 61 premenopausal women and 51 postmenopausal women), while 94 (38.8%) had their serum analyzed for PFAS quantification (Subgroup 2: 47 men, 23 premenopausal women and 24 postmenopausal women). A total of 77 individuals had both serum and adipose tissue analyses and, therefore, belonged to both Subgroup 1 and Subgroup 2 (32.0%): 35 men, 18 premenopausal women and 24 postmenopausal women. Women who had had the menstruation at least once in the last 12 months were included in the premenopausal women group. Specific data about sociodemographic, lifestyle and diet characteristics for the whole population participating in this study are provided in Table 1. The full description of Subgroups 1 and 2 can be consulted in Supplementary Tables S1 and S2, respectively.

Table 1. Study population characteristics (n=242).

Characteristics n (%)		Men (all) 125 (51.7%)	Women (all) 117 (48.3%)	Premenopausal women 66 (27.3%)	Postmenopausal women 51 (21.1%)	Total 242 (100%)
Sociodemographic characteristics						
Age (yrs) (median, P25-P75)		51.0 (35.0-63.0)	46.0 (34.0-61.5)	35.0 (27.5-42.5)	63.0 (55.0-69.0)	48.9 (34.0-62.0)
Education level	Unfinished primary education	40 (32.0%)	32 (27.3%)	6 (9.1%)	26 (51.0%)	72 (29.7%)
	Primary education	49 (39.2%)	56 (47.9%)	33 (50.0%)	23 (45.1%)	105 (43.4%)
	Secondary or higher education	36(28.8%)	29 (24.8%)	27 (40.9%)	2 (3.9%)	65 (26.9%)
No. children (median, P25-P75) (women only)		---	2.0 (1.0-3.0)	2.0 (0.0-2.0)	3.0 (2.0 – 4.0)	2.0 (1.0-3.0)
BMI (kg/m ²) (median, P25-P75)		27.1 (24.9-29.2)	25.7 (23.2-29.5)	23.8 (22.2-27.6)	27.3 (24.9-31.2)	26.5 (23.8-29.4)
Lifestyle						
Smoking	Non-smoker	28 (22.4%)	66 (56.4%)	25 (37.9%)	41 (80.4%)	94 (38.8%)
	Current smoker	57 (45.6%)	33 (28.2%)	26 (39.4%)	7 (13.7%)	90 (37.2%)
	Former smoker	40 (32.0%)	18 (15.4%)	15 (22.7%)	3 (5.9%)	58 (24.0%)
Oral contraceptives = yes (women only)		---	46 (39.3%)	38 (57.6%)	8 (15.7%)	46 (39.3% of women)
Diet						
Alcohol consumer = yes		97 (77.6%)	38 (32.5%)	30 (45.5%)	8 (15.7%)	135 (55.8%)
Daily diary consumption = yes		104 (83.2%)	100 (85.5%)	56 (84.8%)	44 (86.3%)	204 (84.3%)
Drinking water	Bottled	32 (25.6%)	40 (34.2%)	22 (33.3%)	18 (35.3%)	72 (29.8%)
	Non-bottled	78 (62.4%)	53 (45.3%)	29 (43.9%)	24 (47.1%)	131 (54.1%)
	Bottled and non-bottled	15 (12.0%)	24 (20.5%)	15 (22.7%)	9 (17.7%)	39 (16.1%)
Egg consumption	≤ 1 per week	43 (34.4%)	48 (41.0%)	18 (27.3%)	30 (58.8%)	91 (37.6%)
	= 2 per week	38 (30.4%)	45 (38.5%)	27 (40.9%)	18 (35.3%)	83 (34.3%)
	> 2 per week	44 (35.2%)	24 (20.5%)	21 (31.8%)	3 (5.9%)	68 (28.1%)
Fish and seafood consumption	≤ 1 portion per week	44 (35.2%)	41 (35.0%)	30 (45.5%)	11 (21.6%)	85 (35.1%)
	= 2 portions per week	39 (31.2%)	34 (29.1%)	17 (25.8%)	17 (33.3%)	73 (30.2%)
	> 2 portions per week	42 (33.6%)	42 (35.9%)	19 (28.8%)	23 (45.1%)	84 (34.7%)
Fruit consumption	≤ 2 portions per week	20 (16.0%)	19 (16.2%)	15 (22.7%)	4 (7.1%)	39 (16.1%)

	> 2 portions per week	105 (84.0%)	98 (83.8%)	51 (77.3%)	47 (92.2%)	203 (83.9%)
Vegetables consumption	≤ 1 portion per week	43 (34.4%)	26 (22.2%)	14 (21.2%)	12 (23.5%)	69 (28.5%)
	= 2 portions per week	32 (25.6%)	33 (28.2%)	23 (34.8%)	10 (19.6%)	65 (26.9%)
	> 2 portions per week	50 (40.0%)	58 (49.6%)	29 (43.9%)	29 (56.9%)	108 (44.6%)

P25-P75: 25th percentile-75th percentile.

Categorical variables are expressed as n (%).

2.3. Sampling and analyses

Three families of POPs have been addressed in this study, including a total of 20 chemicals:

- Five organochlorine pesticides (OCPs): hexachlorobenzene (HCB), alpha-hexachlorocyclohexane (α -HCH), beta-hexachlorocyclohexane (β -HCH), *p,p'*-dichlorodiphenyldichloroethylene (*p,p'*-DDE) and dicofol.
- Three non-dioxin-like polychlorinated biphenyl (NDL-PCB) congeners: PCB-138, PCB-153 and PCB-180.
- Twelve per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): perfluoropentanoic acid (PFPeA), perfluorohexanoic acid (PFHxA), perfluoroheptanoic acid (PFHpA), perfluorooctanoic acid (PFOA), perfluorononanoic acid (PFNA), perfluorodecanoic acid (PFDA), perfluoroundecanoic acid (PFUdA), perfluorododecanoic acid (PFDoA), perfluorobutane sulfonic acid (PFBS), perfluorohexane sulfonic acid (PFHxS), perfluoroheptane sulfonic acid (PFHpS) and perfluorooctane sulfonic acid (PFOS).

OCP and PCB concentrations were analyzed in adipose tissue samples, while PFAS were measured in serum.

5–10 g of adipose tissue were intra-operatively collected at the two participating hospitals, and immediately coded and stored at -80 °C. Residues of OCPs and PCBs in adipose tissue were quantified at Laboratorio Analítico Bioclínico (LAB) in Almería (Spain) by high-resolution gas chromatography with a mass spectrometry detector in tandem mode, using a Saturn 2000 ion trap system (Varian, WalnutCreek, CA, USA). Limits of detection for each compound, sample lipid content and the complete methodology have been described elsewhere (Arrebola et al., 2013b, 2013a, 2010, 2009; León et al., 2019; Martínez Vidal et al., 2002; Moreno-Frías et al., 2004; Mustieles et al., 2017a; Phillips et al., 1989; Rivas et al., 2001). The description of individual EDCs concentrations in adipose tissue of the GraMo cohort can be found in previous investigations (Arrebola et al., 2013a, 2010, 2009; Echeverría et al., 2021; Salcedo-Bellido et al., 2022).

Blood samples were collected in S-Monovette neutral tubes (Sarstedt, Nümbrecht, Germany), centrifuged and transported at 4 °C, as described by Esteban et al. (2013), and they were stored until analysis at -20 °C. PFAS analysis procedure has been fully described elsewhere (Bartolomé et al., 2017). The limit of quantification was set by labelled standards, as well as the control of internal quality.

Concentrations of sex hormones (estradiol, pg/mL; FSH and LH, U/mL; SHBG, nmol/L; and total testosterone, ng/mL) were evaluated at IBS.GRANADA in Granada (Spain) through in vitro immunoassay analyses performed in the electrochemiluminescence bioanalyzer cobas e-411 (F. Hoffmann-La Roche Ltd, Basel, Switzerland).

2.4. Covariates and independent variables

Data on socio-demographic characteristics, diet, lifestyle, and health status were collected in face-to-face interviews by trained personnel at the recruitment during hospital stay. Questionnaires were extracted from those designed and validated in a previous investigation (Buckland et al., 2009; Gonzalez and Riboli, 2010). Age was expressed in years (yrs) and BMI was expressed as weight/height squared (kg/m^2). Participants were considered current smokers at recruitment time at any level of daily tobacco consumption (≥ 1 cig/day), and alcohol consumers at any level of weekly alcohol intake (≥ 1 glass/week). Dairy products intake, excluding cheese, was considered to be daily if participants had at least one portion per day. A woman was considered user of oral contraceptives in case she had had them at any time in her life.

2.5. Statistical analyses

The assessment of the associations of individual POPs with sex hormones was performed by means of multivariable linear regression models, considering each contaminant as the dependent variable.

POPs with detection rate higher than 66% were treated as continuous variables, whereas α -HCH, dicofol, PFDA, PFUDA, PFBS and PFHpS were computed as categorical variables (detected vs. non-detected). Analyses were stratified by sex into two groups: men and women. Women group comprised two subgroups according to their menopausal status: premenopausal women and postmenopausal women.

Models for men were adjusted for age (yrs), Body Mass Index (Kg/m^2), smoking habit (smoker or former smoker vs. non-smoker), alcohol consumption (consumer vs. non-consumer), education level (primary or secondary/higher levels vs. unfinished primary level), fish consumption frequency (portions per week), egg consumption frequency (no. of eggs per week), fruit consumption frequency (portions per week), vegetable consumption frequency (portions per week), dairy product consumption frequency (daily vs. non-daily) and type of drinking water (bottled or bottled and non-bottled vs. non-bottled water). Models for women were adjusted for the same covariates, additionally including number of children and use of oral contraceptives at any time in their lives (used oral contraceptives at least once in her life vs. never used oral contraceptives). Model diagnostics included: multicollinearity assessment by means of generalized standard-error inflation factors; homoscedasticity testing by plotting residual vs. fitted values; quantitative independent variables linearity checking by generalized additive models and partial regression plots; and normality of errors verification by normal QQ plots with 95% confidence intervals.

To explore potential mixture effects, weighted quantile sum (WQS) regressions were calculated for all sex hormones, with all the continuous exposures being included in the combined index. This statistical model for multivariable regressions enables the analyses of the combined

exposure to a number of chemicals simultaneously by estimating weighted indexes of pollutants, which provide information about their individual contribution to the overall effect. Input parameters chosen were: exposure concentrations ranked in quartiles, 40% of dataset for training and 60% for validation and 500 bootstrap samples. WQS also requires to *a priori* select the expected direction of the association (positive or negative), that in our case was chosen based on the directions observed in most individual associations, i.e., all models evaluating estradiol were selected as positive for both sexes, while models for testosterone with combined PCBs and OCPs were selected as negative, and other models depended on sex and hormones involved in particular.

Statistical data analyses were performed using R v 4.0.4 with RStudio v 1.2.1335 (R Core Team, 2021), and SPSS Statistics 20.0 (IBM Corp., 2011). The R packages used were: car (Fox and Weisberg, 2019), caret (Kuhn, 2020), ggplot2 (Wickham, 2016), gWQS (Renzetti et al., 2021), haven (Wickham and Miller, 2020), mgcv (Wood, 2011), nlme (Pinheiro et al., 2022), tidyverse (Wickham et al., 2019).

3. Results and discussion

3.1. Concentrations of POPs and sex hormones levels in the study population

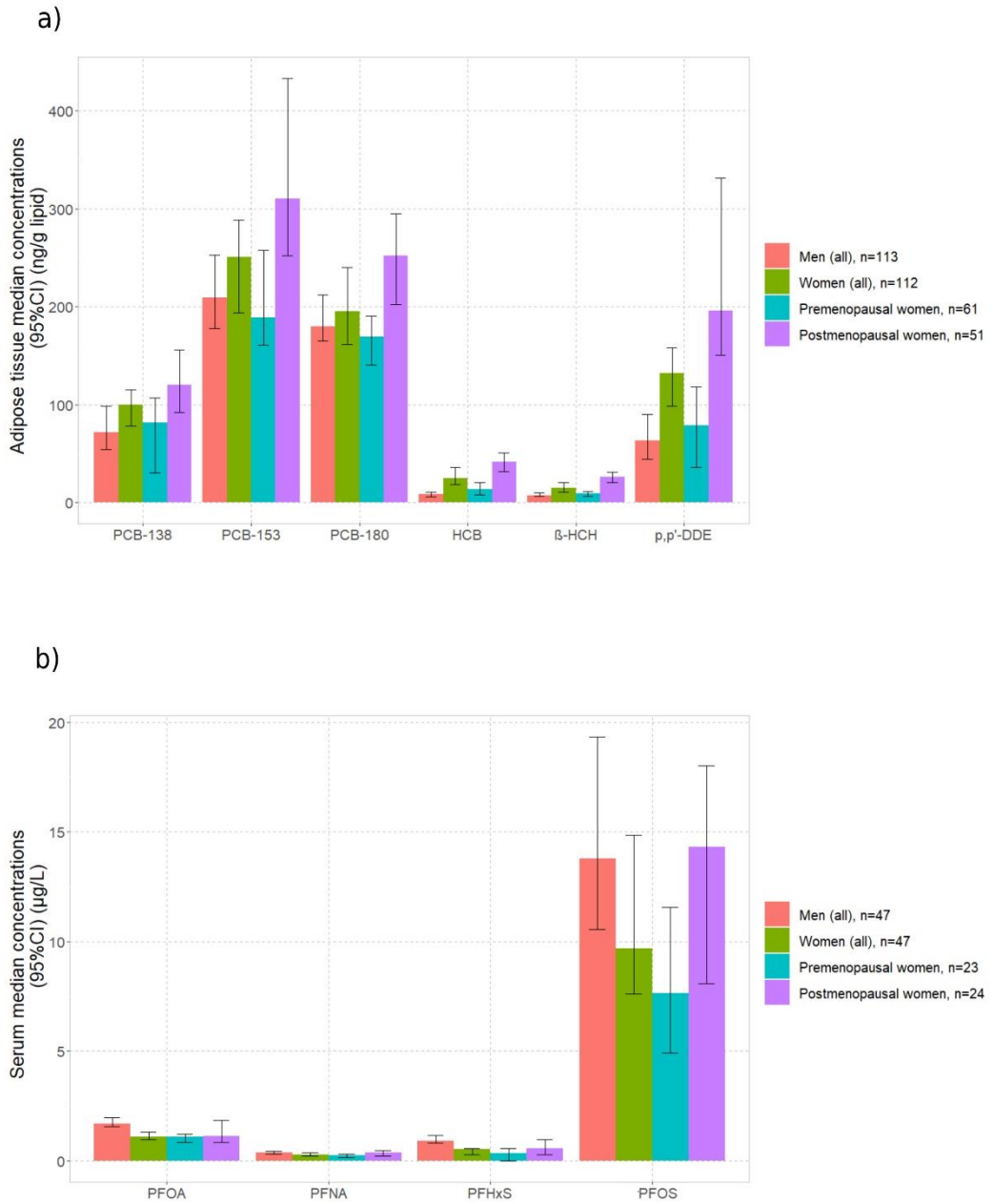
Adipose tissue concentrations of contaminants in men and women (including pre- and postmenopausal women) are listed in supplementary Tables S3 and S4. The distribution of OCPs, PCBs and PFAS in the total population in the GraMo cohort, as well as their comparison with other studies have been widely discussed in previous publications (Arrebola et al., 2013a, 2010, 2009; Echeverría et al., 2021). HCB, β -HCH, *p,p'*-DDE and PCBs were found in 100% of the 225 samples. Dicofol and α -HCH were detected in 26.2% and 27.6% of the total population, respectively (Supplementary Table S3).

Serum PFAS concentrations in the 94 analyzed samples are summarized in Supplementary Table S4. PFOS and PFOA were detected in 100% of them, while PFDoA and PFBS were only detected in 2.1% and the rest ranged from 4.3% to 91.5%. Considering the low detection rate of PFDoA, PFBS and PFHpS (<5%), they were excluded of the statistical analyses, as well as those PFAS with no cases detected (PFPeA, PFHxA and PFHpA). PFOS showed the highest median (p25-p75) concentration, reaching 13.8 (9.5-27.6) $\mu\text{g/L}$ in men, and 9.7 (5.8-17.2) $\mu\text{g/L}$ in women; followed by PFOA, with 1.7 (1.4-2.3) $\mu\text{g/L}$ in men, and 1.1 (0.8-1.6) $\mu\text{g/L}$ in women. In the Spanish study BIOAMBIENT.ES, Bartolomé et al. (2017) found median (p25-p75) levels of PFOS, PFOA, PFHxS, PFNA and PFDA of 7.6 (5.3-11.1) $\mu\text{g/L}$, 2.0 (1.4-3.0) $\mu\text{g/L}$, 0.8 (0.5-1.3) $\mu\text{g/L}$, 0.9 (0.7-1.3) $\mu\text{g/L}$ and 0.4 (0.3-0.6) $\mu\text{g/L}$, respectively. Levels and detection rates obtained in this study are higher than our results in GraMo cohort, even considering only the data corresponding to the region of Andalusia (Bartolomé et al., 2017). Nevertheless, Granada is one of the 8 provinces in the extensive and heterogeneous region of Andalusia, representing only 10.9% of Andalusian population, which could explain the observed differences. Additionally, BIOAMBIENT.ES samples were collected in 2009-2010, 6-7 years after GraMo samples. Notably, the prevalence of overweight and obesity in Andalusia increased in that period from 37.22% and 17.62% in 2003, to 39.9% and 19.64 in 2009, respectively (Martínez-Brocca and Mayoral-Sánchez, 2016). Given the previously-reported associations of PFAS with adiposity in other populations (Cardenas et al., 2018), levels of PFAS could have raised along with BMI in Andalusian population.

As shown in Supplementary Table S3 and Fig. 2a, postmenopausal women had the highest levels of OCPs and PCBs. Although median age in premenopausal women was considerably lower than in men (36 vs. 52 yrs), men showed the lowest median concentrations of HCB, β -HCH, *p,p'*-DDE and PCB-138. Detection rate of α -HCH was the highest in postmenopausal women, while premenopausal women showed the highest detection rate of dicofol. Taking into account that OCP and PCB bioaccumulation are frequently increased in aged individuals (Patterson et al., 2009), and considering median ages of men and women (62 and 48 years, respectively), our results point out a potential sex-specific accumulation of OCPs and PCBs in adipose tissue with higher levels in women than in men (Fig. 3a).

All median PFAS serum concentrations were higher in men vs. women (Supplementary Table S4 and Fig. 2b), and detection rate, when different from 100%, was the highest for all chemicals of this family in men, except for PFDoA, which was higher in premenopausal women. Interestingly, postmenopausal women had the highest levels of PFOS. Previous studies have found inconsistent differences among sexes in PFAS concentrations, some of them reporting lower levels in women than in men (Bartolomé et al., 2017; Graber et al., 2019; Hu et al., 2018), which could be explained by the elimination of PFAS through breastfeeding and menstruation (Glynn et al., 2012; Wong et al., 2014), while others obtained opposite results (Salihovic et al., 2015). Indeed, elimination of PFAS in women through these two routes would explain concentration's decrease/stabilization during the fertile period, followed by an increase after menopause, the latter being more similar to the behaviour in men (Fig. 3b), and consistent with findings by Bartolomé et al. (2017). On the other hand, higher concentrations of PFOA in young vs. aged men could be a consequence of the occupational exposures, that in GraMo cohort affects 22.9% of the participants, including building, auto and industry workers (Echeverría et al., 2021). PFOA's half-life in blood of 3.8 years (95%CI,3.1-4.4), lower than other PFAS (Li et al., 2018; Olsen et al., 2007), would allow concentrations to drop few years after retirement at the age of 65.

Fig. 2. Comparison of Persistent Organic Substances (POPs) concentrations (95%CI) at recruitment in men and women in: a) adipose tissue (ng/g lipid); b) serum ($\mu\text{g/L}$).

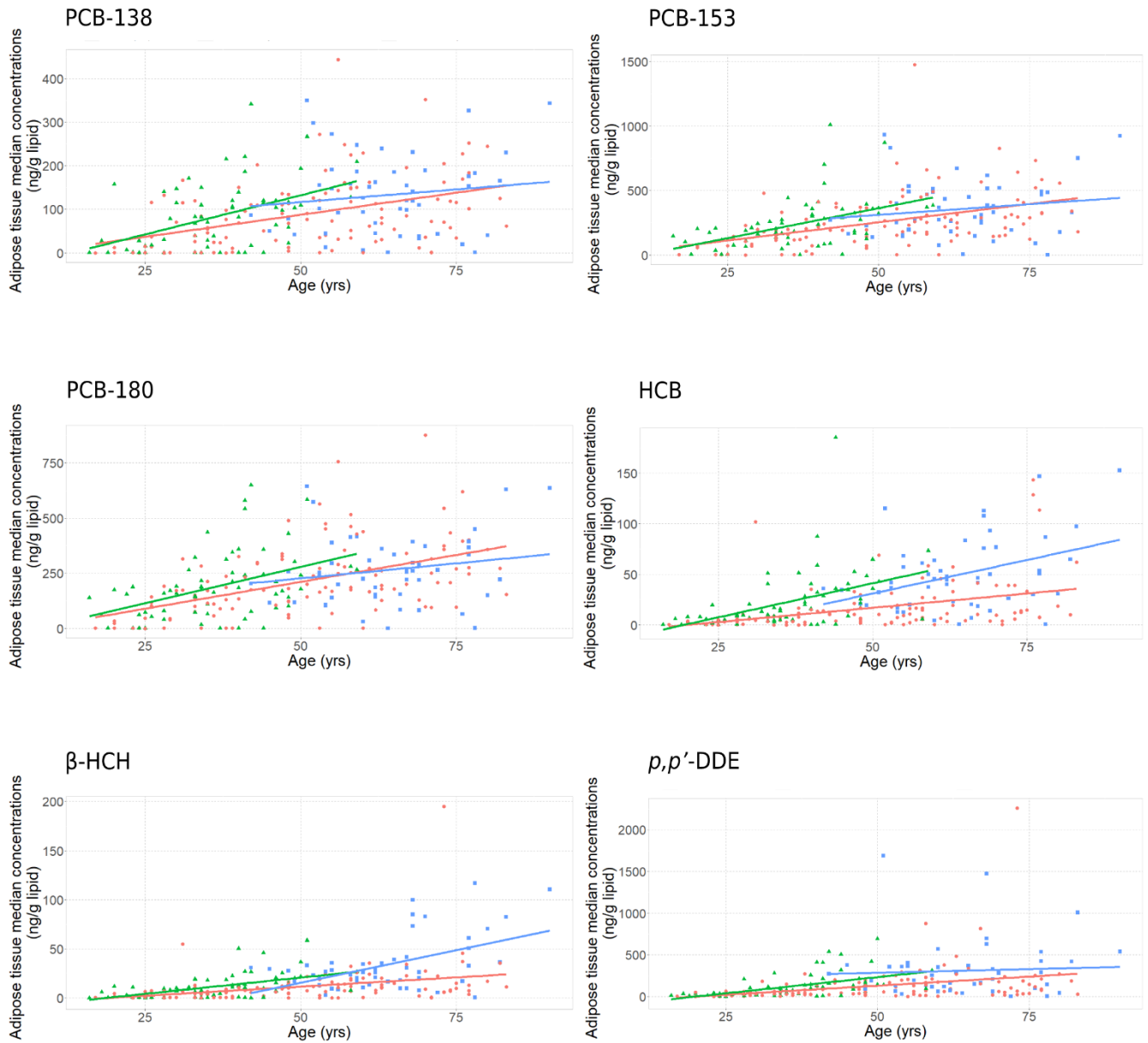


POPs with detection rate over 66% are shown.

Fig. 3. Relationship between Persistent Organic Substances (POPs) concentrations and age. Scatter plots representing unadjusted linear regression models.

a) Polychlorinated biphenyls (PCBs) and organochlorine pesticides (OCPs).

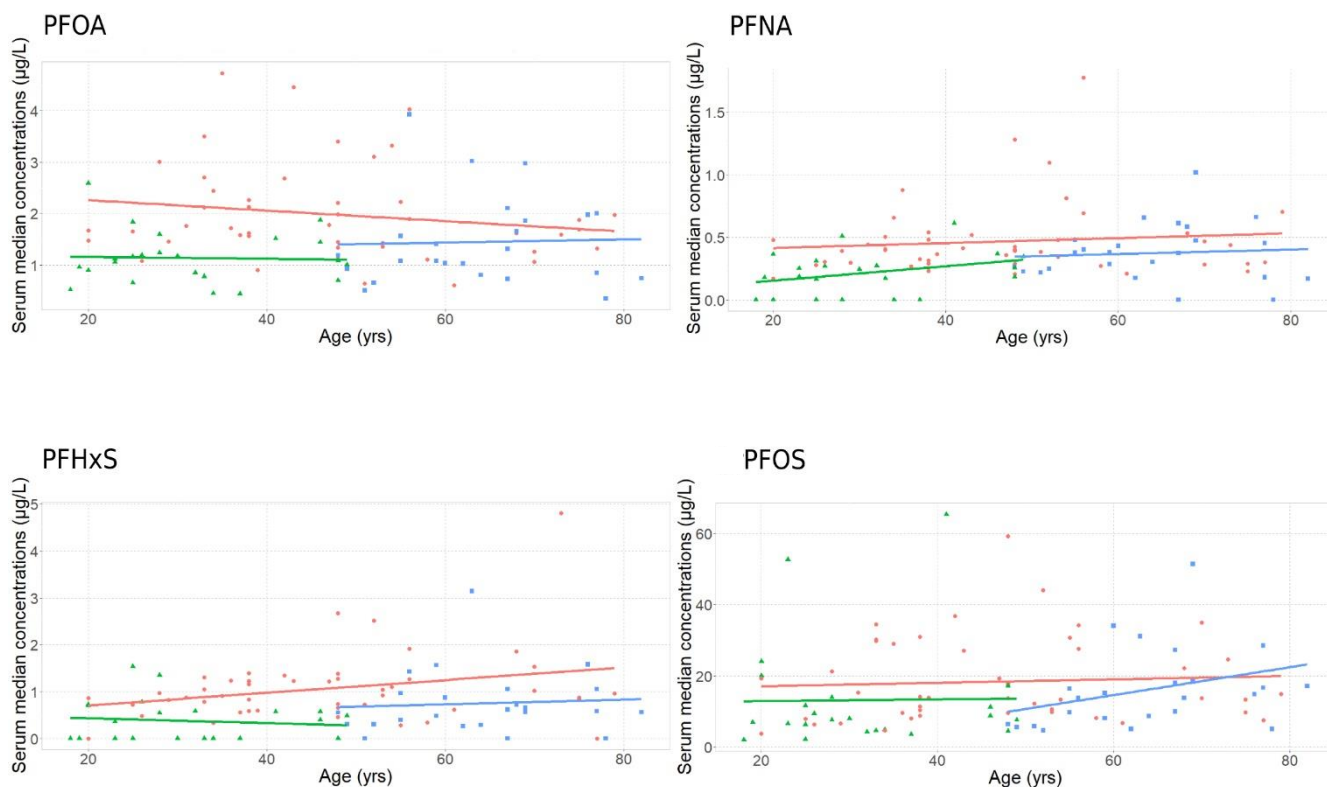
Men (all), n=113 Premenopausal women, n=61 Postmenopausal women, n=51



POPs with detection rate over 66% are shown.

b) Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS).

Men (all), n=47 Premenopausal women, n=23 Postmenopausal women, n=24



POPs with detection rate over 66% are shown.

Table 2 summarizes sex hormones levels in men and women. Among them, postmenopausal women showed the lowest levels of estradiol and testosterone, and the highest levels of FSH and LH. Premenopausal women had the lowest levels of LH, and the highest levels of estradiol and SHBG. Men showed the lowest levels of SHBG and the highest levels of testosterone. FSH levels were similar in premenopausal women and men.

Considering the usual changes in sex hormones levels with age (Chahal and Drake, 2007) and the median age of each group under study, levels of estradiol and testosterone found in the men of the GraMo cohort are within the ranges described by Decaroli et al. (2016), but levels of estradiol in premenopausal women were slightly below, probably due to the influence of perimenopausal women, who were included among premenopausal women in our study. Median SHBG levels in women are coherent with those obtained for healthy women by Elmlinger et al. (2005), although levels found in men from our cohort are higher. It must be noticed that there is no record about the day in the menstrual cycle in which the samples were collected. Thus, the strong variations of sex hormones levels during the cycle in fertile women (including estradiol, FSH and LH) (Reed and Carr, 2000; Sherman and Korenman, 1975), could not be considered.

Table 2. Summary of sex hormones serum levels in the study population.

Sex hormone concentrations	Men (all) Median (P25-P75)	Women (all) Median (P25-P75)	Premenopausal women Median (P25-P75)	Postmenopausal women Median (P25-P75)
Estradiol (pg/mL) n=209	24.2 (13.3-37.7) n=115	46.0 (6.3-99.1) N=94	69.3 (36.6-158.5) n=54	6.4 (5.2-36.3) n=40
FSH (U/mL) n=242	6.8 (4.9-12.3) n=125	14.3 (5.8-58.6) N=117	6.7 (4.4-12.2) n=66	59.7 (30.1-73.1) n=51
LH (U/mL) n=242	7.9 (5.6-14.4) n=125	10.3 (5.4-23.2) N=117	6.8 (4.1-15.2) n=66	21.4 (9.0-33.1) n=51
SHBG (nmol/L) n=234	52.9 (35.9-67.0) n=124	65.6 (51.7-91.9) N=110	68.8 (53.7-99.2) n=59	60.9 (47.8-80.7) n=51
Total testosterone (ng/mL) n=240	4.3 (2.9-5.7) n=124	0.3 (0.2-0.5) N=116	0.3 (0.3-0.7) n=65	0.2 (0.2-0.5) n=51

P25-P75: 25th percentile-75th percentile.

FSH: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; SHBG: sex hormone binding globulin.

3.2. Associations of POPs with sex hormones: individual-chemical analyses

Results of the multivariable linear regression analyses with individual POPs for men and women are summarized in Tables 3 and 4. Additional analyses were performed for pre- and postmenopausal women (Supplementary Tables S5 and S6), that were restricted to the population with available PCBs and OCPs, due to the limited number of individuals with PFAS concentrations.

3.2.1. Estradiol

Associations between PCB concentrations and estradiol levels were positive both in men and women (Tables 3 and 4, and Fig.4). Biological activity of PCBs has been reported to be both estrogenic and anti-estrogenic, and studies in both directions can be found in the literature (Cooke et al., 2001; deCastro et al., 2006; Kester et al., 2000; Ma and Sassoon, 2006; Oh et al., 2007). Indeed, PCB-153, the most abundantly detected in human tissues (World Health Organization, 2016) and the one with the highest median concentration in GraMo cohort, is considered to be estrogenic according to Cooke et al. (2001), but is listed as non-estrogenic by deCastro et al. (2006), as well as phenobarbital, CYP1A and CYP2B inducer by Wolff et al. (1997). Although PCB-138, PCB-153, PCB-180 and their metabolites show affinity for the estrogen receptor, agonist and antagonist effects can be observed after binding (Chubb et al., 2004; Kitamura et al., 2005). Plísková et al. (2005), reported these three PCBs would have a weak antiestrogenic activity, but only in highly exposed men, which is not the case of the GraMo cohort. On the other hand, we found suggestive positive results in postmenopausal women and no associations in premenopausal women (Table S6). The increase in estradiol production in visceral adipose tissue (typical in men and postmenopausal women) with adiposity (Hetemäki et al., 2017) could explain our results, on the basis of previous findings within GraMo cohort of positive associations of adipose tissue concentrations of PCB-138 and PCB-153 with obesity measured as BMI (Arrebola et al., 2014b). It is noteworthy that the majority of investigations with PCBs in human organisms has been performed using blood samples, while very few are based on adipose tissue analyses, which may result in different effects and hamper comparisons.

Table 3. Associations of Persistent Organic Pollutants (POPs) with sex hormones levels in men. Multivariable linear regression analyses with single pollutants.

MEN		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value
PCB-138 ¹	Estradiol (n=103)	0.122	0.059	0.042	FSH (n=113)	0.021	0.014	0.120	LH (n=113)	-0.016	0.013	0.226
PCB-153 ¹		0.053	0.024	0.029		0.005	0.005	0.368		-0.006	0.005	0.240
PCB-180 ¹		0.067	0.031	0.032		0.007	0.007	0.348		-0.006	0.007	0.373
p,p'-DDE ¹		0.006	0.018	0.722		0.004	0.004	0.363		-0.001	0.004	0.802
HCB ¹		0.650	0.195	0.001		0.023	0.043	0.590		0.000	0.043	0.993
α-HCH ²		14.482	12.290	0.242		8.981	2.567	0.001		2.100	2.693	0.437
β-HCH ¹		0.354	0.211	0.097		0.084	0.049	0.089		-0.006	0.049	0.902
Dicofol ²		24.617	10.443	0.021		-0.697	2.440	0.776		-1.378	2.412	0.569
PFOA ³	Estradiol (n=47)	7.900	7.711	0.314	FSH (n=47)	-1.147	1.647	0.492	LH (n=47)	-3.418	2.400	0.165
PFNA ³		20.689	23.534	0.387		-0.350	5.046	0.945		1.017	7.547	0.894
PFDA ²		1.803	13.595	0.895		0.329	2.876	0.910		-2.471	4.278	0.568
PFUdA ²		-11.629	13.744	0.405		3.819	2.854	0.192		6.954	4.204	0.109
PFHxS ³		4.854	8.864	0.588		1.127	1.873	0.552		2.494	2.78	0.377
PFOS ³		-0.607	0.562	0.289		0.008	0.121	0.950		-0.043	0.181	0.813
PCB-138 ¹	SHBG (n=112)	-0.041	0.033	0.217	Total testosterone (n=112)	-0.005	0.004	0.131	Total testosterone (n=47)	-0.005	0.004	0.131
PCB-153 ¹		-0.012	0.013	0.361		-0.001	0.001	0.440		-0.001	0.001	0.440
PCB-180 ¹		-0.023	0.017	0.180		-0.001	0.002	0.752		-0.001	0.002	0.752
p,p'-DDE ¹		-0.019	0.010	0.054		0.000	0.001	0.970		0.000	0.001	0.970
HCB ¹		-0.158	0.102	0.125		0.001	0.011	0.937		0.001	0.011	0.937
α-HCH ²		-11.014	6.471	0.092		-0.705	0.732	0.338		-0.705	0.732	0.338
β-HCH ¹		-0.188	0.118	0.114		0.003	0.013	0.848		0.003	0.013	0.848
Dicofol ²		1.764	5.857	0.764		0.967	0.635	0.131		0.967	0.635	0.131
PFOA ³	SHBG (n=47)	-2.041	4.787	0.673	Total testosterone (n=47)	0.505	0.383	0.197	0.505	0.383	0.197	
PFNA ³		0.163	14.588	0.991		0.391	1.196	0.746	0.391	1.196	0.746	
PFDA ²		-1.426	8.311	0.865		1.384	0.631	0.037	1.384	0.631	0.037	
PFUdA ²		1.938	8.503	0.821		0.391	0.695	0.578	0.391	0.695	0.578	
PFHxS ³		-5.279	5.357	0.333		0.411	0.441	0.358	0.411	0.441	0.358	
PFOS ³		-0.098	0.350	0.782		0.050	0.027	0.077	0.050	0.027	0.077	

¹ ng/g lipid

² >LOD vs. <LOD

³ µg/L

SE: Standard Error; FSH: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; SHBG: sex hormone binding globulin. Results with p-Values ≤ 0.1 are highlighted.

Models were adjusted for age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²), smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker), education (primary and secondary/university levels vs. unfinished primary level), alcohol consumption (consumer vs. non-consumer), fish consumption frequency (portions per week), egg consumption frequency (no. of eggs per week), fruit consumption frequency (portions per week), vegetables consumption frequency (portions per week), dairy consumption frequency (no. of products per week) and type of drinking water (bottled vs. tap water).

Table 4. Associations of Persistent Organic Pollutants (POPs) with sex hormones levels in women. Multivariable linear regression analyses with single pollutants.

WOMEN		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value
PCB-138 ¹	Estradiol (n=91)	0.205	0.102	0.049	FSH (n=112)	0.045	0.037	0.227	LH (n=112)	0.009	0.019	0.624
PCB-153 ¹		0.093	0.040	0.023		0.014	0.015	0.333		0.005	0.008	0.480
PCB-180 ¹		0.122	0.053	0.025		0.007	0.019	0.709		0.005	0.010	0.602
p,p'-DDE ¹		0.053	0.037	0.161		0.005	0.013	0.694		0.006	0.006	0.331
HCB ¹		0.552	0.241	0.025		-0.100	0.092	0.279		-0.012	0.047	0.802
α-HCH ²		14.827	19.057	0.439		0.527	6.785	0.938		1.651	3.456	0.634
β-HCH ¹		0.297	0.408	0.468		-0.031	0.149	0.834		0.031	0.076	0.683
Dicofol ²		-2.522	19.042	0.895		-0.802	6.496	0.902		-0.339	3.313	0.919
PFOA ³	Estradiol (n=42)	14.128	17.246	0.422	FSH (n=47)	5.076	5.858	0.394	LH (n=47)	-9.407	4.465	0.045
PFNA ³		96.292	66.168	0.160		-3.281	19.202	0.866		-12.247	15.434	0.435
PFDA ²		34.173	27.639	0.230		2.044	9.361	0.829		-2.834	7.597	0.712
PFUdA ²		-4.209	23.670	0.861		9.040	8.112	0.275		8.339	6.549	0.214
PFHxS ³		0.030	21.726	0.999		6.167	7.214	0.400		-4.756	5.873	0.425
PFOS ³		0.305	0.798	0.706		-0.172	0.270	0.530		0.063	0.221	0.778
PCB-138 ¹	SHBG (n=107)	-0.007	0.055	0.894	Total testosterone (n=111)	0.001	0.002	0.529				
PCB-153 ¹		-0.002	0.022	0.935		0.000	0.001	0.576				
PCB-180 ¹		0.004	0.029	0.903		0.001	0.001	0.094				
p,p'-DDE ¹		0.007	0.018	0.708		0.000	0.001	0.520				
HCB ¹		-0.115	0.135	0.393		0.003	0.004	0.493				
α-HCH ²		-3.027	9.932	0.761		-0.512	0.296	0.087				
β-HCH ¹		-0.131	0.218	0.549		-0.006	0.007	0.381				
Dicofol ²		-0.459	10.289	0.965		-0.002	0.289	0.994				
PFOA ³	SHBG (n=44)	-18.240	13.976	0.205	Total testosterone (n=47)	0.331	0.247	0.192				
PFNA ³		-51.916	46.849	0.279		0.384	0.822	0.644				
PFDA ²		-15.097	22.641	0.512		0.444	0.393	0.269				
PFUdA ²		-14.648	20.321	0.478		0.293	0.352	0.413				
PFHxS ³		-30.910	16.702	0.077		0.640	0.288	0.035				
PFOS ³		-0.305	0.685	0.660		0.005	0.012	0.684				

¹ng/g lipid

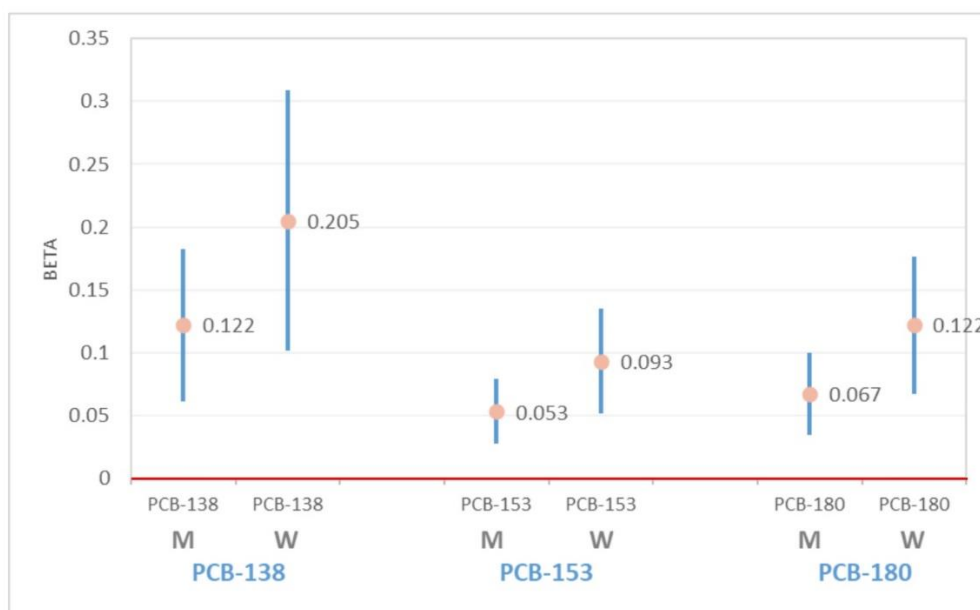
²>LOD vs. <LOD

³µg/L

SE: Standard Error; FSH: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; SHBG: sex hormone binding globulin. Results with p-Values≤0.1 are highlighted.

Models were adjusted for age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²), smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker), education (primary and secondary/university levels vs. unfinished primary level), alcohol consumption (consumer vs. non-consumer), fish consumption frequency (portions per week), egg consumption frequency (no. of eggs per week), fruit consumption frequency (portions per week), vegetables consumption frequency (portions per week), dairy consumption frequency (no. of products per week), type of drinking water (bottled vs. tap water), number of children and use of oral contraceptives (use at any time in their lives vs. no use).

Fig.4. Associations of PCB-138, PCB-153 and PCB-180 (ng/g lipid) with estradiol levels in men and women. Multivariable linear regression models.



M: men; W: women.

Dots represent beta coefficients for each model, and standard errors are depicted as blue lines.

Red line sets null value.

Models were adjusted for age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²), smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker), education (primary and secondary/university levels vs. unfinished primary level), alcohol consumption (consumer vs. non-consumer), fish consumption frequency (portions per week), egg consumption frequency (no. of eggs per week), fruit consumption frequency (portions per week), vegetables consumption frequency (portions per week), dairy consumption frequency (no. of products per week), type of drinking water (bottled vs. tap water), number of children (women only), and use of oral contraceptives (use at any time in their lives vs. no use) (women only).

With regards to OCPs, no significant associations were found neither in men, nor in women, although suggestive non-linear positive associations could be observed in both sexes (Tables 3 and 4). Other studies found positive associations of HCB and β -HCH with estradiol in men (Madrigal et al., 2021; Specht et al., 2015). Indeed, El-Kashoury et al. (2010) observed estrogenic and antiandrogenic activity in male albino rats after oral administration of dicofol. Positive associations of OCPs with estradiol could be a consequence of their antiandrogenic effect, by inhibiting the androgen binding to the androgen receptor, and androgen-induced transcriptional activity (Kelce et al., 1995), which in a sufficient amount could lead to an estrogenic effect (Bretveld et al., 2006). Additionally, certain OCPs, such as *p,p'*-DDE and lindane (γ -HCH), increase the hepatic microsomal aromatase activity (Nativelle-Serpentini et al., 2003; You et al., 2001), enhancing estrogens production.

No significant associations were found between PFAS and estradiol (Tables 3 and 4). Harlow et al. (2021) reported inverse associations of PFOA and PFNA with estradiol in women during menopausal transition. Xie et al. (2021) reported negative associations with certain PFAS as well, including PFNA in women above 50 years, and PFHxS, PFNA, PFOS and PFOA in teenage boys and girls from the NAHNES survey. They also found a positive association between PFOS and estradiol in teenage boys, but no association was shown in adult men. Albeit results in teenagers are not comparable to our results in the GraMo adult cohort, possible associations in women were not observed either, probably due to the limited number of women with PFAS analyses (n=47) and the impossibility to reach clear conclusions for the very limited subset of postmenopausal women (n=24). In addition, Li et al. (2020) suggested estrogenic effects of PFHxS and PFOS, but

attenuated in presence of estradiol. According to these findings, estradiol itself could prevent some PFAS from activating the estrogen receptor and, as a result, they would bind to other places in the receptor, blocking its activity and exerting anti-estrogenic action. Therefore, it is difficult to elucidate whether PFAS exposure would induce increased or decreased levels of estradiol, since it depends on its amount in the proximity of the receptors.

