

Los límites de los límites

Valores límite de exposición ocupacional:
Razones y limitaciones



Los límites de los límites

Valores límite de exposición ocupacional:
Razones y limitaciones

Este informe ha sido elaborado en el marco de la acción DIR 0001/2009, cofinanciado por la Fundación de Prevención de Riesgos Laborales. Sus autores son:

Paloma Quesada Ballester

Magda Bosch de Basea Gómez

Miquel Porta Serra – Director

Grup de Recerca en Epidemiologia Clínica i Molecular del Càncer

Instituto Municipal de Investigación Médica (IMIM) de Barcelona

Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona

Calle del Doctor Aiguader, 88. 08003 Barcelona

Telf.: 93 316 0700. Fax: 93 316 0410. Correo-e: pquesada@imim.es

<http://www.imim.es/programesrecerca/epidemiologia/documentsgreem.html>

Son coautores del informe (apartado 4: Salud reproductiva):

Elena **Ronda**

José María **Roel**

Lorena **Ivorra**

Departamento de Medicina Preventiva y Salud Pública

Universidad de Alicante

Ctra. de San Vicente del Raspeig, s/n. 03690 Alicante

Apartado de Correos 99. E-03080 Alicante (España)

Telf. 965 90 3919. Fax 965 90 3964

Departamento de Patología y Cirugía. Universidad Miguel Hernández.

Área de Medicina Preventiva y Salud Pública. Universidad de Alicante. Departamento de Salud Pública Historia de la Ciencia y Ginecología. Universidad Miguel Hernández.

Agradecemos la colaboración de:

Dr. Juan Alguacil (Universidad de Huelva), Magda Gasull, Yolanda Rovira, Elisa Puigdomènech, Tomás López y José Pumarega (GRECMC IMIM).

Edita: Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud (ISTAS)

Realización: Paralelo Edición, SA

Depósito Legal:

Impreso en papel reciclado 

REAL ACADEMIA ESPAÑOLA
DICCIONARIO DE LA LENGUA ESPAÑOLA (VIGÉSIMA SEGUNDA EDICIÓN)

límite.

(Del lat. *limes*, - *tis*).

1. m. Línea real o imaginaria que separa dos terrenos, dos países, dos territorios.

4. m. Extremo que pueden alcanzar lo físico y lo anímico.

(...)

*«A menudo es necesario tomar una decisión
fundamentada en información suficiente para la acción
pero insuficiente para satisfacer completamente al intelecto.» [1]*

Immanuel Kant
(1724-1804)

*«Todo trabajo científico es incompleto, sea observacional o
experimental. Todo trabajo científico es susceptible de ser superado
o modificado por el avance del conocimiento. Ello no nos confiere
la libertad de ignorar el conocimiento que ya tenemos, o de
posponer la acción que el conocimiento parece demandar en un
momento determinado.» [2]*

Austin Bradford Hill
(1897-1991)

*«Puesto que lo triste sigue siendo: en el mundo hay mucha más
poesía que justicia.» [3]*

Paul Auster
Invisible

ABREVIACIONES

ACGIH: Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (*American Conference on Governmental Industrial Hygienists*).

ADI: Dosis diaria aceptable (*Acceptable daily intake*).

AIHA: Asociación Americana de Higiene Industrial (*American Industrial Hygiene Association*).

ALARA: Niveles tan bajos como sean razonablemente alcanzables (*as low as reasonably achievable*).

BMD: Dosis de referencia (*Benchmark dose*).

BOELVs: Valores límite vinculantes de exposición ocupacional (*Binding Occupational Exposure Limit Values*).

BVL: Valor límite biológico (*Biological Limit Value*).

CMRs: Sustancias cancerígenas, mutagénicas y tóxicas para la reproducción.

CSA: Evaluación de seguridad de las sustancias químicas (*Chemical Safety Assessment*).

DG EMP: Dirección General de la Unión Europea de Empleo, Asuntos Sociales e Igualdad de Oportunidades (*European Commission's Directorate-General for Employment, Social Affairs and Equal Opportunities*).

DNEL: Nivel determinado sin efectos (*Derived No Effect Levels*).

ECETOC: Centro Europeo para la Ecotoxicología y la Toxicología de las Sustancias Químicas (*European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals*).

ECA: Agencia Química Europea (*European Chemicals Agency*).

ECHA: Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos (*European Chemicals Agency*).

ED: Exposición diaria.

EEA: Área Económica Europea (*Economic European Area*).

EEMS: Sociedad Europea sobre Mutágenos Ambientales (*European Environmental Mutagen Society*).

EPA: Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (*Environmental Protection Agency*).

ETUC: Confederación Europea de Sindicatos (*European Trade Union Confederation*).

EUROTOX: Federación de Toxicólogos Europeos y de las Sociedades Europeas de Toxicología (*Federation of European Toxicologists & European Societies of Toxicology*).

GTx: Sustancias genotóxicas.

HBOEL: Límite de exposición ocupacional basado en la salud (*Health-based occupational exposure limit*).

HSE: Ejecutivo para la Salud y la Seguridad del Reino Unido (*Health and Safety*).

IARC: Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (*International Agency for Research on Cancer*).

ILSI: Instituto Internacional de Ciencias de la Vida (*International Life Sciences Institute*).

IOELVs: Valores límite indicativos de exposición ocupacional (*Indicative Occupational Exposure Limit Values*).

IPCS: Programa Internacional de Seguridad Química (*International Programme on Chemical Safety*).

LNT: Extrapolación lineal sin umbral (*Linear Non-Threshold*).

MAK: Comisión para la Investigación de los Peligros para la Salud de los Compuestos Químicos en el Área de Trabajo (*Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area*).

MOE: Margen de exposición (*Margin of exposure*).

NGTx: Sustancias no genotóxicas.

NOAEL: Nivel de no observación de efectos adversos (*No Observed Adverse Effect Level*).

OCDE: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (*Organisation for Economic Co-operation and Development*).

OEL: Límite de exposición ocupacional (*Occupational Exposure Limit*).

OMS: Organización Mundial de la Salud (*World Health Organization*).

OSHA: Administración para la Salud y la Seguridad Ocupacional de Estados Unidos (*US Occupational Safety and Health Administration*).

PBT: Sustancias tóxicas persistentes y bioacumulables (*Persistent biological toxic substances*).

POD: Punto de partida (*Point of Departure*).

RAC: Comité de Evaluación del Riesgo de la Agencia Europea de Químicos.

REACH: Reglamento europeo para el registro, evaluación y autorización de sustancias y preparados químicos (*Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*).

RoC: Informe sobre Carcinógenos (*Report on Carcinogens*).

ROS: Sustancias oxígeno-reactivas (*Reactive Oxygen Species*) .

SCOEL: Comité Científico para Límites de Exposición Ocupacional (*Scientific Committee on Occupational Exposure Limits*) .

SVHC: Sustancias altamente preocupantes (*Substances of Very High Concern*).

TLVs: Valores límite umbral (*Threshold limite values*).

TWA: Tiempo medio ponderado (*Time weighted average*).

UF: Factor de incertidumbre (*Uncertainty factor*).

VCM: Cloruro de vinilo monómero (*Vinyl chloride monomer*).

VL: Valor límite.

VLA: Valor límite ambiental.

VLA-ED: Valor límite ambiental-exposición diaria.

VLA-EC: Valor límite ambiental-exposición de corta duración.

VLB: Valor límite biológico.

Nota: Los autores de este informe son conscientes de que en castellano los acrónimos no acostumbran a llevar una «s» al final. Aun así, la «s» final es también aceptable y creen que transmite mejor el sentido plural.

Para otras abreviaturas y para definiciones de términos epidemiológicos, por favor consulte las obras de referencia; como, por ejemplo, A Dictionary of Epidemiology de la International Epidemiological Association (IEA) [4].

ÍNDICE GENERAL

1. Introducción. El estudio en el marco del debate normativo existente	9
2. Valores límite de exposición profesional	11
2.1. Qué son los valores límite de exposición profesional	12
2.2. Cómo se establecen en Europa los valores límite	14
2.3. Cómo se establecen en España los valores límite	17
3. Sustancias cancerígenas y mutágenas	17
3.1. Métodos de clasificación utilizados por instituciones relevantes	17
3.1.1. Europa	17
3.1.2. Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC)	23
3.1.3. Agencia para la Protección Ambiental (US EPA)	25
3.1.4. National Toxicology Program (NTP)	26
3.2. Clasificación según su mecanismo y modo de acción	26
3.3. Evaluación del riesgo de sustancias cancerígenas y mutágenas	41
3.3.1. Identificación del riesgo	41
3.3.2. Caracterización de la relación dosis-respuesta	45
3.3.3. Estimación de la exposición	48
3.3.4. Estimación del riesgo	49
3.4. Valores límite de exposición profesional a agentes cancerígenos y mutágenos: razones y limitaciones	50
4. Sustancias tóxicas para la salud reproductiva	53
4.1. Clasificación según su mecanismo y modo de acción	53
4.2. Clasificación de sustancias y preparados peligrosos para la reproducción y la lactancia según la normativa europea.....	56
4.3. Evaluación del riesgo de sustancias tóxicas para la salud reproductiva	58
4.4. Valores límite de exposición profesional a sustancias tóxicas para la salud reproductiva.....	61
4.4.1. Criterios establecidos en España para la evaluación de la exposición a riesgos químicos de las trabajadoras embarazadas y lactantes.....	61
4.4.2. Criterios utilizados en otros países en relación a los valores límite profesionales y la salud reproductiva	63
4.5. Limitaciones de los límites de exposición profesional a sustancias tóxicas para la salud reproductiva	65
5. Anexos	68
6. Bibliografía	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comparación de OELs para seis disolventes en diferentes Estados miembros de la Unión Europea (ppm, 8 h TWAs)	13
Tabla 2. Categoría de peligro para las sustancias carcinógenas	17
Tabla 3. Categorías de peligro para mutágenos en células germinales.....	20
Tabla 4. Información toxicológica requerida según el tonelaje de producción de los agentes químicos	22
Tabla 5. Los carcinógenos operan vía múltiples eventos clave, es decir, mediante diversos modos de acción.....	32
Tabla 6. Equivalencia entre el RD 363/1995 y el Reglamento 1272/2008.	56
Tabla 7. Países de la Unión Europea que disponen de listado con clasificación de sustancias reprotóxicas.....	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Representación esquemática de la relación dosis-respuesta de los agentes carcinógenos	29
Figura 2. Propuesta de distinción entre los grupos de carcinógenos (A - D) para la estimación del riesgo y el establecimiento de valores límite	30
Figura 3. Extrapolación de la exposición humana cuando no se puede asumir que la curva dosis-respuesta presenta un valor umbral	31
Figura 4. Secuencia del proceso de tumorigénesis e hipotéticos mecanismos umbral de los carcinógenos genotóxicos	34
Figura 5. Proceso de desarrollo del cáncer	35
Figura 6. De la exposición a la enfermedad clínica	36
Figura 7. Mecanismos carcinogénicos genotóxicos y no genotóxicos.	37
Figura 8. Mecanismos de reparación celular	39
Figura 9. Proceso de carcinogénesis química (iniciación, promoción, progresión).....	40
Figura 10. Desarrollo de productos génicos alterados por carcinógenos químicos	40
Figura 11. Paradoja del equilibrio de los OEL	42
Figura 12. Tests de genotoxicidad y carcinogénesis. Los tests de genotoxicidad estándar permiten detectar de manera precisa el daño genético causado por la acción de los agentes testados. Por otro lado, los tests sobre carcinogénesis permiten evaluar el potencial de estos agentes de inducir tumores en animales.....	44

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Estrategia para las pruebas de mutagenicidad	68
Anexo 2. Estrategia para las pruebas de mutagenicidad en células germinales.....	69
Anexo 3. Proceso de estimación del riesgo de sustancias químicas.....	70
Anexo 4. Listado de sustancias	71
Anexo 5. Selección de publicaciones recientes y relevantes a los efectos de este informe del Grup de Recerca en Epidemiologia Clínica i Molecular del Càncer del IMIM	72



1. INTRODUCCIÓN. EL ESTUDIO EN EL MARCO DEL DEBATE NORMATIVO EXISTENTE

Los Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos adoptados por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) son la referencia que utilizan las empresas en España para establecer el nivel de riesgo de los trabajadores expuestos a agentes químicos peligrosos.

Estos límites incluyen valores de exposición para algunas sustancias cancerígenas y mutágenas, con la siguiente justificación:

Los conocimientos científicos actuales no permiten identificar niveles de exposición por debajo de los cuales no exista riesgo de que los agentes mutágenos y la mayoría de los cancerígenos produzcan sus efectos característicos sobre la salud. No obstante, se admite la existencia de una relación exposición-probabilidad del efecto que permite deducir que cuanto más baja sea la exposición a estos agentes menor será el riesgo.

En estos casos, mantener la exposición por debajo de un valor máximo determinado no permitirá evitar completamente el riesgo, aunque sí podrá limitarlo. Por esta razón, los límites de exposición adoptados para algunas de estas sustancias no son una referencia para garantizar la protección de la salud, según la definición dada en el apartado 5 de este documento, sino unas referencias máximas para la adopción de las medidas de protección necesarias y el control del ambiente de los puestos de trabajo.

Debido a que no se puede evitar completamente el riesgo, las Directivas europeas 90/394/CEE, 97/42/CE y 2004/37/CE, sobre la protección de los trabajadores frente a la exposición a cancerígenos, y el RD que las transpone al régimen jurídico español, establecen que los empresarios tienen la obligación de eliminar o sustituir los CM 1 y 2 (CM 1A y 1B según el Reglamento 1272/2008 CLP) presentes en los lugares de trabajo siempre que sea técnicamente viable.

Sin embargo, en los últimos años se ha suscitado un debate en distintos foros científicos, sociales y sindicales europeos sobre la existencia de valores de exposición seguros a sustancias cancerígenas no genotóxicas. Estas sustancias producen cáncer sin dañar el material genético como acción primaria. La formación de tumores es debida a otro tipo de mecanismos como la inducción de la proliferación celular y se plantea que para este tipo de mecanismos podrían existir dosis umbral para un efecto significativo.

Como consecuencia, desde sectores industriales se está proponiendo modificar la normativa relativa a la protección de los trabajadores y de la población frente a cancerígenos. Plantean que si existen valores límite de exposición a cancerígenos y mutágenos seguros, la utilización de medidas preventivas en las empresas, como equipos de protección de los trabajadores individuales y colectivos, que asegurasen una exposición por debajo de ese valor límite, serían suficientes para garantizar la salud de los trabajadores frente a los cancerígenos no genotóxicos, por lo que se debería rebajar la exigencia de eliminarlos o sustituirlos tal como establece la normativa actual.

La diferencia entre cancerígenos y mutágenos con niveles de exposición seguros y no seguros se ha recogido ya en el procedimiento de autorización del Reglamento REACH. Así, las sustancias CMR con DNEL podrían evitar el proceso de autorización y por tanto la obligación de sustitución en caso de que los fabricantes demuestren que sus usos están adecuadamente controlados [5].

