

22

Xenoestrógenos y cáncer de mama

Nicolás Olea, Mariana F. Fernández Cabrera

Hospital Clínico S. Cecilio
Departamento de Radiología
Universidad de Granada

CONTENIDOS: • Estrógenos naturales y sintéticos • Xenoestrógenos como disruptores endocrinos • Estrógenos, xenoestrógenos y cáncer de mama

ESTRÓGENOS NATURALES Y SINTÉTICOS

El término de estrógeno se aplica a cualquier sustancia química, esteroidea o no, capaz de inducir el *estro* en la hembra, o una respuesta biológica asociada con el *estro*, independientemente de su estructura química o mecanismo de acción. Los estrógenos a los que un individuo puede estar expuesto, se pueden clasificar atendiendo a diferentes criterios: origen, estructura química o actividad. En lo que respecta a su origen, los estrógenos pueden ser *naturales* o *sintéticos*. Dentro del grupo de los naturales los hay de procedencia animal y de procedencia vegetal ¹. Los estrógenos de procedencia animal, constituyen una clase de hormonas de estructura esteroidea cuya propiedad es regular el crecimiento, desarrollo y diferenciación de los órganos sexuales secundarios de la hembra. Los estrógenos que no tienen procedencia animal, se han descrito tanto en plantas (fitoestrógenos) como en hongos (micoestrógenos). No tienen similitud estructural con

los estrógenos ováricos, pero muestran su actividad hormonal cuando actúan sobre el animal adecuado ². La función de dichos compuestos en las propias plantas o en los hongos, no es bien conocida y se especula con la idea de que actúan como mecanismo de defensa frente a herbívoros y agentes patógenos ³.

Los estrógenos sintéticos son sustancias que han sido diseñadas basándose en las características estructurales de los estrógenos naturales de origen humano/animal, buscando el efecto farmacológico. En otras ocasiones, la actividad biológica fue descubierta casualmente, como es el caso de los hidroxiestilbenos, no esteroideos, entre los que se encuentra el dietilestilbestrol o DES, utilizado en clínica médica y veterinaria.

Estructuralmente, muchos de los estrógenos naturales y sintéticos son esteroides, es decir, químicamente formados por una serie de cuatro anillos de carbono unidos entre sí para constituir la unidad básica llamada ciclopentanoperhidrofenantreno. Se trata de sustancias solubles en grasa que difunden fácilmente a través de las mem-

branas celulares y una vez dentro de las células, se unen a su proteína receptora específica, denominada receptor estrogénico (RE). El complejo hormona-proteína receptora, entra en el núcleo y se une al ADN. La combinación de hormona-receptor, se constituye como un factor de transcripción que se une a un elemento de respuesta estrogénica (ERE), lo que finalmente induce la expresión o regulación de ciertos genes. Se ha descrito que existen al menos dos receptores estrogénicos, el receptor clásico o RE α y el nuevo o RE β ⁴, con distinta afinidad por los diferentes ligandos. El RE α , se ha localizado en los órganos y tejidos clásicamente dependiente de los estrógenos, mientras que el segundo, se ha aislado en próstata, testículos, ovarios y algunas áreas del cerebro. Ligandos agonistas y antagonistas, actuarían en diferentes puntos del receptor, mientras que los agonistas parciales tendrían afinidad por sus estados conformacionales ⁵.

Los fitoestrógenos, son componentes naturales de las plantas, incorporados por los animales y el hombre en su dieta habitual ^{6,7}. Se han clasificado, desde el punto de vista químico, en tres grupos: a) lignanos, como la enterolactona y el enterodiol, formados a partir de precursores vegetales gracias a la acción de bacterias intestinales ⁸; b) flavonas e isoflavonas, como la genisteína, daidzeína, biochanina A y formononetina o metabolitos de los mismos, como el equol, producidos en el rumen de ganado ovino; y c) cumestanos, como el cumestrol y sus derivados, encontrados en la alfalfa. Ninguno de estos compuestos presenta estructura esteroidea.

Numerosos casos ilustran la actividad hormonal de estas sustancias. El micoestrógeno más conocido es la zearalenona la cual es sintetizada por distintas especies de mohos pertenecientes al género *Fusarium*, típicas de climas templados. Tanto la zearalenona como el zeranol, son capaces de unirse al receptor de estradiol

debido a su similitud con dicho compuesto. Knight y Eden ⁹, han considerado la soja como la fuente más rica de fitoestrógenos para los humanos, aunque también otros alimentos, como las legumbres y los cereales enteros, contribuyen de manera importante. Por todo esto, la exposición a fitoestrógenos y micoestrógenos, a través de la dieta, puede ser importante, sobre todo en las dietas vegetarianas o semi-vegetarianas, muy frecuentes en los países en desarrollo ¹⁰.

El efecto estrogénico de los fitoestrógenos puede ser agonista o antagonista, dependiendo no sólo de las concentraciones tisulares alcanzadas sino también de los niveles de estrógenos endógenos presentes en la época fértil o en la menopausia ¹¹.

XENOESTRÓGENOS COMO DISRUPTORES ENDOCRINOS

Desde la década de los ochenta, son muchos los estudios de investigación que relacionan a ciertos compuestos químicos, liberados al medioambiente, con el incremento de la incidencia de determinadas enfermedades, entre las que destacan los tumores malignos ¹². Datos experimentales revelan que ciertas sustancias exógenas al organismo humano y animal, conocidas como xenohormonas, mimetizadores hormonales o el nombre más genérico de disruptores endocrinos, serían responsables de la génesis de algunas enfermedades cuya etiología es difícilmente explicable de acuerdo a los factores de riesgo establecidos ¹³.