3.2.2. FSH and LH

With regards to associations between the three PCBs and FSH or LH among men and women, we only found a significant, positive association of PCB-138 with FSH in premenopausal women (Supplementary Table S5). Gallo et al. (2018) found a positive association of estrogenic PCBs (including PCB-153) with FSH:LH ratio, an indicator of ovarian responsiveness, in premenopausal women. With regards to postmenopausal women, Persky et al. (2011) found a positive correlation between PCBs in blood and LH. The NHANES survey in US population did not show any cross-sectional association of PCBs with FSH or LH levels in postmenopausal women (Lambertino et al., 2021), whereas a study performed in China by Pan et al. (2019) found inverse associations between PCBs concentrations and FSH in a healthy control group of women, contrarily to our results. In men, Petersen et al. (2018) found a positive association between PCBs and LH in young Faroese men, but just like ours, most investigations about the relation of PCBs with FSH and LH found no associations (Ferguson et al., 2012; Hagmar et al., 2001; Persky et al., 2001; Richthoff et al., 2003). Gore et al. (2002) reported direct effects of Aroclor 1254, a mixture including PCB-138, 153 and 180, on gonadotropin-releasing hormone (GnRH), causing inhibition of GnRH gene expression at high doses and stimulation at low doses, but with no alteration of GnRH peptide levels, and, consequently, of FSH and LH levels. Periodicity and complexity of the process of secretion of FSH and LH in fertile women involves both GnRH and sex steroids, making plausible that alterations in estradiol and/or testosterone levels by PCBs, as observed in our study, affect FSH and LH levels positively or negatively depending on the time in the menstrual cycle (Welt et al., 2003), which is an uncertainty in our investigation.

Concerning OCPs, positive associations of α -HCH with FSH were found both in men and premenopausal women (Tables 3 and S5). Postmenopausal women did not show any significant associations of OCPs with FSH or LH. The study by Pan et al. (2019) reported positive associations of OCP exposure with increased LH levels in premenopausal women. The study made in Brazil by Freire et al. (2014) found inverse associations of OCP serum concentrations with LH and FSH in peri and postmenopausal women, but did not evidence significant associations with these hormones in men. Padungtod et al. (1998) reported increased FSH and LH levels in male workers of a Chinese pesticide factory. One of the mechanisms explaining the positive association is a potential disruption of the mammalian hypothalamic-pituitary-gonadal axis, where a decrease in testosterone levels induced by the exposure to pesticides causes a reduction of inhibin B concentrations, resulting in an increased secretion of FSH and LH (Androutsopoulos et al., 2013).

In the case of PFAS concentrations, no significant results were found for possible associations with FSH or LH levels (Tables 3 and 4). In the Shanghai Birth Cohort, Luo et al. (2021) found a significant positive association between PFuDA and LH in adult men, while Petersen et al. (2022) found a positive association of combined PFAS with FSH levels in young men from the FEPOS cohort. A study by Harlow et al. (2021) with perimenopausal women (SWAN) reported PFOA and

PFOS were positively associated with FSH. A mechanism for PFOA and PFOS effects on LH was described by Du et al. (2019), who observed an increase in estradiol and LH levels in female rats exposed to these PFAS through the hypothalamic kisspeptin system, a potential regulator of GnRH activity, which expression is controlled by estradiol.

3.2.3. SHBG

No significant associations were observed between PCBs and SHBG in neither of the groups under study (Tables 3, 4, S5 and S6). In a study with Swedish men, Richthoff et al. (2003) found an inverse association of PCB-153 and SHBG, but this association turned out to be positive in the study developed by Haugen in Norway (2011) and other investigations did not find any significant relations (Bonde et al., 2008; Hagmar et al., 2001; Persky et al., 2001). A study by Warembourg et al. (2016) performed with cord blood samples of the PELAGIE birth cohort in France reported high PCB levels were associated with increased SHBG. Different estrogenic/antiestrogenic activity and mechanisms of action of PCBs make it difficult to draw conclusions regarding their relation with SHBG levels.

Negative associations were found between both *p,p'*-DDE and α -HCH, and SHBG levels in men (Table 3), contrarily to the findings by Specht et al. (2015) in Ukrainian and Polish men, and by Madrigal et al. (2021) in the NAHNES survey. De Ronde et al. (2005) reported an inverse association between estradiol and SHBG levels in adult men in their research in The Netherlands, which could explain our findings, in men exposed to HCH and *p,p'*-DDE via the increase of aromatase activity producing estradiol (Nativelle-Serpentini et al., 2003; You et al., 2001). On the contrary, dicofol exposure produces an inhibition of aromatase activity (Vinggaard et al., 2000), increasing testosterone levels, which in postmenopausal women is associated to increased SHBG (Skałba et al., 2003). This mechanism would justify the borderline positive association between dicofol and SHBG levels we found in postmenopausal women (Supplementary Table S6).

In relation with PFAS, women showed a negative association of PFHxS with SHBG (Table 4), which could be a consequence of its estrogenic action described by Li et al. (2020) and Lau et al. (2007) via the estrogen receptors. Xie et al. (2021) reported a positive association between *n*-PFOS and SHBG in adult men and women, but they found no associations with other PFAS compounds. In a study performed with Taiwanese teenagers, Tsai et al. (2015) found an inverse association of PFOA, PFOS and PFUA with SHBG levels, stronger in girls than in boys.

3.2.4. Testosterone

A positive association was found between PCB-180 and total testosterone, weak in women (Table 4), but stronger in the subgroup of premenopausal women (Supplementary Table S5), while no associations were found in men. Inverse associations of PCBs concentrations and total testosterone in men have been reported before (Meeker and Hauser, 2010), but information about associations in women is scarce. Nevertheless, PCB-180 is known to enhance adipogenesis by alleviating SUMOylation of C/EBP β , a protein controlling mitotic clonal expansion in adipose tissue (Yu et al., 2021), and a recent study by de Wagner et al. (2022) suggested adipose tissue is a site for androgen production in obese women. This mechanism could partly explain our results, since a majority of women in GraMo cohort are overweighted (Table 1).

A negative, significant association of α -HCH with testosterone was observed in women (Table 4), though no results were found in men. In their study in Brazil, Freire et al. (2014) found inverse associations between OCPs serum concentrations and testosterone in men, suggesting anti-androgenic effects. Although this study did not find any significant associations in women, the increase in aromatase activity produced by HCH exposure would reduce testosterone levels, in agreement with our outcomes (Nativelle-Serpentini et al., 2003; You et al., 2001).

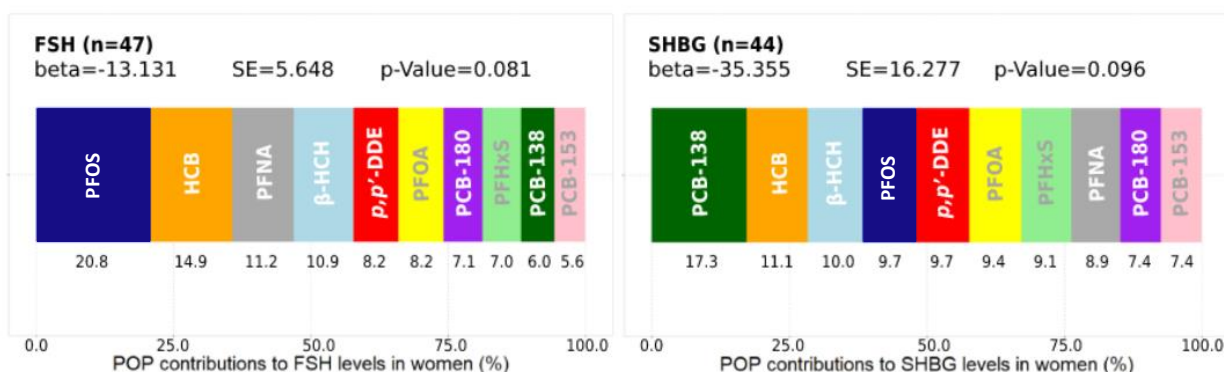
Positive associations were found between PFHxS and testosterone in women, and between detected PFDA and testosterone in men (Tables 3 and 4). Similarly, in the study by Xie et al. (2021), PFOS and PFHxS were positively associated with total testosterone levels in men; Wang et al. (2021) found n-PFOA and PFHxS were positively associated with testosterone in overweight/obese postmenopausal women; and Maisonet et al. (2015) reported increased total testosterone levels in 15 year old daughters after prenatal exposure to PFOS and PFOA. On the contrary, Harlow et al. (2021) and Lewis et al. (2015) could not observe any significant associations between PFAS and testosterone in men or women. Unfortunately, mechanisms behind the positive association of PFAS with testosterone remain unclear. An increasing on circulating testosterone due to PFAS competing for androgen receptors has been suggested by Di Nisio et al. (2019), whereas other hypotheses involve elevated activity of the enzymes 3β -HSD1 and 17β -HSD1, enhancing testosterone production (Yao et al., 2019).

3.3. Associations of mixtures of POPs with sex hormones: multipollutant models

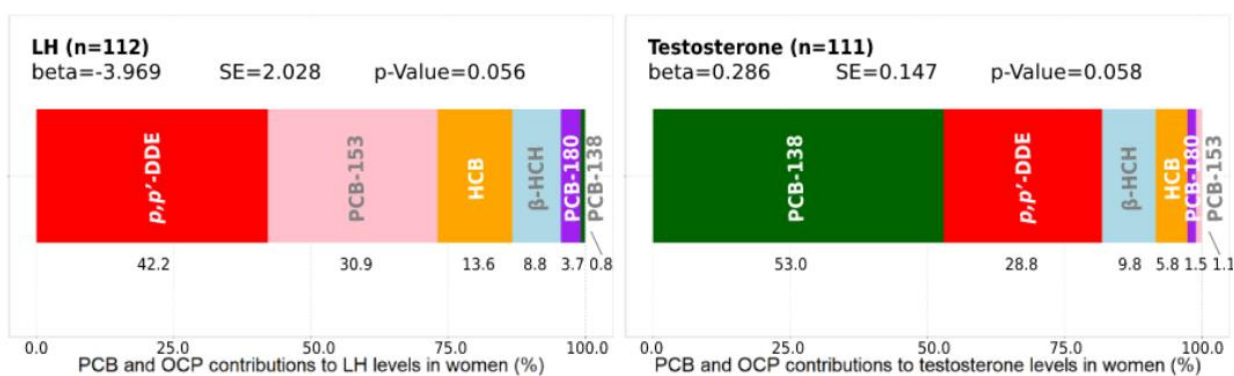
Figure 5 summarizes the results of the multipollutant analyses through WQS regression models. Three sets of models were performed: 1. all pollutants (n=77); 2. PCBs and OCPs (n=225); 3. PFAS (n=94). In our understanding, the limited number of samples of PFAS in pre- and postmenopausal women separately would reduce validity and robustness in models 1 and 3. Nevertheless, analyses for PCBs and OCPs were performed for these two subgroups of women, with no significant results. Specific data of each model are shown in Supplementary Tables S7, S8 and S9.

Fig.5. Weighed quantile sum (WQS) models and contributions of the mixture of POPs to sex hormone levels.

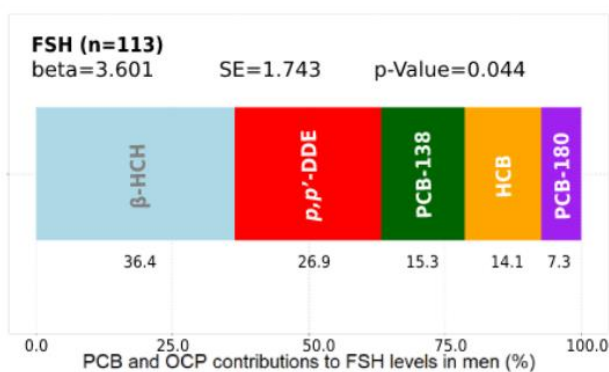
a) Mixture of PCBs, OCPs and PFAS - Women



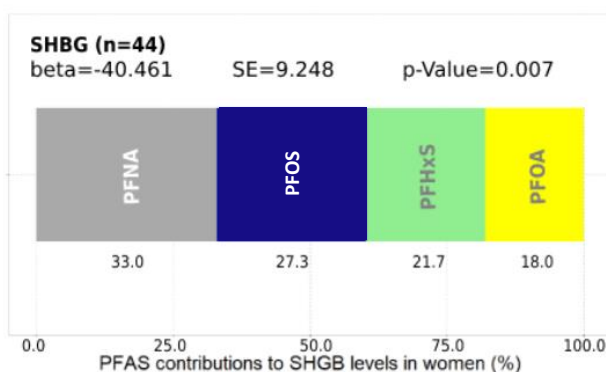
b) Mixture of PCBs and OCPs - Women



c) Mixture of PCBs and OCPs - Men



d) Mixture of PFAS - Women



Multipollutant analysis of the mixture of PCBs, OCPs and PFAS showed significant, negative associations with FSH and SHBG in women (Fig. 5a), though not in men (Supplementary Table S7). The main contributor to the association with FSH was found to be PFOS (20.8%), followed by HCB (14.9%), PFNA (11.2%), and β -HCH (10.9%). The group of PFAS represented 47.2% of the contributions, whereas OCPs accounted for 34.0%, and PCBs reached 18.8%. In the case of SHBG, the highest contributions corresponded to PCB-138 (17.3%), HCB (11.1%), and β -HCH (10.0%).

Contributions of the four PFAS reached 37.1%, PCBs summed 32.1%, and OCPs represented 30.8% of the total. Results of these analyses in women are coherent with those for individual chemicals in the case of SHBG, where almost all individual associations were inverse and significant association with PFHxS was strong, but not for FSH, where the significant individual associations were positive (Table 4). Nevertheless, inverse associations of PCBs and OCPs with FSH have been reported in other investigations (Freire et al., 2014; Pan et al., 2019), and POPs levels in women have been associated with fecundability reduction (Louis et al., 2013), which is linked to FSH deficiency (Bosch et al., 2021).

After exploring the mixture of PCBs and OCPs, significant results were obtained in men and women (Supplementary Table S8). In women (Fig. 5b), a negative association was observed with LH, with *p,p'*-DDE as the major contributor (42.2%) and the sum of OCPs reaching 64.6%; furthermore, a positive association with testosterone was found, PCB-138 showing the highest contribution (53.0%). A positive association was found with FSH in men, with β -HCH as the major contributor (36.4%), followed by *p,p'*-DDE (26.9%) (Fig. 5c), in agreement with the research by Giwercman et al. (2006) in an European cohort. Results of PCBs and OCPs considered as a mixture are consistent with those for individual contaminants (Tables 3 and 4), except for the contributions to LH levels in women, which does not match any single-pollutant association. Decreased LH levels in women could be explained by the estrogenic action of *p,p'*-DDE, the major contributor to this SWQ model, producing a diminished production of GnRH in the hypothalamus, and of FSH and LH in the pituitary gland (Bretveld et al., 2006).

Lastly, the PFAS mixture analyses resulted in a negative association with SHBG in women (Supplementary Table S9 and Fig. 5d), where the main contributions corresponded to PFNA (33.0%) and PFOS (27.3%). No significant associations were found in men. This result is consistent with our models for individual compounds (Table 4).

In sum, our multipollutant models showed significant results especially in women, where the exposure to mixtures of POPs is associated with decreased FSH, LH and SHBG, and increased testosterone. This could be a consequence of the estrogenic action of some PCBs, OCPs and PFAS, which is related to reproductive and metabolic conditions, such as fertility, polycystic ovary syndrome, insulin resistance and obesity (Lizneva et al., 2019; Qu and Donnelly, 2020). Furthermore, the combination of decreased SHBG and increased testosterone levels in women is an androgenicity sign, which elevates the cardiovascular disease risk in postmenopausal women (Brand and van der Schouw, 2010). In men, the positive association of POPs with FSH could have implications on male fertility, since higher levels of FSH and LH were found in infertile men compared to fertile controls (Babu et al., 2004). Interestingly, positive individual associations of PCBs with estradiol in men and women (Tables 3 and 4) were not reflected in the multipollutant analyses, probably meaning a weak estrogenic action, which could be diluted in the joint exposure with other pollutants of stronger effects.

3.4 Strengths and limitations of the study

This study has explored, for the first time, mixture associations of adipose tissue PCB/OCP concentrations and serum PFAS concentrations with sex hormones, evaluating the possible alteration of sex hormones production by environmental exposure to POPs. The multipollutant

approach with three different POP families complements the associations obtained for individual pollutants, and enables the investigation of the combined effect of multiple, simultaneous exposures. Despite the cross-sectional design, which hampers causality, there exists a biological plausibility in contaminants inducing changes in hormone levels, whereas the opposite assertion, i.e. hormones producing alterations in pollutant levels, has not been proven, as far as we know. Moreover, adipose tissue PCB and OCP concentrations give a stable insight of the exposure of participants of the GraMo cohort to these contaminants and their accumulation in this tissue.

In spite of being an extensively characterized cohort, one of the major limitations of this study is the size of the population in GraMo, which hardly, but fortunately, gave us the opportunity to perform sex- and, in women, menopause-stratified models. The limited number of samples of the analyzed PFAS, α -HCH and dicofol did not allow us to obtain results in the two subgroups of women for all pollutants. However, as a highly explorative study, our promising results warrant further confirmation in other populations.

On the other hand, the specific day in the menstrual cycle of women at the time of sample collection is an essential variable to be considered in the evaluation of sex hormones levels in premenopausal women but was not registered. Although effects caused by changes during the cycle would be attenuated in a large population, women in this study sum up to 112 participants, which might not be enough for a compensation of the menstruation cycle bias. In addition, we cannot exclude potential residual confound by other variables we did not take into consideration in our analyses.

Further research on the prospective implications on these associations is currently under evaluation in GraMo cohort.

4. Conclusion

In this research we evidenced associations between exposure to POP mixtures and sex hormone levels, in a sex- and menopausal status-dependent manner. If our findings are confirmed, implications for public health would be relevant, since human exposure to these contaminants is ubiquitous and chronic, notwithstanding the restrictions already placed on some of them.

Acknowledgments

This research would have not been possible without the collaboration of the participants in GraMo cohort. This article is part of the Ph.D. thesis of Ruth Echeverría in the context of the “Clinical Medicine and Public Health Program” of the University of Granada. This study was supported by research grants from Instituto de Salud Carlos III and European Regional Development Fund – FEDER (PI20/01568, PI18/01573, PI16/01858, PI16/01812). Dr. J.P. Arrebola is under contract within Ramon y Cajal program (RYC-2016-20155, Ministerio de Economía, Industria y Competitividad, Spain).

All participants enrolled in this research signed an informed consent and the study protocol was approved by the Ethics Committee of Granada (Comité de Ética de la Investigación Biomédica Provincial de Granada (CEI GRANADA), dated December 7th, 2020.

Supplementary materials

Table S1. Characteristics of study population with organochlorine pesticides (OCPs)/ polychlorinated biphenyls (PCBs), and sex hormone analyses (Subgroup 1) (n=225)

Characteristics Subgroup 1 n (%)		Men (all) 113 (50.2%)	Women (all) 112 (49.8%)	Premenopausal women 61 (27.1%)	Postmenopausal women 51 (22.7%)	Total 225 (100%)
Sociodemographic						
Age (yrs) (median, P25-P75)		52.0 (35.5-63.0)	48.0 (34.0-62.0)	36.0 (28.5-44.0)	63.0 (55.0-69.0)	48.0 (35.0-62.0)
Education level	Unfinished primary education	36 (31.8%)	32 (28.6%)	6 (9.8%)	26 (51.0%)	68 (30.2%)
	Primary education	42 (37.2%)	56 (50.0%)	33 (54.1%)	23 (45.1%)	98 (43.6%)
	Secondary or higher education	35 (31.0%)	24 (21.4%)	22 (36.1%)	2 (3.9%)	59 (26.2%)
No. children (median, P25-P75) (women only)		---	2.0 (2.0-3.0)	2.0 (1.0-2.0)	3.0 (2.0-4.0)	2.0 (1.3-3.0)
BMI (kg/m ²) (median, P25-P75)		26.9 (25.0-29.1)	25.9 (23.3-29.6)	23.8 (22.1-27.6)	27.3 (24.9-31.2)	26.4 (23.8-29.4)
Lifestyle						
Smoking	Non-smoker	27 (23.9%)	65 (58.0%)	24 (39.3%)	41 (80.4%)	92 (40.9%)
	Current smoker	51 (45.1%)	30 (26.8%)	23 (37.7%)	7 (13.7%)	81 (36.0%)
	Former smoker	35 (31.0%)	17 (15.2%)	14 (23.0%)	3 (5.9%)	52 (23.1%)
Oral contraceptives = yes (women only)		---	43 (38.4%)	35 (57.4%)	8 (15.7%)	43 (38.4% of women)
Diet						
Alcohol consumer = yes		87 (77.0%)	34 (30.4%)	26 (42.6%)	8 (15.7%)	121 (53.8%)
Daily diary consumption = yes		96 (85.0%)	95 (84.8%)	51 (83.6%)	44 (86.3%)	191 (84.9%)
Drinking water	Bottled	26 (23.0%)	39 (34.8%)	21 (34.4%)	18 (35.3%)	65 (28.9%)
	Non-bottled	73 (64.6%)	50 (44.6%)	26 (42.6%)	24 (47.1%)	123 (54.7%)
	Bottled and non-bottled	14 (12.4%)	23 (20.5%)	14 (23.0%)	9 (17.7%)	37 (16.4%)
Egg consumption	≤ 1 per week	39 (34.5%)	46 (41.1%)	16 (26.3%)	30 (58.8%)	85 (37.8%)
	= 2 per week	34 (30.1%)	44 (39.3%)	26 (42.6%)	18 (35.3%)	78 (34.7%)
	> 2 per week	40 (35.4%)	22 (19.6%)	19 (31.2%)	3 (5.9%)	62 (27.6%)
Fish and seafood consumption	≤ 1 portion per week	41 (36.3%)	39 (34.8%)	28 (45.9%)	11 (21.6%)	80 (35.6%)
	= 2 portions per week	39 (34.5%)	32 (28.6%)	15 (24.6%)	17 (33.3%)	71 (31.6%)
	> 2 portions per week	33 (29.2%)	41 (36.6%)	18 (29.5%)	23 (45.1%)	74 (32.9%)
Fruit consumption	≤ 2 portions per week	15 (13.3%)	17 (15.2%)	13 (21.3%)	4 (7.8%)	32 (14.2%)

	> 2 portions per week	98 (86.7%)	95 (84.8%)	48 (78.7%)	47 (92.2%)	193 (85.8%)
Vegetables consumption	≤ 1 portion per week	37 (32.7%)	24 (21.4%)	12 (19.7%)	12 (23.5%)	61 (27.1%)
	= 2 portions per week	29 (25.7%)	31 (27.7%)	21 (34.4%)	10 (19.6%)	60 (26.7%)
	> 2 portions per week	47 (41.6%)	57 (50.9%)	28 (45.9%)	29 (56.9%)	104 (46.2%)

P25-P75: 25th percentile-75th percentile.

Categorical variables are expressed as n (%).

Table S2. Characteristics of study population with per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS), and sex hormone analyses (Subgroup 2) (n=94)

Characteristics Subgroup 2 n (%)		Men (all) 47 (50.0%)	Women (all) 47 (50.0%)	Premenopausal women 23 (24.5%)	Postmenopausal women 24 (25.5%)	Total 94 (100%)
Sociodemographic						
Age (yrs) (median, P25-P75)		48.0 (35.0-56.0)	49.0 (28.0-64.0)	28.0 (23.0-41.0)	63.5 (55.3-69.0)	48.0 (33.0-60.3)
Education level	Unfinished primary education	11 (23.4%)	14 (29.8%)	2 (8.7%)	12 (50.0%)	25 (26.6%)
	Primary education	23 (48.9%)	23 (48.9%)	11 (47.8%)	12 (50.0%)	46 (48.9%)
	Secondary or higher education	13 (27.7%)	10 (21.3%)	10 (43.5%)	0 (0.0%)	23 (24.5%)
No. children (median, P25-P75) (women only)		---	2.0 (1.0-3.0)	1.0 (0.0-2.0)	3.0 (3.0 – 4.8)	2.0 (1.0-3.0)
BMI (kg/m ²) (median, P25-P75)		27.3 (25.0-29.9)	26.2 (23.8-29.4)	23.9 (22.0-27.2)	27.6 (25.7-31.3)	26.7 (24.4-29.5)
Lifestyle						
Smoking	Non-smoker	7 (14.9%)	32 (68.1%)	10 (43.5%)	22 (91.7%)	39 (41.5%)
	Current smoker	22 (46.8%)	5 (10.6%)	8 (34.8%)	2 (8.3%)	32 (34.0%)
	Former smoker	18 (38.3%)	10 (21.3%)	5 (21.7%)	0 (0.0%)	23 (24.5%)
Oral contraceptives = yes (women only)		---	13 (27.7%)	11 (47.8%)	2 (8.3%)	13 (27.7% of women)
Diet						
Alcohol consumer = yes		38 (80.9%)	13 (27.7%)	9 (39.1%)	4 (16.7%)	51 (54.3%)
Daily diary consumption = yes		96 (85.0%)	37 (78.7%)	18 (78.3%)	19 (79.2%)	73 (77.7%)
Drinking water	Bottled	16 (34.0%)	16 (34.0%)	6 (26.1%)	10 (41.7%)	32 (34.0%)
	Non-bottled	24 (51.1%)	21 (44.7%)	12 (52.2%)	9 (37.5%)	45 (47.9%)
	Bottled and non-bottled	7 (14.9%)	10 (21.3%)	5 (21.7%)	5 (20.8%)	17 (18.1%)
Egg consumption	≤ 1 per week	14 (29.8%)	24 (51.1%)	8 (34.8%)	16 (66.7%)	38 (40.4%)
	= 2 per week	17 (36.2%)	16 (34.0%)	9 (39.1%)	7 (29.2%)	33 (35.1%)
	> 2 per week	16 (34.0%)	7 (14.9%)	6 (26.1%)	1 (4.2%)	23 (24.5%)

Fish and seafood consumption	≤ 1 portion per week	22 (46.8%)	18 (38.3%)	12 (52.2%)	6 (25.0%)	40 (42.6%)
	= 2 portions per week	9 (19.1%)	9 (19.1%)	4 (17.4%)	5 (20.8%)	18 (19.1%)
	> 2 portions per week	16 (34.0%)	20 (42.6%)	7 (30.4%)	13 (54.2%)	36 (38.3%)
Fruit consumption	≤ 2 portions per week	9 (19.2%)	9 (19.2%)	6 (26.1%)	3 (12.5%)	18 (19.2%)
	> 2 portions per week	38 (80.9%)	38 (80.9%)	17 (73.9%)	21 (87.5%)	76 (80.9%)
Vegetables consumption	≤ 1 portion per week	19 (40.4%)	16 (34.0%)	9 (39.1%)	7 (29.2%)	35 (37.2%)
	= 2 portions per week	11 (23.4%)	8 (17.0%)	7 (30.4%)	1 (4.2%)	19 (20.2%)
	> 2 portions per week	17 (36.2%)	23 (48.9%)	7 (30.4%)	16 (66.7%)	40 (42.6%)

*P25-P75: 25th percentile-75th percentile.
Categorical variables are expressed as n (%).*

Table S3. Adipose tissue concentrations of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs).

OCPs, PCBs concentrations (ng/g lipid)	Men (all) (n=113) Median (P25-P75) Detected (%)	Women (all) (n=112) Median (P25-P75) Detected (%)	Premenopausal women (n=61) Median (P25-P75) Detected (%)	Postmenopausal women (n=51) Median (P25-P75) Detected (%)	TOTAL (n=225) Median (P25-P75) Detected (%)
PCB-138	71.9 (24.1-128.8) 100.0	99.8 (28.5-155.4) 100.0	81.8 (14.4-120.4) 100.0	120.0 (44.3-185.3) 100.0	83.9 (27.0-147.4) 100.0
PCB-153	209.0 (123.9-334.1) 100.0	250.7 (143.3-387.2) 100.0	188.7 (111.8-321.3) 100.0	310.6 (178.9-488.4) 100.0	225.7 (136.3-369.5) 100.0
PCB-180	179.6 (98.3-291.4) 100.0	194.9 (103.7-305.5) 100.0	169.2 (72.1-257.4) 100.0	251.8 (142.5-366.3) 100.0	185.7 (101.1-297.9) 100.0
HCB	8.6 (3.5-17.3) 100.0	24.3 (7.9-49.9) 100.0	13.1 (4.9-35.1) 100.0	41.8 (20.3-64.9) 100.0	13.7 (4.8-38.1) 100.0
α-HCH	<LOD (<LOD-<LOD) 16.8	<LOD (<LOD-6.1) 38.4	<LOD (<LOD-<LOD) 21.3	4.2 (<LOD-6.2) 58.8	<LOD (<LOD-5.8) 27.6
β-HCH	7.3 (1.9-13.6) 100.0	14.9 (6.5-27.5) 100.0	9.3 (0.6-18.1) 100.0	26.2 (16.5-36.3) 100.0	10.3 (3.7-20.7) 100.0
Dicofol	<LOD (<LOD-<LOD) 23.9	<LOD(<LOD-7.8) 28.6	<LOD (<LOD-7.9) 34.4	<LOD (<LOD-<LOD) 21.6	<LOD (<LOD-7.9) 26.2
p,p'-DDE	63.3 (27.9-173.8) 100.0	132.0 (37.2-291.6) 100.0	78.9 (28.1-153.4) 100.0	195.9 (99.4-369.3) 100.0	94.8 (32.8-209.4) 100.0

P25-P75: 25th percentile-75th percentile.

LOD: limit of detection

HCB: hexachlorobenzene; α-HCH: alpha-hexachlorocyclohexane; β-HCH: beta-hexachlorocyclohexane;

p,p'-DDE: p,p' dichlorodiphenyldichloroethylene; PCB: polychlorinated biphenyl.

Table S4. Serum concentrations of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS).

PFAS concentrations (µg/L)	Men (all) (n=47) Median (P25-P75) Detected (%)	Women (all) (n=47) Median (P25-P75) Detected (%)	Premenopausal women (n=23) Median (P25-P75) Detected (%)	Postmenopausal women (n=24) Median (P25-P75) Detected (%)	TOTAL (n=94) Median (P25-P75) Detected (%)
PFPeA	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0
PFHxA	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0
PFHpA	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0
PFOA	1.68 (1.43-2.26) 100.0	1.09 (0.80-1.60) 100.0	1.09 (0.77-1.45) 100.0	1.13 (0.81-1.95) 100.0	1.47 (1.05-1.98) 100.0
PFNA	0.39 (0.29-0.50) 100.0	0.27 (0.17-0.40) 83.0	0.25 (<LOD-0.35) 73.9	0.38 (0.22-0.48) 91.7	0.35 (0.24-0.48) 91.5
PFDA	0.21 (<LOD-0.32) 55.3	<LOD (<LOD-0.25) 38.3	<LOD (<LOD-0.23) 30.4	<LOD (<LOD-0.29) 45.8	<LOD (<LOD-0.27) 46.8
PFUdA	<LOD (<LOD-0.40) 48.9	<LOD (<LOD-0.25) 31.9	<LOD (<LOD-0.23) 26.1	<LOD (<LOD-0.33) 37.5	<LOD (<LOD-0.31) 40.4
PFDoA	<LOD (<LOD-<LOD) 2.1	<LOD (<LOD-<LOD) 2.1	<LOD (<LOD-<LOD) 4.4	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 2.1
PFBS	<LOD (<LOD-<LOD) 4.2	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 2.1
PFHxS	0.92 (0.66-1.27) 95.8	0.55 (<LOD-0.73) 70.2	0.35 (<LOD-0.58) 52.2	0.58 (0.30-1.03) 87.5	0.72 (0.35-1.11) 83.0
PFHpS	<LOD (<LOD-<LOD) 6.4	<LOD (<LOD-<LOD) 2.1	<LOD (<LOD-<LOD) 4.4	<LOD (<LOD-<LOD) 0.0	<LOD (<LOD-<LOD) 4.3
PFOS	13.80 (9.53-27.6) 100.0	9.68 (5.81-17.15) 100.0	7.64 (4.65-13.98) 100.0	14.32 (6.84-18.42) 100.0	13.32 (7.64-21.41) 100.0

P25-P75: 25th percentile-75th percentile.

LOD: limit of detection

PFPeA: perfluoropentanoic acid; PFHxA: perfluorohexanoic acid; PFHpA: perfluoroheptanoic acid; PFOA: perfluorooctanoic acid; PFNA: perfluorononanoic acid; PFDA: perfluorodecanoic acid; PFUdA: perfluoroundecanoic acid; PFDoA: perfluorododecanoic acid; PFBS: perfluorobutane sulfonic acid; PFHxS: perfluorohexane sulfonic acid; PFHpS: perfluoroheptane sulfonic acid; PFOS: branched perfluorooctane sulfonic acid.

Table S5. Associations of Persistent Organic Pollutants (POPs) with sex hormones levels in premenopausal women. Multivariable linear regression analyses.

PRE-MENOPAUSAL WOMEN		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value
PCB-138 ¹	Estradiol (n=51)	0.076	0.216	0.728	FSH (n=61)	0.076	0.035	0.038	LH (n=61)	0.023	0.025	0.361
PCB-153 ¹		0.065	0.087	0.466		0.023	0.015	0.126		0.010	0.010	0.309
PCB-180 ¹		0.036	0.115	0.759		0.014	0.019	0.452		0.009	0.013	0.510
p,p'-DDE ¹		0.062	0.120	0.609		-0.008	0.022	0.730		0.002	0.015	0.911
HCB ¹		1.023	0.554	0.075		-0.018	0.107	0.868		0.017	0.073	0.814
α-HCH ²		-26.549	40.129	0.513		12.984	7.075	0.074		7.260	4.884	0.145
β-HCH ¹		0.964	1.529	0.533		0.488	0.251	0.059		0.245	0.175	0.169
Dicofol ²		-28.215	35.524	0.433		5.513	5.620	0.332		6.293	3.744	0.101
PCB-138 ¹	SHBG (n=56)	-0.061	0.104	0.561	Testosterone (n=60)	0.003	0.003	0.289				
PCB-153 ¹		0.000	0.044	0.996		0.001	0.001	0.346				
PCB-180 ¹		0.027	0.056	0.630		0.003	0.002	0.053				
p,p'-DDE ¹		-0.065	0.058	0.270		-0.001	0.002	0.472				
HCB ¹		0.006	0.283	0.984		0.015	0.009	0.098				
α-HCH ²		-0.055	19.482	0.998		-0.419	0.62	0.504				
β-HCH ¹		-0.566	0.752	0.457		0.010	0.022	0.666				
Dicofol ²		-11.744	16.479	0.481		0.144	0.481	0.766				

¹ ng/g lipid

² >LOD vs. <LOD

SE: Standard Error

Results with p-Values ≤ 0.1 are highlighted in bold.

Models were adjusted for age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²), smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker), education (primary and secondary/university levels vs. unfinished primary level), alcohol consumption (consumer vs. non-consumer), fish consumption frequency (portions per week), egg consumption frequency (no. of eggs per week), fruit consumption frequency (portions per week), vegetables consumption frequency (portions per week), dairy consumption frequency (no. of products per week), type of drinking water (bottled vs. tap water), number of children and use of oral contraceptives (use at any time in their lives vs. no use).

Table S6. Associations of Persistent Organic Pollutants (POPs) with sex hormones levels in postmenopausal women. Multivariable linear regression analyses.

POST-MENOPAUSAL WOMEN		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value		Beta	SE	p-Value
PCB-138 ¹	Estradiol (n=40)	0.182	0.108	0.108	FSH (n=51)	0.087	0.068	0.213	LH (n=51)	0.019	0.030	0.533
PCB-153 ¹		0.068	0.045	0.149		0.036	0.028	0.206		0.013	0.012	0.290
PCB-180 ¹		0.110	0.060	0.082		0.037	0.038	0.344		0.017	0.016	0.297
p,p'-DDE ¹		-0.015	0.037	0.693		0.020	0.019	0.284		0.013	0.008	0.107
HCB ¹		0.202	0.274	0.471		-0.093	0.169	0.588		0.034	0.073	0.643
α-HCH ²		24.406	20.291	0.244		-4.683	12.246	0.705		-1.644	5.316	0.759
β-HCH ¹		-0.173	0.375	0.650		0.032	0.225	0.889		0.071	0.097	0.470
Dicofol ²		13.544	23.052	0.564		7.401	14.908	0.623		2.126	6.481	0.745
PCB-138 ¹	SHBG (n=51)	0.026	0.059	0.658	Testosterone (n=51)	-0.001	0.002	0.576				
PCB-153 ¹		-0.001	0.024	0.956		-0.001	0.001	0.476				
PCB-180 ¹		-0.004	0.032	0.895		0.000	0.001	0.816				
p,p'-DDE ¹		-0.002	0.016	0.925		0.000	0.001	0.419				
HCB ¹		-0.090	0.142	0.532		-0.004	0.005	0.490				
α-HCH ²		-3.006	10.284	0.772		-0.621	0.37	0.104				
β-HCH ¹		-0.277	0.182	0.137		-0.010	0.007	0.170				
Dicofol ²		20.286	12.001	0.101		-0.234	0.470	0.623				

¹ ng/g lipid

² >LOD vs. <LOD

SE: Standard Error

Results with p-Value≤0.1 are highlighted in bold.

Models were adjusted for age (yrs), Body Mass Index (Kg/m²), smoking habit (smoker and former smoker vs. non-smoker), education (primary and secondary/university levels vs. unfinished primary level), alcohol consumption (consumer vs. non-consumer), fish consumption frequency (portions per week), egg consumption frequency (no. of eggs per week), fruit consumption frequency (portions per week), vegetables consumption frequency (portions per week), dairy consumption frequency (no. of products per week), type of drinking water (bottled vs. tap water), number of children and use of oral contraceptives (use at any time in their lives vs. no use).

Table S7. Associations of the mixture of Organochlorine Pesticides (OCPs), Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) with sex hormones levels. Multipollutant analyses.

	Men (n=47)			Women (n=47)		
	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value
Estradiol	29.522	33.768	0.474	24.245	11.064	0.160
FSH	-3.065	6.050	0.647	-13.131	5.648	0.081
LH	0.408	22.18	0.986	-0.854	7.813	0.918
SHBG	4.397	13.205	0.761	-35.355	16.277	0.096
Testosterone	-1.909	1.516	0.335	0.045	0.440	0.924

SE: Standard Error

FSH: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; SHBG: sex hormone binding globulin.

Results with p-Value≤0.1 are highlighted in bold.

Table S8. Associations of the mixture of Organochlorine Pesticides (OCPs) and Polychlorinated Biphenyls (PCBs) with sex hormones levels. Multipollutant analyses.

	Men (n=113)			Women (n=112)			Premenopausal women (n=61)			Postmenopausal women (n=51)		
	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value
Estradiol	13.335	6.875	0.059	-8.783	14.323	0.544	28.608	38.325	0.473	16.647	8.886	0.134
FSH	3.601	1.743	0.044	-1.459	3.315	0.662	-0.340	7.499	0.964	-6.264	10.814	0.575
LH	1.028	1.720	0.553	-3.969	2.028	0.056	7.247	4.885	0.157	1.438	5.257	0.790
SHBG	-3.481	4.753	0.467	-5.467	7.535	0.472	-11.321	17.026	0.518	-10.294	9.744	0.316
Testosterone	-0.084	0.499	0.866	0.286	0.147	0.058	0.606	0.445	0.194	-0.277	0.394	0.498

SE: Standard Error

FSH: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; SHBG: sex hormone binding globulin.

Results with p-Values≤0.1 are highlighted in bold.

Table S9. Associations of the mixture of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) with sex hormones levels. Multipollutant analyses.

	Men (n=47)			Women (n=47)		
	Beta	SE	p-Value	Beta	SE	p-Value
Estradiol	1.997	13.224	0.883	3.312	12.557	0.805
FSH	-0.903	3.148	0.781	3.455	8.816	0.707
LH	5.555	6.580	0.420	3.614	7.569	0.648
SHBG	0.319	11.273	0.978	-40.461	9.248	0.007
Testosterone	0.851	0.544	0.152	0.289	0.168	0.129

SE: Standard Error

FSH: follicle stimulating hormone; LH: luteinizing hormone; SHBG: sex hormone binding globulin.

Results with p-Values≤0.1 are highlighted in bold.