Por otra parte, esta diferenciación entre cancerígenos con y sin valor límite ya está siendo utilizada por el Ministerio de Trabajo en el desarrollo de normativa. Así, el RD 298/2009, que modifica el Reglamento de los Servicios de Prevención e introduce medidas para promover la mejora de la seguridad y la salud en el trabajo de las trabajadoras embarazadas y lactantes, incluye en la lista no exhaustiva de agentes a los cuales no podrá haber riesgo de exposición por parte de trabajadoras embarazadas o en período de lactancia natural [6].



Las sustancias cancerígenas y mutágenas incluidas en la tabla 2 relacionadas en el «Documento sobre límites de exposición profesional para agentes químicos en España», publicado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, para las que no haya valor límite de exposición asignado, conforme a la tabla III del citado documento.

La normativa de aplicación en España considera, por tanto, aceptable la exposición de embarazadas y lactantes a cancerígenos y mutágenos con VLA establecidos (los incluidos en la tabla 3), junto a otras sustancias tóxicas, como disruptores o neurotóxicos.

Sin embargo, la Agencia Europea de Seguridad y Salud en el Trabajo advierte que los límites de exposición se establecen para trabajadores adultos sanos y que no son válidos para trabajadoras embarazadas o lactantes, ni otros grupos de trabajadores sensibles y que deberían adoptarse medidas específicas para proteger estos grupos.

Dadas las importantes repercusiones que sobre la salud de los trabajadores y de sus hijos puede tener esta diferenciación entre cancerígenos con y sin valor límite, el Instituto Sindical de Trabajo, Ambiente y Salud (ISTAS) ha pedido a un equipo de investigadores, coordinado por Miquel Porta, la elaboración de este informe que describe los mecanismos y modos de actuación, el procedimiento de evaluación de riesgo y el procedimiento para establecer valores límite de las sustancias cancerígenas y mutágenas y de las sustancias tóxicas para la salud reproductiva.

Esperamos que las razones y limitaciones de orden científico técnico existentes para el establecimiento de valores límite de exposición de sustancias CMR que plantea este informe, contribuyan al debate y sirvan para reforzar la protección de la salud de los trabajadores, las trabajadoras y su descendencia.



2. VALORES LÍMITE DE EXPOSICIÓN PROFESIONAL

2.1. Qué son los valores límite de exposición profesional

Según la Directiva sobre Agentes Químicos 98/24/EC y la Directiva Marco 89/391/EEC, los empleadores están legalmente obligados a organizar un ambiente de trabajo que no ponga en peligro la salud de sus empleados. Los valores límite de exposición profesional u ocupacional (OELs por sus siglas en inglés, referentes a *Occupational Exposure Limits*) son un instrumento útil, junto a otros, para la evaluación del riesgo y la toma de decisiones sobre las medidas de prevención de ciertos efectos dañinos sobre la salud que pueden ocurrir en el desarrollo de ocupaciones que conllevan manipulación de sustancias químicas. Los OELs se definen como la concentración en el aire de una sustancia a la que se considera que aproximadamente todos los trabajadores pueden estar repetidamente expuestos (día tras día, en un trabajo desarrollado a lo largo de toda su vida) sin efectos adversos [7,8]. Se expresa como concentración media en el aire ponderada cronológicamente para un trabajo convencional de 8 horas al día y 40 horas a la semana. Las concentraciones de exposición se expresan generalmente en mg/m³ (ml/m³ o ppm para gases y vapores).

La Directiva 98/24/CE, relativa a la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo, establece la obligatoriedad de los Estados miembros de implementar valores límite de exposición profesionales [9]. Esta directiva se transpuso al ordenamiento jurídico español mediante el Real Decreto 374/2001 [10]. En dicho real decreto se definen los siguientes tipos de «valores límite»:

Valores límite ambientales (VLA): Es el límite de la concentración media ponderada cronológicamente de un agente químico en el aire dentro de la zona de respiración de un trabajador en relación a un período de referencia específico. Estos valores se establecen teniendo en cuenta la información disponible, procedente de la analogía físico-química de los agentes químicos, de los estudios de experimentación animal y humana, de los estudios epidemiológicos y de la experiencia industrial. Los VLA sirven exclusivamente para la evaluación y el control de los riesgos por inhalación de los agentes químicos que están incluidos en la lista de valores. Cuando uno de estos agentes se puede absorber por vía cutánea, sea por la manipulación directa (sólido, líquido) del mismo, sea a través del contacto de los gases, vapores y nieblas con las partes desprotegidas de la piel y cuya aportación puede resultar significativa al contenido corporal total del trabajador, la medición de la concentración ambiental puede no ser suficiente para cuantificar la exposición global. En este caso, los agentes aparecen señalados en la lista con la notación «vía dérmica». Esta llamada advierte, por una parte, de que la medición de la concentración ambiental puede no ser suficiente para cuantificar la exposición global y, por otra, de la necesidad de adoptar medidas para prevenir la absorción dérmica. No se hace referencia a las concentraciones internas que puedan detectarse en el trabajador expuesto (por ej., en su sangre, orina, tejido adiposo).

Valor límite ambiental-exposición diaria (VLA-ED): Es el valor de referencia para la exposición diaria (ED); los VLA-ED representan condiciones a las cuales se cree, basándose en los conocimientos actuales, que la mayoría de los trabajadores pueden estar expuestos ocho horas diarias y 40 horas semanales durante toda su vida laboral, sin sufrir efectos adversos para su salud.

Valor límite ambiental-exposición de corta duración (VLA-EC): Es el valor de referencia para la exposición de corta duración (EC). El VLA-EC no debe ser superado por ninguna exposición corta a lo largo de la jornada laboral. Para aquellos agentes químicos que tienen efectos agudos reconocidos, pero cuyos principales efectos tóxicos son de naturaleza crónica, el VLA-EC constituye un complemento del VLA-ED y, por tanto, la exposición a estos agentes habrá de valorarse en relación con ambos límites. En cambio, a los agentes químicos de efectos principalmente agudos sólo se les asigna para su valoración un VLA-EC.

Los VLA se establecen para agentes químicos específicos y no para las mezclas de éstos. Sin embargo, el RD contempla que cuando están presentes en el ambiente varios agentes que ejercen la misma acción sobre los



misimos órganos o sistemas, es su efecto combinado el que requiere una consideración preferente. Dicho efecto combinado se considera como aditivo, excepto si se dispone de información que indique que los efectos son sinérgicos o bien independientes.

Valor límite biológico (VLB): Son los valores de referencia para los indicadores biológicos (IB), entendidos como los parámetros apropiados medidos en una determinada matriz biológica del trabajador, los cuales están asociados, directa o indirectamente, con la exposición global (por todas las vías de entrada) a un agente químico. Como matrices biológicas se utilizan el aire exhalado, la orina, la sangre y otros. Según cuál sea el parámetro, el medio en que se mida y el momento de la toma de muestra, la medida puede indicar la intensidad de una exposición reciente, la exposición promedio diaria o la cantidad total del agente acumulada en el organismo, es decir, la carga corporal total. Se consideran dos tipos de indicadores biológicos:

- IB de dosis. Parámetro que mide la concentración del agente químico o de alguno de sus metabolitos en un medio biológico del trabajador expuesto (biomarcadores de exposición).
- IB de efecto. Parámetro que puede identificar alteraciones bioquímicas reversibles, inducidas de modo característico por el agente químico al que está expuesto el trabajador.

Los VLB son aplicables para exposiciones profesionales de ocho horas diarias durante cinco días a la semana y no están concebidos para usarse como medida de los efectos adversos ni para el diagnóstico de las enfermedades profesionales.

2.2. Cómo se establecen en Europa los valores límite

En la Unión Europea, con el fin de dar cumplimiento con las Directivas sobre Agentes Químicos 98/24/EC y la Directiva Marco 89/391/EEC sobre la obligatoriedad de proveer un ambiente de trabajo seguro, las industrias tienen la obligación de cumplir con las regulaciones propias de los Estados miembros en las que están ubicadas. Si no se han definido valores límite de exposición ocupacional, entonces –generalmente– la industria se basa en las recomendaciones de organismos como, por ejemplo, los siguientes:

- Cuerpos reguladores o asesores como:
 - El Comité Científico para los Niveles Límite de Exposición Ocupacional (*Scientific Committee for Occupational Exposure Limits, SCOEL*).
 - Comités Nacionales para OELs como, por ejemplo, el Health and Safety Executive del Reino Unido (HSE) o la Comisión para la Investigación de los Peligros para la Salud de los Compuestos Químicos en el Área de Trabajo (Comisión MAK) de Alemania.
 - Administración para la Salud y la Seguridad Ocupacional de Estados Unidos (OSHA).
 - Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (ACGIH).
 - Asociación Americana de Higiene Industrial (AIHA).
- Comités internos sobre OELs de las empresas.

A nivel europeo, el Comité Científico para los Límites de Exposición Ocupacional (SCOEL) ha analizado y debatido desde hace años un gran número de agentes químicos, y ha establecido las recomendaciones pertinentes. Aún así, existe una necesidad manifiesta de estudios toxicológicos y epidemiológicos estandarizados que proporcionen una base científica consensuada en la que basar los límites de exposición para el ambiente de trabajo. El SCOEL establece un valor límite de exposición ocupacional (OEL) basado en la salud («Health Based») en aquellos casos en los que la revisión de toda la información científica disponible permite identificar una dosis umbral clara, en la que una exposición por debajo de esta dosis no genera efectos adversos para la salud [11]. Estos valores límite de exposición ocupacional son de tipo indicativo (IOELVs) y la mayoría de valores límite definidos por el SCOEL pertenecen a esta categoría [12]. A su vez, el SCOEL define valores límite de exposición ocupacional pragmáticos cuando para algunos efectos adversos asociados a sustancias químicas (por ejemplo genotoxicidad, carcinogénesis



o sensibilidad respiratoria) no es posible, en base al conocimiento actual, definir un umbral de actividad, y por ello se considera que cualquier nivel de exposición representa un riesgo. Estos valores son los que devienen valores límite de exposición ocupacional vinculantes (BOELVs o BLVs, por *Binding Occupational Exposure Limit Values* o *Binding Limit Values*). Los BOELVs son valores límite que además de reflejar consideraciones científicas tienen en cuenta también factores socioeconómicos. Sólo un escaso número de valores límite de exposición ocupacional vinculantes (BOELVs) han sido adoptados mediante directivas del Parlamento y del Consejo Europeo [12].

El proceso de establecimiento de valores límite de exposición ocupacional (OELs) se da simultáneamente en distintos Estados miembros de la Unión Europea. La tabla 1 nos muestra los valores OELs establecidos en Reino Unido, Alemania, España, Suecia y Holanda. Aunque los valores se encuentran dentro del mismo rango de magnitud, existen diferencias entre los valores numéricos establecidos (tabla 1). La definición de un procedimiento único de establecimiento de valores límite de aplicación para todos los Estados miembros conducirá hacia la armonización de los límites en la Unión Europea a la vez que se maximizará el uso de la información disponible. No será pues necesario que cada uno de los comités expertos de los Estados miembros evalúe minuciosamente la información disponible para establecer límites que presentan ligeras variaciones [13].

TABLA 1

Comparación de OELs para seis disolventes en diferentes Estados miembros de la Unión Europea (ppm, 8 h TWAs)

Sustancia	Reino Unido (OES)	Alemania (MAK)	España* (VLA-ED)	Suecia	Holanda
Xileno	100	100	50	50	50
Trimetilbenceno	25	-	20	25	20
n-Hexano	20	50	20	25	25
Dietiléter	400	400	100	400	100
Tolueno	50	50	50	50	40
Percloroetileno	50	-	25	10	35

TWA Tiempo medio ponderado (*Time weighted average*).

OES Occupational Exposure Standard.

MAK Maximale Arbeitsplatz Konzentration.

VLA-ED Valores límite ambientales – exposición diaria.

* Establecidos por el INSHT.

Fuente: Topping (2001) [13].

Naturalmente, el concepto de «efecto adverso» es importante en la definición de los valores límite de exposición ocupacional (OEL); no obstante, su significado ha ido cambiando a lo largo del tiempo y no es de definición unívoca [14, 15]. Entre las propuestas encontramos que se define «efecto adverso» como aquel cambio bioquímico, incapacidad funcional o lesión patológica que afecta el desempeño de todo el organismo o reduce su habilidad para responder a cambios ambientales adicionales [16]. «Efecto nocivo» se define también como un efecto que causa una debilitación de la capacidad funcional, una capacidad disminuida para compensar el estrés adicional y para mantener la homeostasis, un incremento en la susceptibilidad a otras influencias ambientales o a que tal debilitación se llegue a manifestar en un futuro próximo [17]. Por tanto, la definición del efecto adverso será siempre de suma importancia, con autonomía del *mecanismo* biológico o social mediante el cual ocurra o se produzca el efecto.

En el contexto de los límites de exposición laboral, la tendencia científica actual es excluir el adjetivo «tolerable» junto al término «límite»; entre otras razones, porque la respuesta de cada organismo a la exposición a un agente exógeno es diferente y depende de numerosos factores individuales [12, 18]. Por lo tanto, cierto nivel de exposición puede ser tolerado por un individuo (es decir, sin que se altere su homeostasis), pero no por otro.

También la International Labour Organisation (ILO) estableció ya en 1977 en el marco del concepto de «límite de exposición» que:



«... esta exposición es considerada aceptable por la autoridad competente que determina los límites, pero es posible que no pueda garantizar totalmente la protección de la salud de todos los trabajadores; por consiguiente, el límite de exposición no constituye una línea divisoria absoluta entre las concentraciones inofensivas y dañinas, sino que se considera únicamente como guía para la prevención».

La Dirección General de la Unión Europea de Empleo, Asuntos Sociales e Igualdad de Oportunidades (DG EMP) decide qué sustancias deben ser discutidas y estudiadas por el SCOEL y establece la prioridad de evaluación de estos agentes químicos en base a los siguientes criterios:

- Evidencia epidemiológica, incluyendo evidencia en el lugar de trabajo.
- Disponibilidad de información toxicológica.
- Gravedad de los efectos.
- Número de personas expuestas.
- Disponibilidad de la información sobre exposición.
- Disponibilidad de los métodos de medida.

Con el fin de establecer las recomendaciones sobre los agentes químicos prioritarios a evaluar, este comité evalúa la información sobre [12]:

- a) las características físicas y químicas de la sustancia bajo investigación, incluyendo la calidad y la cantidad de impurezas;
- b) los resultados de los estudios de toxicidad aguda, subaguda, de toxicidad a corto plazo y de toxicidad crónica (a través de las vías aéreas, estómago y piel; en animales o en seres humanos). También toma en consideración información sobre genotoxicidad, sensibilización y toxicidad reproductiva, siempre y cuando ésta se encuentre disponible.

14

Una vez el Comité Científico alcanza un consenso sobre una sustancia se realiza una propuesta para establecer un límite de exposición, que después de un periodo de consulta y modificación, inicia el proceso formal de legislación. A nivel europeo están establecidas dos listas de sustancias con valores OELs indicativos, recogidas en los siguientes textos legales: Directiva 2000/39/EC y 2006/15/EC. A este mismo nivel supraestatal sólo se han establecido OELs vinculantes (BOELVs) para las concentraciones atmosféricas de las siguientes cinco sustancias (medidas en la zona de respiración del trabajador):

- benceno, cloruro de vinilo monómero (VCM) y polvo de madera (Directiva 2004/37/EC);
- asbestos (Directiva 2003/18/EC);
- plomo inorgánico (Pb) y sus compuestos (Directiva 98/24/EC).