El término disruptor endocrino hace referencia a un concepto amplio ya que define cualquier sustancia que interfiere con la homeostasis hormonal y ejerce su acción a través de distintos mecanismos de acción. Así, bajo este epígrafe, se incluyen sustancias con propiedades estrogénicas y/o antiestrogénicas (mimetizadores o

Tabla 1 Xenoestrógenos

Compuestos	Usos y vías de exposición
DDT y sus metabolitos: <i>o,p'</i> -DDT <i>p,p'</i> -DDT <i>o,p'</i> -DDD <i>p,p'</i> -DDD <i>p,p'</i> -DDE	Plaguicida: DDT fue prohibido en 1972, pero este producto, así como sus metabolitos, aparecen aún hoy en día en sangre y tejidos humanos
Dieldrín	Plaguicida prohibido en U.S.A. en 1974
Clordecona (Kepona)	Plaguicida prohibido en U.S.A. en 1977
Endosulfán y compuestos relacionados: β -Endosulfán α -Endosulfán Endosulfán-eter Endosulfán-diol	Plaguicida actualmente en uso
Metoxicloro e hidroximetabolitos:	Plaguicida estructuralmente similar al DDT
Toxafeno	Plaguicida prohibido en U.S.A. en 1982
Alquilfenol polietoxilatos (n<2) Alquilfenoles (R>4 carbonos): <i>p</i> -nonilfenol <i>p</i> -octilfenol	Surfactantes industriales presentes en detergentes; componentes de plásticos con propiedades antioxidantes y/o maleables
Ftalatos: <i>n</i> -butil ftalato	Plastificantes del PVC
Benzilbutilftalato	Cosméticos
Bisfenol A y compuestos relacionados Bisfenol F Bisfenol AF	Precusores de resinas epoxi; subproductos de plásticos tras digestión microbiana
Butilhidroxianisol (BHA)	Antioxidante
PCBs	Transformadores eléctricos, prohibidos en 1970
Fenilfenol	Limpiadores, desinfectantes
Acido amsónico	Blanqueadores
PBBs	Retardadores de la llama
PBDEs	Retardadores de la llama

antagonistas de la acción de estradiol), con propiedades androgénicas y/o antiandrogénicas (mimetizadores o antagonistas de la acción de los andrógenos) o mimetizadores o antagonistas de las hormonas tiroideas, entre otros. Por lo tanto, disruptor endocrino engloba a un grupo muy diverso de sustancias que no tienen obviamente similitud estructural pero que han probado su interferencia sobre la homeostasis hormonal.

La Tabla 1, muestra algunos ejemplos de sustancias químicas incluidas en los censos de disruptores endocrinos. La información existente sobre los xenoestrógenos es significativamente más abundante que para cualquier otra clase de disruptores endocrinos. Las propiedades estrogénicas del pesticida DDT y sus análogos, fueron establecidas en 1969; sin embargo, fue necesaria más de una generación para poder establecer la asociación entre estas sustancias y

las anomalías reproductivas que presentaban los trabajadores profesionalmente expuestos a este pesticida. Desde entonces, son muchos los compuestos añadidos a la lista de xenoestrógenos, que contiene, hoy día, otros pesticidas y sus metabolitos, ftalatos, bisfenoles, bifenilos policlorados (PCBs) y polibromados (PBBs y PBDEs), alquilfenoles y metales pesados.

Los pesticidas o plaguicidas estrogénicos hasta ahora conocidos, son generalmente compuestos organoclorados que, además de DDT y metabolitos, incluyen ciclodienos, clordano, dieldrin y endosulfán, hexaclorociclohexanos y clordecona.

Los bifenilos policlorados (PCBs) son sustancias químicas sintéticas de origen industrial que poseen dos anillos de benceno a los que se une un número variable de átomos de cloro, por lo que son también compuestos organoclorados. Según el número de átomos de cloro y la posición que ocupen, se forman los diferentes congéneres, resultando 209 combinaciones diferentes. Durante mucho tiempo, se les consideró sustancias con grandes ventajas y tuvieron un gran número de aplicaciones industriales, debido a su gran estabilidad química, elevado punto de ebullición, difícil combustión y propiedades aislantes. Pero en los años 60 la comunidad científica dio las primeras voces de alarma sobre su peligrosidad, debido a su toxicidad ambiental y a su persistencia ¹⁴. La degradación de estas sustancias supone la sustitución de átomos de cloro por otros de hidrógeno, mediante procesos de oxidación, favoreciendo la solubilización y eliminación de los nuevos metabolitos producidos ¹⁴.

La liberación de un alquilfenol conocido como *p*-nonilfenol de tubos de poliestireno, utilizados en la práctica habitual de cualquier laboratorio, mostró ser la causa de que cultivos de células humanas de cáncer de mama estrogénico-dependientes proliferaran sin la presencia de estradiol ¹⁵.

Alquilfenoles es el término genérico de un grupo de sustancias de síntesis utilizadas como antioxidantes para prevenir, por ejemplo, el amarilleamiento de algunos plásticos. También pertenecen a este grupo los surfactantes no iónicos que son, o han sido, la base de los detergentes industriales, los inertes añadidos a las formulaciones de pesticidas o los espermicidas comercializados en España.

Otra clase de xenoestrógenos son los bisfenoles, que incluyen sustancias tales como bisfenol A, bisfenol F, bisfenol AF, que han demostrado poseer propiedades estrogénicas ¹⁶⁻¹⁹. Los bisfenoles, constituyen un grupo importante de sustancias químicas en la producción de policarbonatos, resinas epoxi, poliésteres y poliacrilatos con múltiples aplicaciones industriales y domésticas.