Bibliography

Alharbi, O.M.L., Basheer, A.A., Khattab, R.A., Ali, I., 2018. Health and environmental effects of persistent organic pollutants. *J. Mol. Liq.* 263, 442–453. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.05.029>

Androutsopoulos, V.P., Hernandez, A.F., Liesivuori, J., Tsatsakis, A.M., 2013. A mechanistic overview of health associated effects of low levels of organochlorine and organophosphorous pesticides. *Toxicology, Emerging health issues from chronic pesticide exposure: Innovative methodologies and effects on molecular cell and tissue level* 307, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.09.011>

Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Bonde, J.P., Martín-Rodríguez, J.L., Expósito, J., Rubio-Domínguez, A., Olea, N., 2015. Historical exposure to persistent organic pollutants and risk of incident hypertension. *Environ. Res.* 138, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.02.018>

Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Sánchez-Pérez, M.J., Sánchez-Cantalejo, E., Molina-Portillo, E., Expósito, J., Bonde, J.P., Olea, N., 2014a. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and total cancer risk in an adult cohort from Southern Spain: Preliminary data from year 9 of the follow-up. *Sci. Total Environ.* 500–501, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.043>

Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Olea, N., Ramos, R., Martín-Olmedo, P., 2013a. Human exposure to p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE) in urban and semi-rural areas in southeast Spain: A gender perspective. *Sci. Total Environ.* 458–460, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.001>

Arrebola, J.P., Fernandez, M.F., Porta, M., Rosell, J., de la Ossa, R.M., Olea, N., Martín-Olmedo, P., 2010. Multivariate models to predict human adipose tissue PCB concentrations in Southern Spain. *Environ. Int.* 36, 705–713. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.05.004>

Arrebola, J.P., Martín-Olmedo, P., Fernandez, M.F., Sanchez-Cantalejo, E., Jimenez-Rios, J.A., Torne, P., Porta, M., Olea, N., 2009. Predictors of concentrations of hexachlorobenzene in human adipose tissue: A multivariate analysis by gender in Southern Spain. *Environ. Int.* 35, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.009>

Arrebola, J.P., Ocaña-Riola, R., Arrebola-Moreno, A.L., Fernández-Rodríguez, M., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N., 2014b. Associations of accumulated exposure to persistent organic pollutants with serum lipids and obesity in an adult cohort from Southern Spain. *Environ. Pollut. Barking Essex 1987* 195, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.08.003>

Arrebola, J.P., Ocaña-Riola, R., Arrebola-Moreno, A.L., Fernández-Rodríguez, M., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N., 2014c. Associations of accumulated exposure to persistent organic pollutants with serum lipids and obesity in an adult cohort from Southern Spain. *Environ. Pollut.* 195, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.08.003>

Arrebola, J.P., Pumarega, J., Gasull, M., Fernandez, M.F., Martín-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Fernández-Rodríguez, M., Porta, M., Olea, N., 2013b. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of type 2 diabetes in adults from Southern Spain. *Environ. Res.* 122, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.12.001>

Arrebola, J.P., Pumarega, J., Gasull, M., Fernandez, M.F., Martín-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Fernández-Rodríguez, M., Porta, M., Olea, N., 2013c. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of type 2 diabetes in adults from Southern Spain. *Environ. Res.* 122, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.12.001>

Auchus, R.J., Sharifi, N., 2020. Sex Hormones and Prostate Cancer. *Annu. Rev. Med.* 71, 33–45. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051418-060357>

- Babu, S.R., Sadhnani, M.D., Swarna, M., Padmavathi, P., Reddy, P.P., 2004. Evaluation of FSH, LH and testosterone levels in different subgroups of infertile males. *Indian J. Clin. Biochem.* 19, 45–49. <https://doi.org/10.1007/BF02872388>
- Bartolomé, M., Gallego-Picó, A., Cutanda, F., Huetos, O., Esteban, M., Pérez-Gómez, B., Castaño, A., 2017. Perfluorinated alkyl substances in Spanish adults: Geographical distribution and determinants of exposure. *Sci. Total Environ.* 603–604, 352–360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.031>
- Bonde, J.P., Toft, G., Rylander, L., Rignell-Hydbom, A., 2008. Fertility and Markers of Male Reproductive Function in Inuit and European Populations Spanning Large Contrasts in Blood Levels of Persistent Organochlorines. *Environ. Health Perspect.* 116, 269–277. <https://doi.org/10.1289/ehp.10700>
- Bosch, E., Alviggi, C., Lispi, M., Conforti, A., Hanyaloglu, A.C., Chuderland, D., Simoni, M., Raine-Fenning, N., Crépieux, P., Kol, S., Rochira, V., D’Hooghe, T., Humaidan, P., 2021. Reduced FSH and LH action: implications for medically assisted reproduction. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 36, 1469–1480. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab065>
- Brand, J.S., van der Schouw, Y.T., 2010. Testosterone, SHBG and cardiovascular health in postmenopausal women. *Int. J. Impot. Res.* 22, 91–104. <https://doi.org/10.1038/ijir.2009.64>
- Bretveld, R.W., Thomas, C.M., Scheepers, P.T., Zielhuis, G.A., Roeleveld, N., 2006. Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4, 30. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-30>
- Buckland, G., González, C.A., Agudo, A., Vilardell, M., Berenguer, A., Amiano, P., Ardanaz, E., Arriola, L., Barricarte, A., Basterretxea, M., Chirlaque, M.D., Cirera, L., Dorronsoro, M., Egües, N., Huerta, J.M., Larrañaga, N., Marin, P., Martínez, C., Molina, E., Navarro, C., Quirós, J.R., Rodríguez, L., Sanchez, M.-J., Tormo, M.-J., Moreno-Iribas, C., 2009. Adherence to the Mediterranean Diet and Risk of Coronary Heart Disease in the Spanish EPIC Cohort Study. *Am. J. Epidemiol.* 170, 1518–1529. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp282>
- Cardenas, A., Hauser, R., Gold, D.R., Kleinman, K.P., Hivert, M.-F., Fleisch, A.F., Lin, P.-I.D., Calafat, A.M., Webster, T.F., Horton, E.S., Oken, E., 2018. Association of Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances With Adiposity. *JAMA Netw. Open* 1, e181493. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.1493>
- Chahal, H., Drake, W., 2007. The endocrine system and ageing. *J. Pathol.* 211, 173–180. <https://doi.org/10.1002/path.2110>
- Christensen, K.Y., Raymond, M., Meiman, J., 2019. Perfluoroalkyl substances and metabolic syndrome. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.08.014>
- Chubb, L.S., Andersen, M.E., Broccardo, C.J., Legare, M.E., Billings, R.E., Dean, C.E., Hanneman, W.H., 2004. Regional Induction of CYP1A1 in Rat Liver Following Treatment with Mixtures of PCB 126 and PCB 153. *Toxicol. Pathol.* 32, 467–473. <https://doi.org/10.1080/01926230490483306>
- Cooke, P.S., Sato, T., Buchanan, D.L., 2001. Disruption of Steroid Hormone Signaling by PCBs, in: *PCBs: Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects*. University Press of Kentucky.
- de Ronde, W., van der Schouw, Y.T., Muller, M., Grobbee, D.E., Gooren, L.J.G., Pols, H.A.P., de Jong, F.H., 2005. Associations of Sex-Hormone-Binding Globulin (SHBG) with Non-SHBG-Bound Levels of Testosterone and Estradiol in Independently Living Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 157–162. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0422>
- Decaroli, M.C., Rochira, V., 2016. Aging and sex hormones in males. *Virulence* 8, 545–570. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1259053>

deCastro, B.R., Korrick, S.A., Spengler, J.D., Soto, A.M., 2006. Estrogenic Activity of Polychlorinated Biphenyls Present in Human Tissue and the Environment. *Environ. Sci. Technol.* 40, 2819–2825. <https://doi.org/10.1021/es051667u>

Di Nisio, A., Sabovic, I., Valente, U., Tescari, S., Rocca, M.S., Guidolin, D., Dall'Acqua, S., Acquasaliente, L., Pozzi, N., Plebani, M., Garolla, A., Foresta, C., 2019. Endocrine Disruption of Androgenic Activity by Perfluoroalkyl Substances: Clinical and Experimental Evidence. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 104, 1259–1271. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-01855>

Du, G., Hu, J., Huang, Z., Yu, M., Lu, C., Wang, X., Wu, D., 2019. Neonatal and juvenile exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS): Advance puberty onset and kisspeptin system disturbance in female rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 167, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.025>

Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Pérez-Carrascosa, F.M., Gómez-Peña, C., Fiket, Ž., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Fernández, M.F., Arrebola, J.P., 2021. Associations of residential and occupational history with the distribution of persistent pollutant mixtures in adipose tissue samples. *Environ. Res.* 194, 110687. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110687>

El-Kashoury, A.A., Salama, A.F., Selim, A.I., Mohamed, R.A., 2010. Chronic Exposure Of Dicofol Promotes Reproductive Toxicity In Male Rats. *Life Sci. J.* 7, 5–19.

Elmlinger, M.W., Kühnel, W., Wormstall, H., Döllner, P.C., 2005. Reference intervals for testosterone, androstenedione and SHBG levels in healthy females and males from birth until old age. *Clin. Lab.* 51, 625–632.

Esteban, M., Ruiz-Moraga, M., Pérez-Gómez, B., Castaño, A., 2013. Aspectos prácticos de la fase preanalítica del estudio de biovigilancia BIOAMBIENT.ES. *Gac. Sanit.* 27, 77–80. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2012.07.004>

Fait, T., 2019. Menopause hormone therapy: latest developments and clinical practice. *Drugs Context* 8, 212551. <https://doi.org/10.7573/dic.212551>

Ferguson, K.K., Hauser, R., Altshul, L., Meeker, J.D., 2012. Serum concentrations of p, p'-DDE, HCB, PCBs and reproductive hormones among men of reproductive age. *Reprod. Toxicol.* 34, 429–435. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.04.006>

Fiedler, H., Kallenborn, R., Boer, J. de, Sydnés, L.K., 2019. The Stockholm Convention: A Tool for the Global Regulation of Persistent Organic Pollutants. *Chem. Int.* 41, 4–11. <https://doi.org/10.1515/ci-2019-0202>

Fox, J., Weisberg, S., 2019. *An R Companion to Applied Regression*. Sage, Thousand Oaks CA, USA.

Freire, C., Koifman, R.J., Sarcinelli, P.N., Rosa, A.C.S., Clapauch, R., Koifman, S., 2014. Association between serum levels of organochlorine pesticides and sex hormones in adults living in a heavily contaminated area in Brazil. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217, 370–378. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.07.012>

Gallo, M.V., Ravenscroft, J., Carpenter, D.O., Schell, L.M., 2018. Persistent organic pollutants as predictors of increased FSH:LH ratio in naturally cycling, reproductive age women. *Environ. Res.* 164, 556–564. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.03.021>

Giwerzman, A., Rignell, -Hydbom Anna, Toft, G., Rylander, L., Hagmar, L., Lindh, C., Pedersen, H.S., Ludwicki, J.K., Lesovoy, V., Shvets, M., Spano, M., Manicardi, G.C., Bizzaro, D., Bonefeld, -Jorgensen Eva C., Bonde, J.P., null, null, 2006. Reproductive Hormone Levels in Men Exposed to Persistent Organohalogen Pollutants: A Study of Inuit and Three European Cohorts. *Environ. Health Perspect.* 114, 1348–1353. <https://doi.org/10.1289/ehp.8935>

Glynn, A., Berger, U., Bignert, A., Ullah, S., Aune, M., Lignell, S., Darnerud, P.O., 2012. Perfluorinated Alkyl Acids in Blood Serum from Primiparous Women in Sweden: Serial Sampling during Pregnancy and Nursing, And Temporal Trends 1996–2010. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9071–9079. <https://doi.org/10.1021/es301168c>

Gonzalez, C.A., Riboli, E., 2010. Diet and cancer prevention: Contributions from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 46, 2555–2562. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.025>

Gore, A.C., Wu, T.J., Oung, T., Lee, J.B., Woller, M.J., 2002. A Novel Mechanism for Endocrine-Disrupting Effects of Polychlorinated Biphenyls: Direct Effects on Gonadotropin-Releasing Hormone Neurones. *J. Neuroendocrinol.* 14, 814–823. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2002.00845.x>

Graber, J.M., Alexander, C., Laumbach, R.J., Black, K., Strickland, P.O., Georgopoulos, P.G., Marshall, E.G., Shendell, D.G., Alderson, D., Mi, Z., Mascari, M., Weisel, C.P., 2019. Per and polyfluoroalkyl substances (PFAS) blood levels after contamination of a community water supply and comparison with 2013–2014 NHANES. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 29, 172–182. <https://doi.org/10.1038/s41370-018-0096-z>

Hagmar, L., Björk, J., Sjödin, A., Bergman, A., Erfurth, E.M., 2001. Plasma levels of persistent organohalogenes and hormone levels in adult male humans. *Arch. Environ. Health* 56, 138–143. <https://doi.org/10.1080/00039890109604065>

Han, X., Zhang, F., Meng, L., Xu, Y., Li, Y., Li, A., Turyk, M.E., Yang, R., Wang, P., Zhang, J., Zhang, Q., Jiang, G., 2020. Exposure to organochlorine pesticides and the risk of type 2 diabetes in the population of East China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 190, 110125. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110125>

Harlow, S.D., Hood, M.M., Ding, N., Mukherjee, B., Calafat, A.M., Randolph, J.F., Gold, E.B., Park, S.K., 2021. Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Hormone Levels During the Menopausal Transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 106, e4427–e4437. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab476>

Haugen, T.B., Tefre, T., Malm, G., Jönsson, B.A.G., Rylander, L., Hagmar, L., Bjørsvik, C., Henrichsen, T., Sæther, T., Figenschau, Y., Giwercman, A., 2011. Differences in serum levels of CB-153 and p,p'-DDE, and reproductive parameters between men living south and north in Norway. *Reprod. Toxicol.* 32, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.06.072>

Hetemäki, N., Savolainen-Peltonen, H., Tikkanen, M.J., Wang, F., Paatela, H., Hämäläinen, E., Turpeinen, U., Haanpää, M., Vihma, V., Mikkola, T.S., 2017. Estrogen Metabolism in Abdominal Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue in Postmenopausal Women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 102, 4588–4595. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01474>

Hu, X.C., Dassuncao, C., Zhang, X., Grandjean, P., Weihe, P., Webster, G.M., Nielsen, F., Sunderland, E.M., 2018. Can profiles of poly- and Perfluoroalkyl substances (PFASs) in human serum provide information on major exposure sources? *Environ. Health* 17, 11. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0355-4>

IBM Corp., 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, v 20.0. IBM Corp, Armonk, NY.

Kahn, L.G., Philippat, C., Nakayama, S.F., Slama, R., Trasande, L., 2020. Endocrine-disrupting chemicals: implications for human health. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 8, 703–718. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30129-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30129-7)

Kelce, W.R., Stone, C.R., Laws, S.C., Gray, L.E., Kemppainen, J.A., Wilson, E.M., 1995. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 375, 581–585. <https://doi.org/10.1038/375581a0>

Kester, M.H.A., Bulduk, S., Tibboel, D., Meinel, W., Glatt, H., Falany, C.N., Coughtrie, M.W.H., Bergman, A., Safe, S.H., Kuiper, G.G.J.M., Schuur, A.G., Brouwer, A., Visser, T.J., 2000. Potent Inhibition of Estrogen

Sulfotransferase by Hydroxylated PCB Metabolites: A Novel Pathway Explaining the Estrogenic Activity of PCBs. *Endocrinology* 141, 1897–1900. <https://doi.org/10.1210/endo.141.5.7530>

Kitamura, S., Jinno, N., Suzuki, T., Sugihara, K., Ohta, S., Kuroki, H., Fujimoto, N., 2005. Thyroid hormone-like and estrogenic activity of hydroxylated PCBs in cell culture. *Toxicology* 208, 377–387. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.11.037>

Kuhn, M., 2020. caret: Classification and Regression Training.

La Merrill, M.A., Vandenberg, L.N., Smith, M.T., Goodson, W., Browne, P., Patisaul, H.B., Guyton, K.Z., Kortenkamp, A., Cogliano, V.J., Woodruff, T.J., Rieswijk, L., Sone, H., Korach, K.S., Gore, A.C., Zeise, L., Zoeller, R.T., 2020. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nat. Rev. Endocrinol.* 16, 45–57. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0273-8>

Lallas, P.L., 2001. The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. *Am. J. Int. Law* 95, 692–708. <https://doi.org/10.2307/2668517>

Lambertino, A., Persky, V., Freels, S., Anderson, H., Unterman, T., Awadalla, S., Turyk, M., 2021. Associations of PCBs, dioxins and furans with follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in postmenopausal women: National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. *Chemosphere* 262, 128309. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128309>

Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., Seed, J., 2007. Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicol. Sci.* 99, 366–394. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm128>

León, J., Sáenz, J.M., Artacho-Cordón, F., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Salamanca-Fernández, E., Gómez-Peña, C., Olea, N., Arrebola, J.P., 2019. Contribution of sociodemographic, occupational, lifestyle and dietary characteristics to the oxidative stress microenvironment in adipose tissue. *Environ. Res.* 175, 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.04.035>

Lewis, R.C., Johns, L.E., Meeker, J.D., 2015. Serum Biomarkers of Exposure to Perfluoroalkyl Substances in Relation to Serum Testosterone and Measures of Thyroid Function among Adults and Adolescents from NHANES 2011–2012. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12, 6098–6114. <https://doi.org/10.3390/ijerph120606098>

Li, J., Cao, H., Feng, H., Xue, Q., Zhang, A., Fu, J., 2020. Evaluation of the Estrogenic/Antiestrogenic Activities of Perfluoroalkyl Substances and Their Interactions with the Human Estrogen Receptor by Combining In Vitro Assays and In Silico Modeling. *Environ. Sci. Technol.* 54, 14514–14524. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c03468>

Li, Y., Fletcher, T., Mucs, D., Scott, K., Lindh, C.H., Tallving, P., Jakobsson, K., 2018. Half-lives of PFOS, PFHxS and PFOA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occup. Environ. Med.* 75, 46–51. <https://doi.org/10.1136/oemed-2017-104651>

Lizneva, D., Rahimova, A., Kim, S.-M., Atabiekov, I., Javaid, S., Alamoush, B., Taneja, C., Khan, A., Sun, L., Azziz, R., Yuen, T., Zaidi, M., 2019. FSH Beyond Fertility. *Front. Endocrinol.* 10.

Louis, G.M.B., Sundaram, R., Schisterman, E.F., Sweeney, A.M., Lynch, C.D., Gore, -Langton Robert E., Maisog, J., Kim, S., Chen, Z., Barr, D.B., 2013. Persistent Environmental Pollutants and Couple Fecundity: The LIFE Study. *Environ. Health Perspect.* 121, 231–236. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205301>

Louro, H., Heinälä, M., Bessems, J., Buekers, J., Vermeire, T., Woutersen, M., van Engelen, J., Borges, T., Rousselle, C., Ougier, E., Alvito, P., Martins, C., Assunção, R., Silva, M.J., Pronk, A., Schaddelee-Scholten, B., Del Carmen Gonzalez, M., de Alba, M., Castaño, A., Viegas, S., Humar-Juric, T., Kononenko, L., Lampen, A., Vinggaard, A.M., Schoeters, G., Kolossa-Gehring, M., Santonen, T., 2019. Human biomonitoring in health risk assessment in Europe: Current practices and recommendations for the future. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 727–737. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.009>

- Luo, K., Liu, X., Nian, M., Wang, Y., Qiu, J., Yu, H., Chen, X., Zhang, J., 2021. Environmental exposure to per- and polyfluoroalkyl substances mixture and male reproductive hormones. *Environ. Int.* 152, 106496. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106496>
- Ma, R., Sassoon, D.A., 2006. PCBs Exert an Estrogenic Effect through Repression of the Wnt7a Signaling Pathway in the Female Reproductive Tract. *Environ. Health Perspect.* 114, 898–904. <https://doi.org/10.1289/ehp.8748>
- Madrigal, J.M., Sargis, R.M., Persky, V., Turyk, M.E., 2021. Multiple organochlorine pesticide exposures and measures of sex steroid hormones in adult males: Cross-sectional findings from the 1999–2004 National Health and Nutrition Examination Survey. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 231, 113609. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113609>
- Maisonet, M., Calafat, A.M., Marcus, M., Jaakkola, J.J.K., Lashen, H., 2015. Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Acids and Serum Testosterone Concentrations at 15 Years of Age in Female ALSPAC Study Participants. *Environ. Health Perspect.* 123, 1325–1330. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408847>
- Martínez Vidal, J.L., Moreno Frías, M., Garrido Frenich, A., Olea-Serrano, F., Olea, N., 2002. Determination of endocrine-disrupting pesticides and polychlorinated biphenyls in human serum by GC-ECD and GC-MS-MS and evaluation of contributions to the uncertainty of the results. *Anal. Bioanal. Chem.* 372, 766–775. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1272-4>
- Martínez-Brocca, M.A., Mayoral-Sánchez, E., 2016. Plan Integral de Diabetes de Andalucía. Evaluación del II Plan Integral de Diabetes de Andalucía, actualización 2016. Junta de Andalucía. Consejería de Salud.
- Meeker, J.D., Hauser, R., 2010. Exposure to Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Male Reproduction. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 56, 122–131. <https://doi.org/10.3109/19396360903443658>
- Moreno-Frías, M., Torres, M.J., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., Olea-Serrano, F., Olea, N., 2004. Determination of organochlorine compounds in human biological samples by GC-MS/MS. *Biomed. Chromatogr.* 18, 102–111. <https://doi.org/10.1002/bmc.300>
- Mustieles, V., Arrebola, J.P., 2020. How polluted is your fat? What the study of adipose tissue can contribute to environmental epidemiology. *J. Epidemiol. Community Health* 74, 401–407. <https://doi.org/10.1136/jech-2019-213181>
- Mustieles, V., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., González-Alzaga, B., Fontalba-Navas, A., Hauser, R., Olea, N., Arrebola, J.P., 2017a. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: Combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. *Environ. Int.* 104, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.04.002>
- Mustieles, V., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., González-Alzaga, B., Fontalba-Navas, A., Hauser, R., Olea, N., Arrebola, J.P., 2017b. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: Combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. *Environ. Int.* 104, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.04.002>
- Nativelle-Serpentini, C., Richard, S., Séralini, G.-E., Sourdain, P., 2003. Aromatase activity modulation by lindane and bisphenol-A in human placental JEG-3 and transfected kidney E293 cells. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* 17, 413–422. [https://doi.org/10.1016/s0887-2333\(03\)00046-8](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(03)00046-8)
- Oh, S.M., Ryu, B.T., Lee, S.K., Chung, K.H., 2007. Antiestrogenic potentials of ortho-PCB congeners by single or complex exposure. *Arch. Pharm. Res.* 30, 199–209. <https://doi.org/10.1007/BF02977695>
- Olsen, G.W., Burris, J.M., Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., 2007. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environ. Health Perspect.* 115, 1298–1305. <https://doi.org/10.1289/ehp.10009>

- Padungtod, C., Lasley, B.L., Christiani, D.C., Ryan, L.M., Xu, X., 1998. Reproductive hormone profile among pesticide factory workers. *J. Occup. Environ. Med.* 40, 1038–1047. <https://doi.org/10.1097/00043764-199812000-00002>
- Palmer, B.F., Clegg, D.J., 2015. The sexual dimorphism of obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 402, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.11.029>
- Pan, W., Ye, X., Yin, S., Ma, X., Li, C., Zhou, J., Liu, W., Liu, J., 2019. Selected persistent organic pollutants associated with the risk of primary ovarian insufficiency in women. *Environ. Int.* 129, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.023>
- Patterson, Jr., Donald G., Wong, L.-Y., Turner, W.E., Caudill, S.P., DiPietro, E.S., McClure, P.C., Cash, T.P., Osterloh, J.D., Pirkle, J.L., Sampson, E.J., Needham, L.L., 2009. Levels in the U.S. Population of those Persistent Organic Pollutants (2003–2004) Included in the Stockholm Convention or in other Long-Range Transboundary Air Pollution Agreements. *Environ. Sci. Technol.* 43, 1211–1218. <https://doi.org/10.1021/es801966w>
- Persky, V., Piorkowski, J., Turyk, M., Freels, S., Chatterton, R., Dimos, J., Leon Bradlow, H., Kaatz Chary, L., Burse, V., Unterman, T., Sepkovic, D., McCann, K., 2011. Associations of polychlorinated biphenyl exposure and endogenous hormones with diabetes in post-menopausal women previously employed at a capacitor manufacturing plant. *Environ. Res.* 111, 817–824. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.05.012>
- Persky, V., Turyk, M., Anderson, H.A., Hanrahan, L.P., Falk, C., Steenport, D.N., Chatterton, R., Freels, S., null, null, 2001. The effects of PCB exposure and fish consumption on endogenous hormones. *Environ. Health Perspect.* 109, 1275–1283. <https://doi.org/10.1289/ehp.011091275>
- Petersen, K.U., Hærvig, K.K., Flachs, E.M., Bonde, J.P., Lindh, C., Hougaard, K.S., Toft, G., Ramlau-Hansen, C.H., Tøttenborg, S.S., 2022. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and male reproductive function in young adulthood; a cross-sectional study. *Environ. Res.* 212, 113157. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113157>
- Petersen, M.S., Halling, J., Jørgensen, N., Nielsen, F., Grandjean, P., Jensen, T.K., Weihe, P., 2018. Reproductive Function in a Population of Young Faroese Men with Elevated Exposure to Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Perfluorinated Alkylate Substances (PFAS). *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15, 1880. <https://doi.org/10.3390/ijerph15091880>
- Phillips, D.L., Pirkle, J.L., Burse, V.W., Bernert, J.T., Henderson, L.O., Needham, L.L., 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 495–500. <https://doi.org/10.1007/BF01055015>
- Pinheiro, J., Bates, D., R Core Team, 2022. *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*.
- Pinos, H., Carrillo, B., Merchán, A., Biosca-Brull, J., Pérez-Fernández, C., Colomina, M.T., Sánchez-Santed, F., Martín-Sánchez, F., Collado, P., Arias, J.L., Conejo, N.M., 2021. Relationship between Prenatal or Postnatal Exposure to Pesticides and Obesity: A Systematic Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18, 7170. <https://doi.org/10.3390/ijerph18137170>
- Plíšková, M., Vondráček, J., Canton, R.F., Nera, J., Kočan, A., Petřík, J., Trnovec, T., Sanderson, T., van den Berg, M., Machala, M., 2005. Impact of Polychlorinated Biphenyls Contamination on Estrogenic Activity in Human Male Serum. *Environ. Health Perspect.* 113, 1277–1284. <https://doi.org/10.1289/ehp.7745>
- Qi, W., Clark, J.M., Timme-Laragy, A.R., Park, Y., 2020. Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Obesity, Type 2 Diabetes and Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Review of Epidemiologic Findings. *Toxicol. Environ. Chem.* 102, 1–36. <https://doi.org/10.1080/02772248.2020.1763997>

Qing Li, Q., Loganath, A., Seng Chong, Y., Tan, J., Philip Obbard, J., 2006. Persistent Organic Pollutants and Adverse Health Effects in Humans. *J. Toxicol. Environ. Health A* 69, 1987–2005. <https://doi.org/10.1080/15287390600751447>

Qu, X., Donnelly, R., 2020. Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) as an Early Biomarker and Therapeutic Target in Polycystic Ovary Syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* 21, E8191. <https://doi.org/10.3390/ijms21218191>

R Core Team, 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Reed, B.G., Carr, B.R., 2000. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation, in: Feingold, K.R., Anawalt, B., Boyce, A., Chrousos, G., de Herder, W.W., Dhatariya, K., Dungan, K., Hershman, J.M., Hofland, J., Kalra, S., Kaltsas, G., Koch, C., Kopp, P., Korbonits, M., Kovacs, C.S., Kuohung, W., Laferrère, B., Levy, M., McGee, E.A., McLachlan, R., Morley, J.E., New, M., Purnell, J., Sahay, R., Singer, F., Sperling, M.A., Stratakis, C.A., Trencé, D.L., Wilson, D.P. (Eds.), *Endotext*. MDText.com, Inc., South Dartmouth (MA).

Renzetti, S., Curtin, P., Just, Allan C., Bello, G., Gennings, C., 2021. gWQS: Generalized Weighted Quantile Sum Regression.

Richthoff, J., Rylander, L., Jönsson, B.A.G., Akesson, H., Hagmar, L., Nilsson-Ehle, P., Stridsberg, M., Giwercman, A., 2003. Serum levels of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) in relation to markers of reproductive function in young males from the general Swedish population. *Environ. Health Perspect.* 111, 409–413.

Rivas, A., Fernandez, M.F., Cerrillo, I., Ibarluzea, J., Olea-Serrano, M.F., Pedraza, V., Olea, N., 2001. Human exposure to endocrine disrupters: standardisation of a marker of estrogenic exposure in adipose tissue. *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 109, 185–197. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2001.090302.x>

Salcedo-Bellido, I., Amaya, E., Pérez-Díaz, C., Soler, A., Vela-Soria, F., Requena, P., Barrios-Rodríguez, R., Echeverría, R., Pérez-Carrascosa, F.M., Quesada-Jiménez, R., Martín-Olmedo, P., Arrebola, J.P., 2022. Differential Bioaccumulation Patterns of α , β -Hexachlorobenzene and Dicofol in Adipose Tissue from the GraMo Cohort (Southern Spain). *Int. J. Environ. Res. Public Health* 19, 3344. <https://doi.org/10.3390/ijerph19063344>

Salihovic, S., Kärrman, A., Lind, L., Lind, P.M., Lindström, G., van Bavel, B., 2015. Perfluoroalkyl substances (PFAS) including structural PFOS isomers in plasma from elderly men and women from Sweden: Results from the Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS). *Environ. Int.* 82, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.05.003>

Secretariat of the Stockholm Convention, 2020. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs).

Shan, Q., Li, H., Chen, N., Qu, F., Guo, J., 2020. Understanding the Multiple Effects of PCBs on Lipid Metabolism. *Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* 13, 3691–3702. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S264851>

Sherman, B.M., Korenman, S.G., 1975. Hormonal characteristics of the human menstrual cycle throughout reproductive life. *J. Clin. Invest.* 55, 699–706.

Skałba, P., Wójtowicz, M., Sikora, J., 2003. Androgen and SHBG serum concentrations in late post-menopause women. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 9, CR152-156.

Specht, I.O., Bonde, J.P.E., Toft, G., Giwercman, A., Spanò, M., Bizzaro, D., Manicardi, G.C., Jönsson, B.A.G., Robbins, W.A., 2015. Environmental hexachlorobenzene exposure and human male reproductive function. *Reprod. Toxicol.* 58, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2015.07.074>

- Tian, Y.-P., Zeng, X.-W., Bloom, M.S., Lin, S., Wang, S.-Q., Yim, S.H.L., Yang, M., Chu, C., Gurram, N., Hu, L.-W., Liu, K.-K., Yang, B.-Y., Feng, D., Liu, R.-Q., Nian, M., Dong, G.-H., 2019. Isomers of perfluoroalkyl substances and overweight status among Chinese by sex status: Isomers of C8 Health Project in China. *Environ. Int.* 124, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.006>
- Tsai, M.-S., Lin, C.-Y., Lin, C.-C., Chen, M.-H., Hsu, S.H.J., Chien, K.-L., Sung, F.-C., Chen, P.-C., Su, T.-C., 2015. Association between perfluoroalkyl substances and reproductive hormones in adolescents and young adults. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 218, 437–443. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.03.008>
- Venken, K., Callewaert, F., Boonen, S., Vanderschueren, D., 2008. Sex hormones, their receptors and bone health. *Osteoporos. Int.* 19, 1517–1525. <https://doi.org/10.1007/s00198-008-0609-z>
- Verkasalo, P.K., Thomas, H.V., Appleby, P.N., Davey, G.K., Key, T.J., 2001. Circulating levels of sex hormones and their relation to risk factors for breast cancer: a cross-sectional study in 1092 pre- and postmenopausal women (United Kingdom). *Cancer Causes Control* 12, 47–59. <https://doi.org/10.1023/A:1008929714862>
- Vinggaard, A.M., Hnida, C., Breinholt, V., Larsen, J.C., 2000. Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity in vitro. *Toxicol. In Vitro* 14, 227–234. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(00\)00018-7](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(00)00018-7)
- Wagner, I.V., Savchuk, I., Sahlin, L., Kulle, A., Klötting, N., Dietrich, A., Holterhus, P.-M., Dötsch, J., Blüher, M., Söder, O., 2022. De Novo and Depot-Specific Androgen Production in Human Adipose Tissue: A Source of Hyperandrogenism in Women with Obesity. *Obes. Facts* 15, 281–291. <https://doi.org/10.1159/000521571>
- Wang, Y., Aimuzi, R., Nian, M., Zhang, Y., Luo, K., Zhang, J., 2021. Perfluoroalkyl substances and sex hormones in postmenopausal women: NHANES 2013–2016. *Environ. Int.* 149, 106408. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106408>
- Warembourg, C., Debost-Légrand, A., Bonvallot, N., Massart, C., Garlantézec, R., Monfort, C., Gaudreau, E., Chevrier, C., Cordier, S., 2016. Exposure of pregnant women to persistent organic pollutants and cord sex hormone levels. *Hum. Reprod.* 31, 190–198. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev260>
- Welt, C.K., Pagan, Y.L., Smith, P.C., Rado, K.B., Hall, J.E., 2003. Control of Follicle-Stimulating Hormone by Estradiol and the Inhibins: Critical Role of Estradiol at the Hypothalamus during the Luteal-Follicular Transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 1766–1771. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021516>
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., 2019. Welcome to the tidyverse. *J. Open Source Softw.* 4, 1686.
- Wickham, H., Miller, E., 2020. *haven: Import and Export “SPSS”, “Stata” and “SAS” Files*.
- Wolf, K., Bongaerts, B.W.C., Schneider, Alexandra, Huth, C., Meisinger, C., Peters, A., Schneider, Andrea, Wittsiepe, J., Schramm, K.-W., Greiser, K.H., Hartwig, S., Kluttig, A., Rathmann, W., 2019. Persistent organic pollutants and the incidence of type 2 diabetes in the CARLA and KORA cohort studies. *Environ. Int.* 129, 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.030>
- Wolff, M.S., Camann, D., Gammon, M., Stellman, S.D., 1997. Proposed PCB congener groupings for epidemiological studies. *Environ. Health Perspect.* 105, 13–14. <https://doi.org/10.1289/ehp.9710513>
- Wong, F., MacLeod, M., Mueller, J.F., Cousins, I.T., 2014. Enhanced Elimination of Perfluorooctane Sulfonic Acid by Menstruating Women: Evidence from Population-Based Pharmacokinetic Modeling. *Environ. Sci. Technol.* 48, 8807–8814. <https://doi.org/10.1021/es500796y>

Wood, S.N., 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *J. R. Stat. Soc. B* 1, 3–36.

World Health Organization, 2016. Evaluation of certain food additives and contaminants. Eightieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. World Health Organ. Tech. Rep. Ser. 1–114, back cover.

Xie, X., Weng, X., Liu, S., Chen, J., Guo, X., Gao, X., Fei, Q., Hao, G., Jing, C., Feng, L., 2021. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substance exposure and association with sex hormone concentrations: results from the NHANES 2015–2016. *Environ. Sci. Eur.* 33, 69. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00508-9>

Yao, Q., Shi, R., Wang, C., Han, W., Gao, Y., Zhang, Y., Zhou, Y., Ding, G., Tian, Y., 2019. Cord blood Per- and polyfluoroalkyl substances, placental steroidogenic enzyme, and cord blood reproductive hormone. *Environ. Int.* 129, 573–582. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.047>

Yilmaz, B., Terekeci, H., Sandal, S., Kelestimur, F., 2020. Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 21, 127–147. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09521-z>

You, L., Sar, M., Bartolucci, E., Ploch, S., Whitt, M., 2001. Induction of hepatic aromatase by p,p'-DDE in adult male rats. *Mol. Cell. Endocrinol.* 178, 207–214. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00445-2](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00445-2)

Yu, C., Wen, Q., Ren, Q., Du, Y., Xie, X., 2021. Polychlorinated biphenyl congener 180 (PCB 180) regulates mitotic clonal expansion and enhances adipogenesis through modulation of C/EBP β SUMOylation in preadipocytes. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 152, 112205. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112205>

Zoeller, R.T., Brown, T.R., Doan, L.L., Gore, A.C., Skakkebaek, N.E., Soto, A.M., Woodruff, T.J., Vom Saal, F.S., 2012. Endocrine-Disrupting Chemicals and Public Health Protection: A Statement of Principles from The Endocrine Society. *Endocrinology* 153, 4097–4110. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1422>.

TRABAJO 5 (Objetivo 4)

Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla.

Ruth Echeverría^a, Francisco Miguel Pérez-Carrascosa^{a,b,c}, Malak Kouiti^a, Pilar Requena^{a,b}, Celia Rodríguez-Pérez^d, Rocío Barrios-Rodríguez^{a,b,e}, Inmaculada Salcedo-Bellido^{a,b,e}, Juan Pedro Arrebola^{a,b,e},

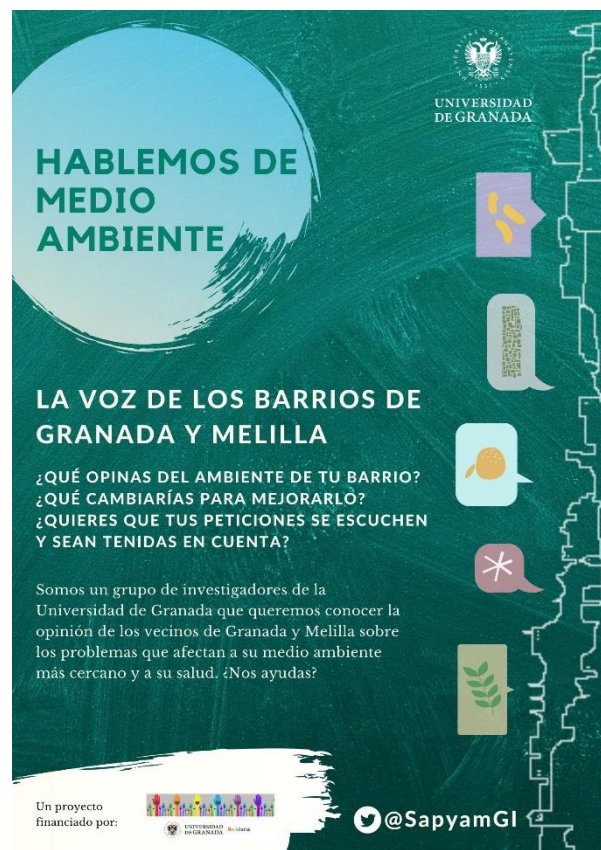
a Universidad de Granada. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Granada, España.

b Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España.

c Servicio de Oncología Radioterápica, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, Spain.

d Universidad de Granada. Departamento de Nutrición y Bromatología, Melilla, España.

e CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, España.



Encuesta abierta en: <https://encuestas.ugr.es/index.php/322697?lang=es>. Detalle de la encuesta en el **Anexo 1**.

1. Introducción y contexto.

Los trabajos relacionados con el microproyecto *Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla*, que se recogen en esta tesis constan de la elaboración y puesta en marcha de un cuestionario online y su difusión a través de las organizaciones colaboradoras en las ciudades de Granada y Melilla, así como el análisis de los resultados recogidos hasta mayo de 2022. El objetivo era conocer las preocupaciones de los vecinos de estos barrios y, en especial, de los distritos más desfavorecidos, en relación con el medio ambiente y la salud, con la finalidad de hacer llegar esta información a las autoridades responsables.

Los trabajos de preparación del cuestionario comenzaron en abril de 2020, el piloto se aplicó sobre 10 personas a principios de julio y la encuesta se abrió definitivamente el día 21 de julio del mismo año. A fecha de 13 de mayo de 2022 el cuestionario online contaba con 902 respuestas, de las cuales se consideraron válidas 573, que correspondían a los participantes que habían respondido a todas las preguntas, una vez eliminados los duplicados.

En cuanto a la parte cualitativa del microproyecto, la Asociación Almanjáyár en Familia (ALFA) realizó 8 entrevistas en profundidad y un grupo focal en sus instalaciones en Granada, con la participación de 10 jóvenes de entre 15 y 18 años. Las demás organizaciones participantes no tuvieron capacidad para organizar actividades presenciales. En el momento de depósito de esta tesis, todavía no había podido abordarse el análisis cualitativo de entrevistas y grupo focal por los retrasos debidos a la pandemia COVID-19 que han reducido enormemente la muestra, complicando la obtención de conclusiones fiables.

Lo que a continuación se presenta son los resultados preliminares del cuestionario online, que continúa abierto con el objetivo de alcanzar un número mayor de participantes y poder también comparar las respuestas durante la pandemia y confinamiento, y el periodo posterior.

2. Descripción de los participantes

La población participante en el cuestionario online se describe en la Tabla 1. De los datos recogidos se desprende que los participantes eran en su mayoría mujeres (63.5%), personas de mediana edad (media \pm desviación estándar de 40.7 ± 15.1) y con estudios universitarios (91.1%), lo que está relacionado con el sector de la población a quien llegó la encuesta principalmente, que contaba con competencias digitales para recibir la información y realizar el cuestionario online. El hecho de que un 63.5% de la población participante fuera femenina puede ser indicativo de mayor interés en problemas de medio ambiente y salud en este sexo que en el masculino, al igual que se observó en el Trabajo 6 de esta tesis, pero también podría deberse a una tendencia mayor de las mujeres a responder encuestas online.

El lugar de residencia mayoritario era la ciudad de Granada, lo que se justifica por la mayor difusión realizada a través de las entidades colaboradoras de Granada y por el modelo “bola de nieve”, dado que el núcleo desde el que partió la difusión era granadino.

Tabla 1. Características sociodemográficas de la población de estudio.

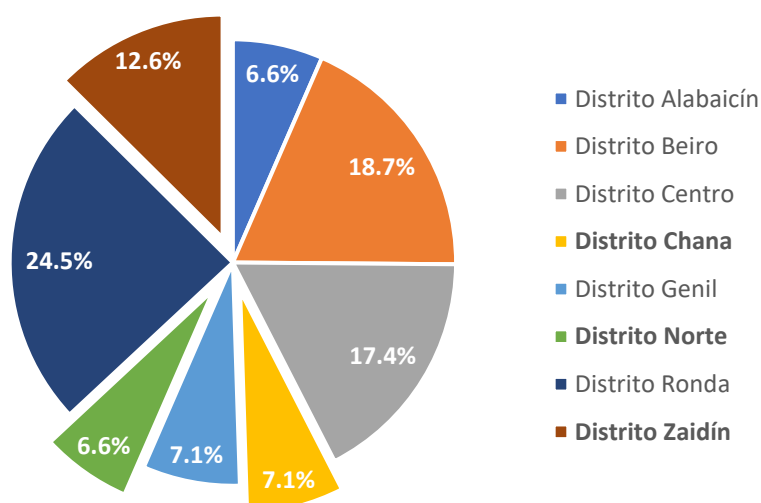
Características sociodemográficas (n=573)		Media±DE	n (%)
Sexo	Mujeres		364 (63.5)
	Hombres		204 (35.6)
	No contesta		5 (0.9)
Edad		40.7±15.1	
Nº hijos		1.0±1.2	
Nivel de estudios	Ed. Primaria		8 (1.4)
	Ed. Secundaria		38 (6.6)
	Ed. Universitaria		522 (91.1)
	Otros		5 (0.9)
Lugar de residencia	Granada (ciudad)		398 (69.1)
	Melilla		84 (14.7)
	Otros		91 (15.9)
Residentes en distritos objetivo (n=121)	Chana (Granada)		31 (25.6)
	Norte (Granada)		29 (24.0)
	Zaidín (Granada)		50 (41.3)
	Distrito 5 (Melilla)		11 (9.1)
Años residiendo en el barrio		15.9±15.0	

DE: desviación estándar

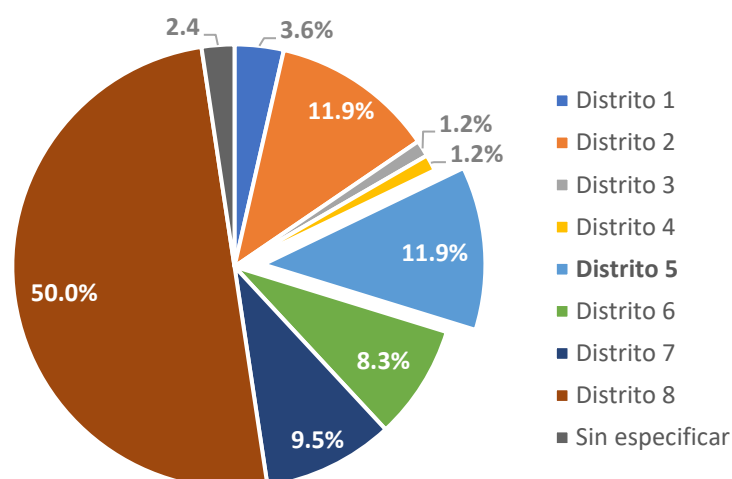
Los barrios de residencia de los participantes se especifican en las figuras 1 y 2. En ellas se puede observar que 121 participantes (21.1%) pertenecían a los principales barrios objetivo del estudio. Un 14.7% de la población participó en el cuestionario aun sin residir en Granada o Melilla.

Fig. 1. Distribución de participantes por distritos en a) ciudad de Granada; b) ciudad autónoma de Melilla.

a) Ciudad de Granada (n=398)



b) Ciudad autónoma de Melilla (n=84)

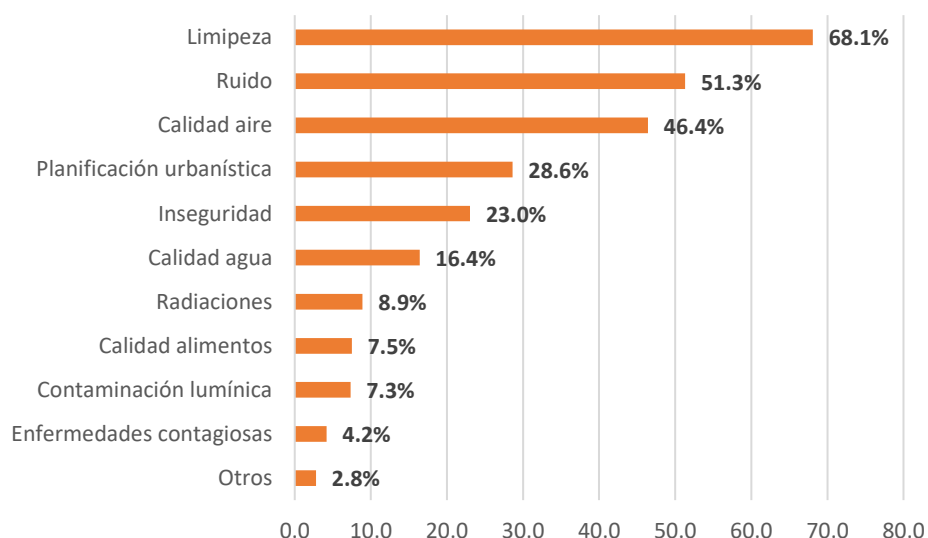


Los distritos de especial interés en este estudio aparecen resaltados (Chana, Norte y Zaidín en Granada, y el Distrito 5, que incluye la Cañada de Hidum, en Melilla).

3. Resultados de la encuesta

En la encuesta se solicitó a los participantes que indicaran qué tres cuestiones les preocupaban más en su barrio a través de una lista cerrada de posibles problemas en relación con el medio ambiente y la salud. Los resultados se presentan en la Figura 3, que muestra cómo la limpieza (incluyendo gestión de residuos, plagas, excrementos y alcantarillado) era el factor que más les preocupaba (un 68.1% de los encuestados la señaló), frente a las enfermedades contagiosas, que solo escogió un 4.2% de los participantes. Entre las respuestas detalladas en el apartado “Otros”, 4 comentarios hicieron referencia a la tala indiscriminada de árboles en los distritos Centro y Zaidín en Granada.

Fig. 2. Preocupaciones medioambientales de los participantes.