En España, el INSHT ha establecido valores límite vinculantes para más de 50 sustancias.

2.3. Cómo se establecen en España los valores límite

La autoridad competente para la publicación de dichos valores límite en España es el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). Tanto los valores límite ambientales como el valor límite biológico incluyen valores de exposición para algunas sustancias cancerígenas y mutágenas. Sin embargo, en el documento sobre los Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España 2009 [19], el INSHT establece que los conocimientos científicos actuales *no permiten identificar niveles de exposición por debajo de los cuales no exista*



riesgo de que los agentes mutágenos y la mayoría de los cancerígenos produzcan efectos sobre la salud. Es decir, el INSHT advierte de la posibilidad de que estos límites no garanticen de forma exhaustiva la protección de la salud del trabajador expuesto; los límites de exposición no constituyen en absoluto una línea divisoria entre concentraciones inocuas y concentraciones dañinas. No obstante, se admite la existencia de una relación «intensidad de exposición - probabilidad del efecto» que permite deducir –o esperar– que cuanto más baja sea la exposición a estos agentes menor será el riesgo [19]. En nuestra opinión, este razonamiento puede ser válido para ciertos contextos y no válido en otros, como veremos a lo largo de las páginas que siguen.

En ciertos casos, mantener la exposición por debajo de un valor máximo determinado no permitiría evitar completamente el riesgo, aunque quizá podría limitarlo. Por esta razón, los límites de exposición adoptados para algunas sustancias no son una referencia para garantizar la protección de la salud según la definición dada previamente, sino unas referencias para la adopción de las medidas de protección y el control del ambiente de los lugares de trabajo.

En España, los criterios para la selección de sustancias para el establecimiento de OELs para las sustancias carcinogénicas y mutágenas presentan un orden diferente de prioridad:

- Disponibilidad de datos sobre exposición.
- Disponibilidad de información toxicológica.
- Severidad de los efectos.
- Evidencia epidemiológica, incluyendo casos reportados de enfermedad laboral.
- Número de personas expuestas.
- Disponibilidad de métodos de medida.

En España, la Comisión Nacional de Salud y Seguridad en el Trabajo aprobó, en julio de 1997, la creación de un grupo de trabajo (formado por expertos científicos, sindicatos, representantes de la industria y de los sectores económicos, funcionarios y autoridades públicas) responsable del estudio de los documentos sobre valores límite y su aplicación en los lugares de trabajo, cuya elaboración es competencia del grupo técnico del INSHT. Una vez consensuado un valor límite, el tiempo medio entre la propuesta y la adopción de un valor límite de exposición ocupacional es de un año aproximadamente.

En algunas ocasiones España adopta los valores límite de exposición ocupacional del SCOEL, en cuyos documentos sobre el establecimiento de valores límite existe una nota técnica de prevención, la cual subraya que para las sustancias cancerígenas estos valores han sido establecidos según su potencial cancerígeno; sin embargo, es importante señalar que el SCOEL ha establecido valores para tan sólo un escaso número de sustancias. Asimismo, España adopta valores procedentes de otros países y organismos, tales como la ACGIH (*American Conference on Governmental Industrial Hygienists*), Alemania, EUA, países escandinavos, Holanda, Francia, Reino Unido y Rusia. En el proceso de derivación de valores límite de exposición ocupacional, una de las limitaciones existentes es la carencia de datos a nivel nacional sobre exposición, toxicología y epidemiología.

Una vez adoptados dichos valores límite de exposición ocupacional, España establece un proceso de revisión anual de dichos valores, incorporando la nueva evidencia toxicológica disponible y los nuevos valores límite propuestos a nivel europeo.

Es competencia del INSHT publicar la «Documentación toxicológica para el establecimiento de los límites de exposición profesional» para los agentes químicos incluidos en el documento Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos en España. Tras la revisión de dicha documentación para algunas de las sustancias químicas, hemos podido apreciar lo siguiente [20]:

- La documentación toxicológica está basada principalmente en bibliografía muy antigua, siendo la información actualizada bastante escasa.



- Existe una ausencia generalizada de datos provenientes de estudios epidemiológicos para los agentes químicos, disponiendo de pocas investigaciones sobre la exposición humana a estas sustancias.
- No existen datos disponibles sobre carcinogénesis para un amplio número de sustancias, como por ejemplo las siguientes: 2-(2-metoxi) etanol, ciclohexano, dietilamina, N-N-dimetilacetamida (para la cual matizan que no se observaron indicios de carcinogénesis en el único y defectuoso ensayo disponible), acetato de 1-metil-2-metoxietilo, 2-(2-butoxi) etanol, 2-aminoetanol y etilbenceno.
- La falta de datos sobre carcinogenicidad y genotoxicidad se intenta corregir aumentando el factor de incertidumbre.
- Para algunas sustancias se subraya que no se han realizado estudios de carcinogénesis apropiados para todas las posibles vías de exposición a dichos agentes químicos.



3. SUSTANCIAS CANCERÍGENAS Y MUTÁGENAS

En este apartado se analizan las definiciones y las implicaciones asociadas a la definición de los valores límite de las sustancias químicas potencialmente carcinogénicas y mutágenas.

3.1. Métodos de clasificación utilizados por instituciones relevantes

Los valores límite de las sustancias químicas potencialmente carcinogénicas se establecen en base a la revisión independiente de aquellos estudios considerados relevantes para la evaluación de los carcinógenos y mutágenos.

3.1.1. Europa

El Reglamento **(CE) n° 1272/2008** [21] sobre clasificación y etiquetado de sustancias establece las siguientes definiciones y criterios para clasificar las sustancias cancerígenas.

Carcinógeno: Es una sustancia o mezcla de sustancias que induce cáncer o aumenta su incidencia. Las sustancias que han inducido tumores benignos y malignos en animales de experimentación, en estudios bien hechos, serán consideradas también supuestamente carcinógenos o sospechosos de serlo, a menos que existan pruebas convincentes de que el mecanismo de formación de tumores no sea relevante para el hombre.

Criterios de clasificación para las sustancias carcinógenas

Los carcinógenos según el Reglamento **(CE) n° 1272/2008** se clasifican en dos categorías, en función de la solidez de las pruebas y de otras consideraciones (peso de las pruebas). En ciertos casos, puede justificarse una clasificación en función de una vía de exposición determinada, si puede demostrarse de manera concluyente que ninguna otra vía de exposición presenta peligro.

TABLA 2

Categorías de peligro para las sustancias carcinógenas

Categorías	Criterios
Categoría 1	Carcinógenos o supuestos carcinógenos para el hombre Una sustancia se clasifica en la categoría 1 de carcinogenicidad sobre la base de datos epidemiológicos o datos procedentes de estudios con animales.
1A	Una sustancia puede además incluirse en la categoría 1A si se sabe que es un carcinógeno para el hombre en base a la existencia de pruebas en humanos;
1B	o en la categoría 1B si se supone que es un carcinógeno para el hombre en base a la existencia de pruebas en animales. La clasificación en las categorías 1A y 1B se basa en la solidez de las pruebas y en otras consideraciones descritas a continuación (pruebas científicas). Estas pruebas pueden proceder de: – estudios en humanos que permitan establecer la existencia de una relación causal entre la exposición del hombre a una sustancia y la aparición de cáncer (carcinógeno humano conocido), o – experimentos con animales que demuestren suficientemente que la sustancia es un carcinógeno para los animales (supuesto carcinógeno humano). Además, los científicos deciden, caso por caso, si está justificada la clasificación de una sustancia como supuesto carcinógeno para el hombre en base a la existencia de pruebas limitadas de carcinogenicidad en el hombre y en los animales.
Categoría 2	Sospechoso de ser carcinógeno para el hombre. La clasificación de una sustancia en la categoría 2 se hace a partir de pruebas procedentes de estudios en humanos o con animales, no lo suficientemente convincentes como para clasificarla en las categorías 1A o 1B; dicha clasificación se establece en función de la solidez de las pruebas y de otras consideraciones. Esta clasificación se basa en la existencia de pruebas limitadas de carcinogenicidad en el hombre o en los animales.



La clasificación de una sustancia como carcinógena se hace en base a pruebas procedentes de estudios fiables y se aplica a las sustancias que tienen la propiedad «intrínseca» de causar cáncer. La evaluación se basa en todos los datos existentes, incluidos los estudios publicados y revisados previamente por otros científicos y los datos adicionales que se consideran adecuados.

La clasificación de una sustancia como carcinógeno según el Sistema Globalmente Armonizado de clasificación de sustancias químicas europeo es un proceso que implica dos determinaciones relacionadas entre sí:

- evaluar la solidez de las pruebas, y
- considerar el resto de la información relevante para clasificar las sustancias con potencial carcinógeno para el hombre dentro de las diferentes categorías de peligro.

Evaluar la solidez de las pruebas implica contabilizar el número de tumores observados en los estudios con personas y animales y determinar su grado de significación estadística. Se consideran pruebas suficientes en humanos las que demuestran la existencia de una relación causal entre la exposición del hombre a una sustancia y la aparición del cáncer, mientras que pruebas suficientes en animales son las que muestran una relación causal entre la sustancia y el aumento en la incidencia de tumores. Las pruebas limitadas en humanos permiten establecer una asociación positiva entre exposición y cáncer, pero no una relación causal.

También se consideran pruebas limitadas en animales cuando los datos, aunque no sean suficientes, sugieren un efecto carcinógeno. Los términos «suficiente» y «limitado» se utilizan en dicho reglamento, tal como han sido definidos por la IARC:

a) Carcinogenicidad para el hombre:

Pruebas relevantes para la carcinogenicidad procedentes de estudios en humanos conducen a la clasificación en una de las categorías siguientes:

- Pruebas suficientes de carcinogenicidad: Cuando se ha establecido la existencia de una relación causal entre la exposición al agente y el cáncer en el hombre. Es decir, se ha observado una relación positiva entre la exposición y el cáncer en estudios en los que cabe confiar razonablemente en que se hayan descartado totalmente las casualidades, los sesgos y los factores de confusión.
- Pruebas limitadas de carcinogenicidad: Cuando se ha observado una asociación positiva entre la exposición al agente y el cáncer para la que se considera creíble una interpretación causal, aunque no cabe confiar razonablemente en que se hayan descartado totalmente las casualidades, los sesgos o los factores de confusión.

b) Carcinogenicidad en animales de experimentación:

La carcinogenicidad en animales de experimentación puede evaluarse utilizando ensayos biológicos convencionales, ensayos biológicos que emplean animales genéticamente modificados, y otros ensayos biológicos *in vivo* que se centren en una o más de las etapas críticas de la carcinogénesis. En ausencia de datos procedentes de ensayos biológicos convencionales a largo plazo o procedentes de ensayos donde las neoplasias es el efecto a considerar, los resultados positivos, obtenidos de forma consistente en varios modelos que abordan distintas etapas del proceso gradual de la carcinogénesis, deberán considerarse para evaluar el grado de las pruebas de carcinogenicidad en animales. Pruebas relevantes para la carcinogenicidad procedentes de estudios con animales se clasifican en una de las categorías siguientes:

- Pruebas suficientes de carcinogenicidad: Cuando se ha establecido una relación causal entre el agente y una mayor incidencia de neoplasmas malignos o de una combinación apropiada de neoplasmas benignos y malignos en (a) dos o más especies animales o (b) dos o más estudios independientes en una especie llevados a cabo en distintos períodos o en distintos laboratorios o con arreglo a distintos protocolos.



Una mayor incidencia de tumores en ambos sexos de una única especie en un estudio bien realizado, efectuado idealmente con arreglo a las buenas prácticas de laboratorio, puede también proporcionar pruebas suficientes. Se puede también considerar que un solo estudio en una especie y un sexo proporciona pruebas suficientes de carcinogenicidad cuando los neoplasmas malignos se presentan en un grado inusual por lo que se refiere a la incidencia, al lugar, al tipo de tumor o al momento de aparición, o cuando se observa la aparición de tumores en múltiples lugares.

- Pruebas limitadas de carcinogenicidad: Cuando los datos sugieren un efecto carcinógeno, pero son limitados para hacer una evaluación definitiva porque, entre otros casos:
 - a) Las pruebas de carcinogenicidad se restringen a un único experimento.
 - b) Hay cuestiones no resueltas en cuanto a la adecuación del diseño, la realización o la interpretación de los estudios.
 - c) El agente aumenta la incidencia sólo de neoplasmas benignos o de lesiones de potencial neoplásico incierto.
 - d) Las pruebas de carcinogenicidad se restringen a estudios que demuestran sólo actividad promotora en un grupo reducido de tejidos u órganos.

Además de determinar la solidez de las pruebas, en la probabilidad total de que una sustancia posea un peligro carcinógeno para el hombre, hay que considerar otros factores que pueden tener influencia en ella. Algunos de estos factores que influyen en esta determinación se señalan a continuación:

- a) El tipo de tumor y su incidencia basal.
- b) La presencia de focos múltiples.
- c) La evolución de las lesiones a la malignización.
- d) La reducción de la latencia tumoral.
- e) Que las respuestas aparezcan en un solo sexo o en ambos.
- f) Que las respuestas afecten a una sola especie o a varias.

Mutagenicidad: Según queda definido en dicho reglamento europeo, una mutación es un cambio permanente en la cantidad o en la estructura del material genético de una célula. El término «mutación» se aplica tanto a los cambios genéticos hereditarios (que pueden manifestarse o no a nivel fenotípico) como a las modificaciones del ADN cuando son conocidas (incluidos, por ejemplo, cambios en un determinado par de bases y translocaciones cromosómicas). Los términos «mutagénico» y «mutágeno» se utilizarán para designar aquellos agentes que aumentan la frecuencia de mutación en las poblaciones celulares, en los organismos o en ambos.

Según el Reglamento (CE) n° 1272/2008 los términos –más generales– «genotóxico» y «genotoxicidad» se refieren a los agentes o procesos que alteran la estructura, el contenido de la información o la segregación del ADN, incluidos aquellos que originan daño en el ADN, bien por interferir en los procesos normales de replicación o por alterar ésta de forma no fisiológica (temporal). Es por ello que los resultados de los ensayos de genotoxicidad se suelen tomar como indicadores de posibles efectos mutagénicos.

Criterios de clasificación para las sustancias mutágenas

Esta clase de peligro se refiere fundamentalmente a las sustancias capaces de inducir mutaciones en las células germinales humanas transmisibles a los descendientes. No obstante, para clasificar sustancias y mezclas en esta clase de peligro, también pueden considerarse los resultados de ensayos de mutagenicidad o genotoxicidad *in vitro* y en células somáticas y germinales de mamífero *in vivo*.

En relación a la clasificación para mutagenicidad en células germinales, las sustancias se asignan a una de las dos categorías que presenta la tabla 3.