Los ftalatos tienen un largo historial de empleo como plastificantes, aunque su uso en la manufactura del plástico en contacto con alimentos, se ha restringido o prohibido muy recientemente. Los compuestos butilbencil ftalato y *n*-butil ftalato, son también mimetizadores estrogénicos ¹⁵. Por último, un grupo de especial interés, es el formado por los llamados bifenilos polibromados (PBB) y éteres difenil polibromados (PBDE), compuestos disruptores endocrinos que tienen una similitud estructural con los PCBs y que están siendo regulados por la UE debido a la evidencia de su persistencia medioambiental y bioacumulación en los seres vivos.

El uso de algunos de los compuestos mencionados hasta ahora ha sido prohibido o restringido en muchos de los países industrializados, pero la mayoría sigue utilizándose bajo la consideración de su inocuidad biológica. En algunos casos se trata de compuestos muy lipofílicos que se bioacumulan en los ecosistemas. Como el hombre está al final de la cadena alimentaria, todas estas sustancias se encuentran de manera habitual en tejidos y fluidos huma-

nos, incluso en habitantes de regiones donde nunca se han utilizado ²⁰. Precisamente la hipótesis de trabajo que trata de asociar xenoestrógenos y cáncer de mama se fundamenta en la exposición interna, inadvertida y continuada que las pacientes afectas sufren durante largos periodos de tiempo, ya sea atribuida a compuestos bioacumulables y persistentes o se trate de compuestos de vida media corta, pero en exposiciones puntuales importantes.

ESTRÓGENOS, XENOESTRÓGENOS Y CÁNCER DE MAMA

Se acepta de forma generalizada que el cáncer de mama está relacionado con la exposición de las células mamarias a las hormonas estrógenicas ²¹. De hecho, los estrógenos y los progestágenos están implicados en el desarrollo y crecimiento de las neoplasias mamarias, actuando como promotores de la enfermedad a través de su acción estimuladora sobre el desarrollo, crecimiento y funcionalidad de la glándula mamaria ²². A pesar de ello, aun no se han dilucidado de forma precisa algunos de los mecanismos exactos de actuación de las hormonas esteroideas en el proceso de carcinogénesis ²³. Algunos datos de observación clínica confirman la asociación entre estrógenos y cáncer de mama, por ejemplo, la extirpación de los ovarios a una edad temprana confiere protección frente a la enfermedad tumoral y las mujeres de menarquia tardía y menopausia temprana parecen estar más protegidas frente al riesgo de transformación maligna ²⁴⁻²⁵, lo cual sugiere que la reducción en el tiempo de exposición hormonal se acompaña de un menor riesgo de enfermedad. Los estudios clínicos sobre pacientes bajo terapia estrogénica sustitutiva o de reemplazo, hacen pensar, además, que los estrógenos podrían actuar como promotores de la enfermedad y afectar al desarrollo de la neoplasia, a

pesar de que la exposición haya ocurrido en un periodo de tiempo reciente, cercano al diagnóstico de la enfermedad ²⁵⁻²⁸.

Para entender cómo los estrógenos endógenos afectan al desarrollo de la enfermedad tumoral habría que centrar la atención no sólo en los niveles de hormona circulante sino también en el momento preciso en que ocurre la exposición. Así, por ejemplo, una alta exposición a estrógenos durante el desarrollo perinatal ²⁹, la adolescencia, el embarazo o la década anterior a la menopausia es considerada relevante para la transformación celular mamaria ³⁰ y crítica para el desarrollo de la enfermedad tumoral ³¹.

El cáncer de mama se ha asociado tanto con la sociedad industrializada como con el estilo de vida occidental. Desde el fin de la segunda guerra mundial, son muchos los factores que han cambiado en el estilo de vida en las sociedades industrializadas; por ejemplo, en lo que se refiere a los cambios en la dieta respecto a la ingesta de energía, grasa, carne, leche, pescado, fibra, o verduras frescas ^{25, 32}. Los modos de vida actuales se identifican con sobrealimentación, exceso de peso y baja actividad física, causas que pueden inducir, por si mismas, una disregulación hormonal. Estos cambios pueden, además, empezar a edades tempranas lo que podría estar relacionado con la incidencia de cáncer de mama en mujeres jóvenes.

Los estudios epidemiológicos (Tablas 2 y 3) que han intentado probar la asociación entre la exposición a xenoestrógenos, fundamentalmente pesticidas organoclorados y el riesgo de padecimiento de cáncer de mama son, cuanto menos, reiterativos e insuficientes, si es que hemos de buscar una definición de la situación actual ³³. La mayor crítica de estos estudios es que se han ceñido a valorar la exposición humana a uno o unos pocos compuestos. Esta aproximación es insuficiente si se considera la gran variedad de sustancias químicas pre-

Tabla 2 Resumen de algunos estudios epidemiológicos, con diseño caso-control, de cáncer de mama y su asociación con la concentración en sangre de DDE