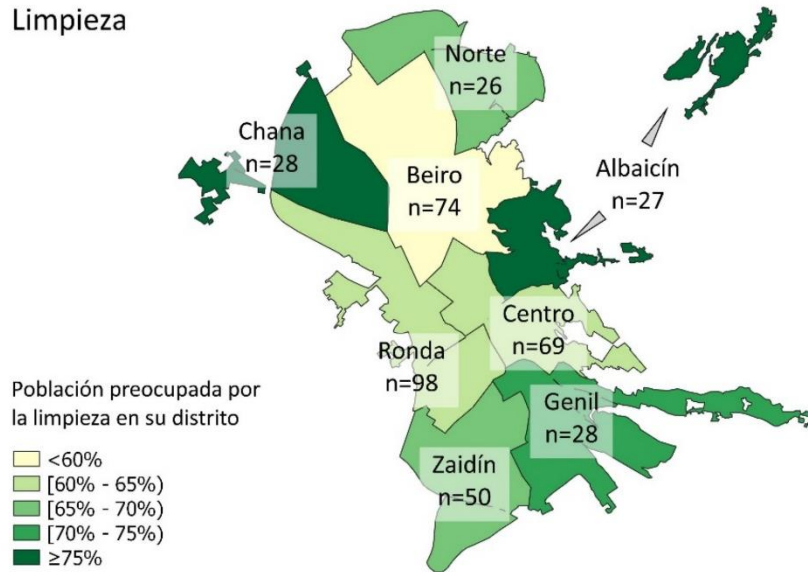
Respuestas a la pregunta: “Seleccione los aspectos de su barrio que más influyen en su calidad de vida y su salud, especificando qué es lo que más le preocupa en cada caso. Puede elegir hasta 3 problemas.”

Fig. 3. Participantes preocupados por a) limpieza, b) ruido y c) calidad del aire según distritos en la ciudad de Granada.

a)

Granada

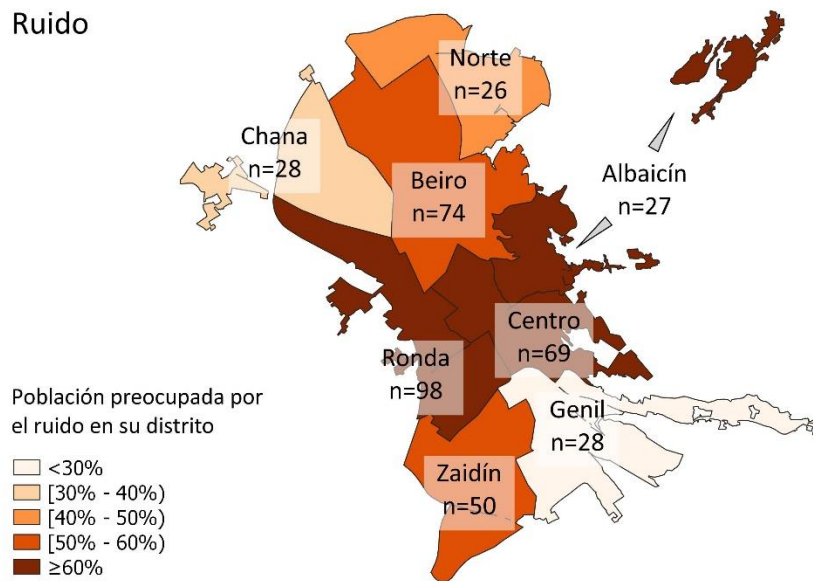
Limpieza



b)

Granada

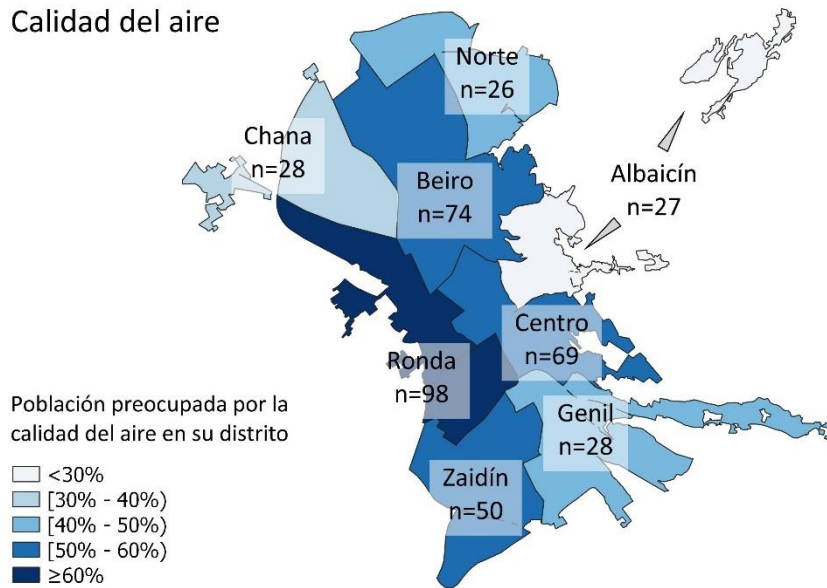
Ruido



c)

Granada

Calidad del aire



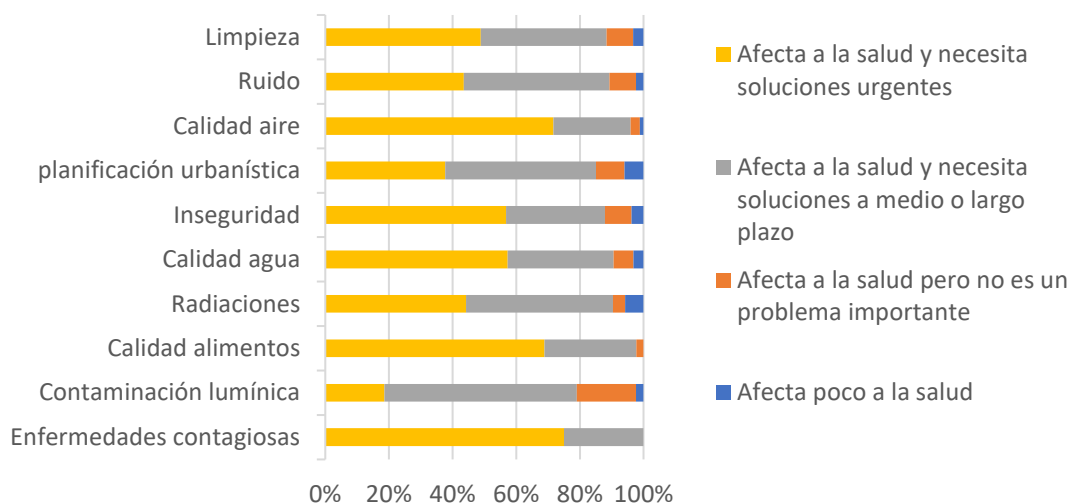
Los mapas de la figura 3 reflejan la distribución por distritos en la ciudad de Granada de la preocupación por los tres problemas principales referidos por los participantes: limpieza, ruido y calidad del aire. La limpieza es un problema para más del 75% de los participantes residentes en los distritos de Chana y Albaicín, pero preocupa a menos del 60% en Beiro. Concretamente, considerando en conjunto los 3 distritos de Granada seleccionados para el estudio (Chana, Norte y Zaidín), la preocupación por la limpieza de las calles es común a un 70.6% de los encuestados. El ruido es una preocupación para más del 60% de los participantes de los distritos de Ronda, Centro y Albaicín, pero si hablamos del distrito de Genil, preocupa a menos del 30%. Por su parte, la calidad del aire es preocupante para más del 60% de los participantes del distrito Ronda, y preocupa a menos del 30% de los participantes que residen en el distrito de Albaicín.

Los participantes residentes en Granada aportaron 125 comentarios en relación con la limpieza, destacando el problema de los excrementos y la basura acumulados en la calle. La limpieza en la ciudad de Melilla recibió 39 comentarios específicos sobre la deficiente recogida de basuras, la escasez de contenedores y los excrementos en las calles. En cuanto a la calidad del agua, 25 comentarios de residentes en Melilla hacen referencia a la mala calidad del agua, su no potabilidad y su mal sabor.

A pesar de que las enfermedades contagiosas eran el problema que menos preocupaba a los encuestados, un 55.3% de los participantes declararon que la pandemia COVID-19 había influido en su preocupación por los problemas anteriormente citados.

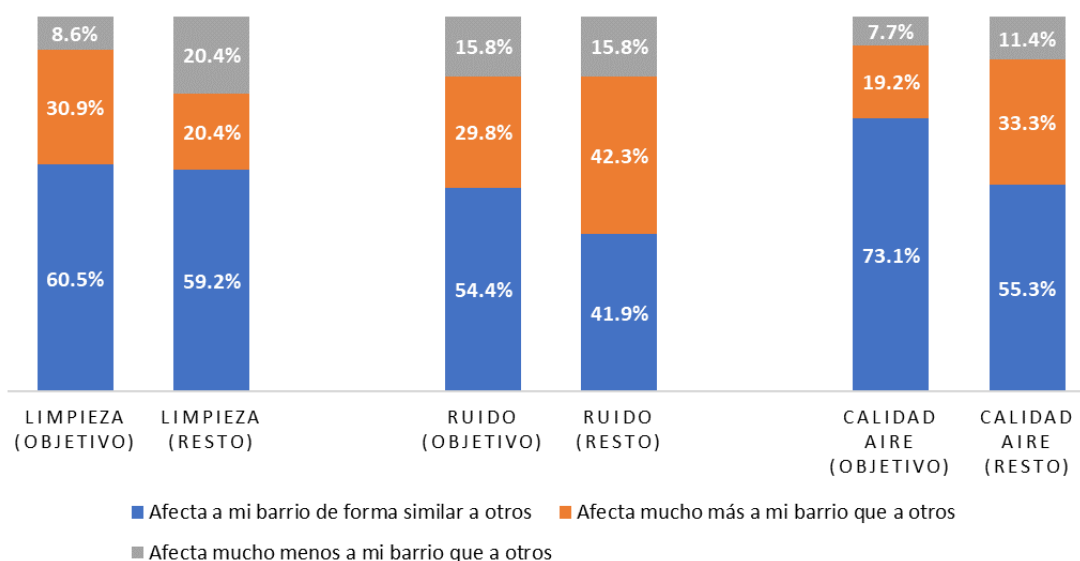
En la figura 4 se muestra la opinión de las personas que seleccionaron los temas de preocupación anteriormente citados en cuanto a su impacto en la salud. En el caso de las enfermedades contagiosas, la calidad del aire y la calidad de los alimentos, dos terceras partes de los participantes afirmaron que afectan a la salud y son necesarias soluciones urgentes. Es importante destacar que ningún participante opinó que la calidad de los alimentos afectara poco a la salud. Es más, menos de un 3% opinaban que, aun afectando a la salud, no era un problema importante, al igual que sucede con la calidad del aire.

Fig.4. Grado de vinculación percibida por los participantes entre los problemas que más preocupan en su barrio y la salud.



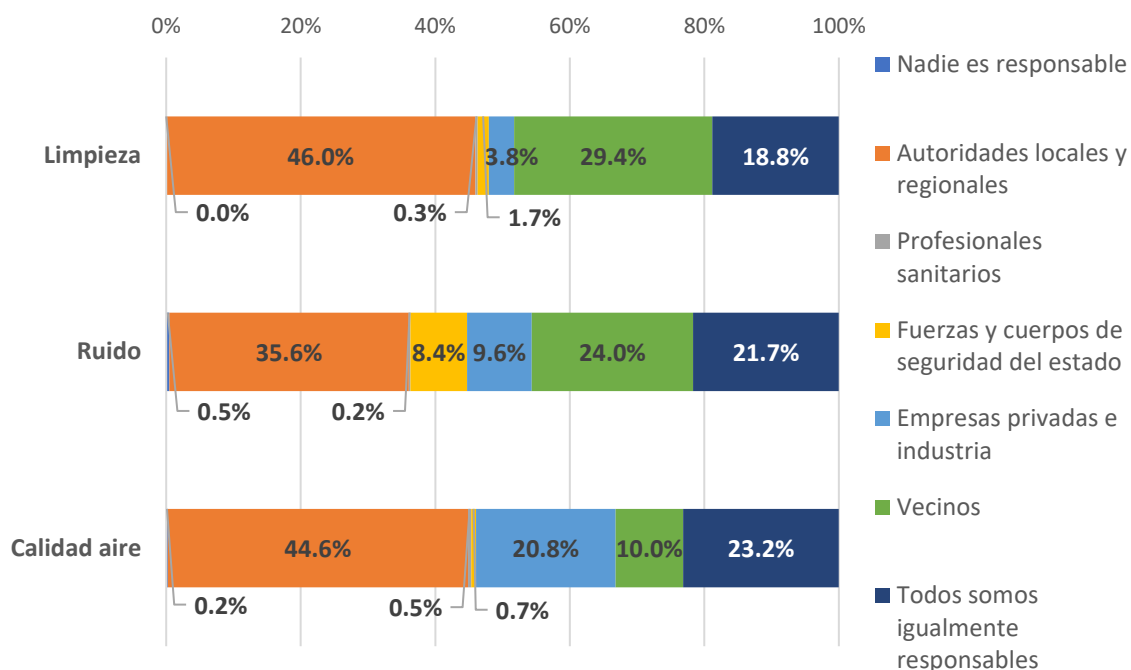
Los encuestados también opinaron sobre cómo se encontraba su barrio en relación a otros barrios de la misma ciudad en los problemas referidos. En la figura 5 es posible apreciar la comparativa entre la percepción de los residentes en los distritos objetivo y el resto de la población de estudio en cuanto a si estos problemas afectan más a sus barrios que al resto de la ciudad. Mientras que en el problema de la limpieza el porcentaje de personas que creían que era más grave en su barrio era superior en los distritos objetivo, sucede lo contrario al hablar de ruido o de calidad del aire, donde un mayor porcentaje de habitantes de estos distritos consideran que son problemas comunes a toda la ciudad.

Fig.5. Forma en que los participantes consideran que se encuentra su barrio en relación a otros de la misma ciudad en los problemas seleccionados. Se comparan las respuestas entre el resultado en los distritos objetivo (Chana, Norte y Zaidín en Granada, y distrito 5 en Melilla) y el resto de los distritos de Granada y Melilla.



Se muestran los tres problemas de mayor importancia según los resultados representados en la figura 2: limpieza, ruido y calidad del aire.

Fig. 6. Respuesta a la pregunta: “Para el problema indicado, ¿quién cree que es el mayor responsable?”.



Se muestran los tres problemas de mayor importancia según los resultados representados en la figura 2: limpieza, ruido y calidad del aire.

Finalmente, se planteó la cuestión de quién consideraban responsable de los problemas señalados. En la figura 6 se muestran las respuestas a esta pregunta, para lo que se ofreció una lista cerrada de opciones, de las que los participantes podían escoger un máximo de dos. En todos los casos la responsabilidad máxima recae sobre las autoridades locales y regionales. También los vecinos tienen una responsabilidad destacada en el caso de la limpieza y el ruido, mientras que, en el asunto de la calidad del aire, las empresas privadas y la industria cuentan con un peso importante. Es de destacar la percepción de corresponsabilidad, dado que un porcentaje entre el 19% y el 23% de los vecinos considera que “Todos somos responsables en igual medida”.

El cuestionario finalizaba dando la oportunidad al participante de proponer medidas para solucionar los problemas que ha indicado que existen en su barrio. 117 personas (20.4%) realizaron comentarios, principalmente en relación con la reducción del tráfico, introducción de autobuses eléctricos, promoción del uso de bicicletas y mejora de la gestión de basuras.

TRABAJO 6 (Objetivo 4)

Contaminantes químicos ambientales y maternidad. El impacto de la información entre profesionales y mujeres embarazadas y lactantes.

Cristina Larrea-Killinger^a, Ruth Echeverría^b, Juan Pedro Arrebola^{b,c,d}

a Universidad de Barcelona. Departamento de Antropología Social, Barcelona, España.

b Universidad de Granada. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Granada, España.

c Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España.

d CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, España.



Informe publicado online por el Observatorio de la Alimentación de la Universidad de Barcelona (2020).

Descargable en:

http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/Informe_encuesta.pdf.

Detalle de la encuesta en el **Anexo 3**.

PRESENTACIÓN

En 2017 el equipo de investigación Toxic Body de la Asociación Observatorio de la Alimentación (ODELA) de la Universidad de Barcelona elaboró la guía **Contaminantes químicos ambientales en los alimentos** dirigida a mujeres embarazadas y lactantes, y profesionales de la salud relacionados con la maternidad. El contenido de esta guía abordaba la contaminación ambiental desde uno de los aspectos que más interesa a estos colectivos, la alimentación, con el claro fin de proporcionar una información básica que pudiera contribuir a la mejora de la salud de madre y bebé en etapas tan cruciales como el embarazo y la lactancia.

Tres años después, en 2020, se ha decidido dar un nuevo impulso a la guía actualizándola y añadiendo contenidos, contando con las opiniones y sugerencias de quienes la han leído y utilizado en este periodo. Para ello, se lanzó un breve cuestionario en el último trimestre de 2020, cuyos resultados se han recogido en este informe. Sus conclusiones han proporcionado datos muy interesantes, no sólo sobre el interés que esta materia despierta en la población a quien va dirigida la guía, sino también acerca de la poca información que reciben y los medios por los que se transmite.

La segunda edición de la guía, de título **Contaminantes químicos ambientales en el día a día**, puede descargarse de forma gratuita en los enlaces: http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/ES_guia_emba.pdf (castellano) y http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/CAT_guia_emba.pdf (catalán).

ODELA (<http://www.ub.edu/odela/>) es un grupo de investigación consolidado y vinculado al Departamento de Antropología Social de la Universidad de Barcelona interesado en la gestión del conocimiento sobre la alimentación y la salud. **Toxic Body** es una línea de investigación interdisciplinar dedicada al estudio de la percepción social del riesgo y los peligros de la contaminación por Compuestos Tóxicos Persistentes y centrada en el análisis de las relaciones entre corporalidad, salud y alimentación.

Autores:

Cristina Larrea Killinger, profesora titular de Antropología Social de la Universidad de Barcelona, Departamento de Antropología Social. Coordinadora del Observatorio de la Alimentación y Toxic Body.

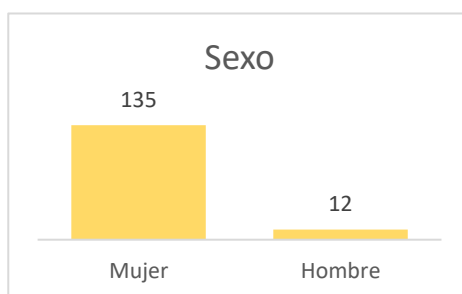
Ruth Echeverría Orellana, doctoranda en Medicina Clínica y Salud Pública de la Universidad de Granada.

Juan Pedro Arrebola Moreno, investigador del programa Ramón y Cajal de la Universidad de Granada y del Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA).

PARTICIPANTES

El cuestionario fue distribuido entre profesionales y mujeres embarazadas y lactantes a través de los centros sanitarios que habían participado directamente en la difusión de la guía *Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos* en 2017. De forma adicional, se contó con la colaboración de distintas sociedades médicas y asociaciones de embarazadas y lactantes, quienes compartieron la información con sus miembros y simpatizantes a través de correo electrónico y redes sociales.

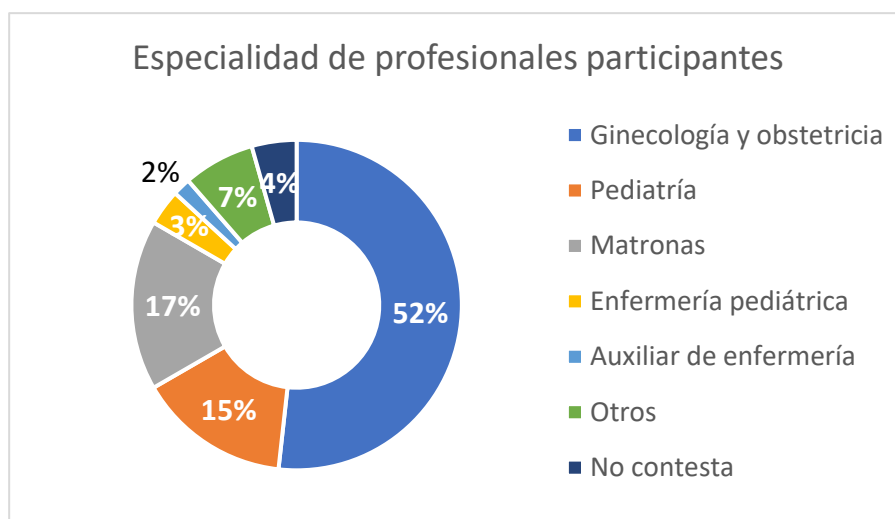
Al final del periodo de 50 días en que la encuesta permaneció abierta, se obtuvieron 183 respuestas, de las que 151 se consideraron válidas. La edad media de las personas encuestadas fue de 41 años. El 89% eran mujeres frente a un 8% de hombres, mientras que un 3% prefirió no indicar su sexo.



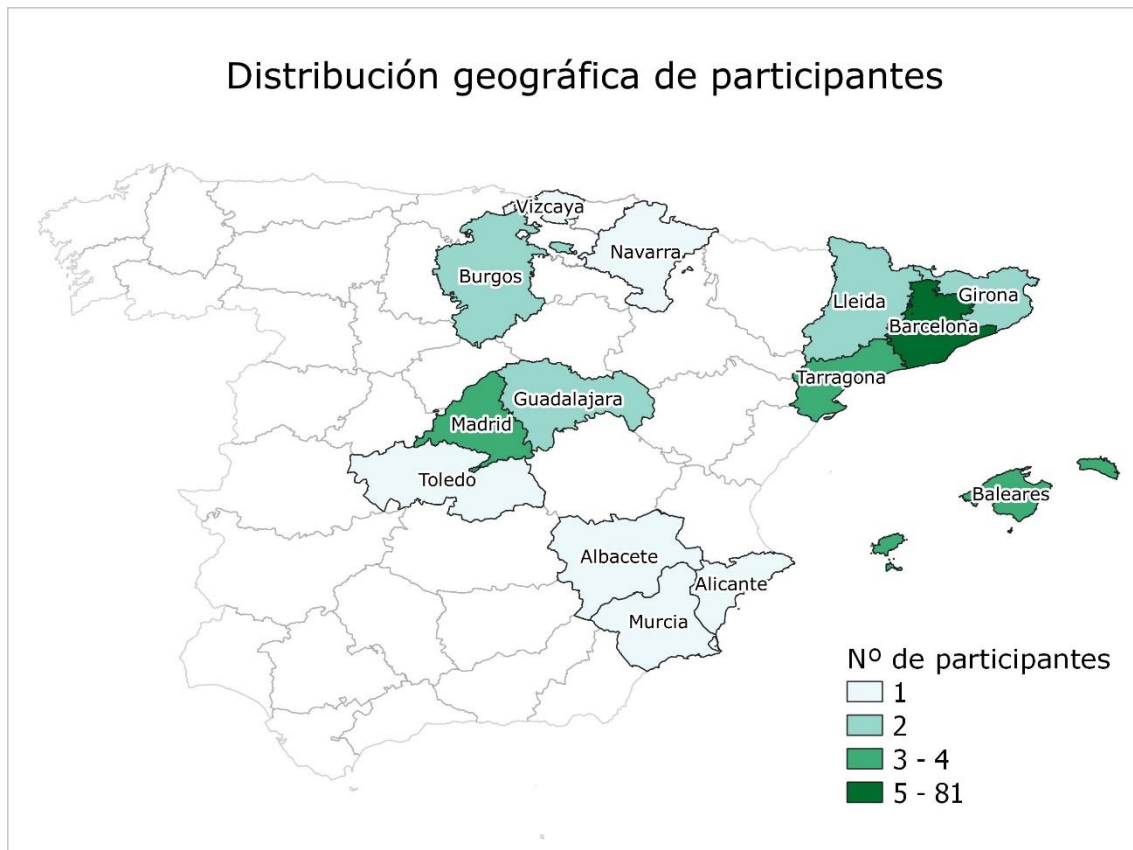
114 profesionales del ámbito hospitalario y de atención primaria respondieron la encuesta. Entre ellos, un 86% eran mujeres, 11% eran hombres y un 4% no indicó su sexo.

El 89% de los participantes eran mujeres. Entre los profesionales de la salud, las mujeres participantes supusieron un 86%.

En cuanto a los profesionales, más de la mitad de las personas encuestadas pertenecían a la especialidad de Ginecología y Obstetricia, un 17% eran matronas y un 15% pediatras.

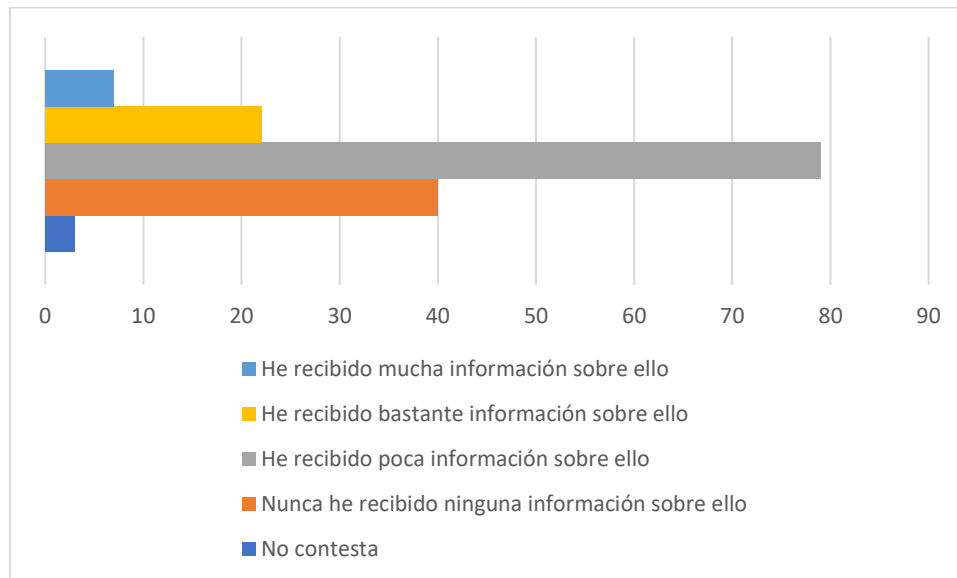


Más de la mitad de quienes participaron en la encuesta residían en la provincia de Barcelona (54%), lugar en que se distribuyó principalmente la guía *Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos*. No obstante, también se recibieron algunas respuestas de otras provincias catalanas, así como de la Comunidad de Madrid, Baleares, Burgos, Guadalajara y otras, aunque en inferior número.



INFORMACIÓN SOBRE CONTAMINANTES AMBIENTALES Y SALUD

“¿Ha recibido alguna vez información sobre contaminantes ambientales y salud en relación con embarazo y lactancia?”



Un 22% de los/las profesionales de la salud que participaron en la encuesta declaró no haber recibido nunca ninguna información sobre contaminantes ambientales en relación con el embarazo y la lactancia.

El 36% de las personas que han recibido alguna información sobre el problema lo ha hecho a través de profesionales de la sanidad. Un 26% llega a dicha información buscando en internet y un 24% lo hace a través de los medios de comunicación.

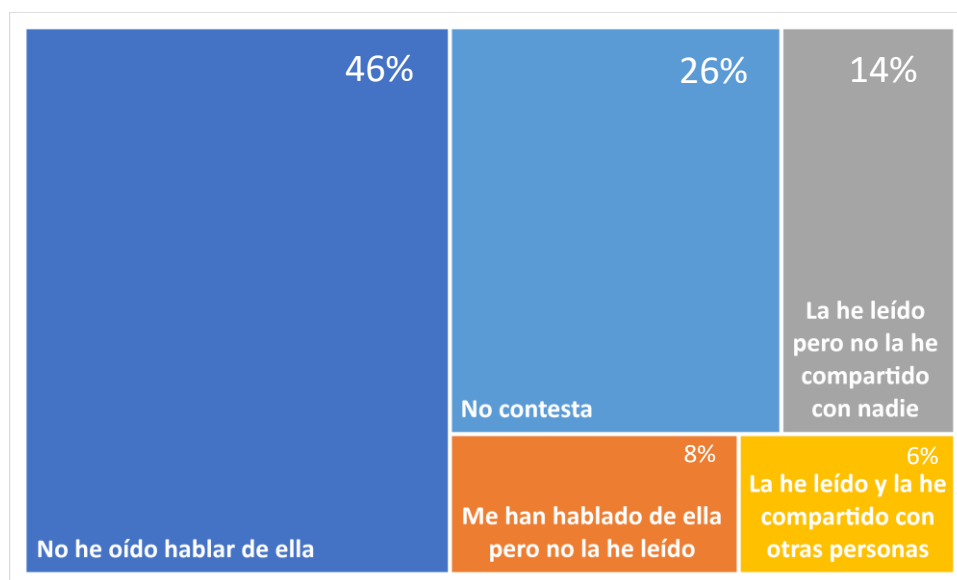
La forma en que se ha recibido esta información es mayoritariamente como artículos científicos (26%), pero también como publicaciones en redes sociales (21%).

El 79% de las personas encuestadas afirma haber recibido poca o ninguna información sobre contaminantes ambientales en relación con embarazo y lactancia.

El 66% cree que el sistema sanitario debería ofrecer más información sobre el problema.

IMPACTO DE LA GUÍA "CONTAMINANTES QUÍMICOS AMBIENTALES PRESENTES EN LOS ALIMENTOS"

"¿Conoce la guía *Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos* para mujeres embarazadas y lactantes?"



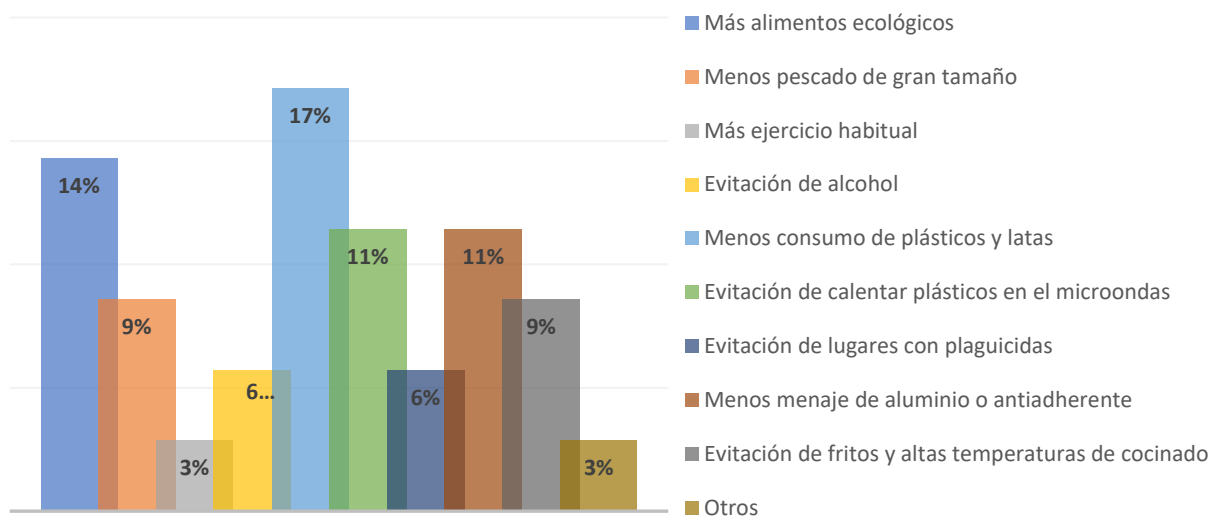
Un 20% de las personas encuestadas habían leído la guía *Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos* para mujeres embarazadas y lactantes. De ellos, un 70% eran profesionales de la salud, principalmente de las especialidades médicas de Ginecología y Obstetricia y Pediatría.

El 23% de quienes leyeron la guía se vieron impulsados/as a cambiar sus hábitos tras hacerlo, especialmente reduciendo el uso de plásticos y latas, y aumentando el consumo de alimentos ecológicos.

Entre los profesionales de la salud que leyeron la guía, un 14% continúa utilizándola en su consulta hasta el momento. Sin embargo, un 27% no transmitió la información contenida en la guía a sus pacientes ni a compañeros/as de profesión.

Los puntos considerados más interesantes entre quienes leyeron la guía fueron la descripción de los productos en que se encuentran los contaminantes y las formas de reducir la exposición.

“¿Qué cambios realizó en sus hábitos como consecuencia de haber leído la guía?”



El 53% de quienes leyeron la guía consideraron que la información contenida en la misma era correcta y que su diseño y formato facilitaban su comprensión.

“ Tenemos que tener información disponible para poder valorar qué productos escogemos.”

“ De la salud de la embarazada depende la salud de la especie en el futuro.”

“ Sería imprescindible que la información llegase a los profesionales sanitarios que atienden a estas mujeres con el fin de mejorar su estado de salud previo al embarazo y prevenir la aparición de enfermedades asociadas en los recién nacidos.”

CONCLUSIONES

El problema de los contaminantes químicos ambientales en relación con el embarazo y la lactancia despierta un **interés más amplio entre las mujeres** que entre los hombres, también en el ámbito profesional.

En general, **la población recibe poca o ninguna información** sobre esta cuestión, inclusive entre profesionales de la salud.

La información proporcionada por profesionales de la salud sigue siendo esencial en esta materia, pero **internet y las redes sociales** se han convertido en fuentes de importancia cada vez más relevante.

La guía *Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos* para mujeres embarazadas y lactantes publicada en 2017 tuvo impacto en quienes la leyeron, provocando **cambios en los hábitos de vida** de un número significativo de estas personas.

El formato y diseño de la guía *Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos* para mujeres embarazadas y lactantes ha facilitado que esta información llegue al público objetivo y varios años tras su distribución **sigue siendo utilizada por profesionales de la salud**.

Profesionales de la salud y mujeres embarazadas y lactantes demandan **más información sobre el problema de los contaminantes ambientales en la maternidad**.

Informe elaborado por la Asociación Observatorio de la Alimentación (ODELA) de la Universidad de Barcelona, con el apoyo del Ajuntament de Barcelona, la Universidad de Granada y CIBER de Epidemiología y Salud Pública.

Diciembre de 2020.



Ajuntament
de Barcelona



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

TRABAJO 7 (Objetivo 5)

Contaminantes químicos ambientales presentes en el día a día. Guía de recomendaciones para mujeres embarazadas y lactantes.

Juan Pedro Arrebola^{a,b,c}, Ruth Echeverría^a, Cristina Larrea-Killinger^d

a Universidad de Granada. Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública, Granada, España.

b Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, España.

c CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, España.

d Universidad de Barcelona. Departamento de Antropología Social, Barcelona, España.

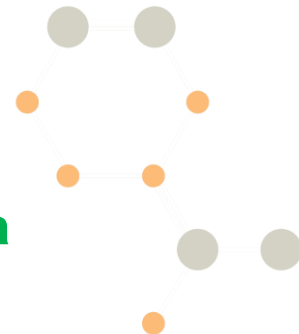


Publicado online por el Observatorio de la Alimentación de la Universidad de Barcelona (2020).

Descargable en:

http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/ES_guia_emba.pdf

Contaminantes químicos ambientales presentes en el día a día



¿Qué son?

Son **sustancias químicas artificiales que pueden causar daños al medioambiente y a las personas**. Muchas son de origen artificial, aunque algunas están presentes de forma natural en el entorno. La Agencia de Protección Medioambiental Europea estima que actualmente convivimos con más de 120.000 sustancias químicas artificiales, aunque no todas son nocivas.

¿Para qué se usan?

Hay muchos tipos de contaminantes y gran parte de ellos están presentes en actividades, alimentos y objetos de uso cotidiano, como **plaguicidas** (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides), **contaminación procedente de los humos** (NO_x, CO, partículas), **compuestos químicos de origen industrial** (bifenilos policlorados, metales tóxicos), **humo y alimentos ahumados o a la brasa** (hidrocarburos aromáticos policíclicos), **botellas y envases alimentarios de plástico** (ftalatos, bisfenoles), **revestimientos de latas de conserva** (bisfenoles), **sustancias retardantes de llama usadas en equipos eléctricos o ropa para evitar incendios** (bifenilos polibromados), **antiadherentes en utensilios de cocina** (compuestos perfluorados), **conservantes en cosméticos** (parabenos), **desinfectantes en productos de higiene** (triclosán), o incluso **tejidos sintéticos y tintes** (ftalatos, metales).

Las sustancias más preocupantes están recogidas en una lista elaborada por la Agencia Europea de Sustancias Químicas (ver bibliografía), que incluye 205 compuestos considerados o sospechosos de ser carcinógenos, mutagénicos y reprotóxicos (CMR); persistentes, bioacumulables y tóxicos (CBT); o muy persistentes y muy bioacumulables (vPvB). Requieren autorización para permanecer en el mercado hasta que puedan ser sustituidos por otros menos nocivos.

¿Cómo pueden llegar a las personas?

Se ha demostrado que estas sustancias pueden liberarse al medioambiente, tanto por su aplicación voluntaria (plaguicidas) como involuntaria (migración desde los envases o utensilios de plástico a la comida). Hay muchas formas en las que estos contaminantes pueden llegar a nosotros. Una vez en el medioambiente, muchas de estas sustancias se pueden acumular en los alimentos, incluso en zonas muy lejanas a su lugar de origen, ya que pueden viajar por las corrientes de aire y las aguas, y pasar a la cadena alimentaria. También pueden llegar a través del tratamiento de la comida, su almacenaje, su distribución y la forma en que la cocinamos. De hecho, se considera que **los alimentos, sobre todo los de origen animal y con mucha grasa, son la principal vía de exposición a muchos contaminantes** para la mayor parte de la población española.



Algunos contaminantes están prohibidos desde hace décadas, pero son muy resistentes a la degradación y continúan presentes en los alimentos. Por ejemplo, se ha demostrado que todas las personas tenemos en nuestro organismo compuestos relacionados con el plaguicida DDT (prohibido en España en los años 70). Además, otros siguen usándose en la actualidad, como el bisfenol A o los retardantes de llama, de manera que más del 90% de las personas los tienen en su sangre.

La placenta constituye una barrera defensiva para el feto pero, desgraciadamente, muchos compuestos químicos pueden traspasarla. De hecho, **diversos estudios científicos han demostrado una presencia frecuente de contaminantes como plaguicidas, bisfenoles o PCBs en placentas humanas.** Por otro lado, la leche materna, a pesar de ser un alimento muy importante para el bebé, puede ser una fuente de exposición para el lactante, ya que acumula también contaminantes lipofílicos.



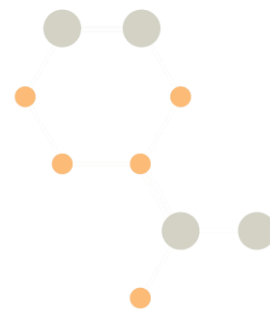
¿Pueden ser peligrosos estos contaminantes para mi bebé?

Es indudable que muchos compuestos químicos han contribuido a curar enfermedades y a mejorar la calidad de vida de las personas. Por ejemplo, gracias a algunos plaguicidas se ha conseguido erradicar ciertas enfermedades y los retardantes de llama han aumentado considerablemente la seguridad en los hogares. Sin embargo, cada vez existen más evidencias científicas de que **la exposición a algunas sustancias químicas podría estar contribuyendo al incremento del riesgo de padecer ciertas enfermedades a largo plazo**, como la diabetes o el cáncer, ya que pueden interactuar con el sistema hormonal o los mecanismos de defensa del organismo.

Aunque la exposición a contaminantes puede ser peligrosa para cualquier persona, **el embarazo, la lactancia y la infancia son etapas muy críticas en el desarrollo de un ser humano**. Durante estos períodos tienen lugar procesos que son cruciales para la maduración del ser humano y, por tanto, cualquier interferencia con ellos podría tener consecuencias muy importantes para la salud. Además, los bebés comen mucha más cantidad de alimento que un adulto en relación a su peso corporal, por lo que su exposición es aún mayor.

Se ha demostrado que algunos contaminantes pueden interactuar con estos procesos. Según un informe publicado en 2015 por la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia y la Endocrine Society, **la exposición a contaminantes antes o durante el embarazo (incluso a dosis muy bajas), puede afectar la salud del bebé a largo plazo** y causar, entre otros, problemas reproductivos, abortos espontáneos, problemas de crecimiento y bajo peso al nacer, malformaciones congénitas, problemas cognitivos, hiperactividad, diabetes, problemas relacionados con las hormonas tiroideas o riesgo elevado de ciertos cánceres.

Además, estudios de laboratorio han demostrado que estos contaminantes pueden potenciarse entre sí, de manera que, **aunque estemos expuestos a dosis muy bajas, el efecto conjunto es aún mayor**. Por lo tanto, es muy difícil establecer niveles de exposición completamente seguros.



¿Cómo podemos evitar la exposición?

Los contaminantes químicos ambientales están presentes en nuestro día a día y, por tanto, es inevitable estar expuesto a un buen número de ellos. La clave está en ser conscientes de las fuentes de exposición y evitarlas en la medida de lo posible. Se ha demostrado que podemos disminuir la exposición considerablemente llevando un estilo de vida saludable y adoptando ciertos cambios en los hábitos de alimentación y consumo.

Durante el embarazo y la lactancia estos cambios y estilos de vida son especialmente importantes para el desarrollo del bebé y su futuro.

Recomendaciones durante el embarazo y la lactancia

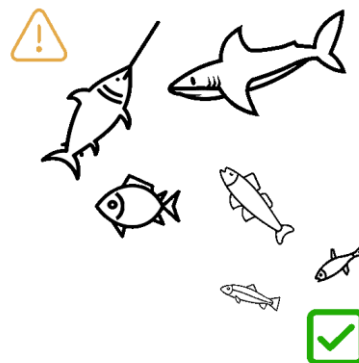
- **Es recomendable la lactancia materna.** Aunque ciertos contaminantes estén presentes en la leche materna, el Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría la recomienda como opción más saludable para el bebé, ya que sus beneficios superan al riesgo de los contaminantes. Lo que sí aconsejamos a las madres es limitar al máximo su exposición y, por tanto, la de sus bebés.
- **Incrementar el consumo de alimentos frescos** (no procesados) y reducir el consumo de grasas, sobre todo las de origen animal, ya que estos últimos acumulan mayores niveles de contaminantes.





- Incrementar, en la medida de lo posible, **el consumo de alimentos ecológicos** (con el sello de producción ecológica), ya que tienen propiedades nutricionales similares, pero una menor presencia de compuestos químicos de riesgo como plaguicidas, antibióticos y aditivos artificiales. Se recomienda también el consumo de alimentos de proximidad y de temporada, ya que han sufrido menos procesos para conservarlos. Hay que tener cuidado a la hora de identificar el origen en la etiqueta del alimento, que en muchos casos es diferente al lugar de envasado. Cualquier fruta u hortaliza debe ser lavada y, si es posible, pelada cuidadosamente antes de su consumo, para eliminar posibles residuos de plaguicidas en la superficie.

- Según la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición es recomendable **evitar el consumo de pescados de gran tamaño durante el embarazo, lactancia e infancia hasta los 10 años** como, por ejemplo, el pez espada o emperador, tiburón, atún rojo y lucio. Estos peces pueden acumular niveles muy elevados de contaminantes persistentes como mercurio y PCBs. Sin embargo, el pescado es rico en ácidos grasos omega-3 y otras sustancias muy beneficiosas para la madre y el bebé. Por tanto, el Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría recomienda el consumo de pescados más pequeños, que suelen acumular menos cantidad de tóxicos, como la sardina, la dorada o el boquerón.