TABLA 3

Categorías de peligro para mutágenos en células germinales

Categorías	Criterios
Categoría 1	Sustancias de las que se sabe o se considera que inducen mutaciones hereditarias en las células germinales humanas Sustancias de las que se sabe que inducen mutaciones hereditarias en las células germinales humanas.
1A	La clasificación en la categoría 1A se basa en pruebas positivas en humanos obtenidas a partir de estudios epidemiológicos. Sustancias de las que se considera que inducen mutaciones hereditarias en las células germinales humanas.
1B	La clasificación en la categoría 1B se basa en: – Resultados positivos de ensayos de mutagenicidad hereditaria en células germinales de mamífero in vivo; o – Resultados positivos de ensayos de mutagenicidad en células somáticas de mamífero in vivo, junto con alguna prueba que haga suponer que la sustancia puede causar mutaciones en células germinales. Esta información complementaria puede proceder de ensayos de mutagenicidad/genotoxicidad en células germinales de mamífero in vivo, o de la demostración de que la sustancia o sus metabolitos son capaces de interactuar con el material genético de las células germinales; o – Resultados positivos de ensayos que muestran efectos mutagénicos en células germinales de personas, sin que esté demostrada la transmisión a los descendientes; por ejemplo, un incremento de la frecuencia de aneuploidía en los espermatozoides de los varones expuestos.
Categoría 2	Sustancias que son motivo de preocupación porque pueden inducir mutaciones hereditarias en las células germinales humanas La clasificación en la categoría 2 se basa en pruebas positivas basadas en experimentos llevados a cabo con mamíferos o, en algunos casos, in vitro, obtenidas a partir de: – Ensayos de mutagenicidad en células somáticas de mamífero in vivo; u – Otros ensayos in vivo para efectos genotóxicos en células somáticas de mamífero siempre que estén corroborados por resultados positivos de ensayos de mutagenicidad in vitro. <i>Nota:</i> Las sustancias que resultan positivas en los ensayos de mutagenicidad in vitro, y que también muestran una analogía en cuanto a la relación estructura-actividad con mutágenos conocidos de células germinales deben clasificarse como mutágenos de la categoría 2.

Consideraciones específicas para la clasificación de sustancias como mutágenos en células germinales

La clasificación se basa en los resultados de ensayos destinados a determinar efectos mutagénicos o genotóxicos en células germinales o somáticas de animales expuestos. También se considerarán los efectos mutagénicos o genotóxicos determinados en ensayos *in vitro*.

La clasificación de las sustancias para efectos hereditarios en células germinales humanas se hace sobre la base de ensayos bien realizados y suficientemente validados, considerándose de preferencia los descritos en el Reglamento (CE) n° 440/2008 (Reglamento de métodos de ensayo). La evaluación de los resultados de los ensayos se confía a un experto y la clasificación se hace ponderando todas las pruebas disponibles.

Ensayos de mutagenicidad hereditaria en células germinales *in vivo* tales como:

- Ensayo de mutación letal dominante en roedores.
- Ensayo de translocación hereditaria en ratón.

Ensayos de mutagenicidad en células somáticas in vivo tales como:

- Ensayo de aberraciones cromosómicas en médula ósea de mamífero.
- Ensayo de la mancha en ratón.
- Ensayo de micronúcleos en eritrocitos de mamífero.

Ensayos de mutagenicidad o genotoxicidad en células germinales tales como:

- a) Ensayos de mutagenicidad:
 - Ensayo de aberraciones cromosómicas en espermatogonias de mamífero.
 - Ensayo de micronúcleos en espermátidas.
- b) Ensayos de genotoxicidad:
 - Análisis de los intercambios de cromátidas hermanas en espermatogonias.
 - Ensayo de síntesis no programada de ADN (UDS) en células testiculares.



Ensayos de genotoxicidad en células somáticas tales como:

- Ensayo *in vivo* de síntesis no programada de ADN (UDS) en hígado.
- Intercambio de cromátidas hermanas (SCE) en médula ósea de mamífero.

Ensayos de mutagenicidad *in vitro* tales como:

- Ensayo *in vitro* de aberraciones cromosómicas en mamíferos.
- Mutación génica en células de mamífero *in vitro*.
- Ensayos de mutación inversa en bacterias.

La clasificación de cada sustancia se basa en el peso total de las pruebas disponibles, utilizando para ello la opinión de expertos. Si la clasificación se basa en un único ensayo bien realizado, éste debe aportar resultados positivos claros e inequívocos. Si aparecen nuevos ensayos convenientemente validados, éstos se pueden utilizar a la hora de considerar el peso total de las pruebas. El reglamento también contempla la importancia de la vía de exposición utilizada en el estudio de la sustancia con respecto a la vía de exposición humana.

Procedimiento de clasificación

La responsabilidad de identificar los peligros de las sustancias y las mezclas y de decidir su clasificación recae principalmente en sus fabricantes, importadores y usuarios intermedios. No obstante, para aquellas sustancias que suscitan una especial preocupación (sensibilizantes respiratorios, cancerígenos, mutágenos y tóxicos para la reproducción), se debe establecer una clasificación armonizada, que garantice que todos los fabricantes y usuarios utilizan la misma clasificación.

Las autoridades competentes podrán presentar a la Agencia Europea de Químicos (ECHA) propuestas de clasificación y etiquetado armonizados de sustancias y, en su caso, límites de concentración específicos o factores M, o propuestas para la revisión de los mismos.

El Comité de Evaluación del Riesgo de la Agencia (RAC), establecido por el Reglamento **(CE) nº 1907/2006**, REACH, emitirá un dictamen sobre la propuesta presentada de conformidad con los apartados 1 o 2 antes de que transcurran 18 meses desde la recepción de la propuesta, y dará a las partes interesadas la oportunidad de enviar sus comentarios al respecto. La Agencia enviará a la Comisión este dictamen y cualesquiera comentarios.

Cuando la Comisión considere que la armonización de la clasificación y el etiquetado de la sustancia en cuestión es apropiada presentará, sin demora injustificada, un proyecto de decisión relativo a la inclusión de dicha sustancia, junto con su correspondiente clasificación y los elementos de etiquetado en la tabla 3.1 de la parte 3 del anexo VI Reglamento (CE) nº 1907/2006 y, cuando proceda, los límites de concentración específicos o los factores M.

Reglamento REACH

El 1 de junio de 2007 entró en vigor el nuevo Reglamento europeo para las sustancias y preparados químicos, denominado REACH (*Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*). Rige tanto para los 27 miembros de la Unión Europea como en el Área Económica Europea (EEA). A pesar de que el REACH entró en vigor en 2007, la mayor parte de sus disposiciones se aplicarán en momentos posteriores [22].

El Reglamento REACH establece un procedimiento de registro de las sustancias químicas en Europa, de forma que todo fabricante o importador de una sustancia en más de 1 tonelada/año tendrá que registrar la sustancia en la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos (ECHA), aportando información toxicológica sobre las sustancias. Esta información varía en función del rango de tonelaje en la que fabrique o importe la sustancia, como resume la tabla 4. Con ello se pretende que sea la industria la que genere y aporte información sobre las características intrínsecas de las sustancias presentes en el mercado europeo. Las sustancias no podrán comercializarse si no han sido registradas en los plazos establecidos.



TABLA 4

Información toxicológica requerida según el tonelaje de producción de los agentes químicos

Cantidades. Toneladas/año	Información toxicológica
≥1-10	Toxicidad aguda oral Irritación Sensibilización cutánea Mutación en bacterias
≥10-100	Toxicidad aguda cutánea o inhalación Irritación cutánea u ocular Genotoxicidad in vitro en células de mamífero Toxicidad por administración repetida Toxicidad para la reproducción Evaluación de la toxicocinética (sin ensayos)
≥100-1.000	Ensayos de mutagenicidad complementarios Toxicidad subcrónica Toxicidad para la reproducción
≥1000 Estudios de genotoxicidad complementarios	Estudios de toxicidad a largo plazo Toxicidad para la reproducción Estudios de carcinogenicidad

Fuente: REACHinfo.es

Los ensayos son acumulativos y pueden depender de los resultados obtenidos en los ensayos anteriores.

Las empresas que fabriquen o importen sustancias químicas en un volumen superior a 10 t/a deberán realizar una evaluación de la seguridad química, en la que se valorarán los riesgos para la salud y el medio ambiente de las sustancias y se determinarán si los riesgos están controlados y qué medidas de control de riesgo son necesarias para la protección de la salud y del medio ambiente. Los resultados se documentarán a través de un Informe de Seguridad Química (ISQ) que enviarán a la Agencia durante el proceso de registro. Estos resultados, además, se comunicarán a los usuarios de las sustancias a través de las fichas de datos de seguridad. Hasta ahora eran los Estados los que debían realizar las evaluaciones.

La evaluación de la seguridad química de una sustancia constará de las siguientes etapas:

1. Valoración de los peligros para la salud humana (efectos y DNEL).
2. Valoración de los peligros por las propiedades físico-químicas.
3. Valoración de los peligros para el medio ambiente (efectos y PNEC).
4. Valoración PBT o MPMB.

Si como resultado es clasificada como peligrosa, PBT o MPMB, entonces:

5. Evaluación de la exposición:
 - a) Elaboración de los escenarios de exposición.
 - b) Cálculo de la exposición.
6. Caracterización del riesgo.

La información y los ensayos a realizar aumentan con el volumen de producción o fabricación de las sustancias, de forma que al registrar las sustancias de alto volumen de producción (fabricadas o importadas en más de 1.000 t/a) se deberá entregar una evaluación de riesgos muy similar a la que realizaban hasta ahora los Estados. Por ello, si se cumplen los plazos de registro previstos, a finales de 2010 las empresas deberán haber entregado a la ECHA evaluaciones de riesgo de las 38.000 sustancias de alto volumen de producción prerregistradas.



La Agencia y los Estados miembros prevén revisar un 5% de los dossiers presentados por las empresas.

Además, los Estados miembros seguirán evaluando las sustancias que puedan presentar riesgos para la salud o el medio ambiente, incluyendo también sustancias que no hayan sido registradas, por fabricarse o importarse en menos de 1 t/a [23].

3.1.2. Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC)

Entre los datos analizados se valora particularmente la regulación de estos compuestos que realiza la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (*International Agency for Research on Cancer*, IARC). La IARC es una institución científica de referencia a nivel internacional en el campo de la medicina y las otras ciencias de la salud. Perteneció a la Organización de Naciones Unidas (ONU) y periódicamente convoca reuniones de los mejores expertos del mundo para que, siguiendo una estricta metodología de trabajo, efectúen evaluaciones científicas sobre el potencial cancerígeno de determinados productos. El trabajo de los investigadores de la Agencia y de los grupos de expertos se sintetiza en distintos tipos de trabajos, entre los que destacan las *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans* [24].

Los criterios de selección de las exposiciones que son evaluadas por la IARC se basan en dos criterios básicos: exposición relevante en humanos y sospecha de que pueden ser cancerígenas. El tipo de conocimientos científicos (o «evidencias») que se revisa antes de clasificar una sustancia como cancerígena incluye estudios epidemiológicos en humanos, estudios experimentales en animales de laboratorio, estudios *in silico*, estudios sobre la farmacodinámica de los agentes, sobre la farmacocinética, fisiología, metabolismo, mutagenicidad, genotoxicidad, citotoxicología y cualquier otro aspecto relevante en toxicología. Tras las reuniones de revisión de la información disponible, la decisión sobre la carcinogenicidad de la exposición evaluada se toma en dos fases. En la primera, los expertos deciden de forma independiente y separada si los estudios epidemiológicos apoyan la hipótesis de que el agente evaluado es cancerígeno en humanos, y si los estudios experimentales apoyan la hipótesis de que es cancerígeno en animales. En la segunda fase se clasifica la exposición respecto a su carcinogenicidad en humanos de forma absoluta, dando mayor peso a los resultados epidemiológicos en primer lugar, y a los experimentos en animales en segundo lugar, con especial atención a si el mecanismo de acción de modelos animales es biológicamente plausible en humanos [32].

Así pues, la IARC evalúa la carcinogenicidad en humanos de una sustancia en base a la evidencia combinada de datos sobre carcinogenicidad en humanos y carcinogenicidad en animales de experimentación, así como las relaciones estructura-actividad de la sustancia, genotoxicidad y datos mecanísticos disponibles. La IARC clasifica a los agentes químicos evaluados en las siguientes categorías:

- Grupo 1: Carcinógenos para los humanos.
- Grupo 2A: Probablemente carcinogénico para los humanos.
- Grupo 2B: Posiblemente carcinogénico para los humanos.
- Grupo 3: No clasificable como carcinogénico para los humanos.
- Grupo 4: Probablemente no carcinogénico para los humanos.

Aunque el grado de evidencia sobre carcinogenicidad de los agentes químicos ha sido caracterizado con toda la especificidad posible, establecer esta especificidad supone grandes dificultades dada la variabilidad existente en la exposición en humanos, la cual es probable que cambie considerablemente en el tiempo, por ejemplo, con la introducción de nuevos procesos [25].

Cabe destacar que si bien la IARC busca el consenso de los expertos, éste no siempre se consigue, y en dichos casos decide la mayoría del grupo de expertos. Es también de relevancia el hecho de que la evaluación de la IARC



no indica de forma sistemática si la exposición evaluada debe ser considerada laboral, y sólo detalla las localizaciones anatómicas para las que existe riesgo de cáncer. Otra clara limitación de estas evaluaciones es que algunas de ellas quedan desfasadas con el tiempo. Obviamente, la información generada con posterioridad a la publicación de la evaluación puede modificar el resultado de ésta; por ello, las clasificaciones de cancerígenos de la IARC no deben considerarse dogma inmutable y siempre hay que evaluar la literatura científica posterior a la evaluación. Además, como toda actividad humana, las evaluaciones de la IARC están sujetas a influencias extra-científicas –por ejemplo, de las industrias– y no siempre tienen la transparencia deseable [26, 27, 28].

Según una revisión de Siemiatycki y cols. [29], hasta 2003 la IARC había publicado 83 volúmenes, en los que había revisado más de 880 exposiciones; de ellas, 89 se clasificaron como cancerígenos, 64 como probables cancerígenos, y 264 como posibles cancerígenos. Los autores de la revisión identificaron aquellas exposiciones que consideraron exposiciones laborales. La definición de exposición laboral utilizada por los autores se basó en la existencia de un número sustancial de trabajadores (más de mil en un país, o más de diez mil en el mundo) expuestos en el pasado o en el presente a niveles de exposición significativos. Tras aplicar dicho criterio, las exposiciones laborales cancerígenas resultaron ser sólo 28; las probables cancerígenas, 27, y las posibles cancerígenas, 113. Dieciocho ocupaciones e industrias también fueron incluidas en alguno de los tres grupos anteriores.

Un trabajo reciente [30] ha actualizado el número de agentes en cada grupo de la IARC:

- Grupo 1: Carcinógenos para los humanos (105 agentes): 61 productos químicos, 9 virus o patógenos (por ej., VIH), 16 mezclas (por ej., el alquitrán de hulla) y 19 circunstancias de exposición (por ej., desho-llinadores).
- Grupo 2A: Probablemente carcinogénico para los humanos (66 agentes): 50 productos químicos, 2 virus o patógenos, 7 mezclas y 7 circunstancias de exposición.
- Grupo 2B: Posiblemente carcinogénico para los humanos (248 agentes): 224 productos químicos, 4 virus o patógenos, 13 mezclas y 7 circunstancias de exposición.
- Grupo 3: No clasificable como carcinogénico para los humanos (515 agentes): 496 productos químicos, 11 mezclas y 8 circunstancias de exposición.