Autor	Período estudio	Número caso / control	OR (95% IC)	Tendencia	Asociación
Krieger ³⁸	1964–1971	150 / 150	1.3 (0.7-2.2)	p = 0.43	Ninguna
- Blanca		50 / 50	2.4 (0.5-10.6)	p = 0.23	Ninguna
- Negra		50 / 50	3.8 (0.9-16.0)	p = 0.06	
- Asiática		50 / 50	0.7 (0.2-2.2)	p = 0.51	Ninguna
Helzlsouer ⁴⁹	1974–1989	346 / 346	0.7 (0.4-1.3)	p = 0.13	Ninguna
Høyer ⁴⁷	1976	240 / 477	0.9 (0.6-1.4)	p = 0.52	Ninguna
Høyer ⁴⁸	1976–1978	155 / 274	1.4 (0.7-2.8)		Ninguna
Wolff ⁵⁴	1985–1991	58 / 171	3.7 (1.0-13.5)	p = 0.03	Positiva
Wolff ⁵⁵	1987–1992	148 / 295			
		110 / 213	1.3 (0.5-3.3)	p = 0.99	Ninguna
- RE negativo		23 / 42			
- RE positivo		44 / 83			
Hunter ⁴³	1989–1990	236 / 236	0.7 (0.4-1.4)	p = 0.47	Ninguna
Ward ⁵³	1973–1999	150 / 150	1.2	p = 0.84	Ninguna
Laden ⁵⁷	1989–1994	372 / 372	0.8 (0.5-1.4)	p = 0.15	Ninguna
Moysich ⁶²	1986–1991	154 / 192	1.3 (0.7-2.5)	p = 0.25	Ninguna
- No lactancia		46 / 61	1.8 (0.6-5.3)	p = 0.24	Ninguna
- Si lactancia		85 / 106	1.3 (0.5-3.0)	p = 0.44	Ninguna
Romieu ⁶⁰	1990–1995	120 / 126	3.8 (1.1-12.8)	p = 0.02	Positiva
Millikan ⁵⁹	1993–1996				
- Blancas		292 / 270	0.9 (0.7-14.3)		Ninguna
- Afroamericanas		456 / 381	1.4 (0.9-2.3)		Ninguna
López-Carrillo ⁴²	1994–1996	141/141	0.8 (0.4-1.4)		Ninguna
Wolff ⁵⁶	1994–1996	175 / 355	0.9 (0.6-1.5)		Ninguna
Demers ⁵²	1994–1997	314 / 218	1.3 (0.7 - 2.6)		Ninguna
		314 / 305	1.0 (0.6 - 1.7)		Ninguna
Olaya-Contreras ⁴⁵	1995–1996	153 / 153	1.9 (1.1 - 3.5)	p = 0.09	Positiva
Mendonça ⁵⁰	1995–1996	151/ 306	0.8 (0.4 - 1.6)	p = 0.79	Ninguna
Zheng ⁵¹	1995–1997	475 / 502	0.9 (0.7-1.4)	p = 0.58	Ninguna
- RE negativo		163/			Ninguna
- RE positivo		140/			Ninguna
Gammon ⁶³	1996–1997	646 / 429	1.2 (0.7 -1.9)		Ninguna

OR: *odd ratio*; IC: Intervalo de confianza; RE: Receptor estrogénico

sentes en el medio ambiente, que entran dentro de la clasificación de organoclorados y que se amplía de forma considerable si se considera el conjunto de los disruptores endocrinos con carácter estrogénico. Por esta razón, los estudios diseñados para

investigar la exposición a un único compuesto químico y el riesgo de padecimiento de cáncer de mama que concurren negativamente, deberían limitarse a esa conclusión de forma exclusiva y precisa, y no extender la conclusión al conjunto de todos

Tabla 3 Resumen de algunos estudios epidemiológicos, con diseño caso-control, de cáncer mama y su asociación con la concentración, en tejido adiposo, de DDE

Autor	Período estudio	Número caso / control	OR (95% IC)	Tendencia	Asociación
Unger ³⁷	década 80	14/21			Ninguna
Falck ³⁵	1987	20/20		p = 0.07	Positiva
Dewailly ³⁶	1991-1992	/17			Ninguna
- RE negativo		9/			Positiva
- RE positivo		9/		p = 0.02	
Djordjevic ³⁹	década 90	5/5			Positiva
Güttes ⁴⁶	1993-1994	45/20		p = 0.01	Positiva
Zheng ⁵¹	1994-1997	304/186	0.9 (0.5 -1.5)	p = 0.46	Ninguna
van't Veer ⁴¹	1996	347/374	0.5 (0.2 -0.9)	p = 0.02	Negativa
Stellman ⁴⁴	1994-1996	232/323	0.7 (0.4 -1.2)	p = 0.3	Ninguna
Aronson ⁵⁸	1995-1997	217/213	1.6 (0.8 -3.1)		Ninguna
Woolcott ⁶¹					
- RE negativo			2.4 (1.0 -5.4)		
- RE positivo			1.1 (0.6 -1.9)	p = 0.03	Positiva

OR: *odd ratio*; CI: Intervalo de confianza; ER: Receptor estrogénico

los pesticidas organoclorados y a los xenoestrógenos. A pesar de que se contabilizan más de 30 estudios epidemiológicos, lo cierto es que estos tienen defectos de diseño que impiden extraer conclusiones válidas y sesgan su interpretación ³⁴.