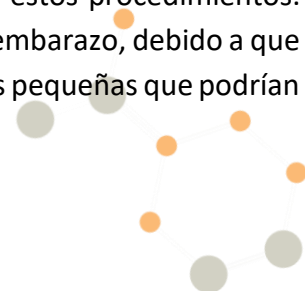
- **Limitar, en la medida de lo posible, el uso de envases de plástico para almacenar alimentos y bebidas, así como latas de conserva,** que pueden contener bisfenoles y ftalatos. Se ha demostrado que estas sustancias pueden



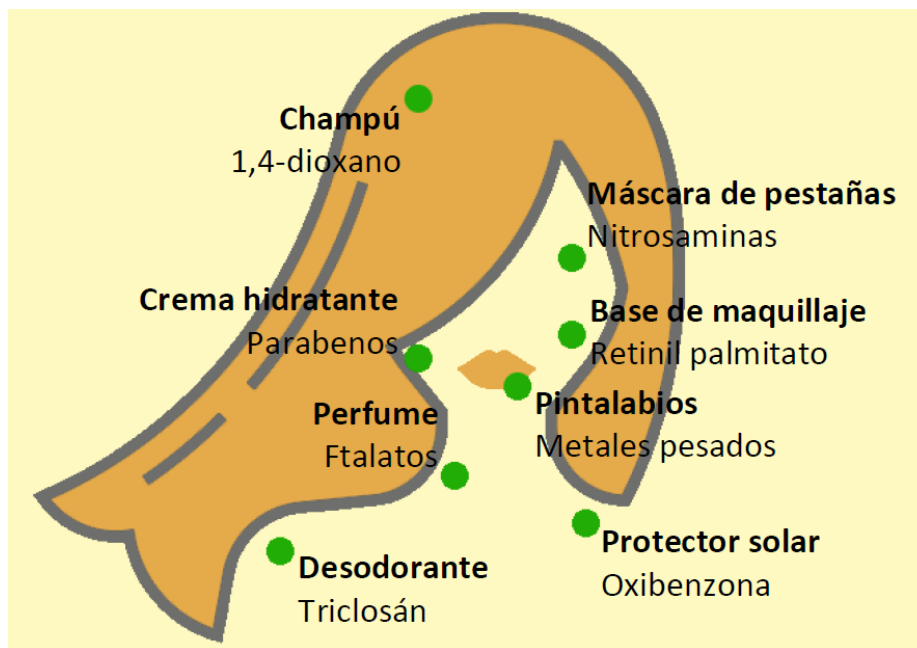
pasar a los alimentos contenidos en los envases, especialmente cuando los alimentos son ácidos, tienen grasa y en condiciones de calor, por lo que es muy importante no calentarlos ni exponerlos al sol. Existen investigaciones que demuestran cómo una reducción en el uso de envases de plástico produce un notable descenso de bisfenoles y ftalatos en la sangre.

- **Beber agua del grifo cuando sea de buena calidad,** y si no es así recurrir a agua filtrada o embotellada en vidrio. El agua potable, incluso siendo apta para el consumo humano, puede contener restos de plaguicidas, metales, fármacos, contaminantes biológicos y otras sustancias que ingeridas día tras días pueden ocasionar problemas de salud a largo plazo.
- **Evitar el alcohol durante el embarazo y la lactancia,** ya que produce (entre otros) trastornos neurológicos y del sueño en el bebé. Según la Sociedad Española de Pediatría, si la madre lactante toma una bebida alcohólica (copa de cerveza o vino) debe esperar un mínimo de 2-3 horas para lactar. Si la cantidad es mayor, podría requerir esperar hasta 24 horas.
- **Elegir preferiblemente tejidos no sintéticos y poco tratados, como por ejemplo, de algodón o lino.** Los tintes a menudo contienen metales tóxicos, a lo que se añaden otras sustancias en su fabricación, tales como formaldehído, ftalatos, hidrocarburos aromáticos policíclicos o acrilaminas, capaces de ocasionar daños para la reproducción y alergias.

- **Intentar limitar el uso de recipientes y utensilios de cocina de aluminio y con recubrimiento antiadherente** (por ejemplo, el comúnmente conocido como teflón), ya que estos materiales pueden transmitirse poco a poco a los alimentos. Otras alternativas más seguras son el acero inoxidable, hierro o barro para ollas y sartenes, así como madera o silicona de alta calidad para los cubiertos en contacto con las sartenes.
- **No cocinar los alimentos a temperaturas muy altas y limitar el consumo de alimentos fritos y ahumados.** Estos procesos hacen que se pierdan ciertas propiedades beneficiosas de los alimentos y, además, producen compuestos químicos nocivos para la salud, como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, sospechosos de causar cáncer.
- **Evitar la obesidad**, tanto en la madre como en el bebé, ya que en la grasa corporal se acumulan gran cantidad de contaminantes tóxicos que pueden ser liberados al organismo. Por esta misma razón, se recomienda no tener pérdidas de peso muy grandes durante la lactancia, que ayudan a la liberación de los contaminantes. Se recomienda también llevar un estilo de vida saludable y realizar ejercicio físico de forma regular, siempre dentro de las posibilidades de cada persona.
- **Evitar lugares donde se hayan aplicado plaguicidas** u otros compuestos químicos recientemente. Tomar precauciones para el empleo de productos de limpieza en el hogar, evitando el contacto con la piel y la inhalación, y ventilando adecuadamente durante y después de su aplicación.
- **Evitar los tatuajes o el maquillaje permanente**, ya que sus tintas pueden contener sustancias peligrosas que podrían provocar cáncer, mutaciones genéticas, alergias u otros efectos adversos. Algunas de estas sustancias ya están prohibidas en cosméticos, pero se siguen empleando en estos procedimientos. Tampoco es aconsejable eliminar los tatuajes durante el embarazo, debido a que en el proceso se descomponen las sustancias en otras más pequeñas que podrían circular libremente por el organismo.



- **Utilizar cosméticos y productos de higiene personal libres de sustancias como parabenos, metales tóxicos, benzofenonas, nitrosaminas y fragancias, consultando las etiquetas cuidadosamente.** Algunos de los compuestos empleados en cosmética suponen un riesgo para la salud de la madre y del bebé, dado que se absorben fácilmente a través de la piel y mucosas y suelen emplearse a diario.



Algunas sustancias a evitar en cosméticos

Nombre	Usos	Posibles efectos
Formaldehído	Conservante	Problemas reproductivos y del desarrollo, alergia, asma, cáncer
Ftalatos	Fragancias	Alteración endocrina, daño al sistema reproductor, alergia, asma
Mercurio, plomo y otros metales tóxicos	Colorantes, conservantes	Daño a los sistemas nervioso y reproductor, alteración endocrina, daño renal, alergia, cáncer
Parabenos	Conservantes	Alteración endocrina y daño al sistema reproductor
PFAS (PTFE, PFH, OFPMA, PFD...)	Surfactantes, facilitan absorción por la piel	Problemas reproductivos y del desarrollo, daño renal y hepático, problemas inmunológicos, cáncer
Triclosán	Bactericida y fungicida	Problemas reproductivos, alteración endocrina, alergia
BHA y BHT	Conservantes	Problemas reproductivos y del desarrollo, alteración endocrina, cáncer
Oxibenzona	Filtro UV	Alteración endocrina, alergia

- **Si va a someterse a una prueba diagnóstica o tratamiento médico, odontológico, fisioterapéutico, etc., debe informar siempre al profesional sanitario de que está embarazada** con el fin de reducir a lo estrictamente necesario la exposición a radiaciones y sustancias químicas de riesgo. Se recomienda la revisión odontológica una vez por trimestre durante el embarazo y, en caso de requerir empastes o implantes, asegurarse de que se realizan con productos libres de bisfenol A y metales tóxicos, limitando el uso de anestesia si fuera posible. Consulte con su médico u odontólogo la opción de esperar a realizar algunos tratamientos una vez finalizado el periodo de embarazo y lactancia.
- **Infórmese sobre posibles sustancias nocivas en su entorno laboral.** El desempeño de algunas profesiones puede suponer un riesgo adicional, por lo que es conveniente consultar en su empresa las medidas a adoptar durante embarazo y lactancia.

Recomendaciones finales

La Unión Europea cuenta con una de las legislaciones más avanzadas en la regulación de sustancias químicas y por ese motivo se recomienda adquirir cosméticos, alimentos y utensilios de cocina que cuenten con el sello de autorización correspondiente.

Sin embargo, continuamente se producen avances científicos en la materia y se descubren efectos nocivos en sustancias que en principio parecían inocuas. Existen multitud de ejemplos en la historia, como es el caso del DDT, el tabaco o fármacos como el dietilestilbestrol. Por lo tanto, ante la duda, debemos aplicar el **Principio de Precaución**, recogido en el Tratado de Funcionamiento de la Unión Europea, que recomienda tomar medidas preventivas ante la incertidumbre, sin esperar a que se produzca un efecto adverso. Por tanto, no podemos asumir que todos los productos que están autorizados en el mercado europeo son totalmente seguros y debemos consumirlos con precaución. De hecho, la Federación Internacional de Ginecología y Obstetricia publicó un informe en el que enfatizaba la necesidad de educar a las madres en cómo evitar sustancias químicas tóxicas presentes en el ambiente, ya que tienen un papel fundamental a la hora de minimizar la exposición de sus bebés durante embarazo y lactancia.

En cualquier caso, estas recomendaciones nunca deben entrar en conflicto con las de su médico. Ante cualquier duda, es fundamental seguir las indicaciones del personal sanitario de su centro de referencia, que podrá aconsejarle de forma personalizada.

¿Quiénes somos?

Somos un grupo de científicos procedentes de diversas universidades, hospitales y centros de investigación de España, comprometidos con la protección del medioambiente y la salud de las personas.

Formamos una línea de investigación interdisciplinar con diez años de experiencia integrada en el Observatorio de la Alimentación (ODELA) (<http://www.ub.edu/odela/>) del Departamento de Antropología Social de la Universidad de Barcelona, conocida como Toxic Body (<http://www.ub.edu/toxicbody/>). Contacte con nosotros a través de nuestra página web, redes sociales (@SapyamGI), o por email a toxicbodyctp@gmail.com.

Autores de la guía

Juan Pedro Arrebola Moreno, investigador del programa Ramón y Cajal de la Universidad de Granada y del Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA).

Ruth Echeverría Orellana, doctoranda en Medicina Clínica y Salud Pública de la Universidad de Granada.

Cristina Larrea Killinger, profesora titular de Antropología Social de la Universidad de Barcelona, Departamento de Antropología Social. Coordinadora del Observatorio de la Alimentación y Toxic Body.

Con la colaboración de:

Arantza Beguería, investigadora independiente.

Lina Casadó, profesora agregada de Enfermería de la Universitat Rovira i Virgili.

Miguel Company, enfermero del Servicio Andaluz de Salud y profesor asociado en Ciencias de la Salud de la Universidad de Almería.

Montse Fàbregas, doctora en Enfermería y Jefa de Enfermería de neonatos del Hospital del Mar de Barcelona.

Mariana Fátima Fernández Cabrera, catedrática del Departamento de Radiología y Medicina Física en la Universidad de Granada, Instituto de Investigación Biomédica de Granada ibs.GRANADA.

Silvia Ferrero, ginecóloga del Hospital de Sant Joan de Déu de Barcelona.

Andrés Fontalba, subdirector médico, Área Sanitaria Norte Málaga, SAS en Junta de Andalucía y profesor asociado de la Universidad de Málaga.

Óscar García Algar, director del servicio de Neonatología del Hospital Clínico-Maternidad, ICGON, IDIBAPS, BCNatal. Coordinador del Grupo de investigación Infancia y Entorno (GRIE). Profesor asociado de Pediatría de la Universidad Autónoma de Barcelona.

Alberto García Garrido, odontólogo ambiental, implantólogo y endodoncista.

Esther Herrera, estudiante de la Universidad Pablo Olavide de Sevilla.

Jaume Mascaró, profesor jubilado de Filosofía de la Universidad de Barcelona.

Jaime Mendiola Olivares, Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia (FFIS), Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB-Arrixaca), Universidad de Murcia.

Araceli Muñoz García, profesora lectora de la Escuela de Trabajo Social de la Universidad de Barcelona.

Nicolás Olea, catedrático de Radiología en la Universidad de Granada y Director Científico del Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada (ibs.GRANADA). Coordinador de Investigación del Hospital Clínico de Granada.

María Clara Prata Gaspar, profesora asociada de Antropología de la Alimentación de la Universidad de Barcelona.

Eva Zafra, profesora agregada de Antropología Social de la Universitat Rovira i Virgili.

Para saber más...

Bibliografía importante

Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN). Recomendaciones de consumo de pescado por presencia de mercurio. (http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/publicaciones/seguridad_alimentaria/RECOMENDACIONES_consumo_pescado_MERCURIO_AESAN_WEB.PDF).

Bommarito, P. A., Martin, E., & Fry, R. C. (2017). Effects of prenatal exposure to endocrine disruptors and toxic metals on the fetal epigenome. *Epigenomics*, 9(3), 333–350. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0112>

Bowman, J. D., & Choudhury, M. (2016). Phthalates in neonatal health: friend or foe?. *Journal of developmental origins of health and disease*, 7(6), 652–664. <https://doi.org/10.1017/S2040174416000349>

Comité de Lactancia Materna de la Asociación Española de Pediatría. (2011). Recomendaciones para reducir la exposición a contaminantes ambientales en las madres lactantes. (<http://www.aeped.es/comite-lactancia-materna/documentos/recomendaciones-reducir-exposicion-contaminantes-ambientales-en->)

Di Renzo, G. C., Conry, J. A., Blake, J., DeFrancesco, M. S., DeNicola, N., Martin, J. N., Jr, McCue, K. A., Richmond, D., Shah, A., Sutton, P., Woodruff, T. J., van der Poel, S. Z., & Giudice, L. C. (2015). International Federation of Gynecology and Obstetrics opinion on reproductive health impacts of exposure to toxic environmental chemicals. *International journal of gynaecology and obstetrics: the official organ of the International Federation of Gynaecology and Obstetrics*, 131(3), 219–225. <https://doi.org/10.1016/j.ijgo.2015.09.002>

Díaz-Gómez, N. M., Ares, S., Hernández-Aguilar, M. T., Ortega-García, J. A., Paricio-Talayero, J. M., & Landa-Rivera, L. (2013). Contaminantes químicos y lactancia materna: tomando posiciones. In *Anales de Pediatría* (Vol. 79, No. 6, pp. 391-e1). Elsevier Doyma. <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2013.04.004>.

European Chemicals Agency. Lista de sustancias extremadamente preocupantes en proceso de autorización. <https://echa.europa.eu/es/candidate-list-table>

García, K., Hernández, K. y Romano, D. (2020) Directo a tus hormonas. Guía de alimentos disruptores. Residuos de plaguicidas con capacidad de alterar el sistema endocrino en los alimentos españoles. *Ecologistas en acción*.

(<https://www.ecologistasenaccion.org/147676/informe-directo-a-tus-hormonas-2020/>)

Muscogiuri, G., Barrea, L., Laudisio, D., Savastano, S., & Colao, A. (2017). Obesogenic endocrine disruptors and obesity: myths and truths. *Archives of Toxicology*, 91(11), 3469-3475. <https://doi.org/10.1007/s00204-017-2071-1>.

Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente y Organización Mundial de la Salud. (2012). State of the Science of Endocrine Disrupting Chemicals – 2012.

(<http://www.who.int/ceh/publications/endocrine/en/#>).

Rodgers, K. M., Udesky, J. O., Rudel, R. A., & Brody, J. G. (2018). Environmental chemicals and breast cancer: an updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. *Environmental research*, 160, 152-182.

<https://doi.org/10.1016/j.envres.2017.08.045>.

Romano, D. (2012) Disruptores endocrinos Nuevas respuestas para nuevos retos. Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud (ISTAS)

(<https://www.ccoo.es/Off7ce6aa8b7db23be48945a66d31d6000001.pdf>)

Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Chemical Exposures During Pregnancy: Dealing with Potential, but Unproven, Risks to Child Health. Scientific Impact Paper No. 37.

(<https://www.rcog.org.uk/en/guidelines-research-services/guidelines/sip37/>)

Secretaría de Salud Laboral, CCOO Castilla y León. (2009). Guía sobre riesgos laborales durante el embarazo.

(<http://istas.net/descargas/Guia%20sobre%20RRL%20durante%20el%20embarazo.pdf>)

Sifakis, S., Androutopoulos, V. P., Tsatsakis, A. M., & Spandidos, D. A. (2017). Human exposure to endocrine disrupting chemicals: effects on the male and female reproductive systems. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 51, 56-70.

<https://doi.org/10.1016/j.etap.2017.02.024>.

Tanner, E. M., Hallerbäck, M. U., Wikström, S., Lindh, C., Kiviranta, H., Gennings, C., & Bornehag, C. G. (2020). Early prenatal exposure to suspected endocrine disruptor mixtures is associated with lower IQ at age seven. *Environment International*, 134, 105185.

<https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105185>

**“Contaminantes químicos ambientales presentes en el día a día.
Guía de recomendaciones a mujeres embarazadas y lactantes”**
Segunda edición, octubre 2020

Edita:

Asociación Observatorio de la Alimentación
Equipo de investigación de Toxic Body del Observatorio
de la Alimentación de la Universidad de Barcelona

Apoyan:

Ajuntament de Barcelona
Área Sanitaria Norte de Málaga
Universidad de Granada

Con la financiación de:



6. Discusión

6.1. Exposición a contaminantes ambientales: niveles, determinantes y patrones

6.1.1. Exposición a metales y sus mezclas.

Las muestras de tejido adiposo de la cohorte GraMo ofrecieron cantidades detectables de metales/metaloideos en el 100% de las muestras en el caso de Al, Cd, Co, Cr, Ni y Pb, y en el 51.1% de las muestras en el caso de As. En cuanto a las concentraciones, las mayores correspondían a Al (10100 ng/g de tejido adiposo), seguidas por las de Ni, Cr y Pb. Por su parte, tanto As, como Co y Cd aparecieron en concentraciones cuya mediana era inferior a 10 ng/g de tejido adiposo. Los niveles de metales en la cohorte GraMo han resultado ser superiores a los de otros estudios realizados en la misma matriz (Kizalaitė et al., 2019; Qin et al., 2010). En esta diferencia pueden influir dos factores: el origen de la población y, por tanto, de la exposición, y la acumulación de metales cuando se trata de una población con IMC correspondiente a sobrepeso y de edad media que supera los 50 años (Tabla 1), en la que el grado de acumulación podría ser diferente que en poblaciones de otras edades y adiposidad. La procedencia de las muestras de tejido adiposo recogidas (visceral, subcutánea, abdominal, de extremidades, etc.) no parece tener influencia en los resultados, según un estudio de Freire et al. (2020) con la misma cohorte.

En el caso concreto del Cd, la variable predictora más importante es el tabaquismo, de forma que en los fumadores se dobla el nivel de exposición frente a no fumadores. En exfumadores, el nivel de exposición se multiplica por 1.7 respecto a los no fumadores. Este hallazgo concuerda con otras investigaciones (Marano et al., 2012; Richter et al., 2017; Satarug and Moore, 2004) en las que la asociación entre consumo de tabaco y concentración de Cd en tejidos ha quedado patente. Asimismo, se observan asociaciones significativas positivas con la edad y con el sexo femenino, y negativas con el IMC y el consumo de carne.

La edad constituye uno de los predictores comunes a otros contaminantes persistentes (Arrebola et al., 2010) y también al analizar mezclas de metales. De hecho, así sucede con la mezcla de Al, As, Cr, Ni y Pb constituida tras el análisis de componentes principales (PC1), de igual manera que con la mezcla de 3 PCBs (PCB-138,153 y 180) con Cd, Co y Cr (PC3). Las asociaciones negativas con el IMC que presentan estas dos mezclas pueden interpretarse por el efecto de dilución que se produce al contar con más masa de tejido adiposo en una población de estudio con sobrepeso (Arrebola et al., 2014b). En cuanto al sexo, algunos metales (el Cd entre ellos), muestran una asociación mayor con mujeres que con hombres, lo que concuerda con estudios realizados en otras matrices biológicas (López-Herranz et al., 2016). Nuestro análisis sobre mezclas de metales arroja una asociación positiva entre las mezclas antes citadas y el sexo masculino, probablemente debido a otras formas de exposición distintas del tabaco, como la ocupacional, donde

existen más hombres desempeñando profesiones con un nivel de exposición a metales significativo.

Precisamente en relación con la ocupación, el componente principal 1 presentaba una asociación positiva significativa con el empleo en la agricultura o la industria alimentaria, que era más fuerte cuando la ocupación duraba más de 15 años. Además, los trabajadores de la construcción presentaban los mayores niveles de Al, As, Cr, Ni y Pb considerados individualmente. En cuanto a la mezcla del componente principal 3, se observó una asociación límite con los trabajadores de motor e industria, además de una asociación inversa con el trabajo en los sectores de la limpieza profesional y doméstica, incluyendo las amas de casa, tras trabajar más de 15 años en ello. Esta última asociación puede interpretarse como un efecto protector del trabajo doméstico, que evita la exposición de muchas mujeres en trabajos con mayor presencia de metales en el ambiente.

Finalmente, en lo que atañe a la residencia, los niveles de Al, As, Ni y Cr eran mayores en los habitantes del área metropolitana de Granada en relación con otras zonas de la provincia bajo estudio, y lo mismo sucedía con la mezcla del componente principal 1, lo que refleja el impacto de las emisiones relacionadas con el tráfico y la actividad industrial en el área, que incluye alrededor de 30 polígonos en los que concentran industrias de equipamiento, pigmentos, fertilizantes y pesticidas, entre otras (Bencko and Yan Li Foong, 2017; Casares et al., 2005). Las concentraciones de Cd y Co eran mayores en las zonas de Granada y Motril. A este respecto, debe tenerse en cuenta que Granada y su área metropolitana constituían una de las zonas con el aire más contaminado de España en el momento de la recogida de las muestras (Ministerio de Medio Ambiente, 2006), y que en ocasiones se superan las concentraciones límite fijadas por la UE de NO₂ y PM-10 originadas por el tráfico (Subdirección General de Calidad del Aire y Medio Ambiente Industrial, Ministerio para la Transición Ecológica, 2019), lo que también implica mayores niveles de metales procedentes de neumáticos, asfalto, sistemas de frenos y abrasión (Hjortenkrans et al., 2007; Parviainen et al., 2020). En cuanto a la mezcla del componente principal 3, se encontró una asociación positiva con el hecho de residir en la Costa, Motril, Granada y su área metropolitana en comparación con la residencia en las Alpujarras.

Si hablamos de periodos extensos de tiempo, vivir en las Alpujarras, Poniente o el área metropolitana de Granada durante más de 15 años se relacionaba con mayores niveles de la mezcla de metales del componente principal 1, así como vivir en Granada por un periodo inferior a 15 años. La exposición en zonas como Alpujarras o Poniente podría derivarse del uso de plaguicidas con contenido en metales y de la riqueza en minerales del propio suelo, que en zonas como Alpujarras y el área metropolitana de Granada tiene mayor contenido en As, mientras que en otras, como Poniente, hay alta concentración de Cr (Núñez et al., 2016). También puede haber alguna contribución de Pb por la minería en la zona de Motril y, en el pasado, en las Alpujarras, donde también se extraía Cd (Instituto Geográfico Nacional, 2017).

6.1.2. Exposición a PCBs y sus mezclas

Los niveles de PCBs en el tejido adiposo de la cohorte gramo superan las concentraciones de 180 ng/g de lípidos (mediana) en los casos de PCB-153 y PCB-180, siendo inferior para PCB-138. La detección en todos los casos superaba el 90%. Los niveles obtenidos son coherentes con otros hallados en tejido adiposo en España y otros países del mismo continente (Çok and Hakan Şatiroğlu, 2004; Covaci et al., 2002; Smeds and Saukko, 2001; Wingfors et al., 2000). Los tres PCBs en estudio estaban fuertemente correlacionados, según los resultados del test de correlación de Spearman ($0.86 \leq \rho \leq 0.95$), y al aplicar el análisis de componentes principales quedaron incluidos en la mezcla PC3 junto con Cd, Co y Cr, cuyas características se han descrito en el punto anterior.

El análisis por sexos y estado menopáusico indicó que las mujeres presentan mayores concentraciones de los tres PCBs individualmente que los hombres y que esta tendencia es patente a cualquier edad en el caso de PCB-138 y PCB-153, mientras que para el PCB-180 los hombres mayores de 60 años presentan concentraciones superiores a las de las mujeres postmenopáusicas. En cualquier caso, las concentraciones de PCBs siempre se incrementan con la edad, tal y como se ha demostrado en otros estudios (Patterson et al., 2009).

Los residentes de las ciudades de Granada y Motril exhibieron los niveles más altos de PCBs considerados individualmente, algo que fue confirmado por los mapas de representación geográfica, que también mostraron el área metropolitana de Granada como lugar de alta concentración de PCBs. Las concentraciones más bajas correspondieron a Alpujarras y Poniente, lo que tiene que ver con la mayor contaminación por PCBs en entornos urbanos frente a rurales (Dai et al., 2016). Los trabajos que más se asociaron con la concentración de PCBs en tejido adiposo fueron motor e industria y limpieza profesional y doméstica.

6.1.3. Exposición a OCPs y sus mezclas.

Los OCPs mostraron concentraciones en tejido adiposo relativamente bajas, con medianas inferiores al límite de detección en el caso de α -HCH y dicofol. En estas dos sustancias, el porcentaje de detección era inferior al 25%. La concentración de p,p' -DDE fue la más alta de todos los OCPs en estudio con una mediana (P25-P75) de 98.0 (36.2-219.3) y detectándose en el 100% de las muestras. Las concentraciones obtenidas de HCB son similares a las obtenidas por Qin et al (2010), aunque las de otros OCPs difieren.

En relación con el sexo y la edad, al igual que con los PCBs, son las mujeres las que presentan mayores concentraciones de OCPs en tejido adiposo, especialmente las postmenopáusicas. Se observa cómo los niveles de OCPs aumentan con la edad en los dos sexos, de acuerdo a lo esperado (Patterson et al., 2009). Concretamente, en los casos de HCB y β -HCH, conforme avanza la edad su concentración aumenta fuertemente en mujeres, mientras que en hombres tiende a estabilizarse.

Geográficamente hablando, las Alpujarras, Poniente y Motril, zonas que históricamente presentaban una fuerte actividad agrícola y donde los plaguicidas pueden haber persistido en suelos (IGME, 2005), mostraron las mayores concentraciones de OCPs

considerados individualmente, al igual que se ha observado en otros trabajos de la cohorte GraMo (Arrebola et al., 2013a).

En cuanto a las mezclas, la correlación de Spearman entre HCB, β -HCH and p,p' -DDE demostró ser elevada ($0.69 \leq \rho \leq 0.84$) y el análisis de componentes principales dio como resultado la agrupación de estos tres OCPs en la mezcla del componente principal 2. Los residentes en las Alpujarras mostraron los niveles más altos de esta mezcla, pero los modelos lineales detectaron asociaciones negativas con haber vivido alguna vez en Alpujarras, Costa, Poniente y el área metropolitana de Granada, en discrepancia con los resultados para los contaminantes individuales, algo que no se ha podido explicar y que necesita ser investigado en más profundidad.

La exposición laboral combinada tampoco concordaba con los resultados individuales, dado que la mezcla de OCPs se asoció positivamente con haber trabajado hasta 15 años en motor e industria, mientras que no se encontró ninguna asociación con la actividad agrícola. Trabajos anteriores en la cohorte GraMo sugieren que la exposición de la mujer del campo en actividades agrícolas puede pasar desapercibida y ser infraestimada (Arrebola et al., 2013a).

6.1.4. Exposición a PFAS.

La detección de PFAS en el suero de los participantes en la cohorte GraMo alcanzó el 100% de las muestras analizadas en los casos de PFOA y PFOS, mientras que otros compuestos de la familia sólo llegaron a detectarse en porcentajes inferiores al 5%, como es el caso de PFDoA, PFBS y PFHpS. En algunos casos, como PFPeA, PFHxA y PFHpA, no fueron detectados en ninguna muestra. En general, a excepción del PFOS, los niveles observados son inferiores a los obtenidos en otros estudios en población española, como el BIOAMBIENT.ES (Bartolomé et al., 2017), en el que se registraron medianas de PFOS, PFOA, PFHxS y PFNA de 7.6 (5.3-11.1) $\mu\text{g/L}$, 2.0 (1.4-3.0) $\mu\text{g/L}$, 0.8 (0.5-1.3) $\mu\text{g/L}$ y 0.9 (0.7-1.3) $\mu\text{g/L}$, respectivamente, frente a los nuestros, de 13.3 (7.6-21.4) $\mu\text{g/L}$, 1.5 (1.1-2.0) $\mu\text{g/L}$, 0.7 (0.4-1.1) $\mu\text{g/L}$ y 0.4 (0.2-0.5) $\mu\text{g/L}$ para PFOS, PFOA, PFHxS y PFNA. La explicación que puede ofrecerse a esta diferencia entre las concentraciones de uno y otro estudio, en algunos casos notable, es la diferencia entre las poblaciones y el lapso temporal entre las tomas de muestras, que en GraMo fue realizada en el periodo 2003-2004 y que en BIOAMBIENT.ES data de 2009-2010. En ese periodo, la población andaluza incrementó su prevalencia de sobrepeso y obesidad en un 7.2% y un 11.5%, respectivamente, lo que unido a la asociación de adiposidad con los niveles de PFAS (Cardenas et al., 2018), justificaría algunas de estas observaciones.

Por sexos, las concentraciones mayores correspondieron a PFOS, con mediana (P25-P75) de 13.8 (9.5-27.6) $\mu\text{g/L}$ en hombres, y 9.7 (5.8-17.2) $\mu\text{g/L}$ en mujeres, lo que es representativo de las mayores concentraciones registradas en hombres frente a mujeres en el caso de todos los PFAS, algo que confirma los resultados de otras investigaciones (Bartolomé et al., 2017; Graber et al., 2019; Hu et al., 2018). Solo para el PFOS las concentraciones en mujeres postmenopáusicas eran superiores a las de los hombres. Aquí puede tener un papel fundamental la eliminación de PFAS a través de la menstruación y la leche materna en las mujeres en edad fértil, como se ha observado en algunos estudios (Glynn et al., 2012; Wong et al., 2014), y que justifica la disminución

de niveles de PFOA y PFHxS con la edad en mujeres premenopáusicas. Además, en el PFOA se aprecia una disminución en la concentración a medida que los hombres envejecen, lo que puede ser consecuencia de una exposición laboral que cesa en el momento de la jubilación, dado que el 22.9% de los participantes en el estudio trabajaban en los sectores de la construcción, el motor y la industria.

6.2. Exposición y enfermedades asociadas con la obesidad

6.2.1. Asociación entre exposición a Cd y desarrollo de DM2

Los resultados del trabajo 2 muestran que un aumento de los niveles de Cd puede estar relacionado con un incremento en el riesgo de desarrollo de DM2, especialmente en fumadores. Este hallazgo se encuentra en consonancia con otros estudios realizados con concentraciones de Cd en plasma y sangre (Hansen et al., 2017; Li et al., 2020; Little et al., 2020), pero también existen discrepancias con estudios con Cd en orina que no encontraron asociación o estudios en sangre en los que esta era negativa (Feng et al., 2015; Simić et al., 2017). Estas discrepancias pueden deberse a los diferentes tamaños muestrales y a las poblaciones de estudio, que tienen características específicas en cuanto a nivel de exposición, estilo de vida, datos sociodemográficos y factores biológicos.

Es más, la matriz biológica en la que se realiza la medida del contaminante también aporta diferente información, ya que la sangre refleja exposiciones más recientes y más dependientes de factores como la dieta, mientras que la orina aporta información de periodos de tiempo más amplios (F. F. Guo et al., 2019). El tejido adiposo en el que se midió Cd en la cohorte GraMo, es todavía una matriz poco estudiada y podría dar información muy valiosa sobre el potencial metabólico del Cd y los posibles mecanismos de acción relacionados (Egger et al., 2019; Tinkov et al., 2017). Es de destacar que la disfunción del tejido adiposo está directamente relacionada con la resistencia a la insulina y la alteración de la secreción de insulina (Abranches et al., 2015).

Los mecanismos de acción sugeridos para el efecto diabetogénico del Cd son varios: inhibición de la actividad de la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (Santra et al., 2000; Vogiatzis and Loumbourdis, 1999); inhibición de la hexoquinasa durante la glicólisis, lo que disminuye la disponibilidad de glucosa-6-fosfato, provocando una supresión de la vía del fosfato (Sabir et al., 2019); acumulación de Cd en células β afectando a la función mitocondrial y contribuyendo, como consecuencia, a la disfunción celular y disminución de la disponibilidad de células β (Jacquet et al., 2018); inducción de estrés oxidativo, vías de señalización proinflamatoria y apoptosis en células β pancreáticas, lo que puede resultar en resistencia a la insulina e inhibición de la secreción de insulina (Little et al., 2020; Tinkov et al., 2017); y, por último, la exposición a Cd podría alterar el transporte de la glucosa en tejidos dependientes e independientes de insulina (Buha et al., 2020), como GLUT2 hepático y GLUT4 musculoesquelético y en tejido adiposo (Czech, 2020; Han et al., 2003; Petersen and Shulman, 2018; Tinkov et al., 2017).

Por otro lado, debe subrayarse el efecto modificador del tabaco en la relación entre niveles de Cd y DM2, dado que el efecto del Cd solo resultaba claro en los fumadores, lo que guarda relación con los resultados del análisis de los predictores de los niveles de Cd realizado en el primer trabajo de esta tesis. Pero también el tabaco por sí mismo puede ser un factor de riesgo de desarrollo de DM2, dado que contiene hidrocarburos aromáticos policíclicos y As, ambos potenciales diabetógenos (Maddatu et al., 2017; Xie et al., 2009). Así, el tabaco puede actuar a través de mecanismos convergentes o diferentes del Cd, produciendo inhibición de la tolerancia a la glucosa, sensibilidad a la insulina, alteración de la función de las células β pancreáticas o inducción de respuestas de estrés oxidativo o inflamación (Cheng et al., 2021; Maddatu et al., 2017; Will et al., 2001). Sin embargo, un ajuste con la frecuencia de consumo de tabaco no supuso cambios en la asociación encontrada.

El estudio transversal no pudo reproducir por completo los resultados del análisis longitudinal, a pesar de que se observó un incremento en los niveles de resistencia a la insulina a concentraciones intermedias de Cd, lo que se calculó mediante glucosa en ayunas y niveles de insulina. Es posible que en este estudio, de tamaño limitado, se haya producido algún error de clasificación en exposición y efecto que haya afectado a los resultados. Los valores de HOMA utilizando concentraciones de insulina no coincidían con aquellos calculados con el péptido C, a pesar de que ambos mostraban comportamientos similares. La degradación del péptido C durante estos 15 años desde la recogida de la muestra hasta su análisis, puede ser la culpable, a pesar de que la conservación se realizó a -80°C .

6.2.2. Alteraciones en hormonas sexuales asociadas a la exposición a PCBs, OCPs y PFAS

Niveles de estradiol

Se hallaron varias asociaciones positivas entre las concentraciones de PCBs, OCPs y PFAS y los niveles de estradiol. Por un lado, los tres PCBs en estudio (138, 153 y 180) mostraron asociación positiva con los niveles de estradiol en hombres y en mujeres, lo que podría implicar una actividad estrogénica, más fuerte en mujeres que en hombres. Si nos limitamos a las mujeres premenopáusicas, la asociación no se observa, lo que puede tener que ver con el momento del ciclo menstrual en que se obtuvo la muestra de tejido adiposo. Los niveles de estradiol, así como de otras hormonas, cambian notablemente de unos días a otros del periodo, y en la cohorte GraMo no se recogió ese dato en concreto, lo que dificulta la obtención de resultados. De hecho, el incremento de la producción de estradiol en el tejido adiposo visceral, que es típico en hombres y mujeres postmenopáusicas, aumenta con la adiposidad (Hetemäki et al., 2017), que es un factor que ya se ha relacionado con las concentraciones de PCBs en esta misma cohorte (Arrebola et al., 2014b).

En cualquier caso, el carácter estrogénico o antiestrogénico de los PCBs ha sido objeto de estudio en múltiples investigaciones en las que se observan comportamientos opuestos (Cooke et al., 2001; deCastro et al., 2006; Kester et al., 2000; Ma and Sassoon, 2006; Oh et al., 2007), y, aunque tanto ellos como sus metabolitos muestran afinidad por los receptores de estrógeno, tras la unión su comportamiento puede ser agonista o

antagonista (Chubb et al., 2004; Kitamura et al., 2005). También se encontraron asociaciones positivas límite entre algunos OCPs y los niveles de estradiol en ambos sexos, que podrían ser consecuencia de los efectos antiandrogénicos de algunos de ellos al inhibir la unión de los andrógenos a su receptor (Kelce et al., 1995), lo que a niveles suficientes podría provocar un efecto global estrogénico (Bretveld et al., 2006). Otro mecanismo que podría estar implicado es el incremento de la actividad de la aromatasa microsomal hepática por parte del *p,p'*-DDE, lo que aumentaría la producción de estrógenos (Nativelle-Serpentini et al., 2003; You et al., 2001).

Los análisis de exposición combinada a través de WQS no arrojaron ningún resultado significativo para el estradiol en ninguno de los sexos, ni considerando los tres grupos de contaminantes del estudio, ni solo algunos de ellos, lo que hace pensar que la posible actividad estrogénica de los PCBs es muy débil en el conjunto de la exposición a todos los contaminantes.

Niveles de FSH y LH

Se encontró una asociación positiva del PCB-138 con FSH en mujeres premenopáusicas, pero no aparecieron más asociaciones de PCBs con FSH o LH, a pesar de que otras investigaciones sí que han encontrado asociaciones, tanto positivas como negativas (Lambertino et al., 2021; Pan et al., 2019; Persky et al., 2011; Petersen et al., 2018). Una vez más, la periodicidad de la secreción de FSH y LH en mujeres fértiles, tiene mucho que ver con los niveles de esteroides, lo que significa que las posibles alteraciones en estradiol y/o testosterona por parte de los PCBs puede influir aumentando o disminuyendo los niveles de FSH y LH según el momento en el periodo menstrual (Welt et al., 2003), lo que es una incógnita en la cohorte GraMo.

Por otro lado, se observó una asociación positiva de α -HCH con FSH en hombres y mujeres premenopáusicas, si bien no se halló ninguna asociación entre otros OCPs y FSH o LH. Otros estudios han encontrado asociaciones positivas de OCPs con estas dos hormonas en los mismos subgrupos (Padungtod et al., 1998; Pan et al., 2019). El mecanismo que podría explicar esto es la disrupción del eje hipotálamo-pituitaria-gonadal, en el que un descenso en la testosterona provocado por los OCPs causa una reducción de la inhibina B, lo que produce un aumento de la secreción de FSH y LH (Androutsopoulos et al., 2013). Esto también justificaría el resultado de la exploración de la exposición combinada a PCBs y OCPs a través de WQS, un modelo dominado por las contribuciones de β -HCH y *p,p'*-DDE, que en hombres presenta una asociación positiva con los niveles de FSH. No se encontraron asociaciones entre concentraciones de PFAS y niveles de FSH o LH.

Sin embargo, los resultados de los modelos de exposición combinada en mujeres, tanto de la totalidad de PCBs, OCPs y PFAS, como solo considerando PCBs y OCPs, muestran asociaciones inversas con FSH y LH. En el caso de la combinación de los tres grupos de contaminantes y su asociación con FSH, la mayor contribución corresponde a los PFAS, por lo que se podría intuir una asociación negativa entre estos y la FSH, que no se observó para los contaminantes de forma individual. Otros estudios han mostrado una asociación positiva de los PFAS con FSH y LH (Siobán D Harlow et al., 2021; Luo et al., 2021; Petersen et al., 2022). Un posible mecanismo detrás de las asociaciones está en el sistema de kisspeptina hipotalámica que potencialmente regula la actividad GnRH, cuya

expresión es controlada por el estradiol (Du et al., 2019). Los niveles de estradiol pueden verse afectados por la acción estrogénica o antiestrogénica de los PFAS, que depende de la cantidad de estrógenos en las proximidades de los receptores (Li et al., 2020). En cuanto al modelo combinado de PCBs y OCPs en mujeres, su asociación negativa con LH concuerda con los resultados de Freire et al. (2014), que encontró una relación inversa de las concentraciones de ciertos OCPs en suero con los niveles de FSH y LH en mujeres peri y postmenopáusicas. Es importante puntualizar que el modelo combinado no incluía contribuciones de α -HCH, dado que, por su bajo nivel de detección, se omitió de estos cálculos y en el modelo de asociación individual está introducida como variable categórica (detectado vs. no detectado). Por lo tanto, en este caso, el modelo de exposición combinada ofrece una información que complementa a las asociaciones individuales de OCPs.

Niveles de SHBG

Las concentraciones de p,p' -DDE y α -HCH muestran una asociación inversa con la SHBG en hombres, lo que no se recoge en otras investigaciones que encuentran asociaciones positivas (Madrigal et al., 2021; Specht et al., 2015). El incremento de la actividad de la aromatasa, con el consecuente aumento de la producción de estradiol en hombres expuestos a HCH and p,p' -DDE (Nativelle-Serpentini et al., 2003; You et al., 2001) podría ser el responsable, dado que se ha observado una asociación inversa entre los niveles de estradiol y los de SHBG en hombres (de Ronde et al., 2005). El dicofol actúa de manera muy diferente, produciendo una inhibición de la actividad de la aromatasa (Vinggaard et al., 2000) e incrementando los niveles de testosterona, que en mujeres postmenopáusicas se asocia a un aumento de los niveles de SHBG (Skafba et al., 2003), lo que hemos intuido en nuestros resultados para este grupo de población. En cuanto a las concentraciones de PFAS, se encontró una asociación negativa de PFHxS con SHBG en mujeres que no ha podido ser contrastada en otros estudios y que podría deberse a la acción estrogénica por medio de la acción en los receptores de estrógenos (Lau et al., 2007; Li et al., 2020).

El modelo de exposición combinada a PCBs, OCPs y PFAS en mujeres presenta una asociación negativa con SHBG, donde la contribución principal corresponde al grupo de PFAS (37.1%). De hecho, en el modelo limitado a esta familia de contaminantes, también surge una asociación significativa negativa con SHBG en mujeres, en concordancia con la fuerte asociación observada entre PFHxS y SHBG de forma individual.

Niveles de testosterona

Se encontró una asociación positiva entre PCB-180 y los niveles de testosterona en mujeres, especialmente importante en las mujeres premenopáusicas. Aunque no hay apenas información publicada sobre la relación entre PCBs y testosterona en mujeres, y la disponible en hombres apunta a asociaciones inversas (Meeker and Hauser, 2010), se sabe que el PCB-180 promueve la adipogénesis mediante la sumoilación de la proteína C/EBP β que controla la expansión clonal mitótica en el tejido adiposo (Yu et al., 2021), lo que unido a las conclusiones del estudio de Wagner et al. (2022), que sugieren que el tejido adiposo es un lugar de producción de andrógenos en mujeres obesas, podría justificar nuestros resultados, dado que la mayoría de las mujeres en la cohorte GraMo presentan sobrepeso.

También se observó una asociación negativa de α -HCH con los niveles de testosterona en mujeres, que podría explicarse por el incremento de la actividad de la aromatasa provocada por plaguicidas de esta familia, que reduce los niveles de testosterona (Nativelle-Serpentini et al., 2003; You et al., 2001). El modelo combinado de PCBs y OCPs en mujeres dio como resultado una asociación significativa con la testosterona en el que más de la mitad de las contribuciones correspondían al PCB-138, en concordancia con nuestros resultados con el PCB-180, ya que debemos recordar que los tres PCBs estudiados estaban fuertemente correlacionados.

Por último, aunque los modelos de exposición combinada no ofrecieron resultados significativos cuando se incluían los PFAS, individualmente sí que se obtuvo una asociación positiva entre PFHxS en mujeres y PFDA en hombres, con la testosterona. Otros investigadores han publicado resultados similares, tanto en hombres como en mujeres (Wang et al., 2021; Xie et al., 2021), aunque los mecanismos responsables no están del todo claros. Se ha propuesto que se deba a la competición de los PFAS por los receptores de andrógenos (Di Nisio et al., 2019) o al incremento de la actividad de las enzimas 3β -HSD1 y 17β -HSD1, aumentando la producción de testosterona (Yao et al., 2019).

Alteración de hormonas sexuales en conjunto

Los resultados obtenidos apuntan a una mayor alteración de los niveles de hormonas sexuales en mujeres, donde la acción estrogénica de algunos PCBs, OCPs y PFAS se relaciona con niveles reducidos de FSH, LH y SHBG, así como aumento de los niveles de testosterona. Dicha acción estrogénica se relaciona con problemas reproductivos y metabólicos, como la fertilidad, el síndrome de ovario poliquístico, la resistencia a la insulina y la obesidad (Lizneva et al., 2019; Qu and Donnelly, 2020). Lo que es más importante, la combinación de niveles bajos de SHBG y niveles altos de testosterona es indicativa de androgenización en la mujer, lo que eleva el riesgo de enfermedad cardiovascular en mujeres postmenopáusicas (Brand and van der Schouw, 2010). En los hombres, las asociaciones positivas de contaminantes con los niveles de FSH podrían tener implicaciones para la fertilidad, dado que en hombres infértiles se encuentran valores elevados de FSH y LH (Babu et al., 2004).