De todos estos agentes clasificados por la IARC, Hernández et al. seleccionaron 878 sustancias químicas y mezclas de la IARC –Grupo 1 (77 agentes), 2A (57), 2B (237) y 3 (507)– que fueron evaluadas en base a su genotoxicidad. Posteriormente se seleccionaron las sustancias químicas que obtuvieron resultados negativos en la batería de pruebas o *tests* genotóxicos del *National Toxicology Program* (NTP) y de las bases de datos del *Carcinogenicity Potency Database* (CTD): test de Ames, ensayo del linfoma de ratón (MLA), test de aberraciones cromosómicas *in vitro*, test del micronúcleo *in vitro* (MN), test del micronúcleo *in vivo* y ensayos mutagénicos *in vivo* en roedores transgénicos. Una sustancia no genotóxica se definió como una sustancia que resultó negativa para los tests de genotoxicidad según el NTP y CTD. En total, 81 de las 878 (9,2%) obtuvieron datos negativos respecto a su genotoxicidad. Los carcinógenos NGTX poseen una amplia variedad de mecanismos para la inducción del proceso cancerígeno, tales como modulación endocrina mediada o no por receptores, promoción tumoral, inductores de toxicidad tejido-específica y respuestas inflamatorias, inmunosupresores e inhibidores de las comunicaciones intercelulares [30].

En 1964 ya se había realizado un intento de censar exposiciones laborales cancerígenas, cuando la OMS comisionó un grupo de expertos para conocer qué agentes cancerígenos existían entonces. Tal y como destacan Huff [26,27] y Siemiatycki y cols. [29], aproximadamente la mitad de los agentes cancerígenos laborales reconocidos en la actualidad ya se conocían como tales en 1964. Sin embargo, cuando tenemos en cuenta los agentes para los que existe evidencia actual de ser probablemente o posiblemente cancerígenos laborales, observamos que más del 95% de ellos ni se mencionaba en 1964. Este dato es significativo, y nos recuerda la importancia de mantener más activos y eficaces los sistemas para identificar nuevos agentes cancerígenos.



3.1.3. Agencia para la Protección Ambiental (US EPA)

Como es sabido, la IARC no es la única agencia que realiza una evaluación de la carcinogenicidad de diferentes exposiciones. En EEUU, tanto el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene Laboral (NIOSH, por sus siglas en inglés) como el *National Toxicology Program* (NTP) ofrecen alternativas a la IARC, no siempre coincidentes [26,27,28,31]. En 2003, el año de la publicación de la revisión de Siemiatycki antes citada [28], la lista del NIOSH contemplaba 133 agentes cancerígenos laborales, mientras que la NTP clasificaba 52 exposiciones como cancerígenas conocidas y consideraba que existía evidencia razonable para 172 agentes más. Estas diferencias cuantitativas y cualitativas señalan los límites de las evaluaciones sobre si un agente o exposición laboral es cancerígeno o no. En la mayoría de casos los resultados de diferentes estudios epidemiológicos pueden variar en base a circunstancias particulares de la población estudiada, el proceso industrial, las materias primas, otros contaminantes, impurezas y el control de la exposición en dicho contexto. Un ejemplo de la citada dificultad lo encontramos con las mezclas de sustancias. Cuando se clasifica como cancerígena una mezcla de agentes, no todos los agentes presentes dentro de la mezcla tienen por qué ser cancerígenos. En el caso de procesos industriales, uno de los problemas radica en que a veces no existe suficiente información para especificar qué agente o agentes son los responsables del cáncer observado. También se debe tener en cuenta la posibilidad de una interacción entre el agente sospechoso de ser el responsable del aumento de cáncer observado y otras coexposiciones que también pueden estar presentes en el medio laboral [32].

La Agencia para la Protección Ambiental de EEUU (US EPA), en su *Guía para la estimación del riesgo de los carcinógenos*, establece que el potencial carcinogénico de un agente se describe en base al «peso de la evidencia» (*weight of evidence*). El peso de la evidencia resume el amplio espectro de la evidencia disponible y cualquier condición asociada con las conclusiones relativas al potencial carcinogénico de un agente químico. Por ejemplo, recoge por qué un agente es carcinógeno por unas vías de exposición y no por otras (inhalación pero no ingestión, por ejemplo). De forma similar a la IARC, la EPA clasifica las sustancias químicas en las siguientes categorías:

a) Carcinógeno para humanos: La EPA asigna este descriptor a aquellas sustancias sobre las que existe evidencia epidemiológica convincente que demuestra la causalidad entre exposición humana y cáncer. Esta clasificación se basa en evidencia convincente en carcinogénesis en animales y en información mecanística en animales y humanos demostrando modos similares de acción carcinogénica.

b) Probablemente carcinógeno para humanos: Se utiliza esta categoría cuando existen datos disponibles sobre efectos tumorales asociados a estos agentes y otra información clave adecuada para demostrar el potencial carcinogénico de estas sustancias en humanos. Esta categoría se basa tanto en información disponible sobre la asociación observada entre cáncer y la exposición humana a estos agentes como en el peso de la evidencia experimental mostrando carcinogénesis en animales mediante un modo de acción relevante para los humanos.

c) Evidencia que sugiere potencial carcinógeno, pero insuficiente para estimar su potencial carcinogénico en humanos: Se clasifican en esta categoría cuando existe:

- Evidencia científica mostrando un incremento marginal de tumores que puede estar relacionado con la exposición al agente.
- Evidencia observada en un único estudio.
- Evidencia limitada a ciertos tumores en un único sexo de una especie.

En esta categoría son necesarios estudios posteriores que determinen el potencial carcinogénico en humanos de dicho agente.

d) Información inadecuada para estimar el potencial carcinógeno: Este descriptor se utiliza para clasificar a aquellas sustancias para las que existe una carencia de información pertinente o útil o cuando la evidencia existente es contradictoria.



e) Probablemente no carcinógeno para humanos: En esta categoría encontramos aquellos agentes para los que los estudios de carcinogénesis revelan:

- Evidencia extensa de ausencia de efecto carcinógeno en humanos, o,
- Evidencia en animales de experimentación que muestra ausencia de efecto carcinogénico en al menos dos estudios bien diseñados y bien conducidos en dos especies animales adecuadas, o,
- Evidencia en animales de experimentación que muestra ausencia de efectos carcinogénicos, o,
- Evidencia de algún efecto carcinogénico en animales de experimentación que no se considere relevante para los humanos, o,
- Evidencia de ausencia de efectos carcinogénicos por debajo de un rango de dosis definido.

3.1.4. National Toxicology Program (NTP)

Otra gran obra de referencia mundial sobre agentes carcinógenos es el *Informe sobre Carcinógenos (Report on Carcinogens, RoC)* que coordina el Programa Nacional de Toxicología del Ministerio de Salud y Servicios Humanos del Gobierno de Estados Unidos (*National Toxicology Program, Department of Health and Human Services*). La última edición publicada de dicho informe es la decimoprimer (11th. RoC) [33]. Se hizo pública el 31 de enero de 2005. El 11th. RoC contiene 246 entradas, 58 de las cuales se refieren a compuestos o agentes «carcinógenos humanos conocidos» (*known to be human carcinogens*), mientras que los 188 restantes son compuestos que «se presume razonablemente que son carcinógenos humanos» (*reasonably anticipated to be human carcinogens*) [32].

3.2. Clasificación según su mecanismo y modo de acción

Con el propósito de evaluar el riesgo individual de las sustancias químicas, tanto las organizaciones científicas europeas (SCOEL, Comisión MAK, ECETOC o EEMS) como, paralelamente, las organizaciones internacionales (EPA, ILSI) reconocen la necesidad de incorporar el «modo de acción» en las evaluaciones de los compuestos y en el establecimiento de valores límite de exposición a carcinógenos. Desde 1998 este tema se ha discutido ampliamente en Europa. Así, por ejemplo, las nuevas perspectivas científicas han sido destacadas por la Federación de Toxicólogos Europea y de las Sociedades Europeas de Toxicología (*Federation of European Toxicologists & European Societies of Toxicology, EUROTOX*) [34].

Es improbable que alguna vez exista un conocimiento completo –y no digamos «absoluto» en términos científicos– de cómo un agente causa cáncer [32]; por ello, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA) publicó ya en 1999 unas guías para la estimación del riesgo derivado de la exposición a un carcinógeno en las que se subrayaba la importancia de comprender tanto el «modo de acción» como el «mecanismo de acción» [35]. En 2001, el Programa Internacional de Seguridad Química (*International Programme on Chemical Safety, IPCS*) introdujo el análisis del modo de acción de manera formal en la estimación del riesgo asociado a la exposición a un carcinógeno [36]. En comparación con el «mecanismo de acción», el «modo de acción» se presume una descripción bioquímica menos detallada de los sucesos que ocurren; no obstante, ello no deja de ser una prueba suficiente para extraer una conclusión razonable sobre la influencia de un agente químico en procesos clave de la carcinogénesis [37]. En la estimación del riesgo asociado a la exposición a un agente, el modo de acción permite incluir datos sobre los eventos precursores de la carcinogénesis, a la vez que informa sobre la relación dosis-respuesta a una concentración inferior a la que produce tumorigénesis a nivel experimental.

Las directrices de la EPA para la estimación del riesgo de un carcinógeno apuntaban en un inicio a un único modelo de extrapolación lineal de la relación dosis-respuesta. En 1999, estas directrices se ampliaron aportando dos modelos de extrapolación, uno lineal y otro no-lineal. La aplicación del modelo de extrapolación no lineal se basa en la comprensión del modo de acción sobre el agente químico; su utilidad ha sido probada en la estimación del riesgo potencial de cáncer en humanos, como se muestra en el siguiente ejemplo.



Ejemplo 1: Cloroformo

El cloroformo, conocido también como triclorometano o tricloruro de metilo, es un compuesto químico que puede obtenerse por cloración como derivado del metano o del alcohol etílico; es utilizado de manera común como producto de desinfección del agua, y ha sido objeto de preocupación durante mucho tiempo debido a su posible asociación con un aumento en el riesgo de ciertos cánceres. La evidencia experimental mostraba que el cloroformo estaba asociado a tumores localizados en el riñón y el hígado en roedores mediante un modo de acción coherente con un proceso biológico que no seguía un modelo lineal en su relación dosis-respuesta, por ejemplo, mediante citotoxicidad seguida por proliferación de células regenerativas. Se observó que aunque los procesos clave que llevaban a carcinogénesis en los roedores eran biológicamente plausibles en humanos, aquella dosis que no causaba citotoxicidad en roedores era improbable que causara cáncer en humanos [38].

La estimación del riesgo de los diferentes agentes químicos depende de manera considerable de cómo valoramos la naturaleza de la relación dosis-respuesta para los efectos toxicológicos y clínicos críticos. Habitualmente, el enfoque que se toma en dicha valoración varía considerablemente en función de si existe evidencia de un valor umbral en la curva dosis-respuesta o de si se observa o se asume un valor umbral en la relación exposición-efecto (que en la realidad no tiene por qué ser una relación «curva»: puede ser lineal, o puede ser una curva sigmoidea, etc.). Aunque dicha postura es razonable, su racionalidad científica no es obvia; cuanto menos no lo es excluir la opción alternativa: aunque no exista un valor umbral puede haber una relación causal, puede haber un riesgo real para la salud humana.

La diferencia entre carcinógenos que causan tumores mediante interacción con el material genético (genotóxicos) y carcinógenos que causan tumores mediante otros mecanismos que no implican genotoxicidad (no genotóxicos) es relevante para la selección de las metodologías de evaluación del riesgo carcinogénico, ya que –entre otras características– las sustancias genotóxicas y las no genotóxicas poseen diferentes modelos de extrapolación de los efectos a bajas dosis.

Como veremos a continuación, cuando se habla de interacción directa con el ADN o de genotoxicidad directa se suele considerar que la exposición en cuestión es capaz de provocar cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN. Como también veremos, empieza a ser común hablar de genotoxicidad indirecta. Ciertamente, siempre se han conocido las íntimas relaciones entre los mecanismos genotóxicos y no genotóxicos. Pero hoy asistimos al redescubrimiento de antiguos y a la eclosión de nuevos conocimientos que se denominan de genotoxicidad indirecta; por ejemplo, los tóxicos epigenéticos que actúan provocando alteraciones que no conllevan cambios en la secuencia del ADN [30, 39, 40].

A continuación explicaremos brevemente los principales rasgos de los diferentes mecanismos de acción (y su consiguiente clasificación) de las sustancias cancerígenas responsables de la activación del proceso tumorigénico.

- **Carcinógenos genotóxicos:** Son aquellas sustancias carcinógenas que actúan mediante la inducción de daño en el material genético. Dentro de los carcinógenos genotóxicos se distinguen dos grupos, en base a su mecanismo de acción [41]:
 - **Genotóxicos directos:** Agentes químicos o reactivos procedentes de la metabolización enzimática de las sustancias químicas, que tienen la capacidad de interactuar directamente con el ADN, bien de manera covalente (reversible) o mediante intercalación (irreversible), provocando daños en su secuencia nucleotídica [42]. Como resultado pueden generar mutagenicidad, clastogenicidad o aneuploidía. Tales mutaciones pueden constituir acontecimientos biológicos importantes –aunque rara vez suficientes– en la transformación de las células normales en células cancerosas. Sustancias genotóxicas directas como los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs) o la aflatoxina B1 son capaces de unirse al ADN provocando cambios estructurales en el material genético conocidos como aductos.
 - **Genotóxicos indirectos:** Sustancias químicas capaces de inhibir las enzimas responsables de la síntesis y reparación del ADN, como los inhibidores de topoisomerasas, inhibidores del huso mitótico o de las proteínas motoras asociadas. Provocan efectos cromosómicos como aneuploidía o clastogenicidad, diferenciándose de los genotóxicos directos por su ausencia de mutagenicidad [34].



La **mutagenicidad** se refiere a una alteración numérica o estructural permanente en el ADN. En sentido médico, se puede definir una mutación como un cambio que interfiere en la información codificada en el ADN y que aumenta la probabilidad de una enfermedad [4]. Ocasionalmente una mutación puede mejorar la capacidad de supervivencia de un organismo y transmitir una alteración positiva a su descendencia [43]. Los individuos expuestos a sustancias mutágenas pueden sufrir cambios en el material genético, que no están causados por segregación cromosómica o recombinación, siendo transmitidos a las células hijas y a las generaciones subsiguientes (alteraciones genéticas hereditarias), siempre y cuando esta mutación no sea un factor letal dominante [4].

- **Carcinógenos no genotóxicos.** Sustancias que contribuyen a causar cáncer sin alterar el ADN, el número de cromosomas o su estructura. Los mecanismos no genotóxicos forman parte de procesos complejos como algunos tipos de inflamación y de inmunosupresión, la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, *Reactive Oxygen Species*), la activación de receptores como el receptor aril hidrocarbónico (AhR) o el receptor de estrógenos (ER), y, por supuesto, el silenciamiento epigenético de genes (el «apagado» de genes, que dejan de expresarse o «funcionar», mediante mecanismos que no conllevan cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN) [39, 44]. En los estadios tempranos del proceso de tumorigénesis los efectos no genotóxicos son reversibles y probablemente requieran de una presencia continuada del compuesto para inducir neoplasia [4].