Los datos de bioacumulación de DDT/DDE en el tejido adiposo y su liberación a la sangre, pueden ofrecer alguna información adicional en el estudio de la hipótesis medio ambiental en cáncer de mama. Los resultados de los estudios epidemiológicos que han utilizado estos tejidos para la cuantificación de la exposición parecen ser algo más convincentes en la demostración de la hipótesis. Por ejemplo, el DDE parece estar un 50% más elevado en el tejido graso mamario de las enfermas afectas de cáncer que en enfermas sin tumores mamarios malignos ³⁵. Estas diferencias se hacen aun más visibles cuando se determinan los niveles de DDE en pacientes con tumores positivos para el receptor estrogénico ³⁶. Los estudios epide-

miológicos de numerosos autores ³⁷⁻⁶⁵, han investigado la asociación entre la exposición a pesticidas organoclorados y cáncer de mama con resultados muy dispares. La inconsistencia en los resultados puede deberse a los sesgos en la elección de la población o a los subgrupos étnicos seleccionados para hacer el estudio ⁶⁶. Además, la hipótesis de asociación entre compuestos organoclorados y cáncer de mama no se puede analizar en base a la medida de uno solo, o unos pocos compuestos, sin tener en cuenta las interacciones sinérgicas, aditivas o antagonistas entre estas sustancias. Existe muy poca información en este sentido y se han estudiado muy pocos compuestos ⁶⁷⁻⁶⁹.

Se han propuesto diferentes métodos para estudiar estas interacciones, como el establecido por Payne y colaboradores ⁶⁹, que predice el efecto de una mezcla en función de la potencia individual de sus componentes, siempre y cuando el efecto de los compuestos individuales y la mezcla

puedan ser analizados dentro del mismo sistema, en relación a idénticos objetivos.

Muestras biológicas diversas, como por ejemplo sangre-suero, saliva, leche materna o tejido graso, pueden servir como tejido de inicio para la aplicación de los biomarcadores de exposición a xenoestrógenos. Mediante técnicas bioquímicas sencillas, se pueden extraer los xenobióticos hormonales allí contenidos y probar su actividad estrogénica-antiestrogénica. La actividad biológica una vez cuantificada puede ser transformada en unidades equivalentes de estradiol; es decir, en la concentración de estradiol que produciría un efecto similar. Además, mediante la utilización de métodos analíticos, se puede completar el estudio con la identificación y cuantificación de los compuestos químicos responsables de tal efecto hormonal. Esa aproximación conceptual, permitió desarrollar y estandarizar una metodología que estima de forma cuantitativa la carga estrogénica total efectiva (TEXB) en muestras humanas de tejido adiposo^{1, 19, 67, 70-74}. El método propuesto, que extrae y separa los estrógenos exógenos de los estrógenos ováricos y donde la actividad biológica de las muestras se prueba en un ensayo biológico, fue aplicado a un estudio epidemiológico de casos y controles de base hospitalaria en cáncer de mama, que tenía como propósito analizar la relación existente entre los xenoestrógenos contenidos en tejido adiposo y el riesgo de padecer cáncer de mama⁷⁴.

Durante los años 1996-1998, se reclutaron 198 mujeres con cáncer de mama que fueron comparadas con 260 controles en tres hospitales del sureste español⁶⁵. El rango de edad de las mujeres participantes fue de 35 a 70 años. Se definió *caso* como mujer diagnosticada e intervenida quirúrgicamente de cáncer de mama en cualquiera de los hospitales elegidos, que firmara el consentimiento informado y que no contara con antecedentes previos de cáncer; y

control como mujer intervenida quirúrgicamente de cualquier patología no oncológica, ginecológica o endocrina en el mismo hospital y con edad no superior o inferior en tres años a su caso control.

Las muestras de tejido adiposo obtenidas en el momento de la cirugía, fueron extraídas y procesadas mediante cromatografía HPLC. Se colectaron dos fracciones cromatográficas: fracción alfa que contiene xenoestrógenos y fracción beta donde fluyen las hormonas endógenas y xenoestrógenos más polares y distintos a los encontrados en la fracción alfa. Los pesticidas organoclorados como DDT y sus metabolitos, endosulfán, aldrin, y lindano, entre otros, son cuantificados e identificados posteriormente mediante cromatografía de gases y espectrometría de masas. Las dos fracciones fueron posteriormente analizadas en el bioensayo de estrogenicidad E-Screen^{15, 75}. Este test, basado en la proliferación de células de cáncer de mama MCF7, expresa la estrogenicidad de los extractos en equivalentes de estradiol y define la carga estrogénica total efectiva (TEXB-alfa y TEXB-beta). El valor de equivalentes de estradiol obtenido se corrige por la concentración de lípidos contenidos en cada muestra.

Las estimaciones de riesgo obtenidas en el estudio de casos y controles fueron estadísticamente significativas para:

- *Estado civil*, casadas frente a solteras, OR: 0.30 (IC 95%: 0.12-0.76).
- *Nivel educativo*, universitarias frente a mujeres sin estudios, OR: 6.48 (IC 95%: 2.48-16.95).
- *Ocupación*, ejecutivas-directoras frente a amas de casa, OR (4.74; IC 95%: 1.26-17.88).
- *Clase económico-social*, la más alta frente a la menor, OR: 4.16 (IC 95%: 1.27-13.6).
- *Concepción*, embarazos frente a la ausencia de ellos, OR: 0.48 (IC 95%: 0.4-0.97).

- *Paridad*, si o no, OR: 0.48 (IC 95% 0.25-0.92); *el número de hijos* es significativo a partir de cuatro; *edad al primer embarazo*, más de 26.5 años *versus* menos de 26 años, OR: 2.45 (IC 95%: 1.34-4.45).
- *Número de meses de lactancia*, más de 33 meses totales frente a no amamantar, OR: 0.43 (IC 95%: 0.25-0.74).
- *Antecedentes familiares de cáncer de mama*, madres si o no, OR: 10.90 (IC 95%: 1.35-87.92); hermanas si o no, OR: 2.98 (IC 95%: 1.11-7.97).
- *Consumo de alcohol*, si frente a no, OR: 1.99 (IC 95%: 1.2-3.32); consumo de alcohol en función de la *cantidad y de los días* OR: 2.5 (IC 95%: 1.05-5.49).
- *Tabaco*, fumadoras frente a no fumadoras, OR: 2.23 (IC 95%: 1.25-3.97).