No obstante, y a pesar de que se han obtenido asociaciones claras e interesantes, es necesario tener en consideración la cantidad de muestras en las que se ha analizado PFAS, inferior al resto de contaminantes, y la incógnita del momento del ciclo menstrual en que se recogieron las muestras de mujeres, lo que puede haber limitado el alcance de nuestros resultados al influir notablemente en el balance hormonal de quienes se encontraban en edad fértil.

6.3. Información a la ciudadanía y percepción del riesgo

6.3.1. Prioridades para la ciudadanía en general

Los resultados del trabajo 5 de esta tesis no solo tienen que ver con las respuestas a la encuesta online, sino también con el proceso de colaboración entre organizaciones no gubernamentales e instituciones locales y la universidad en el momento crítico de la pandemia COVID-19.

En base a los resultados obtenidos hasta el momento, del estudio de percepción de riesgo se desprende que:

- La participación de mujeres supera la de hombres, lo que hace pensar en mayor interés por parte de ellas en los problemas de medio ambiente y salud, en coherencia con el informe Género y cambio climático (RED2RED, 2020), y también en consonancia con los resultados del trabajo 6 de esta tesis.
- Las principales preocupaciones de los vecinos de Granada y Melilla son la limpieza (68.1%), el ruido (51.3%) y la calidad del aire (46.4%), existiendo claras diferencias entre distritos. El Ecobarómetro de Andalucía 2018 (Red de Información Ambiental de Andalucía, 2019) señala que en el ámbito local las mayores preocupaciones de los ciudadanos son la suciedad, la falta de limpieza en las calles y la gestión de residuos sólidos urbanos.
- En cuanto a la relación de los problemas del barrio con la salud, aquellos que los encuestados más vinculan, y para los que demandan soluciones urgentes, son las enfermedades contagiosas (75%), la calidad del aire (71.7%) y la calidad de los alimentos (68.9%).
- La percepción de que la falta de limpieza afecta mucho más a sus barrios que a otros barrios de la ciudad es mayor entre los vecinos de los distritos objetivo (Chana, Norte y Zaidín en Granada, y el Distrito 5, incluyendo la Cañada de Hidum, en Melilla).
- Según los encuestados, los mayores responsables de los problemas de limpieza, ruido y calidad del aire en los barrios son las autoridades regionales y locales, aunque también se considera responsables a los vecinos. Es de destacar la corresponsabilidad de los encuestados en los problemas del barrio, lo que indica que la educación ambiental podría ser una potente herramienta de mejora.
- La pandemia COVID-19 ha supuesto un cambio en la percepción de los problemas de los barrios de Granada y Melilla, si bien no ha superado el grado de preocupación por otros problemas considerados históricos.

En resumen, los resultados de la aplicación de esta encuesta online hasta el momento, a pesar del sesgo que implica la metodología de la misma, ha aportado información que puede resultar útil y motivadora para las autoridades locales de cara a implementar medidas que permitan mejorar la calidad de vida en los barrios más desfavorecidos de Granada y Melilla. Es un hecho que la pobreza causa degradación ambiental (Masron and Subramaniam, 2019), y por tanto, la solución a los problemas ambientales de los barrios desfavorecidos no puede limitarse a abordar estas dificultades de espaldas a la pobreza que en ellos persiste.

Por otra parte, los retos planteados por la pandemia COVID-19 se solventaron con flexibilidad y muy buena disposición por parte de la única organización que mantuvo

cierta actividad presencial, aunque mínima, en Granada, pero no fue posible contar con entrevistas y grupos focales en Melilla como estaba previsto.

En los próximos meses se prevé finalizar la aplicación de la encuesta y publicar los resultados finales en un informe ejecutivo que se distribuirá a los responsables de las áreas de medio ambiente, salud y bienestar social de Granada y Melilla. Mirando más allá, este estudio de percepción de riesgo podría replicarse en otras localidades de España en las que se manifiesten desigualdades entre unos barrios y otros en materia de medio ambiente y salud.

6.3.2. Exposición a contaminantes y maternidad

La realización de la encuesta *Contaminantes químicos ambientales y maternidad* tres años después de la distribución de la primera guía sobre contaminantes en los alimentos para mujeres embarazadas y lactantes, permitió conocer las impresiones de quienes habían leído y utilizado la guía, y también la opinión de personas que nunca habían oído hablar del problema.

La primera observación fue que se trata de un tema que interesa sobre todo a mujeres, dado que su participación constituyó el 89% del total, ya fueran profesionales del ámbito sanitario o no. De hecho, el 78.5% de los participantes eran profesionales, y más de la mitad de ellos eran especialistas en ginecología y obstetricia, un 17% eran matronas y un 15%, pediatras. Según datos del Instituto Nacional de Estadística (Instituto Nacional de Estadística, 2020), en 2019 el 51.6% de los colegiados médicos eran mujeres, y la cantidad de ginecólogas en Cataluña (principal comunidad autónoma donde se distribuyó la guía) era del 53.0%, lo que descarta que esto sea la causa de la mayor participación femenina. No obstante, las matronas colegiadas en 2019 eran un 93.4% del total de la profesión, lo que justificaría parcialmente el resultado.

Llama la atención la escasez de formación de los profesionales de la salud al respecto, ya que un 22% declaró no haber recibido nunca ninguna información sobre contaminantes ambientales en relación con embarazo y lactancia. Cuando el público general recibe esta información, llega por varios canales, siendo preferente el del profesional sanitario (36%), seguido de la vía digital a través de búsquedas a iniciativa propia (26%). Es de destacar que un 25.8% de quienes reciben información sobre contaminantes ambientales y maternidad lo hace a través de artículos científicos, pero un 20.5% lo hace a través de posts en redes sociales. Internet se ha convertido en un medio cada vez más relevante, como se pone de relieve en la Alfabetización Digital en Salud, un concepto imprescindible en el empoderamiento de las personas para implicarse en la mejora de su propia salud (Levin-Zamir and Bertschi, 2018) y con la que cuentan muchas mujeres embarazadas. La demanda de información se hace patente en las respuestas al cuestionario, con un 66% de encuestados que opinaban que el sistema sanitario debería ofrecer más información sobre el problema. Un estudio cualitativo realizado en Almería destacaba la percepción de las mujeres primíparas de que la información que recibían de sus médicos durante el seguimiento del embarazo era escasa y contradictoria, aunque comprendían la escasez del tiempo que les dedicaban (Díaz-Sáez et al., 2011).

En cuanto a la utilidad de la guía y sus efectos a medio plazo, solo un 20% de los encuestados la habían leído, pero fue positivo encontrar que el 70% de esas personas

eran profesionales sanitarios, de los que un 73% transmitió la información a sus pacientes o a compañeros de profesión. Además, un 23% de quienes la leyeron cambiaron algún hábito de vida, principalmente reduciendo el uso de plásticos y latas y aumentando el consumo de alimentos ecológicos. Para más de la mitad de los encuestados la información que contenía la guía era correcta y su diseño y formato facilitaban su comprensión.

Los resultados de este estudio de percepción del riesgo sirvieron para valorar los posibles cambios en la segunda edición de la guía respecto a la primera. En consecuencia, se mantuvo un diseño similar, aunque renovando e incluyendo nuevos grafismos y datos que ayudarían a los profesionales sanitarios a proporcionar esta información a sus pacientes de manera rápida y sencilla. También se trabajó en la traducción de la guía a otros idiomas (catalán e inglés) con el fin de facilitar su lectura por cualquier mujer embarazada, independientemente de su origen. Los profesionales sanitarios con los que se contactó de forma directa agradecieron disponer de la nueva guía, que ha sido utilizada como material divulgativo para las mujeres participantes en el estudio EMBA (Estilo de vida, medioambiente y embarazo), un proyecto intramural de CIBERESP del Instituto de Salud Carlos III (ESP20PI05). De esta manera se garantizó una nueva difusión a través de los hospitales participantes en Granada, Murcia y Almería, que se sumaba a la que se mantiene en Barcelona.

7. Conclusiones

Tras los trabajos realizados en el desarrollo de esta tesis se concluye que:

- La población está expuesta de forma cotidiana a mezclas complejas de contaminantes persistentes procedentes del aire, el agua y los alimentos, entre otros. Esta exposición a menudo pasa inadvertida porque sus efectos pueden no ser inmediatos, sino manifestarse a medio o largo plazo, e incluso afectar a la descendencia.
- La bioacumulación de contaminantes persistentes en el organismo podría ser, en cierta medida, modificable, ya que está influenciada por factores externos como el lugar de residencia, la ocupación laboral, la dieta y algunos hábitos, *e.g.* el consumo de tabaco. El sexo y la edad también son determinantes, apreciándose un aumento de las concentraciones en suero y tejido adiposo con la edad y siendo mayor en mujeres que en hombres, salvo excepciones como los PFAS, cuya concentración es mayor en hombres, ya que parecen ser eliminados de forma eficaz durante el periodo fértil en la mujer.
- Las concentraciones de Cd en el tejido adiposo pueden ser un indicador de la exposición a largo plazo, ya que se trata de una matriz más estable que el suero o la orina. Además, el tejido adiposo juega un rol destacado en el metabolismo y la inmunidad, y la acumulación de contaminantes en él se relaciona con alteraciones en su función que pueden tener consecuencias en todo el organismo.
- La exposición continua a Cd se asoció a un incremento de la resistencia a la insulina, así como a un mayor riesgo de padecer diabetes mellitus tipo 2, especialmente para las personas fumadoras.
- La exposición crónica a mezclas de contaminantes persistentes se asoció con alteraciones de los niveles de hormonas sexuales en hombres (FSH) y en mujeres (FSH, LH, SHBG y testosterona), lo que podría tener implicaciones clínicas a largo plazo que deberían confirmarse en futuros estudios.
- La población de Granada y Melilla reporta una gran preocupación por la problemática medioambiental, particularmente en relación a agentes químicos y físicos como la limpieza, el ruido y la calidad del aire. Sin embargo, en su percepción acerca de las exposiciones que más afectan a su salud tienen mucho peso otros agentes, como las enfermedades contagiosas y la calidad de los alimentos. La mayor parte de la población externaliza la responsabilidad del problema, siendo las autoridades regionales y locales el pilar sobre el que recae la mayor parte de la responsabilidad de actuar.
- Se necesitan canales de información eficaces destinados a los profesionales de la salud sobre los riesgos de la exposición crónica a contaminantes y medidas preventivas, ya que admiten considerables lagunas en su conocimiento del problema y suponen un enlace muy importante con la población general y, particularmente, con colectivos de riesgo como las mujeres embarazadas y lactantes.

8. Bibliografía

- Abranches, M.V., Oliveira, F.C.E. de, Conceição, L.L. da, Peluzio, M. do C.G., 2015. Obesity and diabetes: the link between adipose tissue dysfunction and glucose homeostasis. *Nutr. Res. Rev.* 28, 121–132. <https://doi.org/10.1017/S0954422415000098>
- Agarwal, S., Zaman, T., Murat Tuzcu, E., Kapadia, S.R., 2011. Heavy Metals and Cardiovascular Disease: Results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999–2006. *Angiology* 62, 422–429. <https://doi.org/10.1177/0003319710395562>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2019. Substance Priority List | ATSDR [WWW Document]. URL <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html> (accessed 5.12.20).
- Alberti, K. g. m. m., Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., Cleeman, J.I., Donato, K.A., Fruchart, J.-C., James, W.P.T., Loria, C.M., Smith, S.C., 2009. Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation* 120, 1640–1645. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
- Alberti, K.G.M.M., Zimmet, P., Shaw, J., 2006. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet. Med.* 23, 469–480. <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2006.01858.x>
- Alharbi, O.M.L., Basheer, A.A., Khattab, R.A., Ali, I., 2018. Health and environmental effects of persistent organic pollutants. *J. Mol. Liq.* 263, 442–453. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.05.029>
- Alonso-Magdalena, P., Quesada, I., Nadal, A., 2011. Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nat. Rev. Endocrinol.* 7, 346–353. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.56>
- Androutsopoulos, V.P., Hernandez, A.F., Liesivuori, J., Tsatsakis, A.M., 2013. A mechanistic overview of health associated effects of low levels of organochlorine and organophosphorous pesticides. *Toxicology, Emerging health issues from chronic pesticide exposure: Innovative methodologies and effects on molecular cell and tissue level* 307, 89–94. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.09.011>
- Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Bonde, J.P., Martín-Rodríguez, J.L., Expósito, J., Rubio-Domínguez, A., Olea, N., 2015. Historical exposure to persistent organic pollutants and risk of incident hypertension. *Environ. Res.* 138, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.02.018>
- Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Sánchez-Pérez, M.J., Sánchez-Cantalejo, E., Molina-Portillo, E., Expósito, J., Bonde, J.P., Olea, N., 2014a. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and total cancer risk in an adult cohort from Southern Spain: Preliminary data from year 9 of the follow-up. *Sci. Total Environ.* 500–501, 243–249. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2014.08.043>
- Arrebola, J.P., Fernández, M.F., Olea, N., Ramos, R., Martín-Olmedo, P., 2013a. Human exposure to p,p'-dichlorodiphenyldichloroethylene (p,p'-DDE) in urban and semi-rural areas in southeast Spain: A gender perspective. *Sci. Total Environ.* 458–460, 209–216. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.001>
- Arrebola, J.P., Fernandez, M.F., Porta, M., Rosell, J., de la Ossa, R.M., Olea, N., Martín-Olmedo, P., 2010. Multivariate models to predict human adipose tissue PCB concentrations in Southern Spain. *Environ. Int.* 36, 705–713. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2010.05.004>
- Arrebola, J.P., Martín-Olmedo, P., Fernandez, M.F., Sanchez-Cantalejo, E., Jimenez-Rios, J.A., Torne, P., Porta, M., Olea, N., 2009. Predictors of concentrations of hexachlorobenzene in human adipose tissue: A multivariate analysis by gender in Southern Spain. *Environ. Int.* 35, 27–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2008.05.009>

- Arrebola, J.P., Ocaña-Riola, R., Arrebola-Moreno, A.L., Fernández-Rodríguez, M., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N., 2014b. Associations of accumulated exposure to persistent organic pollutants with serum lipids and obesity in an adult cohort from Southern Spain. *Environ. Pollut.* 195, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.08.003>
- Arrebola, J.P., Ocaña-Riola, R., Arrebola-Moreno, A.L., Fernández-Rodríguez, M., Martín-Olmedo, P., Fernández, M.F., Olea, N., 2014c. Associations of accumulated exposure to persistent organic pollutants with serum lipids and obesity in an adult cohort from Southern Spain. *Environ. Pollut. Barking Essex* 1987 195, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.08.003>
- Arrebola, J.P., Pumarega, J., Gasull, M., Fernandez, M.F., Martín-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Fernández-Rodríguez, M., Porta, M., Olea, N., 2013b. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of type 2 diabetes in adults from Southern Spain. *Environ. Res.* 122, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.12.001>
- Arrebola, J.P., Pumarega, J., Gasull, M., Fernandez, M.F., Martín-Olmedo, P., Molina-Molina, J.M., Fernández-Rodríguez, M., Porta, M., Olea, N., 2013c. Adipose tissue concentrations of persistent organic pollutants and prevalence of type 2 diabetes in adults from Southern Spain. *Environ. Res.* 122, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2012.12.001>
- Artacho-Cordón, F., Fernández-Rodríguez, M., Garde, C., Salamanca, E., Iribarne-Durán, L.M., Torné, P., Expósito, J., Papay-Ramírez, L., Fernández, M.F., Olea, N., Arrebola, J.P., 2015. Serum and adipose tissue as matrices for assessment of exposure to persistent organic pollutants in breast cancer patients. *Environ. Res.* 142, 633–643. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2015.08.020>
- Artacho-Cordón, F., León, J., Sáenz, J.M., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Arrebola, J.P., 2016. Contribution of Persistent Organic Pollutant Exposure to the Adipose Tissue Oxidative Microenvironment in an Adult Cohort: A Multipollutant Approach. *Environ. Sci. Technol.* 50, 13529–13538. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b03783>
- Auchus, R.J., Sharifi, N., 2020. Sex Hormones and Prostate Cancer. *Annu. Rev. Med.* 71, 33–45. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-051418-060357>
- Babu, S.R., Sadhnani, M.D., Swarna, M., Padmavathi, P., Reddy, P.P., 2004. Evaluation of FSH, LH and testosterone levels in different subgroups of infertile males. *Indian J. Clin. Biochem.* 19, 45–49. <https://doi.org/10.1007/BF02872388>
- Balaguer, P., Delfosse, V., Bourguet, W., 2019. Mechanisms of endocrine disruption through nuclear receptors and related pathways. *Curr. Opin. Endocr. Metab. Res., Endocrine Disruptors* 7, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.coemr.2019.04.008>
- Barr, D.B., Wang, R.Y., Needham, L.L., 2005. Biologic Monitoring of Exposure to Environmental Chemicals throughout the Life Stages: Requirements and Issues for Consideration for the National Children’s Study. *Environ. Health Perspect.* 113, 1083–1091. <https://doi.org/10.1289/ehp.7617>
- Bartolomé, M., Gallego-Picó, A., Cutanda, F., Huetos, O., Esteban, M., Pérez-Gómez, B., Castaño, A., 2017. Perfluorinated alkyl substances in Spanish adults: Geographical distribution and determinants of exposure. *Sci. Total Environ.* 603–604, 352–360. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.031>
- Bartolomé, M., Gallego-Picó, A., Huetos, O., Lucena, M.Á., Castaño, A., 2016. A fast method for analysing six perfluoroalkyl substances in human serum by solid-phase extraction on-line coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* 408, 2159–2170. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9319-0>
- Beard, J., 2006. DDT and human health. *Sci. Total Environ.* 355, 78–89. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2005.02.022>

- Bello, A., Quinn, M.M., Perry, M.J., Milton, D.K., 2009. Characterization of occupational exposures to cleaning products used for common cleaning tasks—a pilot study of hospital cleaners. *Environ. Health* 8, 11. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-11>
- Bencko, V., Yan Li Foong, F., 2017. The history of arsenical pesticides and health risks related to the use of Agent Blue. *Ann. Agric. Environ. Med. AAEM* 24, 312–316. <https://doi.org/10.26444/aaem/74715>
- Boedeker, W., Watts, M., Clausing, P., Marquez, E., 2020. The global distribution of acute unintentional pesticide poisoning: estimations based on a systematic review. *BMC Public Health* 20, 1875. <https://doi.org/10.1186/s12889-020-09939-0>
- Bonde, J.P., Toft, G., Rylander, L., Rignell-Hydbom, A., 2008. Fertility and Markers of Male Reproductive Function in Inuit and European Populations Spanning Large Contrasts in Blood Levels of Persistent Organochlorines. *Environ. Health Perspect.* 116, 269–277. <https://doi.org/10.1289/ehp.10700>
- Bosch, E., Alviggi, C., Lispi, M., Conforti, A., Hanyaloglu, A.C., Chuderland, D., Simoni, M., Raine-Fenning, N., Crépieux, P., Kol, S., Rochira, V., D’Hooghe, T., Humaidan, P., 2021. Reduced FSH and LH action: implications for medically assisted reproduction. *Hum. Reprod. Oxf. Engl.* 36, 1469–1480. <https://doi.org/10.1093/humrep/deab065>
- Bounsanga, J., Voss, M.W., Crum, A.B., Hung, M., 2016. The Association Between Perceived Health Status and Health Information Communication Channels. *J. Health Commun.* 21, 1148–1152. <https://doi.org/10.1080/10810730.2016.1231726>
- Bourez, S., Le Lay, S., Van den Daelen, C., Louis, C., Larondelle, Y., Thomé, J.-P., Schneider, Y.-J., Dugail, I., Debier, C., 2012. Accumulation of polychlorinated biphenyls in adipocytes: selective targeting to lipid droplets and role of caveolin-1. *PLoS One* 7, e31834. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0031834>
- Brand, J.S., van der Schouw, Y.T., 2010. Testosterone, SHBG and cardiovascular health in postmenopausal women. *Int. J. Impot. Res.* 22, 91–104. <https://doi.org/10.1038/ijir.2009.64>
- Bretveld, R.W., Thomas, C.M., Scheepers, P.T., Zielhuis, G.A., Roeleveld, N., 2006. Pesticide exposure: the hormonal function of the female reproductive system disrupted? *Reprod. Biol. Endocrinol.* 4, 30. <https://doi.org/10.1186/1477-7827-4-30>
- Buckland, G., González, C.A., Agudo, A., Vilardell, M., Berenguer, A., Amiano, P., Ardanaz, E., Arriola, L., Barricarte, A., Basterretxea, M., Chirlaque, M.D., Cirera, L., Dorronsoro, M., Egúes, N., Huerta, J.M., Larrañaga, N., Marin, P., Martínez, C., Molina, E., Navarro, C., Quirós, J.R., Rodríguez, L., Sanchez, M.-J., Tormo, M.-J., Moreno-Iribas, C., 2009. Adherence to the Mediterranean Diet and Risk of Coronary Heart Disease in the Spanish EPIC Cohort Study. *Am. J. Epidemiol.* 170, 1518–1529. <https://doi.org/10.1093/aje/kwp282>
- Buha, A., Đukić-Čosić, D., Čurčić, M., Bulat, Z., Antonijević, B., Moulis, J.-M., Goumenou, M., Wallace, D., 2020. Emerging Links between Cadmium Exposure and Insulin Resistance: Human, Animal, and Cell Study Data. *Toxics* 8, 63. <https://doi.org/10.3390/toxics8030063>
- Byrne, C., Divekar, S.D., Storchan, G.B., Parodi, D.A., Martin, M.B., 2013. Metals and Breast Cancer. *J. Mammary Gland Biol. Neoplasia* 18, 63–73. <https://doi.org/10.1007/s10911-013-9273-9>
- Cardenas, A., Hauser, R., Gold, D.R., Kleinman, K.P., Hivert, M.-F., Fleisch, A.F., Lin, P.-I.D., Calafat, A.M., Webster, T.F., Horton, E.S., Oken, E., 2018. Association of Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances With Adiposity. *JAMA Netw. Open* 1, e181493. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2018.1493>
- Casares, M.L., Ulierte, N., Matarán, A., Ramos, A., Zamorano, M., 2005. Solid industrial wastes and their management in Asegra (Granada, Spain). *Waste Manag.* 25, 1075–1082. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2005.02.023>

Castillo, A., Díaz, L.S., Chica, M., Espinar, J.A.L., 2004. Distribución espacial de nitratos en el acuífero de la Vega de Granada: análisis de las situaciones en 1983 y 2003. *Geogaceta* 115–118.

Castro-González, M.I., Méndez-Armenta, M., 2008. Heavy metals: Implications associated to fish consumption. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* 26, 263–271. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2008.06.001>

Centers for Disease Control and Prevention, 2009. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals.

Centers for Disease Control and Prevention, 2005. Third National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. United States Environmental Protection Agency.

Cetin, B., Yatkin, S., Bayram, A., Odabasi, M., 2007. Ambient concentrations and source apportionment of PCBs and trace elements around an industrial area in Izmir, Turkey. *Chemosphere* 69, 1267–1277. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.05.064>

Chahal, H., Drake, W., 2007. The endocrine system and ageing. *J. Pathol.* 211, 173–180. <https://doi.org/10.1002/path.2110>

Charazac, A., Hinault, C., Bost, F., Clavel, S., Chevalier, N., 2019. Low doses of persistent organic pollutants (PFOA and PCB153) increase the tumor aggressiveness of hormone-dependent cancer cells. Presented at the 21st European Congress of Endocrinology, BioScientifica. <https://doi.org/10.1530/endoabs.63.P999>

Chatterjee, S., Khunti, K., Davies, M.J., 2017. Type 2 diabetes. *The Lancet* 389, 2239–2251. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30058-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30058-2)

Cheng, M., Zhou, Y., Wang, B., Mu, G., Ma, J., Zhou, M., Wang, D., Yang, M., Cao, L., xie, L., Wang, X., Nie, X., Yu, L., Yuan, J., Chen, W., 2021. IL-22: A potential mediator of associations between urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites with fasting plasma glucose and type 2 diabetes. *J. Hazard. Mater.* 401, 123278. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123278>

Christensen, K.Y., Raymond, M., Meiman, J., 2019. Perfluoroalkyl substances and metabolic syndrome. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.08.014>

Chubb, L.S., Andersen, M.E., Broccardo, C.J., Legare, M.E., Billings, R.E., Dean, C.E., Hanneman, W.H., 2004. Regional Induction of CYP1A1 in Rat Liver Following Treatment with Mixtures of PCB 126 and PCB 153. *Toxicol. Pathol.* 32, 467–473. <https://doi.org/10.1080/01926230490483306>

Cinkajzlová, A., Mráz, M., Haluzík, M., 2022. Adipose tissue immune cells in obesity, type 2 diabetes mellitus and cardiovascular diseases. *J. Endocrinol.* 252, R1–R22. <https://doi.org/10.1530/JOE-21-0159>

Clark, P.M., 1999. Assays for Insulin, Proinsulin(S) and C-Peptide. *Ann. Clin. Biochem.* 36, 541–564. <https://doi.org/10.1177/000456329903600501>

Clarkson, T.W., Friberg, L., Nordberg, G.F., Sager, P.R., 2012. *Biological Monitoring of Toxic Metals*. Springer Science & Business Media.

Coggon, D., 1988. Living with Risk. The British Medical Association Guide. *J. R. Coll. Physicians Lond.* 22, 53.

Çok, I., Hakan Şatiroğlu, M., 2004. Polychlorinated biphenyl levels in adipose tissue of primiparous women in Turkey. *Environ. Int.* 30, 7–10. [https://doi.org/10.1016/S0160-4120\(03\)00140-5](https://doi.org/10.1016/S0160-4120(03)00140-5)

Comisión Europea, 2019. Attitudes of Europeans towards the Environment - marzo 2020 - - Eurobarometer survey [WWW Document]. URL <https://europa.eu/eurobarometer/surveys/detail/2257> (accessed 6.20.22).

- Cooke, P.S., Sato, T., Buchanan, D.L., 2001. Disruption of Steroid Hormone Signaling by PCBs, in: PCBs: Recent Advances in Environmental Toxicology and Health Effects. University Press of Kentucky.
- Covaci, A., de Boer, J., Ryan, J.J., Voorspoels, S., Schepens, P., 2002. Distribution of Organobrominated and Organochlorinated Contaminants in Belgian Human Adipose Tissue. *Environ. Res.* 88, 210–218. <https://doi.org/10.1006/enrs.2002.4334>
- Cukrov, N., Frančišković-Bilinski, S., Mikac, N., Roje, V., 2008. Natural and anthropogenic influences recorded in sediments from the Krka river estuary (Eastern Adriatic coast), evaluated by statistical methods. *Fresenius Environ. Bull.* 17, 855–863.
- Czech, M.P., 2020. Mechanisms of insulin resistance related to white, beige, and brown adipocytes. *Mol. Metab.* 34, 27–42. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.12.014>
- Dai, Q., Min, X., Weng, M., 2016. A review of polychlorinated biphenyls (PCBs) pollution in indoor air environment. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 66, 941–950. <https://doi.org/10.1080/10962247.2016.1184193>
- Datos Espaciales de Referencia de Andalucía (DERA) para escalas intermedias, Divisiones administrativas., 2014.
- de Ronde, W., van der Schouw, Y.T., Muller, M., Grobbee, D.E., Gooren, L.J.G., Pols, H.A.P., de Jong, F.H., 2005. Associations of Sex-Hormone-Binding Globulin (SHBG) with Non-SHBG-Bound Levels of Testosterone and Estradiol in Independently Living Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 90, 157–162. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-0422>
- Decaroli, M.C., Rochira, V., 2016. Aging and sex hormones in males. *Virulence* 8, 545–570. <https://doi.org/10.1080/21505594.2016.1259053>
- deCastro, B.R., Korricks, S.A., Spengler, J.D., Soto, A.M., 2006. Estrogenic Activity of Polychlorinated Biphenyls Present in Human Tissue and the Environment. *Environ. Sci. Technol.* 40, 2819–2825. <https://doi.org/10.1021/es051667u>
- Di Nisio, A., Sabovic, I., Valente, U., Tescari, S., Rocca, M.S., Guidolin, D., Dall'Acqua, S., Acquasaliente, L., Pozzi, N., Plebani, M., Garolla, A., Foresta, C., 2019. Endocrine Disruption of Androgenic Activity by Perfluoroalkyl Substances: Clinical and Experimental Evidence. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 104, 1259–1271. <https://doi.org/10.1210/jc.2018-01855>
- Díaz-Sáez, J., Catalán-Matamoros, D., Fernández-Martínez, M.M., Granados-Gámez, G., 2011. La comunicación y la satisfacción de las primíparas en un servicio público de salud. *Gac. Sanit.* 25, 483–489.
- Díez, M., Simón, M., Martín, F., Dorronsoro, C., García, I., Van Gestel, C.A.M., 2009. Ambient trace element background concentrations in soils and their use in risk assessment. *Sci. Total Environ.* 407, 4622–4632. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.05.012>
- Du, G., Hu, J., Huang, Z., Yu, M., Lu, C., Wang, X., Wu, D., 2019. Neonatal and juvenile exposure to perfluorooctanoate (PFOA) and perfluorooctane sulfonate (PFOS): Advance puberty onset and kisspeptin system disturbance in female rats. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 167, 412–421. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.10.025>
- Dutta-Bergman, M.J., 2004. Primary Sources of Health Information: Comparisons in the Domain of Health Attitudes, Health Cognitions, and Health Behaviors. *Health Commun.* 16, 273–288. https://doi.org/10.1207/S15327027HC1603_1
- Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Iribarne-Durán, L.M., Fiket, Ž., Dolenc, M., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Arrebola, J.P., 2019. Levels and determinants of adipose tissue cadmium concentrations in an adult cohort from Southern Spain. *Sci. Total Environ.* 670, 1028–1036. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.03.114>

- Echeverría, R., Vrhovnik, P., Salcedo-Bellido, I., Pérez-Carrascosa, F.M., Gómez-Peña, C., Fiket, Ž., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Fernández, M.F., Arrebola, J.P., 2021. Associations of residential and occupational history with the distribution of persistent pollutant mixtures in adipose tissue samples. *Environ. Res.* 194, 110687. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110687>
- Eckel, R.H., Grundy, S.M., Zimmet, P.Z., 2005. The metabolic syndrome. *The Lancet* 365, 1415–1428. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)66378-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)66378-7)
- Egger, A.E., Grabmann, G., Gollmann-Tepeköylü, C., Pechriggl, E.J., Artner, C., Türkcan, A., Hartinger, C.G., Fritsch, H., Keppler, B.K., Brenner, E., Grimm, M., Messner, B., Bernhard, D., 2019. Chemical imaging and assessment of cadmium distribution in the human body†. *Metallomics* 11, 2010–2019. <https://doi.org/10.1039/c9mt00178f>
- Eljarrat, E., Martínez, M.Á., Sanz, P., Concejero, M.Á., Piña, B., Quirós, L., Raldúa, D., Barceló, D., 2008. Distribution and biological impact of dioxin-like compounds in risk zones along the Ebro River basin (Spain). *Chemosphere* 71, 1156–1161. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2007.10.031>
- El-Kashoury, A.A., Salama, A.F., Selim, A.I., Mohamed, R.A., 2010. Chronic Exposure Of Dicofol Promotes Reproductive Toxicity In Male Rats. *Life Sci. J.* 7, 5–19.
- Elmlinger, M.W., Kühnel, W., Wormstall, H., Döller, P.C., 2005. Reference intervals for testosterone, androstenedione and SHBG levels in healthy females and males from birth until old age. *Clin. Lab.* 51, 625–632.
- Esteban, M., Ruiz-Moraga, M., Pérez-Gómez, B., Castaño, A., 2013. Aspectos prácticos de la fase preanalítica del estudio de biovigilancia BIOAMBIENT.ES. *Gac. Sanit.* 27, 77–80. <https://doi.org/10.1016/j.gaceta.2012.07.004>
- European Food Safety Authority, 2005. Non-dioxin like PCB contaminant levels decreasing in food and animal feed - continuing effort needed to further reduce possible risks to human health | EFSA [WWW Document]. URL <https://www.efsa.europa.eu/en/press/news/051130> (accessed 6.20.22).
- Fait, T., 2019. Menopause hormone therapy: latest developments and clinical practice. *Drugs Context* 8, 212551. <https://doi.org/10.7573/dic.212551>
- Feng, W., Cui, X., Liu, B., Liu, C., Xiao, Y., Lu, W., Guo, H., He, M., Zhang, X., Yuan, J., Chen, W., Wu, T., 2015. Association of Urinary Metal Profiles with Altered Glucose Levels and Diabetes Risk: A Population-Based Study in China. *PLOS ONE* 10, e0123742. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123742>
- Ferguson, K.K., Hauser, R., Altshul, L., Meeker, J.D., 2012. Serum concentrations of p, p'-DDE, HCB, PCBs and reproductive hormones among men of reproductive age. *Reprod. Toxicol.* 34, 429–435. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2012.04.006>
- Fernández, M., Cuesta, S., Jiménez, O., García, M.A., Hernández, L.M., Marina, M.L., González, M.J., 2000. Organochlorine and heavy metal residues in the water/sediment system of the Southeast Regional Park in Madrid, Spain. *Chemosphere* 41, 801–812. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00004-7](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00004-7)
- Fernández-Bergés, D., Cabrera de León, A., Sanz, H., Elosua, R., Guembe, M.J., Alzamora, M., Vega-Alonso, T., Félix-Redondo, F.J., Ortiz-Marrón, H., Rigo, F., Lama, C., Gavrila, D., Segura-Fragoso, A., Lozano, L., Marrugat, J., 2012. Síndrome metabólico en España: prevalencia y riesgo coronario asociado a la definición armonizada y a la propuesta por la OMS. *Estudio DARIOS. Rev. Esp. Cardiol.* 65, 241–248. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2011.10.015>
- Ferrer, R.A., Klein, W.M., 2015. Risk perceptions and health behavior. *Curr. Opin. Psychol., Health behavior* 5, 85–89. <https://doi.org/10.1016/j.copsyc.2015.03.012>

Fiedler, H., Kallenborn, R., Boer, J. de, Sydnés, L.K., 2019. The Stockholm Convention: A Tool for the Global Regulation of Persistent Organic Pollutants. *Chem. Int.* 41, 4–11. <https://doi.org/10.1515/ci-2019-0202>

Fiket, Ž., Roje, V., Mikac, N., Kniewald, G., 2007. Determination of arsenic and other trace elements in bottled waters by high resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Croat. Chem. Acta* 80 (1), 91–100.

Fontalba-Navas, A., Zafra Aparici, E., Prata-Gaspar, M.C. de M., Herrera-Espejo, E., Company-Morales, M., Larrea-Killinger, C., 2020. Motivating Pregnant and Breastfeeding Women in Spain to Avoid Persistent Toxic Substances in Their Diet. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17, 8719. <https://doi.org/10.3390/ijerph17238719>

Fox, J., Weisberg, S., 2019. *An R Companion to Applied Regression*. Sage, Thousand Oaks CA, USA.

Franks, P.W., McCarthy, M.I., 2016. Exposing the exposures responsible for type 2 diabetes and obesity. *Science* 354, 69–73. <https://doi.org/10.1126/science.aaf5094>

Free Software Foundation, 2018. QGIS version 3.8.0 Zanzibar.

Freire, C., Amaya, E., Gil, F., Fernández, M.F., Murcia, M., Llop, S., Andiarena, A., Aurrekoetxea, J., Bustamante, M., Guxens, M., Ezama, E., Fernández-Tardón, G., Olea, N., 2018. Prenatal co-exposure to neurotoxic metals and neurodevelopment in preschool children: The Environment and Childhood (INMA) Project. *Sci. Total Environ.* 621, 340–351. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.273>

Freire, C., Koifman, R.J., Sarcinelli, P.N., Rosa, A.C.S., Clapauch, R., Koifman, S., 2014. Association between serum levels of organochlorine pesticides and sex hormones in adults living in a heavily contaminated area in Brazil. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 217, 370–378. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2013.07.012>

Freire, C., Vrhovnik, P., Fiket, Ž., Salcedo-Bellido, I., Echeverría, R., Martín-Olmedo, P., Kniewald, G., Fernández, M.F., Arrebola, J.P., 2020. Adipose tissue concentrations of arsenic, nickel, lead, tin, and titanium in adults from GraMo cohort in Southern Spain: An exploratory study. *Sci. Total Environ.* 719, 137458. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137458>

Gallo, M.V., Ravenscroft, J., Carpenter, D.O., Schell, L.M., 2018. Persistent organic pollutants as predictors of increased FSH:LH ratio in naturally cycling, reproductive age women. *Environ. Res.* 164, 556–564. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.03.021>

García-Pérez, J., Boldo, E., Ramis, R., Pollán, M., Pérez-Gómez, B., Aragonés, N., López-Abente, G., 2007. Description of industrial pollution in Spain. *BMC Public Health* 7, 40. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-7-40>

García-Soldado, 2013. Metodología basada en SIG para el desarrollo de un Sistema Soporte de Decisión en la gestión de la calidad de los recursos hídricos subterráneos de la “Vega de Granada.” Universidad de Granada.

Giwerzman, A., Rignell, -Hydbom Anna, Toft, G., Rylander, L., Hagmar, L., Lindh, C., Pedersen, H.S., Ludwicki, J.K., Lesovoy, V., Shvets, M., Spano, M., Manicardi, G.C., Bizzaro, D., Bonefeld, -Jorgensen Eva C., Bonde, J.P., null, null, 2006. Reproductive Hormone Levels in Men Exposed to Persistent Organohalogen Pollutants: A Study of Inuit and Three European Cohorts. *Environ. Health Perspect.* 114, 1348–1353. <https://doi.org/10.1289/ehp.8935>

Glynn, A., Berger, U., Bignert, A., Ullah, S., Aune, M., Lignell, S., Darnerud, P.O., 2012. Perfluorinated Alkyl Acids in Blood Serum from Primiparous Women in Sweden: Serial Sampling during Pregnancy and Nursing, And Temporal Trends 1996–2010. *Environ. Sci. Technol.* 46, 9071–9079. <https://doi.org/10.1021/es301168c>

- Gonzalez, C.A., Riboli, E., 2010. Diet and cancer prevention: Contributions from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl.* 1990 46, 2555–2562. <https://doi.org/10.1016/j.ejca.2010.07.025>
- Gore, A.C., Chappell, V.A., Fenton, S.E., Flaws, J.A., Nadal, A., Prins, G.S., Toppari, J., Zoeller, R.T., 2015. Executive Summary to EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr. Rev.* 36, 593–602. <https://doi.org/10.1210/er.2015-1093>
- Gore, A.C., Wu, T.J., Oung, T., Lee, J.B., Woller, M.J., 2002. A Novel Mechanism for Endocrine-Disrupting Effects of Polychlorinated Biphenyls: Direct Effects on Gonadotropin-Releasing Hormone Neurons. *J. Neuroendocrinol.* 14, 814–823. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2002.00845.x>
- Graber, J.M., Alexander, C., Laumbach, R.J., Black, K., Strickland, P.O., Georgopoulos, P.G., Marshall, E.G., Shendell, D.G., Alderson, D., Mi, Z., Mascari, M., Weisel, C.P., 2019. Per and polyfluoroalkyl substances (PFAS) blood levels after contamination of a community water supply and comparison with 2013–2014 NHANES. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 29, 172–182. <https://doi.org/10.1038/s41370-018-0096-z>
- Grau, M., Elosua, R., Cabrera de León, A., Guembe, M.J., Baena-Díez, J.M., Vega Alonso, T., Javier Félix, F., Zorrilla, B., Rigo, F., Lapetra, J., Gavrilá, D., Segura, A., Sanz, H., Fernández-Bergés, D., Fitó, M., Marrugat, J., 2011. Factores de riesgo cardiovascular en España en la primera década del siglo xxi: análisis agrupado con datos individuales de 11 estudios de base poblacional, estudio DARIOS. *Rev. Esp. Cardiol.* 64, 295–304. <https://doi.org/10.1016/j.recesp.2010.11.005>
- Grün, F., Blumberg, B., 2006. Environmental Obesogens: Organotins and Endocrine Disruption via Nuclear Receptor Signaling. *Endocrinology* 147, s50–s55. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1129>
- Guo, F.F., Hu, Z.-Y., Li, B.-Y., Qin, L.-Q., Fu, C., Yu, H., Zhang, Z.-L., 2019. Evaluation of the association between urinary cadmium levels below threshold limits and the risk of diabetes mellitus: a dose-response meta-analysis. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 26, 19272–19281. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-04943-3>
- Guo, W., Pan, B., Sakkiah, S., Yavas, G., Ge, W., Zou, W., Tong, W., Hong, H., 2019. Persistent Organic Pollutants in Food: Contamination Sources, Health Effects and Detection Methods. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 16, 4361. <https://doi.org/10.3390/ijerph16224361>
- Hagmar, L., Björk, J., Sjödin, A., Bergman, A., Erfurth, E.M., 2001. Plasma levels of persistent organohalogen and hormone levels in adult male humans. *Arch. Environ. Health* 56, 138–143. <https://doi.org/10.1080/00039890109604065>
- Han, J.C., Park, S.Y., Hah, B.G., Choi, G.H., Kim, Y.K., Kwon, T.H., Kim, E.K., Lachal, M., Jung, C.Y., Lee, W., 2003. Cadmium induces impaired glucose tolerance in rat by down-regulating GLUT4 expression in adipocytes. *Arch. Biochem. Biophys.* 413, 213–220. [https://doi.org/10.1016/S0003-9861\(03\)00120-6](https://doi.org/10.1016/S0003-9861(03)00120-6)
- Han, X., Zhang, F., Meng, L., Xu, Y., Li, Y., Li, A., Turyk, M.E., Yang, R., Wang, P., Zhang, J., Zhang, Q., Jiang, G., 2020. Exposure to organochlorine pesticides and the risk of type 2 diabetes in the population of East China. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 190, 110125. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110125>
- Hansen, A.F., Simić, A., Åsvold, B.O., Romundstad, P.R., Midthjell, K., Syversen, T., Flaten, T.P., 2017. Trace elements in early phase type 2 diabetes mellitus—A population-based study. The HUNT study in Norway. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 40, 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2016.12.008>
- Harding, A.K., Daston, G.P., Boyd, G.R., Lucier, G.W., Safe, S.H., Stewart, J., Tillitt, D.E., Van, D.K.G., 2006. Endocrine Disrupting Chemicals Research Program of the U.S. Environmental Protection Agency: Summary of a Peer-Review Report. *Environ. Health Perspect.* 114, 1276–1282. <https://doi.org/10.1289/ehp.8875>

Harlow, Siobán D., Hood, M.M., Ding, N., Mukherjee, B., Calafat, A.M., Randolph, J.F., Gold, E.B., Park, S.K., 2021. Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Hormone Levels During the Menopausal Transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 106, e4427–e4437. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab476>

Harlow, Siobán D., Hood, M.M., Ding, N., Mukherjee, B., Calafat, A.M., Randolph, J.F., Jr, Gold, E.B., Park, S.K., 2021. Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Hormone Levels During the Menopausal Transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 106, e4427–e4437. <https://doi.org/10.1210/clinem/dgab476>

Harner, T., Shoeib, M., Diamond, M., Stern, G., Rosenberg, B., 2004. Using Passive Air Samplers To Assess Urban–Rural Trends for Persistent Organic Pollutants. 1. Polychlorinated Biphenyls and Organochlorine Pesticides. *Environ. Sci. Technol.* 38, 4474–4483. <https://doi.org/10.1021/es040302r>

Haugen, T.B., Tefre, T., Malm, G., Jönsson, B.A.G., Rylander, L., Hagmar, L., Bjørsvik, C., Henrichsen, T., Sæther, T., Figenschau, Y., Giwercman, A., 2011. Differences in serum levels of CB-153 and p,p'-DDE, and reproductive parameters between men living south and north in Norway. *Reprod. Toxicol.* 32, 261–267. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2011.06.072>

Heindel, J.J., Blumberg, B., 2019. Environmental Obesogens: Mechanisms and Controversies. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 59, 89–106. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010818-021304>

Heindel, J.J., Blumberg, B., Cave, M., Machtiger, R., Mantovani, A., Mendez, M.A., Nadal, A., Palanza, P., Panzica, G., Sargis, R., Vandenberg, L.N., vom Saal, F., 2017. Metabolism disrupting chemicals and metabolic disorders. *Reprod. Toxicol., Developmental Origins of Disease* 68, 3–33. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2016.10.001>

Hetemäki, N., Savolainen-Peltonen, H., Tikkanen, M.J., Wang, F., Paatela, H., Hämäläinen, E., Turpeinen, U., Haanpää, M., Vihma, V., Mikkola, T.S., 2017. Estrogen Metabolism in Abdominal Subcutaneous and Visceral Adipose Tissue in Postmenopausal Women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 102, 4588–4595. <https://doi.org/10.1210/jc.2017-01474>

Hjortenkrans, D.S.T., Bergbäck, B.G., Häggerud, A.V., 2007. Metal emissions from brake linings and tires: case studies of Stockholm, Sweden 1995/1998 and 2005. *Environ. Sci. Technol.* 41, 5224–5230. <https://doi.org/10.1021/es070198o>

Hossain, M.F., 2006. Arsenic contamination in Bangladesh—An overview. *Agric. Ecosyst. Environ.* 113, 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2005.08.034>

Hu, X.C., Dassuncao, C., Zhang, X., Grandjean, P., Weihe, P., Webster, G.M., Nielsen, F., Sunderland, E.M., 2018. Can profiles of poly- and Perfluoroalkyl substances (PFASs) in human serum provide information on major exposure sources? *Environ. Health* 17, 11. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0355-4>

Hurtado, M.D., Vella, A., 2019. What is type 2 diabetes? *Medicine (Baltimore)* 47, 10–15. <https://doi.org/10.1016/j.mpmed.2018.10.010>

IBM Corp., 2011. IBM SPSS Statistics for Windows, v 20.0. IBM Corp, Armonk, NY.