Un ejemplo de carcinógeno no genotóxico es el ampliamente conocido y evaluado diclorodifeniltriclorohexano (DDT), pesticida que –entre otras acciones– es capaz de unirse al receptor de estrógenos y provocar diversos efectos hormonodependientes [30, 45, 46]. Muchos xenoestrógenos (entre ellos, pesticidas organoclorados tales como el DDT) muestran actividad disruptora de procesos endocrinos; por ejemplo, actúan como agonista de los receptores estrogénicos β (RE β) y antagonistas de los receptores estrogénicos α (RE α). RE α y RE β son los dos subtipos importantes de receptores de estradiol (RE) observados en tejidos estrógeno-dependientes. La activación de RE α estimula la proliferación celular y está asociada con efectos causantes de cáncer, mientras que la activación de RE β estimula la diferenciación celular y puede contribuir a inhibir la carcinogénesis [47]. Por lo tanto, el DDT estimula la proliferación celular a la vez que inhibe la diferenciación celular, facilitando el proceso carcinogénico.

Para los carcinógenos genotóxicos directos se asume –quizá de forma un tanto simplificada– que una célula se puede transformar en célula cancerosa por una única exposición a la sustancia carcinógena [41]. La relación dosis-respuesta a niveles de baja exposición es lineal. Esta linealidad conlleva que no existan niveles umbral (por debajo de los cuales no existen o no se esperan efectos adversos); por lo tanto, es imposible establecer un valor límite o de referencia. Ello implica que la exposición a este tipo de sustancias incrementa siempre el riesgo de padecer cáncer (se dice que existe una relación dosis-probabilidad) [48]. Desde el punto de vista de la protección de la salud debe hacerse todo lo posible para eliminar la exposición humana a la sustancia en cuestión.

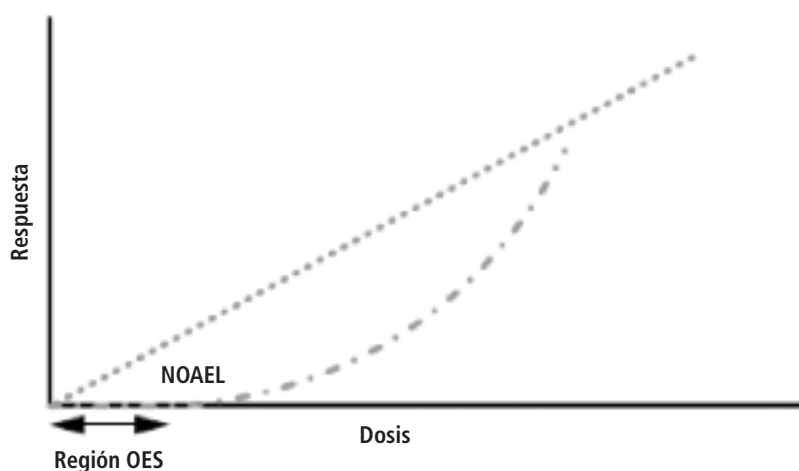
En cambio, se considera que tanto los carcinógenos genotóxicos que actúan por mecanismos indirectos como los carcinógenos no genotóxicos se caracterizan por presentar –también quizá de forma un tanto simplificada– un nivel umbral por debajo del cual no existen o no se esperan efectos adversos clínicamente relevantes [49]. Por ello, para estas dos categorías de carcinógenos se derivan niveles límite de exposición ocupacional, basados en niveles por debajo de los cuales no se observan efectos adversos (*no-observed-effects-limits*, NOAEL) y a los que se aplican factores de incertidumbre (figura 1) [49, 50].

Más adelante ampliamos la información referente a la metodología utilizada para estimar el riesgo asociado a sustancias carcinógenas, metodologías que distinguen entre aquellas sustancias carcinógenas que actúan por vía genotóxica o mediante mecanismos no genotóxicos.

En la estimación del riesgo de cáncer en humanos, y con el objetivo de establecer límites de exposición, Streffer y Bolt (científicos del área académica) propusieron que los carcinógenos se clasificaran en los siguientes cuatro grupos [50]: a) carcinógenos genotóxicos sin valor umbral; b) carcinógenos genotóxicos sin evidencia científica clara; c) carcinógenos genotóxicos con valor umbral práctico, y d) carcinógenos no genotóxicos (figura 2).

**FIGURA 1**

Representación esquemática de la relación dosis-respuesta de los agentes carcinógenos



Fuente: Topping (2001) [13].

a) Carcinógenos genotóxicos sin valor umbral: Para estos carcinógenos los modelos lineales LNT (*linear non-threshold*) parecen adecuados en la estimación del riesgo derivado de la exposición a dosis bajas. La regulación de estas sustancias se basa en el principio ALARA (*as low as reasonably achievable*), es decir, hay que lograr niveles tan bajos como sea razonablemente posible, teniendo en cuenta la viabilidad técnica y otras consideraciones socio-políticas. Sustancias como la dietilnitrosamina, otras nitrosaminas y el cloruro de vinilo pertenecen a este grupo de carcinógenos [49].

b) Carcinógenos genotóxicos sin evidencia científica clara para establecer un nivel umbral. Para estos carcinógenos se asume por defecto el modelo de extrapolación lineal (LNT) en base a la incertidumbre científica. Sustancias como acrilamida, acrilonitrilo, arsénico, benceno, naftaleno y los compuestos hexavalentes del cromo se consideran pertenecientes a esta categoría [51].

Para ambos casos, la estrategia de gestión del riesgo se basa en estimaciones numéricas del riesgo.

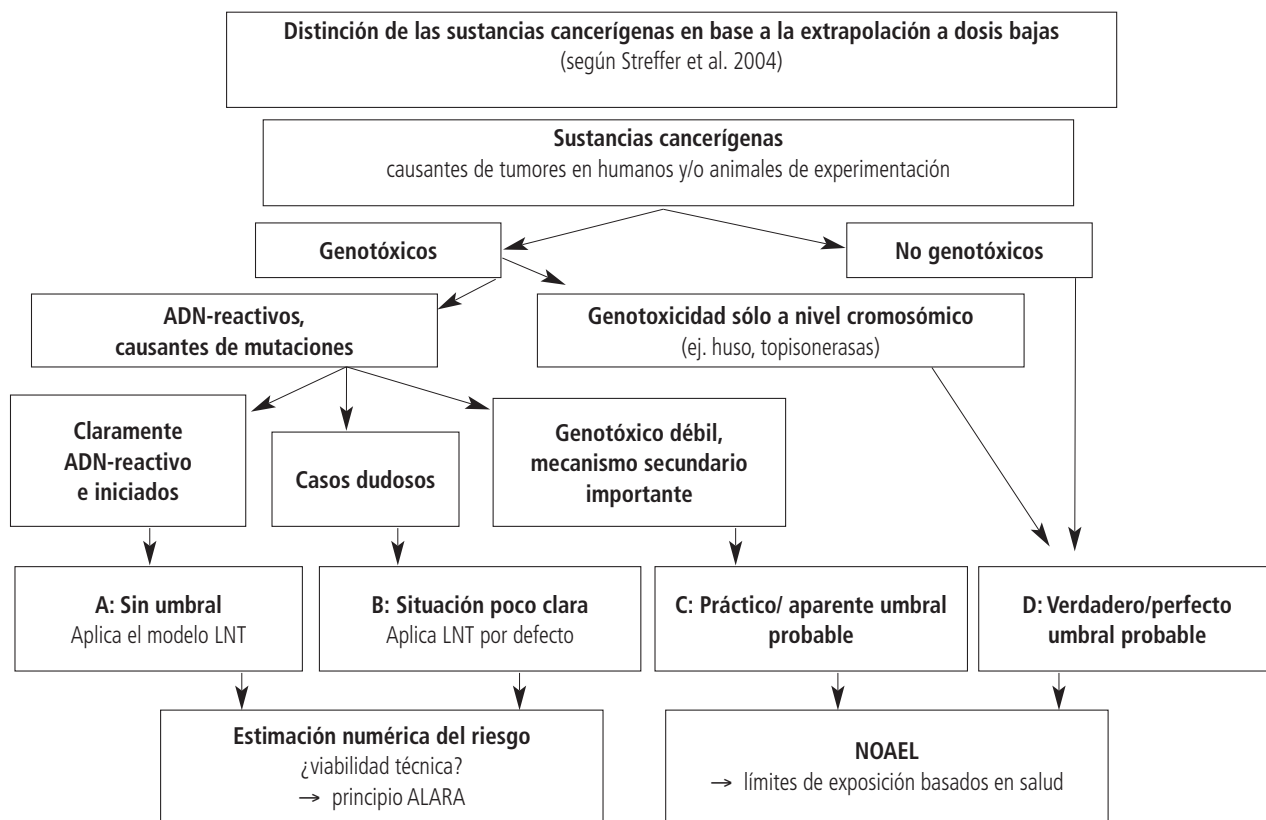
c) Carcinógenos genotóxicos con valor umbral práctico derivado de estudios mecanísticos y/o toxicocinéticos. En base a los efectos observados en los cromosomas (aneugenicidad o clastogenicidad), en los que no se ha observado mutagenicidad, se considera que estos compuestos producen carcinogénesis sólo a dosis altas y tóxicas. En estos casos se considera suficientemente justificable establecer límites de exposición basados en la salud de los trabajadores, es decir, establecer niveles por debajo de los cuales no se observan efectos adversos (*no-observed-adverse-effect*, NOAEL, ya mencionado). Sustancias como el formaldehído y el vinil-acetato pertenecen a esta categoría [52, 53].

d) Carcinógenos no genotóxicos y carcinógenos que no reaccionan con el ADN: Estas sustancias se caracterizan por presentar una relación dosis-respuesta convencional, lo que permite establecer un valor umbral real o perfecto asociado a un nivel en el que no se observan efectos adversos (NOEL) claramente fundamentados. La forma de la curva dosis-respuesta depende principalmente del número de eventos independientes necesarios para provocar el efecto medido [54]. El tetracloruro de carbono, el cloroformo o el nitrobenzeno son sustancias pertenecientes a esta categoría [50].



FIGURA 2

Propuesta de distinción entre los grupos de carcinógenos (A - D) para la estimación del riesgo y el establecimiento de valores límite



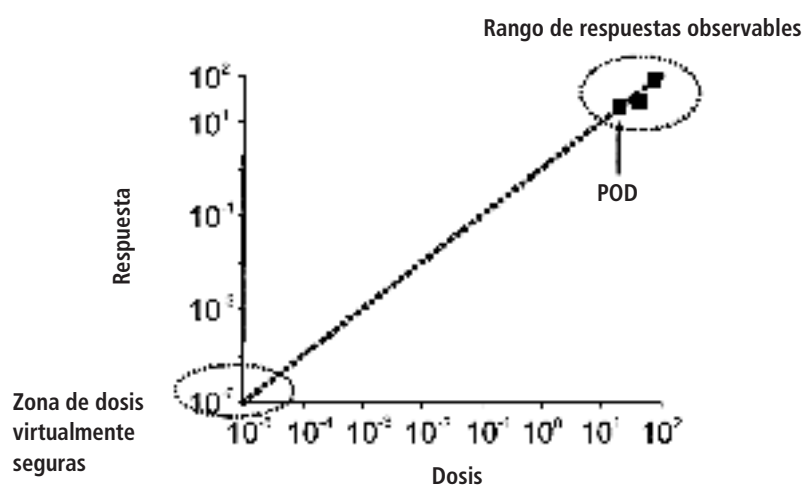
Fuente: Bolt & Degen (2004) [50].

Tal y como apunta Boobis [55], el enfoque adoptado en la gestión del riesgo difiere entre aquellos agentes químicos en los que se observa o se asume un valor umbral y las sustancias químicas para las cuales no existe evidencia de dicho valor. Como describimos a continuación, para aquellas sustancias en las que se observa o asume un valor umbral dicho enfoque varía asimismo en función de las diferentes jurisdicciones. En los Estados Unidos, en función del uso o propósito del agente químico, puede asumirse una extrapolación lineal desde un punto de partida (*Point of Departure*, POD) en la curva dosis-respuesta a una dosis virtualmente segura, tal y como podemos observar en la figura 3. En Europa, por el contrario, para aquellas sustancias en las que puede evitarse su exposición se invoca al principio ALARA (*as-low-as-reasonably-achievable*), es decir, un nivel de exposición tan bajo como razonablemente sea posible.

Una tendencia relativamente reciente es la aplicación, para aquellas sustancias químicas difícilmente sustituibles o evitables, de un margen de exposición (MOE) establecido entre el punto de partida y la exposición humana estimada, con el fin de aportar información respecto a la magnitud relativa del riesgo y en la priorización de acciones para la gestión del riesgo de dichas sustancias [55].


FIGURA 3

Extrapolación de la exposición humana cuando no se puede asumir que la curva dosis-respuesta presenta un valor umbral



Extrapolación a exposición humana cuando no puede asumirse que la curva dosis-respuesta exhibe un nivel umbral. Los valores en el rango observable (que representan generalmente una respuesta de un 10-100% en los bioensayos de cáncer) se utilizan para determinar un punto de partida (POD) (ej. NOAEL, BMDL10). El POD se utiliza para extrapolaciones lineales a dosis virtualmente seguras, que generalmente están asociadas a un riesgo de 1 en 105 en SUPERÍNDICE o de 1 en 106 en SUPERÍNDICE, siendo la elección de este valor una decisión propia de la gestión del riesgo.

Nótese que los ejes están definidos en escala logarítmica, porque es el rango necesario para poder realizar la extrapolación.

Fuente: Guyton y cols. (2009) [55].

En el taller sobre Establecimiento de Valores Límite de Exposición Ocupacional para sustancias carcinógenas que se llevó a cabo en 2006 en Luxemburgo («Setting OELs for carcinogens»), el SCOEL remarcó la existencia de problemas en la clasificación en cuatro grupos (A→D de la figura 2) de los carcinógenos según su valor umbral, como sucede en la consideración de los mecanismos de genotoxicidad a nivel cromosómico. Asimismo mencionaba la problemática existente en la identificación de compuestos de genotoxicidad débil (grupo C) que precisan de concentraciones elevadas para producir efectos carcinógenos [56]. También se consideraron las implicaciones asociadas a establecer niveles umbrales prácticos, así como la importancia de la distinción de aquellos compuestos que pertenecen a la categoría «carcinógenos genotóxicos sin evidencia científica clara» (grupo B) y «carcinógenos genotóxicos con umbral práctico» (grupo C) para establecer un nivel umbral.

Guyton et al. han clasificado a los diferentes agentes químicos según su modo de acción en función de los sucesos claves ocurridos durante el proceso de carcinogénesis, mostrando que los eventos clave provocados por las sustancias químicas carcinógenas examinadas representan múltiples modos de acción [57]. Por ejemplo, el arsénico y el benceno provocan casi todos los efectos enumerados. Este hecho subraya la necesidad de considerar interacciones entre los múltiples modos de acción de las sustancias cancerígenas. Además, la importancia relativa de un determinado modo de acción varía según la etapa de la vida, los antecedentes y susceptibilidad genética y la dosis recibida (tabla 5).