Estos resultados, vienen a confirmar algunas de las observaciones comentadas previamente sobre los factores de riesgo identificados en otras series de cáncer de mama y resaltan que, en el modelo de regresión logística, las variables con mayor significación estadística son el número de hijos, edad al primer hijo, antecedentes familiares, estado civil, ocupación, y consumo de alcohol.

En lo que se refiere a la exposición a disruptores endocrinos, no obstante, se añade algo nuevo a la hipótesis de los estrógenos ambientales ya que, tras ajustar por la variables de confusión, la estimación del riesgo de cáncer de mama para los dieciséis pesticidas organoclorados medidos en la población de estudio, fue estadísticamente significativa para el insecticida aldrín (OR: 1.73; IC 95%: 1.09-2.73). Además, cuando se estratificó la población en función del estatus menopáusico, el riesgo para aldrin aumentó de forma significativa (OR: 1.97; IC 95%: 1.09-3.53) para las mujeres posmenopáusicas y en esa misma población apareció también estadísticamente significativa la exposición a lindano como un factor de riesgo de cáncer de mama (OR: 1.80; IC 95%: 1.04-3.14).

En ese mismo grupo de pacientes posmenopáusicas, la estrogenicidad de la fracción alfa (TEXB-alfa), expresada en equivalentes de estradiol, mostró una OR de 2.00, 2.41 y 1.49 para el segundo, tercero y cuarto cuartil, cuando se compara con el primero (IC 95%: 1.12-5.19), lo cual señala el valor de la carga estrogénica para identificar exposición y riesgo de cáncer de mama. Pero, fue aun más interesante el resultado obtenido al estratificar las pacientes en función de la mediana del índice de masa corporal (IMC) ya que se demostró que en la población de pacientes situadas por debajo del valor mediana de IMC, la carga estrogénica total efectiva de la fracción alfa (TEXB-alfa) se asocia con un mayor riesgo de padecimiento de cáncer de mama (OR de 1.05, 1.93 y 2.48 para el segundo, tercero y cuarto cuartil, cuando se compara con el primero (IC 95%: 1.05-5.87). Además, cuando en el análisis de regresión logística se incluye la estrogenicidad de la fracción beta (TEXB-beta), el riesgo aumenta hasta alcanzar una OR de 3.80 (1.37-10.56), al comparar el cuarto cuartil con el de referencia.

Por último, resulta interesante señalar algunas de las asociaciones señaladas entre carga estrogénica de las fracciones alfa y beta y los factores de riesgo para cáncer de mama más frecuentemente referidos como estadísticamente significativos. Así, por ejemplo, se asocia, de forma estadísticamente significativa, la caída de los valores de carga hormonal y el establecimiento de la menopausia, hecho que no es de sorprender para la estrogenicidad de la fracción beta, que expresa fielmente la actividad hormonal de producción endógena. No obstante, la explicación es menos sencilla para el caso de la estrogenicidad debida a los xenoestrógenos, la cual también decrece con la edad de las pacientes a pesar de que algunos de los pesticidas organoclorados medidos evolucionan en sentido contrario; es decir, las pacientes de mayor edad tienen mayores niveles de DDE. La explica-

ción a esta caída de carga hormonal exógena pudiera venir dada por algunas otras circunstancias que se dan en las pacientes de la serie; por ejemplo, se ha observado cómo lactancia y embarazos resultan en una pérdida importante de la estrogenicidad acumulada. Este proceso de limpieza de xenobióticos, frecuentemente denunciado, que ocurre en esos períodos, explicaría la caída de la actividad hormonal y vendría a señalar a la madre como una de las fuentes de exposición más importantes para el feto y el lactante. A este respecto, la exposición familiar, ya sea relacionada con el ambiente común en el que se desenvuelve la vida de madres, hijas y hermanas o que las idénticas habilidades para detoxicar xenobióticos bioacumulados, determina un idéntico grado de exposición cuando ésta se estima mediante la medida de la carga estrogénica total efectiva de la fracción alfa. Esta asociación entre un factor de riesgo tan potente y el marcador de exposición, no hacen sino añadir interés al estudio del significado biológico de este último.

Los resultados sugieren que la actividad biológica correspondiente a los xenoestrógenos bioacumulados en tejido adiposo, es un factor de riesgo de cáncer de mama y que esa actividad hormonal puede ser evaluada retrospectivamente mediante la aplicación de biomarcadores de exposición y efecto como el que aquí se describe. Además, confirman que es el efecto combinado de los xenoestrógenos el factor que debe ser investigado y sitúan a la exposición ambiental en un lugar preponderante entre los factores de riesgo evidenciados en cáncer mamario.