IGME, 2005. VI Simposio del agua en Andalucía.

Instituto Geográfico Nacional, 2019. Cartografía del Sistema de Información del Atlas Nacional de España (CARTOSIANE).

Instituto Geográfico Nacional, 2017. Mapa minero, Atlas Nacional de España, 2017.

Instituto Nacional de Estadística, 2021a. Encuesta Europea de Salud en España 2020. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social, España.

Instituto Nacional de Estadística, 2021b. Contabilidad Regional de España. Revisión Estadística 2019.

Instituto Nacional de Estadística, 2020. Profesionales Sanitarios Colegiados 2019.

Instituto Nacional de Estadística, 2018. Encuesta de fecundidad 2018 [WWW Document]. INE. URL https://www.ine.es/dyngs/INEbase/operacion.htm?c=Estadistica_C&cid=1254736177006&menu=resultados&idp=1254735573002 (accessed 6.21.22).

Instituto Tecnológico Geominero de España, 1998. Mapa Hidrogeológico de Andalucía.

Jacquet, A., Cottet-Rousselle, C., Arnaud, J., Julien Saint Amand, K., Ben Messaoud, R., Lénon, M., Demeilliers, C., Moulis, J.-M., 2018. Mitochondrial Morphology and Function of the Pancreatic β -Cells INS-1 Model upon Chronic Exposure to Sub-Lethal Cadmium Doses. *Toxics* 6, 20. <https://doi.org/10.3390/toxics6020020>

Jaishankar, M., Tseten, T., Anbalagan, N., Mathew, B.B., Beeregowda, K.N., 2014. Toxicity, mechanism and health effects of some heavy metals. *Interdiscip. Toxicol.* 7, 60–72. <https://doi.org/10.2478/intox-2014-0009>

Janesick, A., Blumberg, B., 2011. Endocrine disrupting chemicals and the developmental programming of adipogenesis and obesity. *Birth Defects Res. Part C Embryo Today Rev.* 93, 34–50. <https://doi.org/10.1002/bdrc.20197>

Joffe, M., 1992. Validity of exposure data derived from a structured questionnaire. *Am. J. Epidemiol.* 135, 564–570. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a116323>

Jones, K.C., de Voogt, P., 1999a. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ. Pollut.* 100, 209–221. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00098-6)

Jones, K.C., de Voogt, P., 1999b. Persistent organic pollutants (POPs): state of the science. *Environ. Pollut.* 100, 209–221. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(99\)00098-6](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(99)00098-6)

Junta de Andalucía - Consejería de Salud (Ed.), 2004. Plan para la promoción de la actividad física y la alimentación equilibrada 2004-2008.

Kahn, L.G., Philippat, C., Nakayama, S.F., Slama, R., Trasande, L., 2020. Endocrine-disrupting chemicals: implications for human health. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 8, 703–718. [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(20\)30129-7](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(20)30129-7)

Kelce, W.R., Stone, C.R., Laws, S.C., Gray, L.E., Kemppainen, J.A., Wilson, E.M., 1995. Persistent DDT metabolite p,p'-DDE is a potent androgen receptor antagonist. *Nature* 375, 581–585. <https://doi.org/10.1038/375581a0>

Kester, M.H.A., Bulduk, S., Tibboel, D., Meinl, W., Glatt, H., Falany, C.N., Coughtrie, M.W.H., Bergman, A., Safe, S.H., Kuiper, G.G.J.M., Schuur, A.G., Brouwer, A., Visser, T.J., 2000. Potent Inhibition of Estrogen Sulfotransferase by Hydroxylated PCB Metabolites: A Novel Pathway Explaining the Estrogenic Activity of PCBs. *Endocrinology* 141, 1897–1900. <https://doi.org/10.1210/endo.141.5.7530>

Kim, M.-J., Marchand, P., Henegar, C., Antignac, J.-P., Alili, R., Poitou, C., Bouillot, J.-L., Basdevant, A., Le, B.B., Barouki, R., Clément K., 2011. Fate and Complex Pathogenic Effects of Dioxins and Polychlorinated Biphenyls in Obese Subjects before and after Drastic Weight Loss. *Environ. Health Perspect.* 119, 377–383. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002848>

Kitamura, S., Jinno, N., Suzuki, T., Sugihara, K., Ohta, S., Kuroki, H., Fujimoto, N., 2005. Thyroid hormone-like and estrogenic activity of hydroxylated PCBs in cell culture. *Toxicology* 208, 377–387. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2004.11.037>

Kizalaite, A., Brimiene, V., Brimas, G., Kiuberis, J., Tautkus, S., Zarkov, A., Kareiva, A., 2019. Determination of Trace Elements in Adipose Tissue of Obese People by Microwave-Assisted Digestion and Inductively

- Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry. *Biol. Trace Elem. Res.* 189, 10–17. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1450-7>
- Kortenkamp, A., 2007. Ten Years of Mixing Cocktails: A Review of Combination Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals. *Environ. Health Perspect.* 115, 98–105. <https://doi.org/10.1289/ehp.9357>
- Koskenniemi, J.J., Virtanen, H.E., Kiviranta, H., Damgaard, I.N., Matomäki, J., Thorup, J.M., Hurme, T., Skakkebaek, N.E., Main, K.M., Toppari, J., 2015. Association between levels of persistent organic pollutants in adipose tissue and cryptorchidism in early childhood: a case–control study. *Environ. Health* 14, 78. <https://doi.org/10.1186/s12940-015-0065-0>
- Kuhn, M., 2020. caret: Classification and Regression Training.
- La Merrill, M.A., Emond, C., Kim, M.J., Antignac, J.-P., Le, B.B., Clément K., Birnbaum, L.S., Barouki, R., 2013. Toxicological Function of Adipose Tissue: Focus on Persistent Organic Pollutants. *Environ. Health Perspect.* 121, 162–169. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205485>
- La Merrill, M.A., Vandenberg, L.N., Smith, M.T., Goodson, W., Browne, P., Patisaul, H.B., Guyton, K.Z., Kortenkamp, A., Coglianò, V.J., Woodruff, T.J., Rieswijk, L., Sone, H., Korach, K.S., Gore, A.C., Zeise, L., Zoeller, R.T., 2020. Consensus on the key characteristics of endocrine-disrupting chemicals as a basis for hazard identification. *Nat. Rev. Endocrinol.* 16, 45–57. <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0273-8>
- La Merrill Michele, Emond Claude, Kim Min Ji, Antignac Jean-Philippe, Le Bizec Bruno, Clément Karine, Birnbaum Linda S., Barouki Robert, 2013. Toxicological Function of Adipose Tissue: Focus on Persistent Organic Pollutants. *Environ. Health Perspect.* 121, 162–169. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205485>
- Lagarde, F., Beausoleil, C., Belcher, S.M., Belzunces, L.P., Emond, C., Guerbet, M., Rousselle, C., 2015. Non-monotonic dose–response relationships and endocrine disruptors: a qualitative method of assessment. *Environ. Health* 14, 13. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-14-13>
- Lallas, P.L., 2001. The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants. *Am. J. Int. Law* 95, 692–708. <https://doi.org/10.2307/2668517>
- Lambertino, A., Persky, V., Freels, S., Anderson, H., Unterman, T., Awadalla, S., Turyk, M., 2021. Associations of PCBS, dioxins and furans with follicle-stimulating hormone and luteinizing hormone in postmenopausal women: National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2002. *Chemosphere* 262, 128309. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128309>
- Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., Seed, J., 2007. Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicol. Sci.* 99, 366–394. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm128>
- Lauretta, R., Sansone, A., Sansone, M., Romanelli, F., Appetecchia, M., 2019. Endocrine Disrupting Chemicals: Effects on Endocrine Glands. *Front. Endocrinol.* 10.
- Le Magueresse-Battistoni, B., Vidal, H., Naville, D., 2018. Environmental Pollutants and Metabolic Disorders: The Multi-Exposure Scenario of Life. *Front. Endocrinol.* 9.
- Lee, D.-H., Porta, M., Jacobs, D.R., Vandenberg, L.N., 2014. Chlorinated Persistent Organic Pollutants, Obesity, and Type 2 Diabetes. *Endocr. Rev.* 35, 557–601. <https://doi.org/10.1210/er.2013-1084>
- Lee, D.-H., Steffes, M.W., Sjödin, A., Jones, R.S., Needham, L.L., Jr, D.R.J., 2011. Low Dose Organochlorine Pesticides and Polychlorinated Biphenyls Predict Obesity, Dyslipidemia, and Insulin Resistance among People Free of Diabetes. *PLOS ONE* 6, e15977. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015977>
- Lee, Y.-M., Kim, K.-S., Jacobs, D.R., Lee, D.-H., 2017. Persistent organic pollutants in adipose tissue should be considered in obesity research. *Obes. Rev.* 18, 129–139. <https://doi.org/10.1111/obr.12481>

- León, J., Sáenz, J.M., Artacho-Cordón, F., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Salamanca-Fernández, E., Gómez-Peña, C., Olea, N., Arrebola, J.P., 2019. Contribution of sociodemographic, occupational, lifestyle and dietary characteristics to the oxidative stress microenvironment in adipose tissue. *Environ. Res.* 175, 52–62. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.04.035>
- Levin-Zamir, D., Bertschi, I., 2018. Media Health Literacy, eHealth Literacy, and the Role of the Social Environment in Context. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15, 1643. <https://doi.org/10.3390/ijerph15081643>
- Lewis, R.C., Johns, L.E., Meeker, J.D., 2015. Serum Biomarkers of Exposure to Perfluoroalkyl Substances in Relation to Serum Testosterone and Measures of Thyroid Function among Adults and Adolescents from NHANES 2011–2012. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 12, 6098–6114. <https://doi.org/10.3390/ijerph120606098>
- Li, J., Cao, H., Feng, H., Xue, Q., Zhang, A., Fu, J., 2020. Evaluation of the Estrogenic/Antiestrogenic Activities of Perfluoroalkyl Substances and Their Interactions with the Human Estrogen Receptor by Combining In Vitro Assays and In Silico Modeling. *Environ. Sci. Technol.* 54, 14514–14524. <https://doi.org/10.1021/acs.est.0c03468>
- Li, Q.Q., Loganath, A., Chong, Y.S., Tan, J., Obbard, J.P., 2006. Persistent Organic Pollutants and Adverse Health Effects in Humans. *J. Toxicol. Environ. Health A* 69, 1987–2005. <https://doi.org/10.1080/15287390600751447>
- Li, Y., Fletcher, T., Mucs, D., Scott, K., Lindh, C.H., Tallving, P., Jakobsson, K., 2018. Half-lives of PFOS, PFHxS and PFOA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occup. Environ. Med.* 75, 46–51. <https://doi.org/10.1136/oemed-2017-104651>
- Lim, J.S., Son, H.-K., Park, S.-K., Jacobs, D.R., Lee, D.-H., 2011. Inverse associations between long-term weight change and serum concentrations of persistent organic pollutants. *Int. J. Obes.* 35, 744–747. <https://doi.org/10.1038/ijo.2010.188>
- Little, B.B., Reilly, R., Walsh, B., Vu, G.T., 2020. Cadmium Is Associated with Type 2 Diabetes in a Superfund Site Lead Smelter Community in Dallas, Texas. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 17, 4558. <https://doi.org/10.3390/ijerph17124558>
- Liu, G., Dhana, K., Furtado, J.D., Rood, J., Zong, G., Liang, L., Qi, L., Bray, G.A., DeJonge, L., Coull, B., Grandjean, P., Sun, Q., 2018. Perfluoroalkyl substances and changes in body weight and resting metabolic rate in response to weight-loss diets: A prospective study. *PLOS Med.* 15, e1002502. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002502>
- Lizneva, D., Rahimova, A., Kim, S.-M., Atabekov, I., Javaid, S., Alamoush, B., Taneja, C., Khan, A., Sun, L., Azziz, R., Yuen, T., Zaidi, M., 2019. FSH Beyond Fertility. *Front. Endocrinol.* 10.
- Lokeshappa, B., Shivpuri, K., Tripathi, V., K. Dikshit, A., 2012. Assessment of Toxic Metals in Agricultural Produce. *Food Public Health* 2, 24–29. <https://doi.org/10.5923/j.fph.20120201.05>
- López-Herranz, A., Cutanda, F., Esteban, M., Pollán, M., Calvo, E., Pérez-Gómez, B., Victoria Cortes, M., Castaño, A., 2016. Cadmium levels in a representative sample of the Spanish adult population: The BIOAMBIENT.ES project. *J. Expo. Sci. Environ. Epidemiol.* 26, 471–480. <https://doi.org/10.1038/jes.2015.25>
- Louis, G.M.B., Sundaram, R., Schisterman, E.F., Sweeney, A.M., Lynch, C.D., Gore, -Langton Robert E., Maisog, J., Kim, S., Chen, Z., Barr, D.B., 2013. Persistent Environmental Pollutants and Couple Fecundity: The LIFE Study. *Environ. Health Perspect.* 121, 231–236. <https://doi.org/10.1289/ehp.1205301>
- Louro, H., Heinälä, M., Bessems, J., Buekers, J., Vermeire, T., Woutersen, M., van Engelen, J., Borges, T., Rousselle, C., Ougier, E., Alvito, P., Martins, C., Assunção, R., Silva, M.J., Pronk, A., Schaddelee-Scholten,

- B., Del Carmen Gonzalez, M., de Alba, M., Castaño, A., Viegas, S., Humar-Juric, T., Kononenko, L., Lampen, A., Vinggaard, A.M., Schoeters, G., Kolossa-Gehring, M., Santonen, T., 2019a. Human biomonitoring in health risk assessment in Europe: Current practices and recommendations for the future. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 727–737. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.009>
- Louro, H., Heinälä, M., Bessems, J., Buekers, J., Vermeire, T., Woutersen, M., van Engelen, J., Borges, T., Rousselle, C., Ougier, E., Alvito, P., Martins, C., Assunção, R., Silva, M.J., Pronk, A., Schaddelee-Scholten, B., Del Carmen Gonzalez, M., de Alba, M., Castaño, A., Viegas, S., Humar-Juric, T., Kononenko, L., Lampen, A., Vinggaard, A.M., Schoeters, G., Kolossa-Gehring, M., Santonen, T., 2019b. Human biomonitoring in health risk assessment in Europe: Current practices and recommendations for the future. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 222, 727–737. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.05.009>
- Luo, K., Liu, X., Nian, M., Wang, Y., Qiu, J., Yu, H., Chen, X., Zhang, J., 2021. Environmental exposure to per- and polyfluoroalkyl substances mixture and male reproductive hormones. *Environ. Int.* 152, 106496. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106496>
- Luzardo, O.P., Goethals, M., Zumbado, M., Álvarez-León, E.E., Cabrera, F., Serra-Majem, Ll., Boada, L.D., 2006. Increasing serum levels of non-DDT-derivative organochlorine pesticides in the younger population of the Canary Islands (Spain). *Sci. Total Environ.* 367, 129–138. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.01.027>
- Ma, R., Sassoon, D.A., 2006. PCBs Exert an Estrogenic Effect through Repression of the Wnt7a Signaling Pathway in the Female Reproductive Tract. *Environ. Health Perspect.* 114, 898–904. <https://doi.org/10.1289/ehp.8748>
- Maddatu, J., Anderson-Baucum, E., Evans-Molina, C., 2017. Smoking and the risk of type 2 diabetes. *Transl. Res.* 184, 101–107. <https://doi.org/10.1016/j.trsl.2017.02.004>
- Madrigal, J.M., Sargis, R.M., Persky, V., Turyk, M.E., 2021. Multiple organochlorine pesticide exposures and measures of sex steroid hormones in adult males: Cross-sectional findings from the 1999–2004 National Health and Nutrition Examination Survey. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 231, 113609. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2020.113609>
- Maisonet, M., Calafat, A.M., Marcus, M., Jaakkola, J.J.K., Lashen, H., 2015. Prenatal Exposure to Perfluoroalkyl Acids and Serum Testosterone Concentrations at 15 Years of Age in Female ALSPAC Study Participants. *Environ. Health Perspect.* 123, 1325–1330. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408847>
- Maradonna, F., Carnevali, O., 2018. Lipid Metabolism Alteration by Endocrine Disruptors in Animal Models: An Overview. *Front. Endocrinol.* 9.
- Marano, K.M., Naufal, Z.S., Kathman, S.J., Bodnar, J.A., Borgerding, M.F., Garner, C.D., Wilson, C.L., 2012. Cadmium exposure and tobacco consumption: Biomarkers and risk assessment. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 64, 243–252. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.07.008>
- Martínez Vidal, J.L., Moreno Frías, M., Garrido Frenich, A., Olea-Serrano, F., Olea, N., 2002. Determination of endocrine-disrupting pesticides and polychlorinated biphenyls in human serum by GC-ECD and GC-MS-MS and evaluation of contributions to the uncertainty of the results. *Anal. Bioanal. Chem.* 372, 766–775. <https://doi.org/10.1007/s00216-002-1272-4>
- Martínez-Brocca, M.A., Mayoral-Sánchez, E., 2016. Plan Integral de Diabetes de Andalucía. Evaluación del II Plan Integral de Diabetes de Andalucía, actualización 2016. Junta de Andalucía. Consejería de Salud.
- Masron, T.A., Subramaniam, Y., 2019. Does Poverty Cause Environmental Degradation? Evidence from Developing Countries. *J. Poverty* 23, 44–64. <https://doi.org/10.1080/10875549.2018.1500969>

Matthies, M., Solomon, K., Vighi, M., Gilman, A., V. Tarazona, J., 2016. The origin and evolution of assessment criteria for persistent, bioaccumulative and toxic (PBT) chemicals and persistent organic pollutants (POPs). *Environ. Sci. Process. Impacts* 18, 1114–1128. <https://doi.org/10.1039/C6EM00311G>

Medina-Ramon, M., Zock, J., Kogevinas, M., Sunyer, J., Anto, J., 2003. Asthma symptoms in women employed in domestic cleaning: a community based study. *Thorax* 58, 950–954. <https://doi.org/10.1136/thorax.58.11.950>

Meeker, J.D., Hauser, R., 2010. Exposure to Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Male Reproduction. *Syst. Biol. Reprod. Med.* 56, 122–131. <https://doi.org/10.3109/19396360903443658>

Mercado, L.A., Freille, S.M., Vaca-Pereira, J.S., Cuellar, M., Flores, L., Mutch, E., Olea, N., Arrebola, J.P., 2013. Serum concentrations of p,p'-dichlorodiphenyltrichloroethane (p,p'-DDE) in a sample of agricultural workers from Bolivia. *Chemosphere* 91, 1381–1385. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.12.023>

Micó, C., Recatalá, L., Peris, M., Sánchez, J., 2006. Assessing heavy metal sources in agricultural soils of an European Mediterranean area by multivariate analysis. *Chemosphere* 65, 863–872. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.03.016>

Ministerio de Medio Ambiente, 2006. Perfil Ambiental de España 2005, Informe basado en indicadores [WWW Document]. URL <https://www.miteco.gob.es/es/calidad-y-evaluacion-ambiental/temas/informacion-ambiental-indicadores-ambientales/indicadores-ambientales-perfil-ambiental-de-espana/perfil-ambiental-de-espana-2005/default.aspx> (accessed 6.4.20).

Mohmand, J., Eqani, S.A.M.A.S., Fasola, M., Alamdar, A., Mustafa, I., Ali, N., Liu, L., Peng, S., Shen, H., 2015. Human exposure to toxic metals via contaminated dust: Bio-accumulation trends and their potential risk estimation. *Chemosphere* 132, 142–151. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2015.03.004>

Montano, D., 2014. Chemical and biological work-related risks across occupations in Europe: a review. *J. Occup. Med. Toxicol. Lond. Engl.* 9, 28. <https://doi.org/10.1186/1745-6673-9-28>

Moreno-Frías, M., Torres, M.J., Frenich, A.G., Vidal, J.L.M., Olea-Serrano, F., Olea, N., 2004. Determination of organochlorine compounds in human biological samples by GC-MS/MS. *Biomed. Chromatogr.* 18, 102–111. <https://doi.org/10.1002/bmc.300>

Müllerová, D., Kopecký, J., 2007. White adipose tissue: storage and effector site for environmental pollutants. *Physiol. Res.* 56, 375–382. <https://doi.org/10.33549/physiolres.931022>

Mustieles, V., Arrebola, J.P., 2020a. How polluted is your fat? What the study of adipose tissue can contribute to environmental epidemiology. *J. Epidemiol. Community Health*. <https://doi.org/10.1136/jech-2019-213181>

Mustieles, V., Arrebola, J.P., 2020b. How polluted is your fat? What the study of adipose tissue can contribute to environmental epidemiology. *J. Epidemiol. Community Health* 74, 401–407. <https://doi.org/10.1136/jech-2019-213181>

Mustieles, V., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., González-Alzaga, B., Fontalba-Navas, A., Hauser, R., Olea, N., Arrebola, J.P., 2017a. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: Combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. *Environ. Int.* 104, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.04.002>

Mustieles, V., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., González-Alzaga, B., Fontalba-Navas, A., Hauser, R., Olea, N., Arrebola, J.P., 2017b. Human adipose tissue levels of persistent organic pollutants and metabolic syndrome components: Combining a cross-sectional with a 10-year longitudinal study using a multi-pollutant approach. *Environ. Int.* 104, 48–57. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.04.002>

Nativelle-Serpentini, C., Richard, S., Séralini, G.-E., Sourdain, P., 2003. Aromatase activity modulation by lindane and bisphenol-A in human placental JEG-3 and transfected kidney E293 cells. *Toxicol. Vitro Int. J. Publ. Assoc. BIBRA* 17, 413–422. [https://doi.org/10.1016/s0887-2333\(03\)00046-8](https://doi.org/10.1016/s0887-2333(03)00046-8)

Neilands, J.B., 1970. Vietnam: Progress of the Chemical War. *Asian Surv.* 10, 209–229. <https://doi.org/10.2307/2642575>

Nieuwenhuijsen, M.J., Dadvand, P., Grellier, J., Martinez, D., Vrijheid, M., 2013. Environmental risk factors of pregnancy outcomes: a summary of recent meta-analyses of epidemiological studies. *Environ. Health* 12, 6. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-12-6>

Núñez, O., Fernández-Navarro, P., Martín-Méndez, I., Bel-Lan, A., Locutura, J.F., López-Abente, G., 2016. Arsenic and chromium topsoil levels and cancer mortality in Spain. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23, 17664–17675. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6806-y>

Oh, S.M., Ryu, B.T., Lee, S.K., Chung, K.H., 2007. Antiestrogenic potentials of ortho-PCB congeners by single or complex exposure. *Arch. Pharm. Res.* 30, 199–209. <https://doi.org/10.1007/BF02977695>

Okeme, J.O., Arrandale, V.H., 2019. Electronic Waste Recycling: Occupational Exposures and Work-Related Health Effects. *Curr. Environ. Health Rep.* 6, 256–268. <https://doi.org/10.1007/s40572-019-00255-3>

Olsen, G.W., Burris, J.M., Ehresman, D.J., Froehlich, J.W., Seacat, A.M., Butenhoff, J.L., Zobel, L.R., 2007. Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers. *Environ. Health Perspect.* 115, 1298–1305. <https://doi.org/10.1289/ehp.10009>

Padungtod, C., Lasley, B.L., Christiani, D.C., Ryan, L.M., Xu, X., 1998. Reproductive hormone profile among pesticide factory workers. *J. Occup. Environ. Med.* 40, 1038–1047. <https://doi.org/10.1097/00043764-199812000-00002>

Palmer, B.F., Clegg, D.J., 2015. The sexual dimorphism of obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 402, 113–119. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2014.11.029>

Pan, W., Ye, X., Yin, S., Ma, X., Li, C., Zhou, J., Liu, W., Liu, J., 2019. Selected persistent organic pollutants associated with the risk of primary ovarian insufficiency in women. *Environ. Int.* 129, 51–58. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.023>

Parviainen, A., Papaslioti, E.M., Casares-Porcel, M., Garrido, C.J., 2020. Antimony as a tracer of non-exhaust traffic emissions in air pollution in Granada (S Spain) using lichen bioindicators. *Environ. Pollut.* 263, 114482. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114482>

Pascal, M., Corso, M., Chanel, O., Declercq, C., Badaloni, C., Cesaroni, G., Henschel, S., Meister, K., Haluza, D., Martin-Olmedo, P., Medina, S., 2013. Assessing the public health impacts of urban air pollution in 25 European cities: Results of the Aphekom project. *Sci. Total Environ.* 449, 390–400. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.077>

Patterson, Jr., Donald G., Wong, L.-Y., Turner, W.E., Caudill, S.P., DiPietro, E.S., McClure, P.C., Cash, T.P., Osterloh, J.D., Pirkle, J.L., Sampson, E.J., Needham, L.L., 2009. Levels in the U.S. Population of those Persistent Organic Pollutants (2003–2004) Included in the Stockholm Convention or in other Long-Range Transboundary Air Pollution Agreements. *Environ. Sci. Technol.* 43, 1211–1218. <https://doi.org/10.1021/es801966w>

Pérez-Carrascosa, F.M., Barrios-Rodríguez, R., Gómez-Peña, C., Bellido, I.S., Velasco García, M.E., Jiménez- Moleón, J.J., García-Ruiz, A., Navarro-Espigares, J.L., Requena, P., Muñoz-Sánchez, C., Arrebola, J.P., 2022. Public healthcare costs associated with long-term exposure to mixtures of persistent organic

pollutants in two areas of Southern Spain: A longitudinal analysis. *Environ. Res.* 113609. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113609>

Pérez-Carrascosa, F.M., Gómez-Peña, C., Echeverría, R., Juan Jiménez Moleón, J., Manuel Melchor, J., García-Ruiz, A., Luis Navarro-Espigares, J., Cabeza-Barrera, J., Martín-Olmedo, P., Carlos Ortigosa-García, J., Arrebola, J.P., 2021. Historical exposure to persistent organic pollutants and cardiovascular disease: A 15-year longitudinal analysis focused on pharmaceutical consumption in primary care. *Environ. Int.* 156, 106734. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106734>

Peris, M., Micó, C., Recatalá, L., Sánchez, R., Sánchez, J., 2007. Heavy metal contents in horticultural crops of a representative area of the European Mediterranean region. *Sci. Total Environ., Spanish Research on Soil Damage* 378, 42–48. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.01.030>

Persky, V., Piorkowski, J., Turyk, M., Freels, S., Chatterton, R., Dimos, J., Leon Bradlow, H., Kaatz Chary, L., Burse, V., Unterman, T., Sepkovic, D., McCann, K., 2011. Associations of polychlorinated biphenyl exposure and endogenous hormones with diabetes in post-menopausal women previously employed at a capacitor manufacturing plant. *Environ. Res.* 111, 817–824. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2011.05.012>

Persky, V., Turyk, M., Anderson, H.A., Hanrahan, L.P., Falk, C., Steenport, D.N., Chatterton, R., Freels, S., null, null, 2001. The effects of PCB exposure and fish consumption on endogenous hormones. *Environ. Health Perspect.* 109, 1275–1283. <https://doi.org/10.1289/ehp.011091275>

Petersen, K.U., Hærvig, K.K., Flachs, E.M., Bonde, J.P., Lindh, C., Hougaard, K.S., Toft, G., Ramlau-Hansen, C.H., Tøttenborg, S.S., 2022. Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and male reproductive function in young adulthood; a cross-sectional study. *Environ. Res.* 212, 113157. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113157>

Petersen, M.C., Shulman, G.I., 2018. Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol. Rev.* 98, 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev.00063.2017>

Petersen, M.S., Halling, J., Jørgensen, N., Nielsen, F., Grandjean, P., Jensen, T.K., Weihe, P., 2018. Reproductive Function in a Population of Young Faroese Men with Elevated Exposure to Polychlorinated Biphenyls (PCBs) and Perfluorinated Alkylate Substances (PFAS). *Int. J. Environ. Res. Public Health* 15, 1880. <https://doi.org/10.3390/ijerph15091880>

Phillips, D.L., Pirkle, J.L., Burse, V.W., Bernert, J.T., Henderson, L.O., Needham, L.L., 1989. Chlorinated hydrocarbon levels in human serum: effects of fasting and feeding. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 18, 495–500. <https://doi.org/10.1007/BF01055015>

Pinheiro, J., Bates, D., R Core Team, 2022. *nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*.

Pinos, H., Carrillo, B., Merchán, A., Biosca-Brull, J., Pérez-Fernández, C., Colomina, M.T., Sánchez-Santed, F., Martín-Sánchez, F., Collado, P., Arias, J.L., Conejo, N.M., 2021. Relationship between Prenatal or Postnatal Exposure to Pesticides and Obesity: A Systematic Review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 18, 7170. <https://doi.org/10.3390/ijerph18137170>

Plíšková, M., Vondráček, J., Canton, R.F., Nera, J., Kočan, A., Petřík, J., Trnovec, T., Sanderson, T., van den Berg, M., Machala, M., 2005. Impact of Polychlorinated Biphenyls Contamination on Estrogenic Activity in Human Male Serum. *Environ. Health Perspect.* 113, 1277–1284. <https://doi.org/10.1289/ehp.7745>

Porta, M., 2006. Persistent organic pollutants and the burden of diabetes. *The Lancet* 368, 558–559. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69174-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69174-5)

Porta, M., Puigdomènech, E., Ballester, F., Selva, J., Ribas-Fitó, N., Llop, S., López, T., 2008. Monitoring concentrations of persistent organic pollutants in the general population: The international experience. *Environ. Int.* 34, 546–561. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2007.10.004>

- Qi, W., Clark, J.M., Timme-Laragy, A.R., Park, Y., 2020. Per- and Polyfluoroalkyl Substances and Obesity, Type 2 Diabetes and Non-alcoholic Fatty Liver Disease: A Review of Epidemiologic Findings. *Toxicol. Environ. Chem.* 102, 1–36. <https://doi.org/10.1080/02772248.2020.1763997>
- Qin, Y.Y., Leung, C.K.M., Leung, A.O.W., Wu, S.C., Zheng, J.S., Wong, M.H., 2010. Persistent organic pollutants and heavy metals in adipose tissues of patients with uterine leiomyomas and the association of these pollutants with seafood diet, BMI, and age. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 17, 229–240. <https://doi.org/10.1007/s11356-009-0251-0>
- Qing Li, Q., Loganath, A., Seng Chong, Y., Tan, J., Philip Obbard, J., 2006. Persistent Organic Pollutants and Adverse Health Effects in Humans. *J. Toxicol. Environ. Health A* 69, 1987–2005. <https://doi.org/10.1080/15287390600751447>
- Qu, X., Donnelly, R., 2020. Sex Hormone-Binding Globulin (SHBG) as an Early Biomarker and Therapeutic Target in Polycystic Ovary Syndrome. *Int. J. Mol. Sci.* 21, E8191. <https://doi.org/10.3390/ijms21218191>
- R Core Team, 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Red de Información Ambiental de Andalucía, 2019. Ecobarómetro Andalucía 2018. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Desarrollo Sostenible, Junta de Andalucía.
- RED2RED, 2020. Género y cambio climático. Un diagnóstico de la situación. Instituto de la mujer, Ministerio de Igualdad, Gobierno de España.
- Reed, B.G., Carr, B.R., 2000. The Normal Menstrual Cycle and the Control of Ovulation, in: Feingold, K.R., Anawalt, B., Boyce, A., Chrousos, G., de Herder, W.W., Dhatariya, K., Dungan, K., Hershman, J.M., Hofland, J., Kalra, S., Kaltsas, G., Koch, C., Kopp, P., Korbonits, M., Kovacs, C.S., Kuohung, W., Laferrère, B., Levy, M., McGee, E.A., McLachlan, R., Morley, J.E., New, M., Purnell, J., Sahay, R., Singer, F., Sperling, M.A., Stratakis, C.A., Trencé, D.L., Wilson, D.P. (Eds.), *Endotext*. MDText.com, Inc., South Dartmouth (MA).
- Ren, X.-M., Kuo, Y., Blumberg, B., 2020. Agrochemicals and obesity. *Mol. Cell. Endocrinol.* 515, 110926. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2020.110926>
- Renzetti, S., Curtin, P., Just, Allan C., Bello, G., Gennings, C., 2021. gWQS: Generalized Weighted Quantile Sum Regression.
- Richter, P., Faroon, O., Pappas, R.S., 2017. Cadmium and Cadmium/Zinc Ratios and Tobacco-Related Morbidities. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 14, 1154. <https://doi.org/10.3390/ijerph14101154>
- Richthoff, J., Rylander, L., Jönsson, B.A.G., Akesson, H., Hagmar, L., Nilsson-Ehle, P., Stridsberg, M., Giwercman, A., 2003. Serum levels of 2,2',4,4',5,5'-hexachlorobiphenyl (CB-153) in relation to markers of reproductive function in young males from the general Swedish population. *Environ. Health Perspect.* 111, 409–413.
- Rivas, A., Fernandez, M.F., Cerrillo, I., Ibarluzea, J., Olea-Serrano, M.F., Pedraza, V., Olea, N., 2001. Human exposure to endocrine disrupters: standardisation of a marker of estrogenic exposure in adipose tissue. *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* 109, 185–197. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0463.2001.090302.x>
- Rodríguez-Pérez, C., Vrhovnik, P., González-Alzaga, B., Fernández, M.F., Martín-Olmedo, P., Olea, N., Fiket, Ž., Kniewald, G., Arrebola, J.P., 2018. Socio-demographic, lifestyle, and dietary determinants of essential and possibly-essential trace element levels in adipose tissue from an adult cohort. *Environ. Pollut.* 236, 878–888. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.09.093>

- Ruiz, P., Perlina, A., Mumtaz, M., Fowler, B.A., 2016. A Systems Biology Approach Reveals Converging Molecular Mechanisms that Link Different POPs to Common Metabolic Diseases. *Environ. Health Perspect.* 124, 1034–1041. <https://doi.org/10.1289/ehp.1510308>
- Sabath, E., Robles-Osorio, M.L., 2012. Renal health and the environment: heavy metal nephrotoxicity. *Nefrol. Engl. Ed.* 32, 279–286. <https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2012.Jan.10928>
- Sabir, S., Akash, M.S.H., Fiayyaz, F., Saleem, U., Mehmood, M.H., Rehman, K., 2019. Role of cadmium and arsenic as endocrine disruptors in the metabolism of carbohydrates: Inserting the association into perspectives. *Biomed. Pharmacother.* 114, 108802. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108802>
- Salcedo-Bellido, I., Amaya, E., Pérez-Díaz, C., Soler, A., Vela-Soria, F., Requena, P., Barrios-Rodríguez, R., Echeverría, R., Pérez-Carrascosa, F.M., Quesada-Jiménez, R., Martín-Olmedo, P., Arrebola, J.P., 2022. Differential Bioaccumulation Patterns of α , β -Hexachlorobenzene and Dicofol in Adipose Tissue from the GraMo Cohort (Southern Spain). *Int. J. Environ. Res. Public Health* 19, 3344. <https://doi.org/10.3390/ijerph19063344>
- Salihovic, S., Kärrman, A., Lind, L., Lind, P.M., Lindström, G., van Bavel, B., 2015. Perfluoroalkyl substances (PFAS) including structural PFOS isomers in plasma from elderly men and women from Sweden: Results from the Prospective Investigation of the Vasculature in Uppsala Seniors (PIVUS). *Environ. Int.* 82, 21–27. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.05.003>
- Sánchez Cruz, J.J., Sánchez Villegas, P., Moya Garrido, M.N., Mayoral Cortés, J.M., 2010. La salud en Andalucía según las Encuestas Andaluzas de Salud (EAS): EAS-1999, EAS-2003 y EAS-2007.
- Santra, A., Maiti, A., Chowdhury, A., Mazumder, D.N., 2000. Oxidative stress in liver of mice exposed to arsenic-contaminated water. *Indian J. Gastroenterol. Off. J. Indian Soc. Gastroenterol.* 19, 112–115.
- Sapin, R., 2003. Insulin assays: previously known and new analytical features. *Clin. Lab.* 49, 113–121.
- Sargis, R.M., Simmons, R.A., 2019. Environmental neglect: endocrine disruptors as underappreciated but potentially modifiable diabetes risk factors. *Diabetologia* 62, 1811–1822. <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4940-z>
- Satarug, S., Moore, M.R., 2004. Adverse Health Effects of Chronic Exposure to Low-Level Cadmium in Foodstuffs and Cigarette Smoke. *Environ. Health Perspect.* 112, 1099–1103. <https://doi.org/10.1289/ehp.6751>
- Schettgen, T., Alt, A., Schikowsky, C., Esser, A., Kraus, T., 2018. Human biomonitoring of polychlorinated biphenyls (PCBs) in plasma of former underground miners in Germany – A case-control study. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 221, 1007–1011. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.06.006>
- Schwarzenbach, R.P., Egli, T., Hofstetter, T.B., von Gunten, U., Wehrli, B., 2010. Global Water Pollution and Human Health. *Annu. Rev. Environ. Resour.* 35, 109–136. <https://doi.org/10.1146/annurev-environ-100809-125342>
- Secretariat of the Stockholm Convention, 2020. Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants (POPs).
- Servicio Público de Empleo Estatal, Ministerio de Trabajo, Migraciones y Seguridad Social del Gobierno de España (Ed.), 2019. Informe del mercado de trabajo de la provincia de Granada. Datos 2018.
- Shafei, A.E.-S., Nabih, E.S., Shehata, K.A., Abd Elfatah, E.S.M., Sanad, A. bakr A., Marey, M.Y., Hammouda, A.A.M.A., Mohammed, M.M.M., Mostafa, R., Ali, M.A., 2018. Prenatal Exposure to Endocrine Disruptors and Reprogramming of Adipogenesis: An Early-Life Risk Factor for Childhood Obesity. *Child. Obes.* 14, 18–25. <https://doi.org/10.1089/chi.2017.0180>

- Shan, Q., Li, H., Chen, N., Qu, F., Guo, J., 2020. Understanding the Multiple Effects of PCBs on Lipid Metabolism. *Diabetes Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.* 13, 3691–3702. <https://doi.org/10.2147/DMSO.S264851>
- Sherman, B.M., Korenman, S.G., 1975. Hormonal characteristics of the human menstrual cycle throughout reproductive life. *J. Clin. Invest.* 55, 699–706.
- Simić, A., Hansen, A.F., Åsvold, B.O., Romundstad, P.R., Midthjell, K., Syversen, T., Flaten, T.P., 2017. Trace element status in patients with type 2 diabetes in Norway: The HUNT3 Survey. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 41, 91–98. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.03.001>
- Skałba, P., Wójtowicz, M., Sikora, J., 2003. Androgen and SHBG serum concentrations in late post-menopause women. *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 9, CR152-156.
- Smeds, A., Saukko, P., 2001. Identification and quantification of polychlorinated biphenyls and some endocrine disrupting pesticides in human adipose tissue from Finland. *Chemosphere* 44, 1463–1471. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(00\)00313-1](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(00)00313-1)
- Solomon, G.M., Morello-Frosch, R., Zeise, L., Faust, J.B., 2016. Cumulative Environmental Impacts: Science and Policy to Protect Communities. *Annu. Rev. Public Health* 37, 83–96. <https://doi.org/10.1146/annurev-publhealth-032315-021807>
- Specht, I.O., Bonde, J.P.E., Toft, G., Giwercman, A., Spanò, M., Bizzaro, D., Manicardi, G.C., Jönsson, B.A.G., Robbins, W.A., 2015. Environmental hexachlorobenzene exposure and human male reproductive function. *Reprod. Toxicol.* 58, 8–14. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2015.07.074>
- Subdirección General de Calidad del Aire y Medio Ambiente Industrial, Ministerio para la Transición Ecológica, 2019. Evaluación de la Calidad del Aire en España 2018.
- Sun, H., Saeedi, P., Karuranga, S., Pinkepank, M., Ogurtsova, K., Duncan, B.B., Stein, C., Basit, A., Chan, J.C.N., Mbanya, J.C., Pavkov, M.E., Ramachandaran, A., Wild, S.H., James, S., Herman, W.H., Zhang, P., Bommer, C., Kuo, S., Boyko, E.J., Magliano, D.J., 2022. IDF Diabetes Atlas: Global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 183, 109119. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2021.109119>
- Svingen, T., Vinggaard, A.M., 2016. The risk of chemical cocktail effects and how to deal with the issue. *J Epidemiol Community Health* 70, 322–323. <https://doi.org/10.1136/jech-2015-206268>
- Tian, Y.-P., Zeng, X.-W., Bloom, M.S., Lin, S., Wang, S.-Q., Yim, S.H.L., Yang, M., Chu, C., Gurram, N., Hu, L.-W., Liu, K.-K., Yang, B.-Y., Feng, D., Liu, R.-Q., Nian, M., Dong, G.-H., 2019. Isomers of perfluoroalkyl substances and overweight status among Chinese by sex status: Isomers of C8 Health Project in China. *Environ. Int.* 124, 130–138. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.006>
- Tinkov, A.A., Aschner, M., Ke, T., Ferrer, B., Zhou, J.-C., Chang, J.-S., Santamaría, A., Chao, J.C.-J., Aaseth, J., Skalny, A.V., 2021. Adipotropic effects of heavy metals and their potential role in obesity. *Fac. Rev.* 10, 32. <https://doi.org/10.12703/r/10-32>
- Tinkov, A.A., Filippini, T., Ajsuvakova, O.P., Aaseth, J., Gluhcheva, Y.G., Ivanova, J.M., Bjørklund, G., Skalnaya, M.G., Gatiatulina, E.R., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., Vinceti, M., Skalny, A.V., 2017. The role of cadmium in obesity and diabetes. *Sci. Total Environ.* 601–602, 741–755. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.05.224>
- Tinkov, A.A., Sinitskii, A.I., Popova, E.V., Nemereshina, O.N., Gatiatulina, E.R., Skalnaya, M.G., Skalny, A.V., Nikonorov, A.A., 2015. Alteration of local adipose tissue trace element homeostasis as a possible mechanism of obesity-related insulin resistance. *Med. Hypotheses* 85, 343–347. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2015.06.005>

Tsai, M.-S., Lin, C.-Y., Lin, C.-C., Chen, M.-H., Hsu, S.H.J., Chien, K.-L., Sung, F.-C., Chen, P.-C., Su, T.-C., 2015. Association between perfluoroalkyl substances and reproductive hormones in adolescents and young adults. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 218, 437–443. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2015.03.008>