TABLA 5

Los carcinógenos operan vía múltiples eventos clave, es decir, mediante diversos modos de acción

Eventos clave																
	ADN reactivos/ unión covalente	Mutaciones en genes	Rotura cromosómica	Aneuploidia	Daño ADN mediado por enzimas/ reparación	Epigenética	Señalización celular: mediado por el receptor nuclear	Señalización celular: otros	Modulación de la respuesta inmunológica	Inflamación	Proliferación celular compensatoria/ citotoxicidad	Mitogenicidad	Sobrecarga fisiológica o metabólica crónica	Relacionado con déficit de nutrientes	Interferencia con GIC	Otros
Grupo 1 IARC																
Aflatoxina B1	+	+	+	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	
Arsénico +3	-		+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	
Asbesto	+	+	+	-		+		+	+	+						
Benzeno	+	+	+	+	+	+		+	+	+	+	-	-	-	+	
DES	+	-	+	+	-	+	+	+	+		-	+	+		+	
Formaldehído	+	+	+	+	+			+	+	+	+					
TCDD, 2, 3, 7, 8-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+
Cloruro de vinilo	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+		-		+	+	
Grupo 2A IARC																
Acrilamida	+	+	+	+							-	-	-	-		+
PCBs	+	-	+	-	+		+	+	+	+		-	+		+	
Cancerígeno modelo																
Dietilnitrosurea	+	+	-	+	-	+		-	-		-	-	-	-		
No cancerígeno																
Tolueno			+												+	
Acetaminofeno	-	-	+	+	+			+		+	+		+		-	

^a En esta tabla, la ausencia de signo indica que no hay información o que ésta es equívoca o contradictoria; +: evidencia de; -: evidencia en contra de. Esta clasificación se basa en el juicio científico y en la literatura se advirtieron diferencias en la opinión científica sobre los signos aquí descritos.

Fuente: Guyton y cols. (2009) [57].



A continuación profundizaremos en las diferencias características entre los cancerígenos genotóxicos y no genotóxicos en las cuales se basa el establecimiento de los VL, conociendo cómo inducen y provocan el proceso de tumorigénesis. Como ya hemos apuntado, cuando se habla de interacción directa con el ADN y de genotoxicidad directa se suele considerar que la exposición en cuestión es capaz de provocar cambios en la secuencia de nucleótidos del ADN. Como también hemos apuntado, hoy empieza a ser común hablar de genotoxicidad indirecta, utilizando conocimientos biológicos nuevos. Aunque se sabe desde hace décadas que existen relaciones estrechas entre los mecanismos biológicos genotóxicos y no genotóxicos, hoy disponemos de nuevos conocimientos sobre lo que es razonable denominar «genotoxicidad indirecta». Disponemos, por ejemplo, de nuevos conocimientos sobre los efectos epigenéticos (que, como ya hemos comentado, no conllevan cambios en la secuencia del ADN) [39] de sustancias como: metales (arsénico, cadmio, níquel, cromo, metilmercurio); proliferadores peroxisomiales (tricloroetileno, ácido dicloroacético y tricloroacético); disruptores endocrinos y tóxicos reproductivos (bisfenol A, compuestos orgánicos persistentes, incluyendo las dioxinas) [58]. Estos y otros agentes carcinógenos causan alteraciones genéticas y epigenéticas en células susceptibles, confiriéndoles, entre otras propiedades, una «ventaja selectiva de crecimiento»; así, estas células pueden experimentar una expansión clonal, volviéndose genómicamente inestables y transformándose más tarde en células plenamente neoplásicas [59].

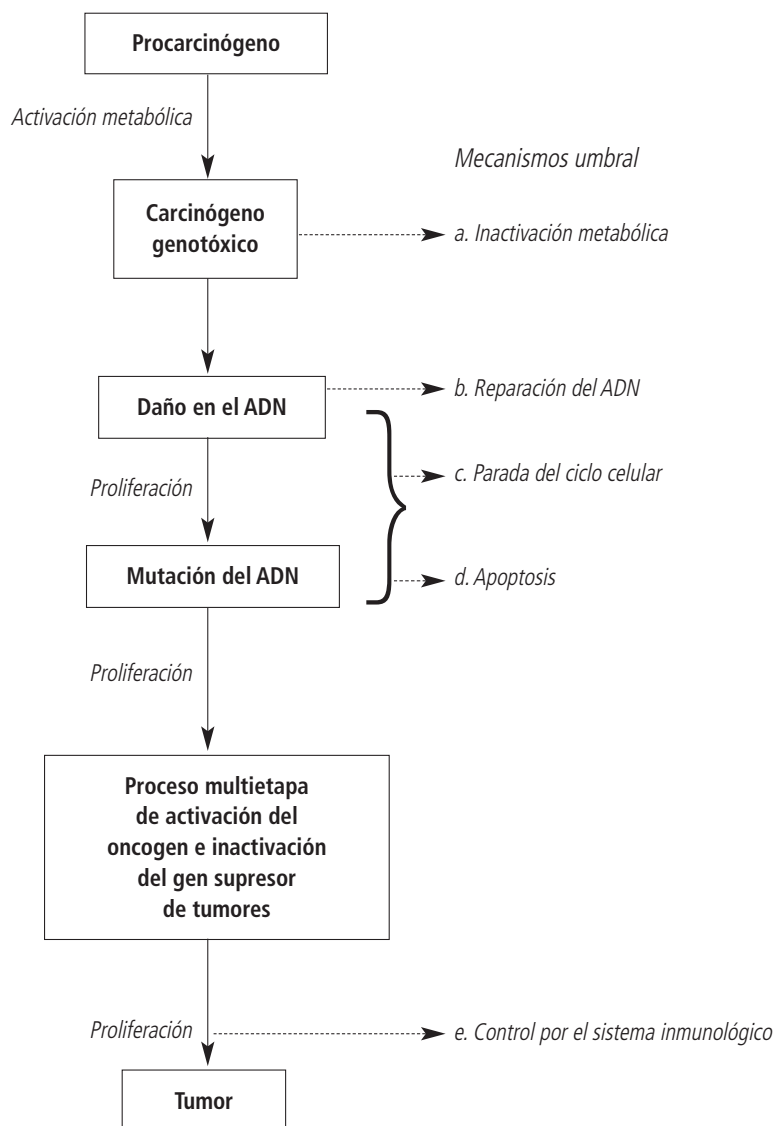
Durante el proceso cancerígeno, que a menudo dura años, se produce una acumulación de múltiples mutaciones y otras alteraciones genéticas y epigenéticas (por ej., mutaciones en genes reguladores del crecimiento como el gen supresor de tumores p53 o los proto-oncogenes de la familia Ras) [39]. Las células cancerosas tienen mayores tasas de error durante la síntesis del ADN, debido a mutaciones en genes responsables de la estabilidad genética, como los encargados de la reparación del ADN, de la replicación del ADN, de la segregación cromosomal o del control del ciclo celular [30].

En los siguientes esquemas se representa la secuencia de procesos necesarios para el desarrollo del cáncer en humanos, y, entre ellos, los principales procesos que ocurren tras la exposición a agentes carcinógenos genotóxicos, que dañan de forma directa el material genético (figuras 4,5 y 6) [61, 62]. Esta capacidad de unión al ADN de las sustancias genotóxicas se debe en gran medida a que, al ser metabolizadas a compuestos electrofílicos, son capaces de entrar en el núcleo de la célula e interactuar con los sitios nucleofílicos, dañando la integridad estructural y estableciendo uniones covalentes conocidas como *aductos*. Los aductos poseen una importancia muy relevante en la carcinogénesis química, puesto que es el mecanismo principal mediante el cual modifican el ADN [63]. En el caso de los compuestos genotóxicos es imprescindible su metabolización, por lo que la ausencia de activación metabólica de un procarcinógeno en cierta especie animal dará como resultado la activación de un mecanismo que contrarresta la acción carcinogénica en esa especie [60]. Todos los compuestos genotóxicos necesitan que el procarcinógeno sufra activación metabólica a la forma carcinógena.



FIGURA 4

Secuencia del proceso de tumorigénesis e hipotéticos mecanismos umbral de los carcinógenos genotóxicos



Fuente: Hengstler y cols. (2003) [60].



FIGURA 5

Proceso de desarrollo del cáncer

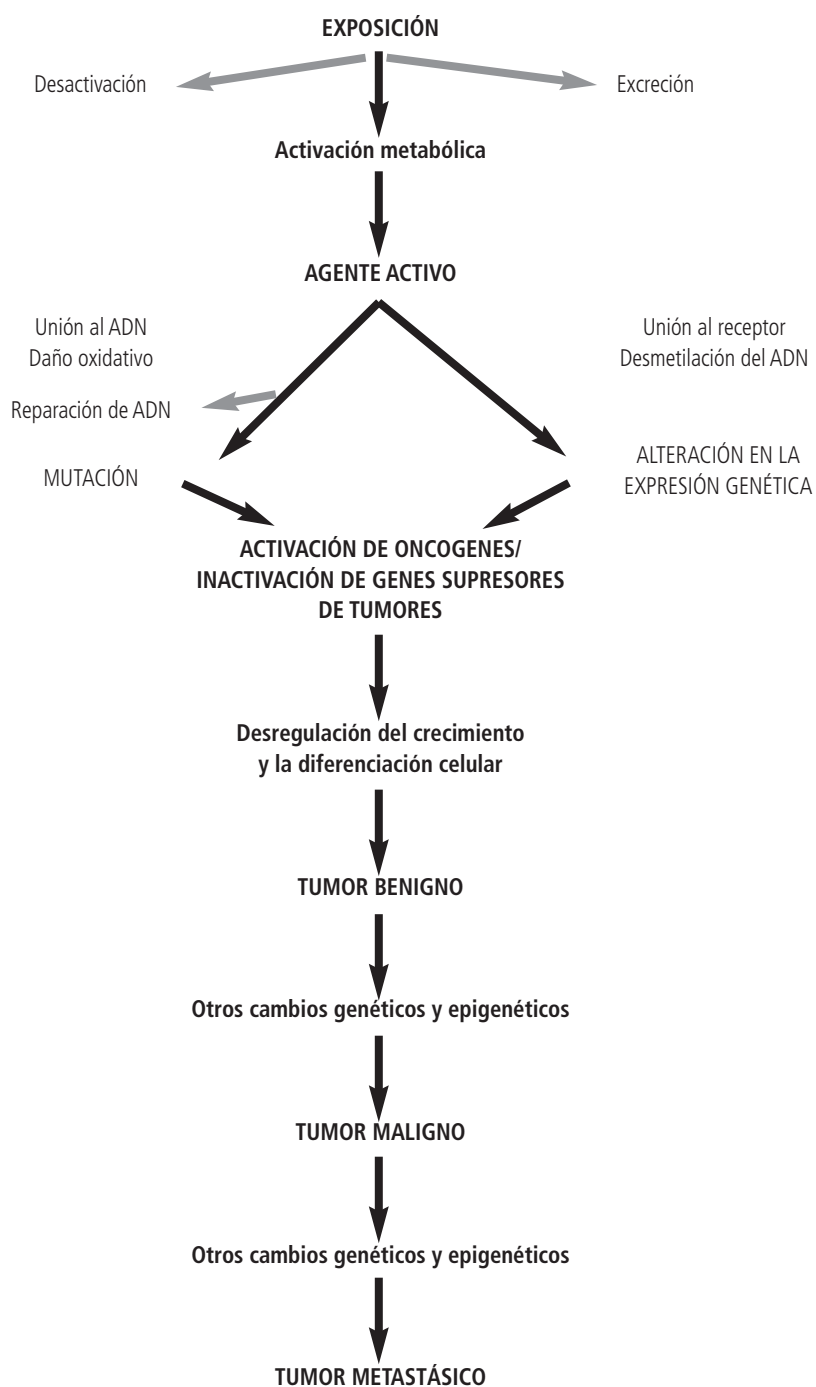
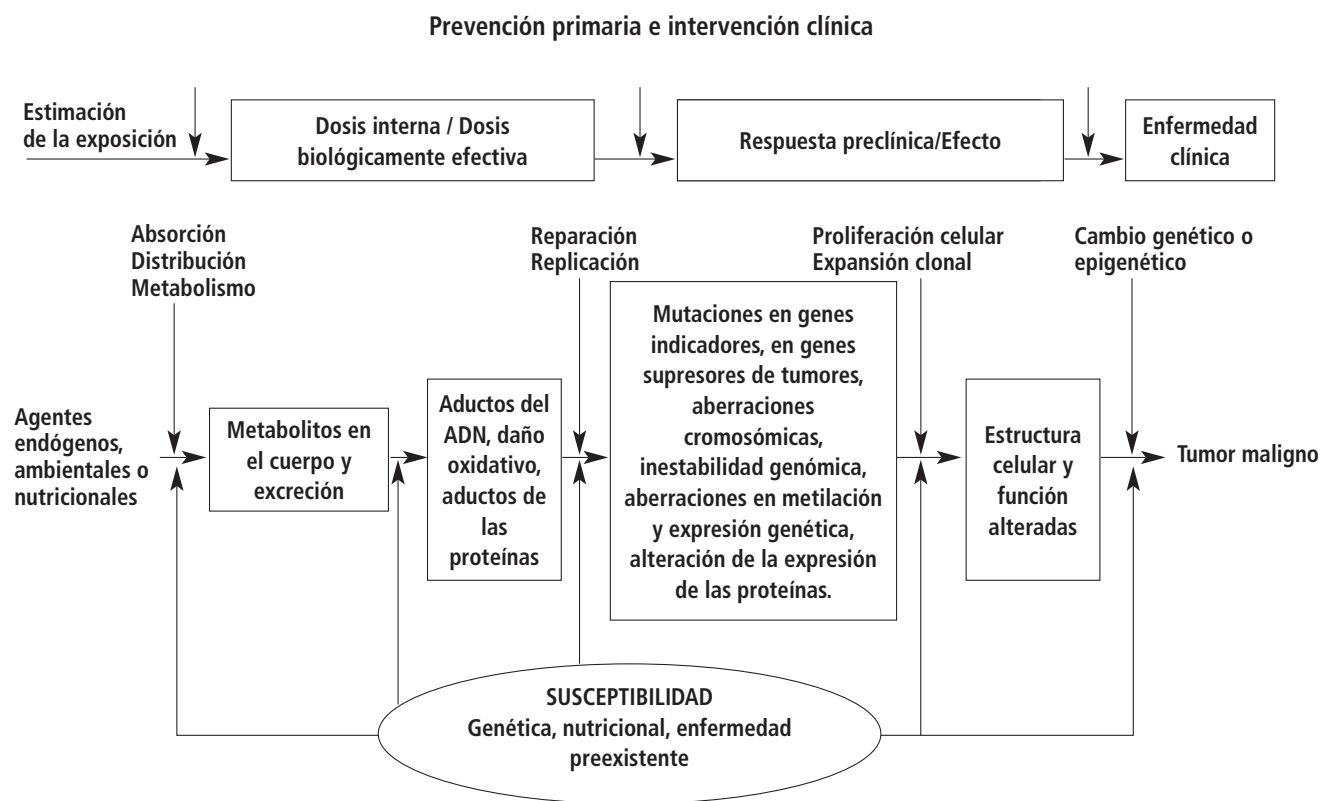




FIGURA 6

De la exposición a la enfermedad clínica



Modelo actualizado para epidemiología molecular. Adaptado de Perera y Weinstein, 1982; National Research Council, 1987; Schulte et al., 1993; and Harris, 1996.