BIBLIOGRAFÍA

1. Pazos, P.; Olea-Serrano, M.F.; Zuluaga, A.; Olea, N. Endocrine Disrupting Chemicals: Xenoestrogens. *Med. Biol. Environ Int. J.* 26: 41-47, 1998.
2. Jordan VC, Mittal S, Gosden B, *et al.* Structure-activity relationships of estrogens. *Environ Health Perspect* 61: 97-110, 1985.
3. Verdeal, K.; Ryan, D.S. Naturally occurring estrogens in plant foods stuffs. *J. Fd. Protection* 42: 577-583, 1979.
4. Gronemeyer H, Gustafsson JA, Laudet V. Principles for modulation of the nuclear receptor superfamily. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 3: 950-64, 2004.
5. Leclercq G. Molecular forms of the estrogen receptor in breast cancer. *J Sterod Biochem Mol Biol* 80: 259-72, 2002.
6. Mäkelä, S.; Davis, V.L.; Tally, W.C.; Korkman, J.; Salo, L.; Vihko, R.; Santti, R.; Korach, K.S. Dietary estrogens act through estrogen receptor-mediated processes and show no antiestrogenicity in cultured breast cancer cells. *Environ. Health Perspect.* 102: 572-8, 1994.
7. Olea, N.; Pazos, P.; Fernández M.F.; Rivas, A.; Olea-Serrano, M.F.; Pedraza, V. Phyto and mycoestrogens (Xenoestrogens) as a preventable cause of breast cancer. *Med. Biol. Environ. Int. J.* 27:55-60; 1999.
8. Knight DC, Eden JA. A review of the clinical effects of phytoestrogens. *Obst Gynecol* 87: 897-904, 1996.
9. Verdeal K.; Ryan DS. Naturally occurring estrogens in plant foods stuffs. *J Fd Protection* 42: 577-583, 1979.
10. Adlercreutz H. Phytoestrogens: Epidemiology and a possible role in cancer protection. *Environ Health Perspect* 103 (Suppl 7): 103-112, 1995.
11. Almstrup K, Fernández MF, Petersen JH, Olea N. *et al.* Dual effects of phytoestrogens result in U-shaped dose-response curves. *Environ Health Perspect* 110(8): 743-8, 2002.
12. Colborn T, Clement C. Chemically-induced alterations in sexual and functional development: The wildlife/human connection. Princeton Scientific Publishing, Princeton NJ. 1992.
13. Olea N, Olea-Serrano MF. Oestrogens and the environment. *Eur J Cancer Prevention.* 5: 491-6, 1996.
14. Brown JF, Wagner RE, Feng H, *et al.* Environmental dechlorination of PCBs. *Environ Toxicol Chem* 6: 579-93, 1987.

15. Soto A, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, Olea-Serrano MF. The E-SCREEN Assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environ Health Perspect* 103: 113-22, 1995.
16. Brotons JA, Olea-Serrano MF, Villalobos M, *et al.* Xenoestrogens released from lacquer coating in food cans. *Environ Health Perspect* 103: 608-12, 1995.
17. Olea N, Pulgar R, Pérez P, *et al.* Estrogenicity of resin-based composites and sealants used in dentistry. *Environ Health Perspect* 104: 298-305, 1996.
18. Pérez P, Pulgar R, Olea-Serrano F, *et al.* The estrogenicity of bisphenol-A-related diphenylalkanes with various substituents at the central carbon and the hydroxy groups. *Environ Health Perspect* 106: 167-174, 1998.
19. Rivas A, Lacroix M, Olea-Serrano F, *et al.* Estrogenic effect of a series of bisphenol analogues on gene and protein expression in MCF7 breast cancer cells. *J Steroid Biochem* 82: 45-53, 2002.
20. Longnecker MP, Rogan WJ, Lucier G. The human health effects of DDT and PCBs and an overview of organochlorines in public health. *Annu Rev Public Health* 18: 211-44, 1997.
21. Pike MC, Spicer DV, Dahmouh L, *et al.* Estrogen, progestogens, normal breast cells proliferation, and breast cancer risk. *Epidemiol Rev* 15: 17-35, 1993.
22. Toniolo PG, Levitz M, Zeleniuch-Jacquette A, *et al.* A prospective study of endogenous estrogens and breast cancer in postmenopausal women. *J Natl Cancer Inst.* 87 (3): 190-7, 1995.
23. Russo IH, Russo J. Role of hormones in mammary cancer initiation and progression. *J. Mam Gland Biol Neoplasia* 3: 49-61, 1998.
24. Leung BS, Pewnim T, Chandra DP, *et al.* Predictability of response to endocrine ablation in advanced breast cancer. *Arch Surg* 106: 515-9, 1973.
25. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev* 15: 36-47, 1993.
26. Mustafa IA, Bland KI. Physiologic effect of steroid hormones and postmenopausal hormone replacement on the female breast and breast cancer risk. *Ann Surg* 228: 638-51, 1998.
27. Writing group for the women's health initiative investigations. Risks and benefits of estrogen plus progestin in healthy postmenopausal women. *JAMA* 288:321-33, 2002
28. Million women study collaborators. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the million women study. *Lancet* 362:419-27, 2003.
29. Anbazhagn R., Gusterson BA, Prenatal factors may influence predisposition to breast cancer. *Eur J Cancer* 30: 1-3, 1994.
30. vom Saal F. Environmental estrogenic chemicals: their impact on embryonic development. *Hum Ecol Risk Assess* 1: 3-15, 1995.
31. Titus-Ernstoff L., Egan KM., Newcomb PA., Ding J., Trentham-Dietz A., Greenberg ER, Baron JA., Trichopoulos D., Willet WC. Early life factors in relation to breast cancer risk in postmenopausal women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 11: 207-10, 2002.
32. Hershcopf RJ, Bradlow HL. Obesity, diet, endogenous estrogens, and the risk of hormone sensitive cancer. *Am J Clin Nutr.* 45: 283-9, 1987.
33. Davis DL, Bradlow HL, Wolff M, *et al.* Medical hypothesis: xenoestrogens as preventable causes of breast cancer. *Environ Health Perspect* 101: 372-7, 1993.
34. Fernández, M.F.; Pedraza, V.; Olea, N. Estrogens in the environment: is there a breast cancer connection?. *Cancer J.* 11: 11-17, 1998.
35. Falck F, Ricci A, Wolff MS, *et al.* Pesticides and polychlorinated biphenyl residues in human breast lipids and the relation to breast cancer. *Arch Environ Health* 47: 143-6, 1992.
36. Dewailly E, Dodin S, Verreault R, Ayotte P, Sauve L, Morin J. High organochlorine body burden in women with estrogen receptor-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 86: 2232-4, 1994.
37. Unger M, Kiaer H, Blichert-Toft M, Olsen J, Clausen J. Organochlorine compounds in human breast fat from deceased with and without breast cancer and in biopsy material from newly diagnosed patients under-