Turcot, V., Lu, Y., Highland, H.M., Schurmann, C., Justice, A.E., Fine, R.S., Bradfield, J.P., Esko, T., Giri, A., Graff, M., Guo, X., Hendricks, A.E., Karaderi, T., Lempradl, A., Locke, A.E., Mahajan, A., Marouli, E., Sivapalaratnam, S., Young, K.L., Alfred, T., Feitosa, M.F., Masca, N.G.D., Manning, A.K., Medina-Gomez, C., Mudgal, P., Ng, M.C.Y., Reiner, A.P., Vedantam, S., Willems, S.M., Winkler, T.W., Abecasis, G., Aben, K.K., Alam, D.S., Alharthi, S.E., Allison, M., Amouyel, P., Asselbergs, F.W., Auer, P.L., Balkau, B., Bang, L.E., Barroso, I., Bastarache, L., Benn, M., Bergmann, S., Bielak, L.F., Blüher, M., Boehnke, M., Boeing, H., Boerwinkle, E., Böger, C.A., Bork-Jensen, J., Bots, M.L., Bottinger, E.P., Bowden, D.W., Brandslund, I., Breen, G., Brilliant, M.H., Broer, L., Brumat, M., Burt, A.A., Butterworth, A.S., Campbell, P.T., Cappellani, S., Carey, D.J., Catamo, E., Caulfield, M.J., Chambers, J.C., Chasman, D.I., Chen, Y.-D.I., Chowdhury, R., Christensen, C., Chu, A.Y., Cocca, M., Collins, F.S., Cook, J.P., Corley, J., Corominas Galbany, J., Cox, A.J., Crosslin, D.S., Cuellar-Partida, G., D'Eustacchio, A., Danesh, J., Davies, G., Bakker, P.I.W., Groot, M.C.H., Mutsert, R., Deary, I.J., Dedoussis, G., Demerath, E.W., Heijer, M., Hollander, A.I., Ruijter, H.M., Dennis, J.G., Denny, J.C., Di Angelantonio, E., Drenos, F., Du, M., Dubé, M.-P., Dunning, A.M., Easton, D.F., Edwards, T.L., Ellinghaus, D., Ellinor, P.T., Elliott, P., Evangelou, E., Farmaki, A.-E., Farooqi, I.S., Faul, J.D., Fauser, S., Feng, S., Ferrannini, E., Ferrieres, J., Florez, J.C., Ford, I., Fornage, M., Franco, O.H., Franke, A., Franks, P.W., Friedrich, N., Frikke-Schmidt, R., Galesloot, T.E., Gan, W., Gandin, I., Gasparini, P., Gibson, J., Giedraitis, V., Gjesing, A.P., Gordon-Larsen, P., Gorski, M., Grabe, H.-J., Grant, S.F.A., Grarup, N., Griffiths, H.L., Grove, M.L., Gudnason, V., Gustafsson, S., Haessler, J., Hakonarson, H., Hammerschlag, A.R., Hansen, T., Harris, K.M., Harris, T.B., Hattersley, A.T., Have, C.T., Hayward, C., He, L., Heard-Costa, N.L., Heath, A.C., Heid, I.M., Helgeland, Ø., Hernesniemi, J., Hewitt, A.W., Holmen, O.L., Hovingh, G.K., Howson, J.M.M., Hu, Y., Huang, P.L., Huffman, J.E., Ikram, M.A., Ingelsson, E., Jackson, A.U., Jansson, J.-H., Jarvik, G.P., Jensen, G.B., Jia, Y., Johansson, S., Jørgensen, M.E., Jørgensen, T., Jukema, J.W., Kahali, B., Kahn, R.S., Kähönen, M., Kamstrup, P.R., Kanoni, S., Kaprio, J., Karaleftheri, M., Kardia, S.L.R., Karpe, F., Kathiresan, S., Kee, F., Kiemeny, L.A., Kim, E., Kitajima, H., Komulainen, P., Kooner, J.S., Kooperberg, C., Korhonen, T., Kovacs, P., Kuivaniemi, H., Kutalik, Z., Kuulasmaa, K., Kuusisto, J., Laakso, M., Lakka, T.A., Lamparter, D., Lange, E.M., Lange, L.A., Langenberg, C., Larson, E.B., Lee, N.R., Lehtimäki, T., Lewis, C.E., Li, H., Li, J., Li-Gao, R., Lin, H., Lin, K.-H., Lin, L.-A., Lin, X., Lind, L., Lindström, J., Linneberg, A., Liu, C.-T., Liu, D.J., Liu, Y., Lo, K.S., Lophatananon, A., Lotery, A.J., Loukola, A., Luan, J., Lubitz, S.A., Lyytikäinen, L.-P., Männistö, S., Marenne, G., Mazul, A.L., McCarthy, M.I., McKean-Cowdin, R., Medland, S.E., Meidtner, K., Milani, L., Mistry, V., Mitchell, P., Mohlke, K.L., Moilanen, L., Moitry, M., Montgomery, G.W., Mook-Kanamori, D.O., Moore, C., Mori, T.A., Morris, A.D., Morris, A.P., Müller-Nurasyid, M., Munroe, P.B., Nalls, M.A., Narisu, N., Nelson, C.P., Neville, M., Nielsen, S.F., Nikus, K., Njølstad, P.R., Nordestgaard, B.G., Nyholt, D.R., O'Connell, J.R., O'Donoghue, M.L., Olde Loohuis, L.M., Ophoff, R.A., Owen, K.R., Packard, C.J., Padmanabhan, S., Palmer, C.N.A., Palmer, N.D., Pasterkamp, G., Patel, A.P., Pattie, A., Pedersen, O., Peissig, P.L., Peloso, G.M., Pennell, C.E., Perola, M., Perry, J.A., Perry, J.R.B., Pers, T.H., Person, T.N., Peters, A., Petersen, E.R.B., Peyser, P.A., Pirie, A., Polasek, O., Polderman, T.J., Puolijoki, H., Raitakari, O.T., Rasheed, A., Rauramaa, R., Reilly, D.F., Renström, F., Rheinberger, M., Ridker, P.M., Rioux, J.D., Rivas, M.A., Roberts, D.J., Robertson, N.R., Robino, A., Rolandsson, O., Rudan, I., Ruth, K.S., Saleheen, D., Salomaa, V., Samani, N.J., Sapkota, Y., Sattar, N., Schoen, R.E., Schreiner, P.J., Schulze, M.B., Scott, R.A., Segura-Lepe, M.P., Shah, S.H., Sheu, W.H.-H., Sim, X., Slater, A.J., Small, K.S., Smith, A.V., Southam, L., Spector, T.D., Speliotes, E.K., Starr, J.M., Stefansson, K., Steinhorsdottir, V., Stirrups, K.E., Strauch, K., Stringham, H.M., Stumvoll, M., Sun, L., Surendran, P., Swift, A.J., Tada, H., Tansey, K.E., Tardif, J.-C., Taylor, K.D., Teumer, A., Thompson, D.J., Thorleifsson, G., Thorsteinsdottir, U., Thuesen, B.H., Tönjes, A., Tromp, G., Trompet, S., Tsfantakis, E., Tuomilehto, J., Tybjaerg-Hansen, A., Tyrer, J.P., Uher, R., Uitterlinden, A.G., Uusitupa, M., Laan, S.W., Duijn, C.M., Leeuwen, N., van Setten, J., Vanhala, M., Varbo, A., Varga, T.V., Varma, R., Velez Edwards, D.R., Vermeulen, S.H., Veronesi, G., Vestergaard, H., Vitart, V., Vogt, T.F., Völker, U., Vuckovic, D., Wagenknecht, L.E., Walker, M., Wallentin, L., Wang, F., Wang, C.A., Wang, S., Wang, Y., Ware, E.B., Wareham, N.J., Warren, H.R., Waterworth, D.M., Wessel, J., White, H.D., Willer, C.J., Wilson, J.G., Witte, D.R., Wood, A.R., Wu, Y., Yaghoobkar, H., Yao, J., Yao, P., Yerges-Armstrong, L.M., Young, R., Zeggini, E., Zhan, X., Zhang, W., Zhao, J.H., Zhao, W., Zhao, W., Zhou, W., Zondervan, K.T., Rotter, J.I., Pospisilik, J.A., Rivadeneira, F., Borecki, I.B., Deloukas, P., Frayling, T.M., Lettre, G., North, K.E., Lindgren, C.M., Hirschhorn, J.N., Loos, R.J.F., 2018. Protein-altering variants associated with body mass index

- implicate pathways that control energy intake and expenditure in obesity. *Nat. Genet.* 50, 26–41. <https://doi.org/10.1038/s41588-017-0011-x>
- Turusov, V., Rakitsky, V., Tomatis, L., 2002. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. *Environ. Health Perspect.* 110, 125–128. <https://doi.org/10.1289/ehp.02110125>
- Tversky, A., Kahneman, D., 1973. Availability: A heuristic for judging frequency and probability. *Cognit. Psychol.* 5, 207–232. [https://doi.org/10.1016/0010-0285\(73\)90033-9](https://doi.org/10.1016/0010-0285(73)90033-9)
- United Nations Environment Program, 2018. The Stockholm Convention on Persistent Organic Pollutants.
- Varona, M.E., Díaz-Criollo, S.M., Lancheros-Bernal, A.R., Murcia-Orjuela, A.M., Henao-Londoño, G.L., Idrovo, A.J., 2010. Organochlorine pesticide exposure among agricultural workers in Colombian regions with illegal crops: an exploration in a hidden and dangerous world. *Int. J. Environ. Health Res.* 20, 407–414. <https://doi.org/10.1080/09603123.2010.491855>
- Venken, K., Callewaert, F., Boonen, S., Vanderschueren, D., 2008. Sex hormones, their receptors and bone health. *Osteoporos. Int.* 19, 1517–1525. <https://doi.org/10.1007/s00198-008-0609-z>
- Verkasalo, P.K., Thomas, H.V., Appleby, P.N., Davey, G.K., Key, T.J., 2001. Circulating levels of sex hormones and their relation to risk factors for breast cancer: a cross-sectional study in 1092 pre- and postmenopausal women (United Kingdom). *Cancer Causes Control* 12, 47–59. <https://doi.org/10.1023/A:1008929714862>
- Vinggaard, A.M., Hnida, C., Breinholt, V., Larsen, J.C., 2000. Screening of selected pesticides for inhibition of CYP19 aromatase activity in vitro. *Toxicol. In Vitro* 14, 227–234. [https://doi.org/10.1016/S0887-2333\(00\)00018-7](https://doi.org/10.1016/S0887-2333(00)00018-7)
- Vogiatis, A.K., Loumbourdis, N.S., 1999. A study of glycogen, lactate, total fats, protein, and glucose concentration in the liver of the frog *Rana ridibunda*, after exposure to cadmium for 30 days. *Environ. Pollut.* 104, 335–340. [https://doi.org/10.1016/S0269-7491\(98\)00199-7](https://doi.org/10.1016/S0269-7491(98)00199-7)
- Wagner, I.V., Savchuk, I., Sahlin, L., Kulle, A., Klötting, N., Dietrich, A., Holterhus, P.-M., Dötsch, J., Blüher, M., Söder, O., 2022. De Novo and Depot-Specific Androgen Production in Human Adipose Tissue: A Source of Hyperandrogenism in Women with Obesity. *Obes. Facts* 15, 281–291. <https://doi.org/10.1159/000521571>
- Wang, H.H., Lee, D.K., Liu, M., Portincasa, P., Wang, D.Q.-H., 2020. Novel Insights into the Pathogenesis and Management of the Metabolic Syndrome. *Pediatr. Gastroenterol. Hepatol. Nutr.* 23, 189–230. <https://doi.org/10.5223/pghn.2020.23.3.189>
- Wang, Y., Aimuzi, R., Nian, M., Zhang, Y., Luo, K., Zhang, J., 2021. Perfluoroalkyl substances and sex hormones in postmenopausal women: NHANES 2013-2016. *Environ. Int.* 149, 106408. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106408>
- Warembourg, C., Debost-Légrand, A., Bonvallot, N., Massart, C., Garlantézec, R., Monfort, C., Gaudreau, E., Chevrier, C., Cordier, S., 2016. Exposure of pregnant women to persistent organic pollutants and cord sex hormone levels. *Hum. Reprod.* 31, 190–198. <https://doi.org/10.1093/humrep/dev260>
- Welt, C.K., Pagan, Y.L., Smith, P.C., Rado, K.B., Hall, J.E., 2003. Control of Follicle-Stimulating Hormone by Estradiol and the Inhibins: Critical Role of Estradiol at the Hypothalamus during the Luteal-Follicular Transition. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 1766–1771. <https://doi.org/10.1210/jc.2002-021516>
- Wickham, H., 2016. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer-Verlag, New York.
- Wickham, H., Averick, M., Bryan, J., Chang, W., 2019. Welcome to the tidyverse. *J. Open Source Softw.* 4, 1686.

- Wickham, H., Miller, E., 2020. haven: Import and Export “SPSS”, “Stata” and “SAS” Files.
- Will, J.C., Galuska, D.A., Ford, E.S., Mokdad, A., Calle, E.E., 2001. Cigarette smoking and diabetes mellitus: evidence of a positive association from a large prospective cohort study. *Int. J. Epidemiol.* 30, 540–546. <https://doi.org/10.1093/ije/30.3.540>
- Wingfors, H., Lindström, G., van Bavel, B., Schuhmacher, M., Hardell, L., 2000. Multivariate data evaluation of PCB and dioxin profiles in the general population in Sweden and Spain. *Chemosphere* 40, 1083–1088. [https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00356-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00356-2)
- Wolf, K., Bongaerts, B.W.C., Schneider, Alexandra, Huth, C., Meisinger, C., Peters, A., Schneider, Andrea, Wittsiepe, J., Schramm, K.-W., Greiser, K.H., Hartwig, S., Kluttig, A., Rathmann, W., 2019. Persistent organic pollutants and the incidence of type 2 diabetes in the CARLA and KORA cohort studies. *Environ. Int.* 129, 221–228. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.05.030>
- Wolff, M.S., Camann, D., Gammon, M., Stellman, S.D., 1997. Proposed PCB congener groupings for epidemiological studies. *Environ. Health Perspect.* 105, 13–14. <https://doi.org/10.1289/ehp.9710513>
- Wong, F., MacLeod, M., Mueller, J.F., Cousins, I.T., 2014. Enhanced Elimination of Perfluorooctane Sulfonic Acid by Menstruating Women: Evidence from Population-Based Pharmacokinetic Modeling. *Environ. Sci. Technol.* 48, 8807–8814. <https://doi.org/10.1021/es500796y>
- Wong, M.H., Armour, M.-A., Naidu, R., Man, M., 2012. Persistent toxic substances: sources, fates and effects. *Rev. Environ. Health* 27, 207–213. <https://doi.org/10.1515/reveh-2012-0040>
- Wood, S.N., 2011. Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *J. R. Stat. Soc. B* 1, 3–36.
- World Health Organization, 2022a. Acceleration Plan to support Member States in implementing the recommendations for the prevention and management of obesity over the life course.
- World Health Organization, 2022b. Political declaration of the third high-level meeting of the General Assembly on the prevention and control of noncommunicable diseases. (No. EB150/7).
- World Health Organization, 2016. Evaluation of certain food additives and contaminants. Eightieth report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* 1–114, back cover.
- World Health Organization. Regional Office for Europe, 2015. Human biomonitoring: facts and figures. World Health Organization. Regional Office for Europe.
- Wu, A.H.B., 2006. Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests - E-Book. Elsevier Health Sciences.
- Xie, X., Liu, Q., Wu, J., Wakui, M., 2009. Impact of cigarette smoking in type 2 diabetes development. *Acta Pharmacol. Sin.* 30, 784–787. <https://doi.org/10.1038/aps.2009.49>
- Xie, X., Weng, X., Liu, S., Chen, J., Guo, X., Gao, X., Fei, Q., Hao, G., Jing, C., Feng, L., 2021. Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substance exposure and association with sex hormone concentrations: results from the NHANES 2015–2016. *Environ. Sci. Eur.* 33, 69. <https://doi.org/10.1186/s12302-021-00508-9>
- Xin, F., Susiarjo, M., Bartolomei, M.S., 2015. Multigenerational and transgenerational effects of endocrine disrupting chemicals: A role for altered epigenetic regulation? *Semin. Cell Dev. Biol., Metabolism in cancer cells & Transgenerational environmental and genetic effects* 43, 66–75. <https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2015.05.008>

Yao, Q., Shi, R., Wang, C., Han, W., Gao, Y., Zhang, Y., Zhou, Y., Ding, G., Tian, Y., 2019. Cord blood Per- and polyfluoroalkyl substances, placental steroidogenic enzyme, and cord blood reproductive hormone. *Environ. Int.* 129, 573–582. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.03.047>

Yilmaz, B., Terekci, H., Sandal, S., Kelestimur, F., 2020. Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 21, 127–147. <https://doi.org/10.1007/s11154-019-09521-z>

You, L., Sar, M., Bartolucci, E., Ploch, S., Whitt, M., 2001. Induction of hepatic aromatase by p,p'-DDE in adult male rats. *Mol. Cell. Endocrinol.* 178, 207–214. [https://doi.org/10.1016/S0303-7207\(01\)00445-2](https://doi.org/10.1016/S0303-7207(01)00445-2)

Yu, C., Wen, Q., Ren, Q., Du, Y., Xie, X., 2021. Polychlorinated biphenyl congener 180 (PCB 180) regulates mitotic clonal expansion and enhances adipogenesis through modulation of C/EBP β SUMOylation in preadipocytes. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 152, 112205. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112205>

Zoeller, R.T., Brown, T.R., Doan, L.L., Gore, A.C., Skakkebaek, N.E., Soto, A.M., Woodruff, T.J., Vom Saal, F.S., 2012. Endocrine-Disrupting Chemicals and Public Health Protection: A Statement of Principles from The Endocrine Society. *Endocrinology* 153, 4097–4110. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1422>

ANEXO 1

Cuestionario (Trabajo 5, objetivo 4)

(Reproducción en versión imprimible)

Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla.

Somos un grupo de investigadores de la Universidad de Granada que queremos conocer la opinión de los vecinos de las ciudades de Granada y Melilla sobre los problemas que afectan a su medio ambiente más cercano y a su salud. La finalidad es que sus peticiones lleguen a muchos oídos y sean tenidas en cuenta. Aunque solo resida temporalmente, también nos interesa su opinión. ¿Nos ayuda?

Su participación es totalmente voluntaria y le llevará menos de 5 minutos. Con la información que nos facilite crearemos un informe para que las autoridades conozcan las necesidades de las personas de su barrio. No se recogerá ningún dato personal que pueda identificarle.

Este proyecto está desarrollado por el Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública de la Universidad de Granada, con la colaboración de miembros del Departamento de Nutrición y Bromatología de la misma universidad y del Departamento de Antropología Social de la Universidad de Barcelona. Forma parte de una iniciativa de Desarrollo Local financiada por el Vicerrectorado de Igualdad, Inclusión y Sostenibilidad de la Universidad de Granada.



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

Solidaria

CALIDAD DE VIDA Y SALUD EN SU BARRIO

1. ¿En qué zona reside habitualmente? *

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Granada capital
- Ciudad Autónoma de Melilla
- Otro:

2. Seleccione su barrio en Granada:

Sólo conteste esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Granada capital' en la pregunta '1 [Q84]' (¿En qué zona reside habitualmente?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Distrito Albaicín - Barrio Albaicín
- Distrito Albaicín - Barrio El Fargue
- Distrito Albaicín - Barrio Haza Grande
- Distrito Albaicín - Barrio Sacromonte
- Distrito Beiro - Barrio Cercado Bajo de Cartuja
- Distrito Beiro - Barrio Joaquina Eguaras
- Distrito Beiro - Barrio La Cruz
- Distrito Beiro - Barrio Los Pajaritos
- Distrito Beiro - Barrio Plaza de Toros-Doctores-San Lázaro
- Distrito Beiro - Barrio San Francisco Javier
- Distrito Beiro - Barrio San Ildefonso
- Distrito Centro - Barrio Centro-Sagrario
- Distrito Centro - Barrio Realejo-San Matías
- Distrito Chana - Barrio Bobadilla
- Distrito Chana - Barrio Cerrillo de Maracena
- Distrito Chana - Barrio Las Angustias-Chana-Encina
- Distrito Genil - Barrio Bola de Oro
- Distrito Genil - Barrio Camino de los Neveros
- Distrito Genil - Barrio Carretera de la Sierra
- Distrito Genil - Barrio Castaño-Mirasierra
- Distrito Genil - Barrio Cervantes
- Distrito Genil - Barrio Lancha del Genil
- Distrito Norte - Barrio Almanjáyar
- Distrito Norte - Barrio Campo Verde
- Distrito Norte - Barrio Cartuja
- Distrito Norte - Barrio Casería de Montijo
- Distrito Norte - Barrio La Paz
- Distrito Norte - Barrio Parque Nueva Granada
- Distrito Norte - Barrio Rey Badis
- Distrito Ronda - Barrio Camino de Ronda
- Distrito Ronda - Barrio Figares
- Distrito Ronda - Barrio Rosaleda
- Distrito Zaidín - Barrio Zaidín-Vergeles

3. Seleccione su barrio en Melilla:

Sólo conteste esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Ciudad Autónoma de Melilla' en la pregunta '1 [Q84]' (¿En qué zona reside habitualmente?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Distrito 1 - Barrio Ataque Seco
- Distrito 1 - Barrio General Larrea (Mantelete)
- Distrito 1 - Barrio Medina Sidonia (El Pueblo)
- Distrito 2 - Barrio General Gómez Jordana
- Distrito 2 - Barrio Héroes de España
- Distrito 2 - Barrio del Príncipe
- Distrito 3 - Barrio del Carmen
- Distrito 4 - Barrio Hebreo
- Distrito 4 - Barrio Polígono Residencial de la Paz
- Distrito 5 - Barrio Batería Jota
- Distrito 5 - Barrio Cabrerizas
- Distrito 5 - Barrio Cañada de Hidum
- Distrito 5 - Barrio Cristóbal Colón
- Distrito 5 - Barrio Hernán Cortés
- Distrito 5 - Barrio Reina Regente
- Distrito 6 - Barrio Concepción Arenal
- Distrito 6 - Barrio Isaac Peral (Tesorillo)
- Distrito 7 - Barrio del Real
- Distrito 8 - Barrio Explanada Alfonso XIII
- Distrito 8 - Barrio General Primo de Rivera
- Distrito 8 - Barrio General Sanjurjo (Hipódromo)
- Distrito 8 - Barrio Industrial
- Distrito 8 - Barrio de la Libertad
- Distrito 8 - Barrio Virgen de la Victoria
- Distrito 8 - Grupo de viviendas Ciudad de Málaga
- Distrito 8 - Grupo de viviendas Doctor Fleming
- Distrito 8 - Grupo de viviendas Rusadir

4. Seleccione los aspectos de su barrio que más influyen en su calidad de vida y su salud, especificando qué es lo que más le preocupa en cada caso. Puede elegir hasta 3 problemas.

Por favor, seleccione todas las opciones que correspondan y escriba un comentario:

- Limpieza, mantenimiento y gestión de los residuos en las calles (basuras, plagas, excrementos, alcantarillado...)
- Ruido (tráfico, ambiente general, música alta...)
- Calidad del aire (olores, contaminación...)
- Calidad del agua (contaminación, sabor...)
- Calidad de alimentos (plaguicidas, envases, contaminación microbiológica, valor nutricional...)
- Contaminación lumínica (alumbrado calle, locales comerciales, tráfico nocturno...)
- Enfermedades contagiosas (gripe, meningitis, sarampión...)
- Planificación urbanística (acceso a servicios sanitarios, servicios públicos, transporte, zonas verdes...)
- Radiaciones (telefonía, internet, tendido eléctrico...)
- Inseguridad (robos, vandalismo, animales...)
- Otro (describalo a continuación)

5. ¿Considera que la pandemia COVID-19 ha influido en su preocupación acerca de estos problemas? En caso afirmativo, indique de qué forma.

Por favor, seleccione la opción que corresponda y escriba un comentario:

- Sí:
- No:

¿CÓMO AFECTAN ESTOS PROBLEMAS A LA SALUD?

6. ¿En qué medida cree que _____ afecta a su salud y la de quienes conviven con usted? Indíquelo en una escala del 1 al 4.

Se aplican las preguntas correspondientes a los ítems seleccionados en la pregunta 4, una pregunta por cada ítem.

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- 1: afecta poco a la salud
- 2: afecta a la salud pero no es un problema importante
- 3: afecta a la salud y necesita soluciones a medio o largo plazo
- 4: afecta a la salud y necesita soluciones urgentes

SU BARRIO EN COMPARACIÓN CON OTROS BARRIOS DE LA CIUDAD

7. En el caso de _____, ¿cómo considera que está su barrio en comparación con los demás barrios de la ciudad? Seleccione una opción:

Se aplican las preguntas correspondientes a los ítems seleccionados en la pregunta 4, una pregunta por cada ítem.

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- El problema afecta mucho menos a mi barrio que a otros
- El problema afecta a mi barrio de forma similar a otros
- El problema afecta mucho más a mi barrio que a otros

¿QUIÉN ES EL RESPONSABLE?

8. Para el problema de _____, ¿quién cree que es el mayor responsable? Puede seleccionar un máximo de dos opciones:

Se aplican las preguntas correspondientes a los ítems seleccionados en la pregunta 4, una pregunta por cada ítem.

Por favor, marque las opciones que correspondan:

- Nadie es responsable
- Autoridades locales y regionales (ayuntamiento, consejería, etc)
- Profesionales sanitarios
- Fuerzas y cuerpos de seguridad del estado (policía, guardia civil...)
- Empresas privadas (industrias, fábricas, comercios...)
- Vecinos
- Todos somos responsables en igual medida
- Otro:

9. ¿Le gustaría proponer alguna medida para solucionar los problemas que ha indicado?

Por favor, escriba su respuesta aquí:

¡YA CASI HEMOS TERMINADO!

Por último, algunas preguntas breves:

10. Edad

Sólo se pueden introducir números en este campo.

Por favor, escriba su respuesta aquí:

11. Sexo

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Mujer
- Hombre

12. Nivel de estudios

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Sin estudios
- Educación primaria
- Educación secundaria/FP grado medio
- Educación universitaria/FP grado superior
- Otro:

13. Número de hijos

Indique 0 si no tiene hijos

Sólo se pueden introducir números en este campo.

Por favor, escriba su respuesta aquí:

14. ¿Cuántos años lleva residiendo en su barrio actual?

Sólo se pueden introducir números en este campo.

Por favor, escriba su respuesta aquí:



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**

¡Muchas gracias por haber participado!

Si quiere conocer los resultados y saber lo útiles que han sido su tiempo y sus opiniones, contacte con nosotros en:

Tel. 958242065

jparrebola@ugr.es, ruthecheverria@correo.ugr.es

O síguenos en Twitter:

[@SapyamGI](https://twitter.com/SapyamGI)

ANEXO 2

Guiones de entrevistas y grupos focales (Trabajo 5, objetivo 4)

Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla

Guión entrevista en profundidad

A. Vamos a empezar hablando sobre su barrio en general

1. Explíqueme cómo es el barrio donde vive. ¿En qué zona del barrio vive concretamente?
2. ¿Qué es lo más le gusta de su barrio? ¿Y lo que menos?
3. ¿Cuánto tiempo lleva viviendo allí? ¿Dónde vivía antes?
4. ¿Por qué reside en este barrio? ¿Le gusta vivir allí o preferiría mudarse a otro barrio? Si prefiere mudarse, ¿qué se lo impide?
5. ¿Cuenta con familia o amigos en el barrio? Cuénteme cómo es su relación con ellos, con qué frecuencia los ve, qué suelen hacer cuando quedan...
6. ¿Suele hacer vida en el mismo barrio o se desplaza para trabajar, compras, ocio u otras actividades? Especificar en qué medida. Explíquenos como es un día cualquiera en su barrio y en el fin de semana.
7. ¿Está al día de lo que sucede en su barrio? Por ejemplo: obras, instalaciones, sucesos, actividades, etc. Cuénteme algo que le haya llamado más la atención.
8. ¿Participa o le gustaría participar en las decisiones que afectan a su barrio? ¿Está en contacto con representantes o autoridades del barrio a nivel político, social, etc.? ¿Está informado de las cosas que se hacen en su barrio?

B. Hablemos un poco sobre la salud y el medioambiente en su barrio

9. En general, ¿qué tal cree que se vive en su barrio? ¿Y desde el punto de vista de la salud de los vecinos?
10. ¿Cree que se presta atención al medioambiente en su barrio? Dígame algún ejemplo
11. ¿Qué cosas del barrio considera que más influyen en su calidad de vida y su salud? Por ejemplo: limpieza, vecinos, ruido, calidad del aire, cercanía de servicios, alimentos, precio de la vivienda, enfermedades contagiosas, lugares de esparcimiento, inseguridad, etc. Especificar y comentar. Poner ejemplos de la experiencia personal
12. ¿En qué medida cree que las cuestiones mencionadas afectan a su salud y la de quienes le rodean? ¿Cree que los problemas que pueda haber deben resolverse urgentemente o pueden tomarse medidas más a largo plazo?
13. ¿Cree que la COVID-19 ha influido en su preocupación acerca de estos problemas? ¿De qué forma? Explíquenos su experiencia en este periodo de la pandemia en relación con estos problemas que señalamos.
14. ¿Cree que esta pandemia ha modificado algunos de los problemas del barrio, aunque sea de forma temporal? Especificar.

C. Piense en su barrio en comparación con otros barrios de la ciudad

15. ¿Qué cosas positivas tiene su barrio en comparación con otros?
16. En relación con los problemas mencionados anteriormente, ¿cómo considera que se encuentra su barrio en comparación con otros barrios de su ciudad?
17. ¿Cree que hay grandes diferencias entre los problemas en su barrio y los problemas en otros barrios de la ciudad? ¿Puede poner algún ejemplo sobre algo que le afecte personalmente?
18. ¿A qué barrio nunca iría y por qué? ¿Ha tenido alguna mala experiencia?

D. ¿Quién cree que es el responsable?

19. ¿Cree que se trata de problemas causados por los propios vecinos o por causas externas (autoridades, comercios, falta de civismo...)? Especificar. Ponga ejemplos personales de mal vecino y buen vecino.
20. ¿Sobre quién cree que recae la responsabilidad de resolver estos problemas?
21. ¿Cree que los responsables están tomando medidas para afrontar estos problemas? ¿De qué medidas se trata? A su juicio, ¿son suficientes?

E. Hablemos de las posibles soluciones

22. ¿Cree que existe solución a corto plazo a los problemas mencionados?
23. ¿Qué medidas propondría usted para resolverlos?
24. ¿Cree que los vecinos del barrio acogerían bien estas medidas? ¿Cómo convencería a su vecino de la importancia de esas medidas?
25. ¿Ha hecho usted algo que haya contribuido a mejorar su barrio? En caso contrario, ¿qué estaría dispuesto a hacer?

DATOS PERSONALES

26. Edad.
27. Sexo.
28. Nivel de estudios.
29. Número de hijos. ¿Cuántos conviven con usted? ¿Edades?

Hablemos de medio ambiente: la voz de los barrios de Granada y Melilla

Guión grupos focales

1. ¿Qué os parece este barrio? ¿Qué cosas soléis hacer en él?
2. Si os pido que penséis en el medioambiente y la salud del barrio, ¿qué os viene a la cabeza?
3. ¿Creéis que en el barrio la gente se preocupa por esas cosas?
4. ¿Cómo creéis que el coronavirus ha influido en la vida del barrio? ¿Y en el medioambiente?
5. Si comparamos nuestro barrio con otros barrios de la ciudad, ¿qué diferencias veis en el tema del medioambiente y la salud?
6. ¿Quién creéis que es responsable de los problemas del barrio?
7. ¿Qué se puede hacer para solucionar esos problemas?
8. ¿Cómo convenceríais a los vecinos para poner en marcha esas soluciones?
9. ¿Alguno habéis hecho algo por mejorar el barrio? ¿Qué estaríais dispuestos a hacer?
10. Por último, si pudierais hablar con las autoridades para mejorar la salud y el medioambiente en el barrio, ¿qué les diríais?

DATOS PERSONALES

11. Edad.
12. Sexo.
13. Nivel de estudios.
14. Número de hijos. ¿Cuántos conviven con usted? ¿Edades? (SÓLO SI PROCEDE)

ANEXO 3

Cuestionario (Trabajo 6, objetivo 4)

(Reproducción en versión imprimible)

Contaminantes químicos ambientales y embarazo

Cuestionario dirigido a profesionales sanitarios y mujeres embarazadas y lactantes con el que se desea evaluar el alcance de la información relativa a contaminantes ambientales presentes en alimentos, productos de higiene y limpieza, cosméticos y otras fuentes.

Somos un grupo de científicos procedentes de diversas universidades, hospitales y centros de investigación de España, comprometidos con la protección del medioambiente y la salud de las personas. Formamos una línea de investigación interdisciplinar integrada en el Observatorio de la Alimentación (ODELA (<http://www.ub.edu/odela/>)) del Departamento de Antropología Social de la Universidad de Barcelona, conocida como Toxic Body (<http://www.ub.edu/toxicbody/>).

Respondiendo este cuestionario, que le llevará menos de 5 minutos, nos ayudará a evaluar el alcance de la información relativa a **contaminantes químicos ambientales** presentes en alimentos, productos de higiene y limpieza, cosméticos y otras fuentes a las que se ven expuestas habitualmente las **mujeres embarazadas y lactantes**. Su participación es totalmente voluntaria y no se recogerá ningún dato personal que pueda identificarle.



INFORMACIÓN GENERAL

1. Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):

*

Por favor, marque las opciones que correspondan:

- Mujer embarazada
- Mujer lactante
- Profesional sanitario del ámbito hospitalario
- Profesional sanitario de atención primaria
- Otro:

2. ¿Qué edad tiene? *

Por favor, escriba su respuesta aquí:

3. Sexo:

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Profesional sanitario de atención primaria' o 'Profesional sanitario del ámbito hospitalario' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Hombre
- Mujer

4. Como profesional sanitario de atención primaria, especifique su área o especialidad:

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Profesional sanitario de atención primaria' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Ginecología/obstetricia
- Pediatría
- Medicina familiar y comunitaria
- Medicina: otras especialidades (especificar en el recuadro)
- Enfermería obstétrico-ginecológica (matronas)
- Enfermería pediátrica
- Enfermería: otras especialidades (especificar en el recuadro)
- Auxiliar de enfermería
- Otros:

Comente su elección aquí:

5. Como profesional sanitario del ámbito hospitalario, especifique su área o especialidad: *

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Profesional sanitario del ámbito hospitalario' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Ginecología/obstetricia
- Pediatría
- Medicina: otras especialidades (especificar en recuadro)
- Enfermería obstétrico-ginecológica (matronas)
- Enfermería pediátrica
- Enfermería: otras especialidades (especificar en recuadro)
- Auxiliar de enfermería
- Otros:

6. ¿Ha recibido alguna vez información sobre contaminantes ambientales y salud en relación con el embarazo y la lactancia?

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Nunca he recibido ninguna información sobre ello
- He recibido poca información sobre ello
- He recibido bastante información sobre ello
- He recibido mucha información sobre ello

7. ¿A través de qué o quién ha recibido la información? Indique en qué circunstancias (puede seleccionar más de una respuesta).

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'He recibido poca información sobre ello' o 'He recibido bastante información sobre ello' o 'He recibido mucha información sobre ello' en la pregunta '6 [G11]' (¿Ha recibido alguna vez información sobre contaminantes ambientales y salud en relación con el embarazo y la lactancia?)

Por favor, seleccione todas las opciones que correspondan y escriba un comentario:

- A través de medios de comunicación (prensa,
- TV, radio...)
- A través de un profesional sanitario
- A través de familiares, amigos o conocidos
- Buscando en internet
- A través de revistas o libros especializados
- Otros (especificar)

8. ¿En qué formato ha recibido esta información?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'He recibido poca información sobre ello' o 'He recibido bastante información sobre ello' o 'He recibido mucha información sobre ello' en la pregunta '6 [G11]' (¿Ha recibido alguna vez información sobre contaminantes ambientales y salud en relación con el embarazo y la lactancia?)

Por favor, marque las opciones que correspondan:

- Como una noticia en prensa
- Como un curso
- Como un folleto
- Como un artículo científico
- Como un libro o publicación divulgativos
- Como un post o comentario en redes sociales
- Otro:

GUÍA CONTAMINANTES QUÍMICOS AMBIENTALES Y MATERNIDAD

9. ¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- No he oído hablar de ella
- Me han hablado de ella, pero no la he leído
- La he leído, pero no la he compartido con nadie
- La he leído y la he compartido con otras personas

10. ¿Dispone de 5 minutos para leer esta guía y continuar el cuestionario?

Si es así, le invitamos descargarla gratuitamente en este enlace:

http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/ES_guia_emba.pdf. A continuación, retome el cuestionario repitiendo la pregunta anterior y respondiendo afirmativamente.

En caso de que no desee o no pueda leer la guía en este momento, no es necesario que responda a esta pregunta. Únicamente continúe el cuestionario hasta el final. No obstante, le invitamos a descargarla para disponer de esa información en el futuro.

11. ¿En qué formato la ha leído?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'La he leído, pero no la he compartido con nadie' o 'La he leído y la he compartido con otras personas' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la

guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Cuadernillo original en color
- Fotocopias
- Digital (pdf)

12. ¿A través de qué medio ha recibido la guía? Indique en qué circunstancias. Puede seleccionar más de una opción.

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'La he leído y la he compartido con otras personas' o 'La he leído pero no la he compartido con nadie' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor, seleccione todas las opciones que correspondan y escriba un comentario:

- Me la ha facilitado un familiar, amigo o conocido
- Me la ha facilitado un compañero de trabajo
- Me la ha facilitado el profesional sanitario que me atiende
- Me la he descargado de internet
- Otro:

13. ¿Cuál es su impresión general de esta guía?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Mujer embarazada' o 'Mujer lactante' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):) Y La respuesta fue 'La he leído y la he compartido con otras personas' o 'La he leído pero no la he compartido con nadie' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- No me ha parecido interesante ni útil
- Me ha parecido interesante, pero no he aplicado la información en mi vida diaria
- Me ha parecido interesante y me ha impulsado a cambiar mis hábitos
- Me ha parecido interesante y me ha impulsado a buscar más información para saber más
- Otro

14. Como profesional sanitario, ¿cuál es su impresión general de esta guía?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Profesional sanitario de atención primaria' o 'Profesional sanitario del ámbito hospitalario' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):) Y La respuesta fue 'La he leído y la he compartido con otras personas' o 'La he leído pero no la he compartido con nadie' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- No me ha parecido interesante ni útil
- Me ha parecido interesante, pero no he transmitido la información a nadie
- Me ha parecido interesante y he compartido la información con mi círculo de familiares, amigos y conocidos, pero no de forma profesional
- Me ha parecido interesante y he compartido la información con mis compañeros profesionales, pero no con mujeres embarazadas o lactantes
- Me ha parecido interesante y he transmitido la información a mis compañeros profesionales y a mujeres embarazadas o lactantes
- Otro

RELEVANCIA Y USO DE LA INFORMACIÓN

15. ¿Qué cambios realizó en sus hábitos como consecuencia de haber leído la guía? Puede seleccionar más de una respuesta.

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Mujer lactante' o 'Mujer embarazada' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):) Y La respuesta fue 'La he leído pero no la he compartido con nadie' o 'La he leído y la he compartido con otras personas' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?) Y La respuesta fue 'Me ha parecido interesante y me ha impulsado a cambiar mis hábitos' o 'Me ha parecido interesante y me ha impulsado a buscar más información para saber más' en la pregunta '13 [Q22]' (¿Cuál es su impresión general de esta guía?)

Por favor, marque las opciones que correspondan:

- Aumenté el consumo de alimentos frescos y reduje grasas animales
- Empecé a consumir o aumenté el consumo de productos ecológicos
- Evité el consumo de pescados de gran tamaño
- Decidí hacer ejercicio de forma regular
- Evité el consumo de alcohol
- Reduje el uso de envases de plástico y latas de conservas
- Evité calentar la comida en el microondas en recipientes de plástico
- Evité lugares donde se habían aplicado plaguicidas
- Reduje el uso de recipientes y utensilios de cocina de aluminio o con recubrimiento antiadherente

- Evité cocinar a altas temperaturas y limité el consumo de alimentos fritos
- Otro:

16. Como profesional sanitario, ¿durante cuánto tiempo utilizó la guía tras recibirla para aconsejar o informar a sus pacientes?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Profesional sanitario de atención primaria' o 'Profesional sanitario del ámbito hospitalario' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):) Y La respuesta fue 'La he leído y la he compartido con otras personas' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Sólo la utilicé inmediatamente tras haberla recibido
- La utilicé hasta un mes después de haberla recibido
- La utilicé entre uno y seis meses después de haberla recibido
- La empecé a utilizar tras recibirla y sigo utilizándola hasta ahora
- Comente su elección aquí:

17. ¿Qué aprovechamiento cree que han hecho sus pacientes de la guía?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'Profesional sanitario de atención primaria' o 'Profesional sanitario del ámbito hospitalario' en la pregunta '1 [G10]' (Para comenzar, indique a qué colectivo pertenece (puede seleccionar más de una opción):) Y La respuesta fue 'La he leído y la he compartido con otras personas' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- No he recibido ningún comentario al respecto
- Me han comentado que no han cambiado sus hábitos tras haber leído la guía
- Me han comentado que han introducido algunos cambios en su vida diaria tras haber leído la guía
- Me han comentado que han cambiado numerosos hábitos de vida tras haber leído la guía

Comente su elección aquí:

18. Indique los aspectos que le han parecido más destacables de la guía. Puede seleccionar más de una opción y, si lo desea, indicar el motivo.

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'La he leído pero no la he compartido con nadie' o 'La he leído y la he compartido con otras personas' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor, seleccione todas las opciones que correspondan y escriba un comentario:

- En qué productos se encuentran los contaminantes químicos ambientales
- A través de qué vías se exponen la madre y el bebé a los contaminantes químicos ambientales
- Los problemas de salud que pueden causar los contaminantes químicos ambientales para el bebé
- Cómo limitar la exposición de las madres y sus bebés a contaminantes químicos ambientales
- Otro:

19. Indique qué es lo que le ha parecido menos interesante en la guía y, si lo desea, comente el motivo. Puede seleccionar más de una respuesta.

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'La he leído pero no la he compartido con nadie' o 'La he leído y la he compartido con otras personas' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor, seleccione todas las opciones que correspondan y escriba un comentario:

- En qué productos se encuentran los contaminantes químicos ambientales
- A través de qué vías se exponen la madre y el bebé a los contaminantes químicos ambientales
- Los problemas de salud que pueden causar los contaminantes químicos ambientales para el bebé
- Cómo limitar la exposición de las madres y sus bebés a contaminantes químicos ambientales
- Otro:

20. ¿Cree que la información suministrada en la guía es adecuada?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'La he leído y la he compartido con otras personas' o 'La he leído pero no la he compartido con nadie' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Me parece que la información es insuficiente
- Me parece que la información es suficiente
- Creo que la información es correcta, pero su diseño y formato no facilitan su comprensión
- Creo que la información es correcta, y su diseño y formato facilitan su comprensión
- Pienso que la información es excesiva y difícil de entender
- Tengo dudas sobre la calidad de la información que aparece en la guía

21. ¿Qué aspectos echa en falta en la guía? ¿Tiene alguna recomendación al respecto?

Solo se contesta a esta pregunta si se cumplen las siguientes condiciones:

La respuesta fue 'La he leído pero no la he compartido con nadie' o 'La he leído y la he compartido con otras personas' en la pregunta '9 [G20]' (¿Conoce la guía "Contaminantes químicos ambientales presentes en los alimentos" para mujeres embarazadas y lactantes?)

Por favor, escriba su respuesta aquí:

22. ¿Cree que el sistema sanitario debería proporcionar más información sobre contaminantes químicos ambientales y salud a las mujeres embarazadas y lactantes de forma sistemática? Indique el motivo.

Por favor seleccione sólo una de las siguientes opciones:

- Sí
- No
- No lo tengo claro

Comente su elección aquí:

23. Para terminar, ¿puede indicarnos su código postal de residencia?

Si no lo conoce, puede encontrarlo en este enlace:

https://www.correos.es/ss/Satellite/site/Aplicacion_C-1349167812778-1363184049882/includeTemplate=COR_Aplicacion-sidioma=es_ES.

Por favor, escriba su respuesta aquí:

Gracias por su colaboración. Si desea estar informado de las actualizaciones de la guía mencionada contacte con nosotros a través de: toxicbodyctp@gmail.com, o siganos en twitter: [@SapyamGI](https://twitter.com/SapyamGI).

Recuerde que puede descargar la guía en este enlace:

http://www.ub.edu/toxicbody/wp-content/uploads/2021/02/ES_guia_emba.pdf