- going breast surgery. *Environ Res* 34: 24-28, 1984.
38. Krieger N, Wolf MS, Hiatt RA, Rivera M, Vogelman J, Orentreich N. Breast cancer and serum organochlorines: a prospective study among white, black, and Asian women. *J Natl Cancer Inst* 86: 589-99, 1994.
 39. Djordjevic MV, Hoffmann D, Fan J, *et al.* Assessment of chlorinated pesticides and polychlorinated biphenyls in adipose breast tissue using a supercritical fluid extraction method. *Carcinogenesis* 15: 2581-2585, 1994
 40. Ahlborg UG, Lipworth L, Titus-Ernstoff L, *et al.* Organochlorine compounds in relation to breast cancer, endometrial cancer, and endometriosis: an assessment of the biological and epidemiological evidence. *Crit Rev Toxicol* 25: 463-531, 1995.
 41. van't Veer P, Lobbezoo IE, Martin-Moreno JM, Guallar E, Gomez-Aracena J, Kardinaal A, *et al.* DDT (dicophane) and postmenopausal breast cancer in Europe: case-control study. *Br Med J* 315: 81-5, 1997.
 42. López-Carrillo L, Blair A, López-Cervantes M, Cebrián M, Rueda C, Reyes R, *et al.* Dichlordyltrichloroethane serum levels and breast cancer risk: a case-control study from Mexico. *Cancer Res* 57: 3728-32, 1997.
 43. Hunter D, Hankinson S, Laden F, Colditz GA, Manson JE, Willet WC, *et al.* Plasma organochlorine levels and the risk of breast cancer. *N Engl J Med* 337: 1253-8, 1997.
 44. Stellman SD, Djordjevic MV, Muscat JE, Gong L, Bernstein D, Citron ML. Relative abundance of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in adipose tissue and serum in women of Long Island, New York. *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 7: 489-96, 1998.
 45. Olaya-Contreras P, Rodríguez-Villamil J, Posso-Valencia HJ, Olaya-Contreras P, Cortez JE. Organochlorine exposure and breast cancer risk in Colombian women. *Cad Saude Publica* 14: 125-32, 1998.
 46. Guttus S, Failing K, Neumann K, Kleinstein J, Georgii S, Brunn H. Chlororganic pesticides and polychlorinated biphenyls in breast and malignant breast disease. *Arch Environ Contam Toxicol* 35: 140-7, 1998.
 47. Hoyer AP, Grandjean P, Jorgensen T, Brock JW, Hartvig HB. Organochlorine exposure and risk of breast cancer. *Lancet* 352: 1816-20, 1998.
 48. Hoyer AP, Jorgensen T, Brock JW, Grandjean P. Organochlorine exposure and breast cancer survival. *J Clin Epidemiol* 53: 323-30, 2000.
 49. Helzlsouer KJ, Alberg AJ, Huang HY, Hoffman SC, Strickland PT, Brock JW. Serum concentrations of organochlorine compounds and subsequent development of breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8: 525-32, 1999.
 50. Mendoca GA, Eluf-Neto J, Andrada-Serpa MJ, Carmo PA, Barreto HH, Inomata ON, *et al.* Organochlorines and breast cancer: a case-control study in Brazil. *Int J Cancer* 83: 596-600, 1999.
 51. Zheng T, Holford MR, Mayne ST, Tessari J, Owens PH, Zahm SH, *et al.* Environmental exposure to hexachlorobenzene (HCB) and risk of female breast cancer in Connecticut. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 8: 407-11, 1999.
 52. Demers A, Ayotte P, Brisson J, Dodin S, Robert J, Dewailly E. Risk and aggressiveness of breast cancer in relation to plasma organochlorine concentrations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 161-6, 2000.
 53. Ward EM, Schulte P, Grajewski B, Andersen A, Patterson DG Jr, Turner W, *et al.* Serum organochlorine levels and breast cancer: A nested case-control study of Norwegian women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9:1357-67, 2000.
 54. Wolff MS, Toniolo PG, Lee EW, Rivera LM, Dubin N. Blood levels of organochlorine residues and risk of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 85: 648-52, 1993.
 55. Wolff MS, Berkowitz GS, Brower S, Senie R, Bleiweiss IJ, Tartert P, *et al.* Organochlorine exposures and breast cancer risk in New York City women. *Environ Research* 84: 151-61, 2000.
 56. Wolff MS, Zeleniuch-Jacquotte A, Dubin N, Toniolo P. Risk of breast cancer and organochlorine exposure. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 9: 271-7, 2000.
 57. Laden F, Collman G, Iwamoto K, Alberg AJ, Berkowitz GS, Freudenheim JL, *et al.* 1,1-Dichloro-2,2-bis(p-chlorophenyl)ethylene and polychlorinated biphenyls and