Fuente: Vineis y Perera (2007) [62].

Puede pensarse que los carcinógenos genotóxicos tienden a actuar de un modo relativamente sencillo: su efecto depende de la relación existente entre la tasa de daño genético y la tasa de reparación de las lesiones al ADN. No obstante, lo anterior es esencialmente una simplificación de procesos mucho más complejos, especialmente si nuestro interés es una enfermedad humana.

En cambio, los carcinógenos no genotóxicos tienden a provocar un impacto de mayor complejidad en la fisiología celular, y no precisan de activación metabólica. Los compuestos genotóxicos poseen un mecanismo unificador, la genotoxicidad, mientras que los carcinógenos no genotóxicos pueden actuar mediante diferentes modos (de acción), los cuales son, en su mayoría, específicos respecto al tejido de actuación y la especie. El conocimiento sobre este último grupo de carcinógenos es relativamente escaso, pero la evidencia científica disponible muestra que un elevado porcentaje de ellos necesitan alterar múltiples vías para la inducción del cáncer. Ejemplos de los diferentes modos de acción de las sustancias no genotóxicas son [33]:

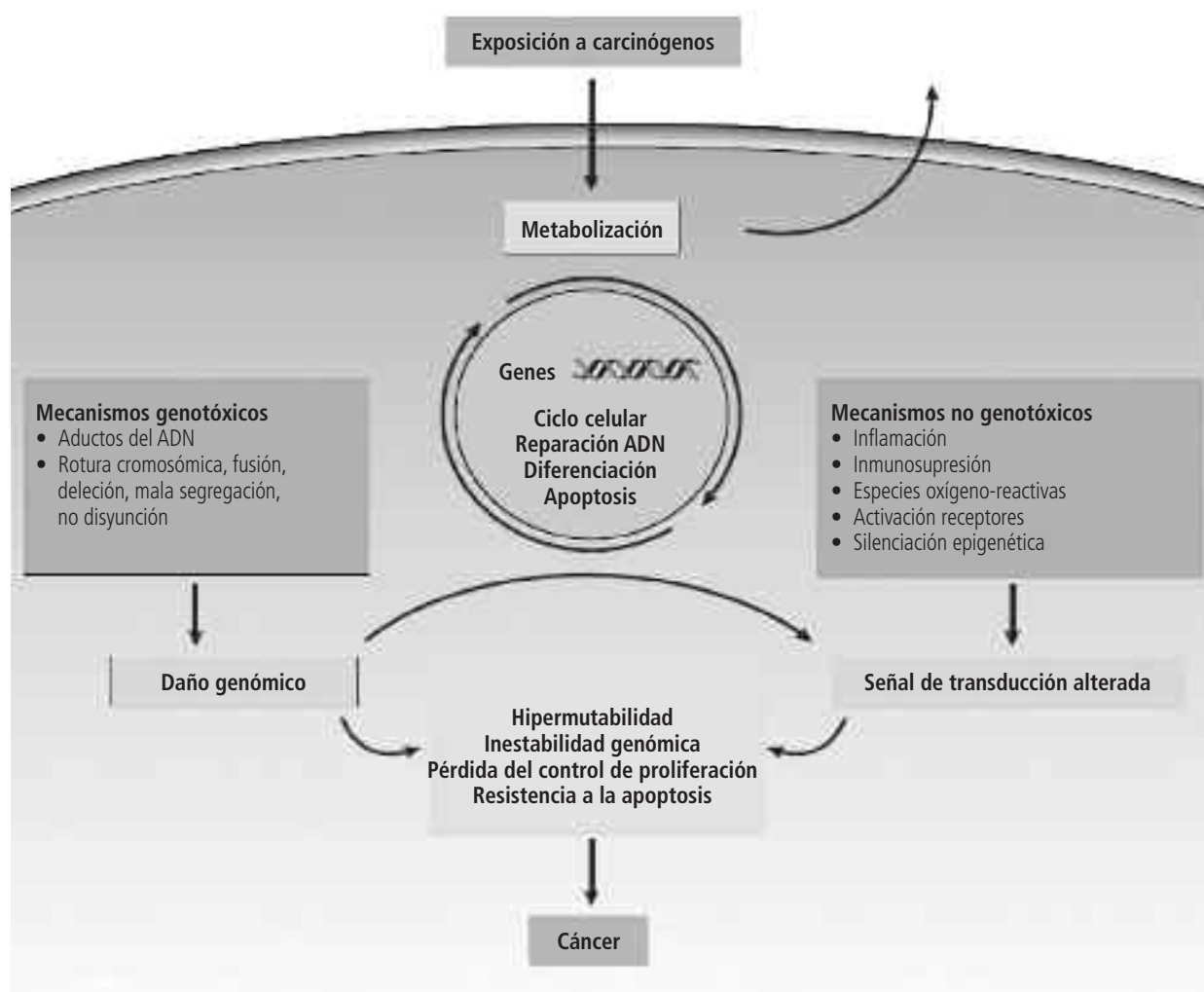
- Proliferación peroxisomal.
- Estrés oxidativo.
- Promoción tumoral.
- Modificadores endocrinos.
- Supresión de la apoptosis.
- Desregulación de las conexiones celulares.
- Aumento de la división celular.
- Inmunosupresores.



Tanto los mecanismos genotóxicos como los no genotóxicos son capaces de alterar las vías de traducción de señales celulares, provocando hipermutabilidad, inestabilidad genómica, pérdida del control de la proliferación celular o resistencia a la apoptosis; estos procesos provocan que las células normales adquieran características necesarias para convertirse en cancerosas. Como podemos observar en la figura 7, las diferencias entre ambos tipos de carcinógenos radican en los mecanismos de acción: los genotóxicos provocan daño genómico, mientras que los no genotóxicos alteran las señales de transducción; sin embargo, el resultado final tanto por una vía como por la otra es el desarrollo de un proceso carcinógeno [44].

FIGURA 7

Mecanismos carcinogénicos genotóxicos y no-genotóxicos



Cuando las sustancias cancerígenas son internalizadas por las células, a menudo son metabolizadas y los productos resultantes de esta metabolización pueden ser tanto excretados como retenidos por la célula. Dentro de la célula, los cancerígenos o sus metabolitos pueden afectar tanto directa como indirectamente la regulación y expresión de los genes involucrados en el control del ciclo celular, en la reparación del ADN, en la diferenciación celular o en la apoptosis. Algunos cancerígenos actúan mediante mecanismos genotóxicos, tales como la formación de aductos del ADN o mediante la inducción de la rotura, fusión, delección cromosómica. Otros mecanismos genotóxicos serían la inhibición total de la segregación cromosomal o la no disyunción de los cromosomas.



Niveles de exposición sin efecto biológico en humanos para las sustancias cancerígenas

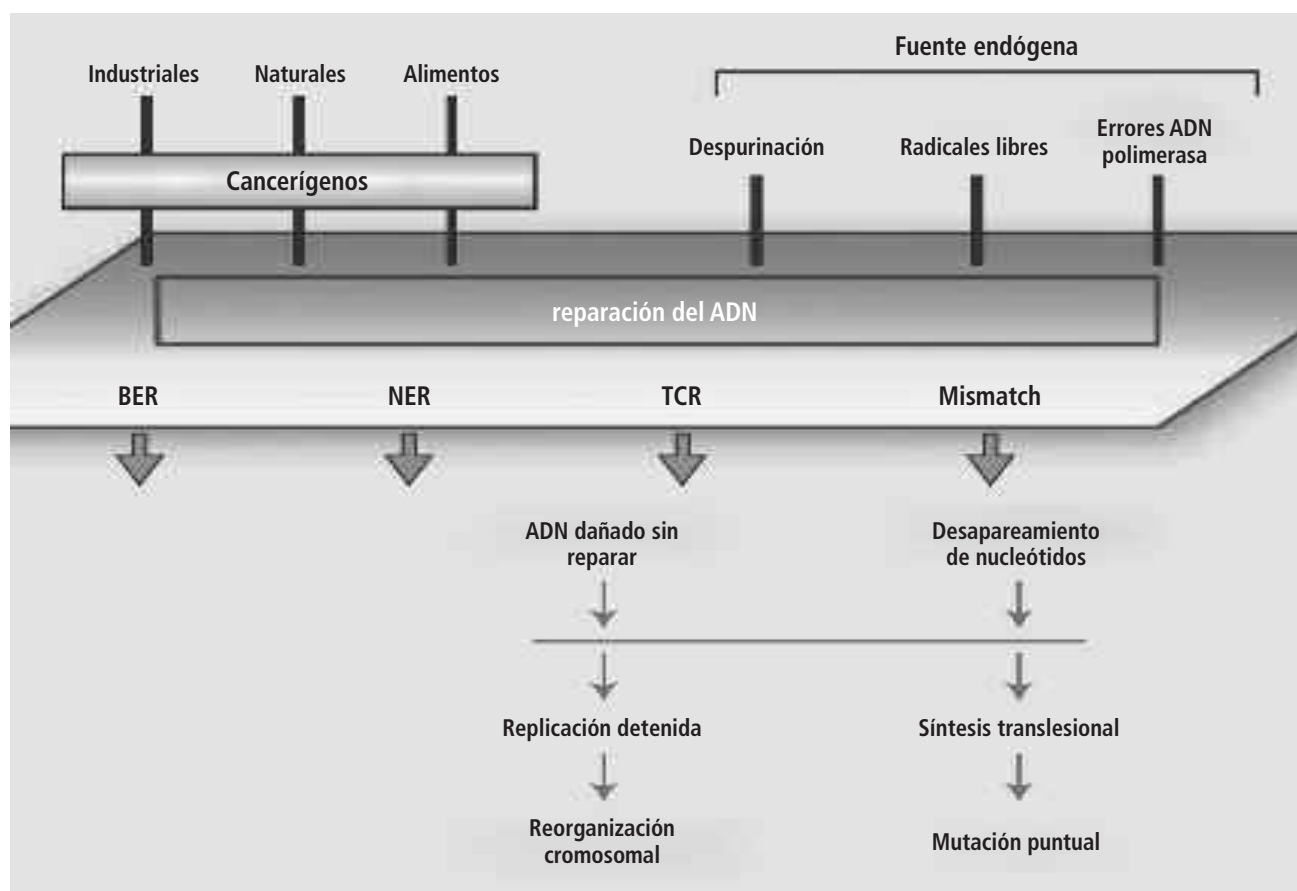
A continuación abordaremos la viabilidad del establecimiento de niveles de exposición sin efecto biológico en humanos para sustancias cancerígenas.

Una gran cantidad y variedad de actividades cotidianas tienen «efecto biológico» y, sin embargo, son inocuas. Quizá sea más relevante analizar «efectos biológicos clínicamente relevantes», o conceptos similares. En las condiciones de vida habituales de una persona, se calcula que cada célula humana normal puede llegar a sufrir aproximadamente 10.000 sucesos diarios que dañan el material genético [59]. Con el fin de proteger nuestros genomas, las células humanas poseen un amplio abanico de mecanismos para reparar los daños genéticos causados tanto por carcinógenos propiamente endógenos (productos reactivos generados en los procesos celulares normales) como por los exógenos (por ejemplo, productos químicos industriales o ambientales). Actualmente se han identificado alrededor de 160 genes reparadores del ADN, pero es plausible que existan muchos más genes y procesos de reparación. Y, lo que es más relevante clínicamente todavía, es el desconocimiento de muchos aspectos de las funciones y características de tales genes, procesos, factores reguladores e interacciones. Entre los diferentes mecanismos de reparación celular, destacamos los siguientes (figura 8) [59]:

- Reparación de escisión de bases (BER), responsable de la eliminación de productos de oxidación y alquilación.
- Reparación de escisión de nucleótidos (NER), el cual restaura segmentos de oligonucleótidos que contienen largos aductos.
- Reparación de desapareamientos causados por las ADN polimerasas.
- Transcripción de acoplamiento de la reparación (TCR) que restaura preferentemente lesiones que derivan de la transcripción.


FIGURA 8

Mecanismos de reparación celular



Las mutaciones resultan de reparaciones incompletas de ADN. El daño en el material genético celular es resultado del efecto de agentes ambientales (sustancias cancerígenas) y de fuentes endógenas. La mayoría de este daño genético es eliminado por procesos de reparación del ADN: BER, NER o TCR. Los nucleótidos mal incorporados son también eliminados mediante un proceso de reparación. Las lesiones que no son reparadas pueden detener el proceso de replicación de ADN resultando en una rotura doble de las cadenas de ADN y en una recolocación de los cromosomas. Por otro lado, los aductos pequeños pueden ser traspasados por las Y-polimerasas del ADN.

Fuente: Loeb & Harris (2008) [59].

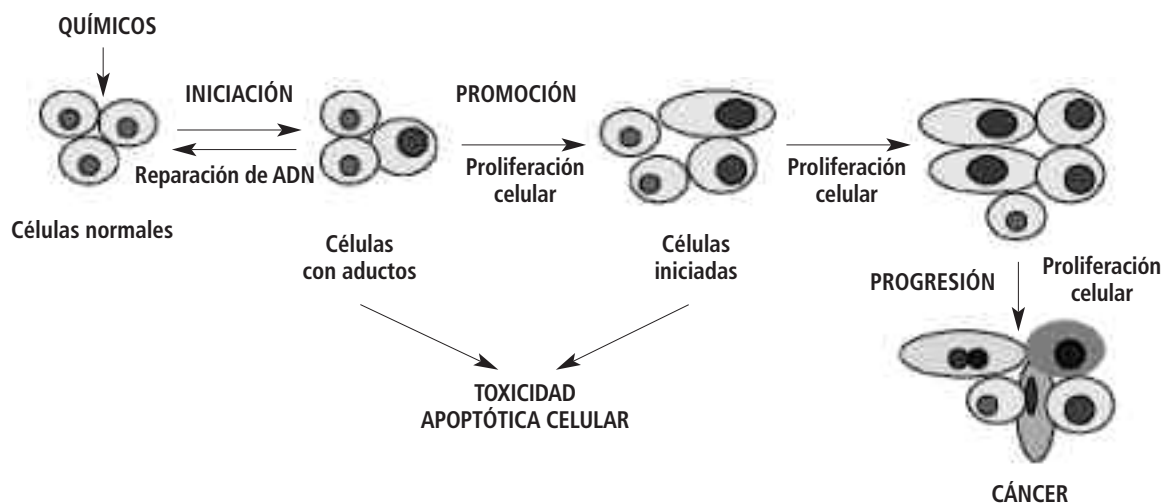
La enorme eficacia de nuestra «maquinaria natural» de reparación celular se debe en buena parte a (y queda reflejada en) los siguientes hechos: la mayoría de las lesiones genéticas diarias son susceptibles de ser reparadas mediante más de un mecanismo, y sólo un número ínfimo de daños en la secuencia del ADN son capaces de evitar estos procesos de reparación y encontrarse presentes en el proceso de replicación del ADN (mecanismo de síntesis de una copia idéntica), provocando que la ADN polimerasa incorpore así nucleótidos no complementarios dando lugar a una mutación [59].

Como es bien sabido, la formación de tumores sucede en un intervalo largo de tiempo; habitualmente, entre 10 y 30 años desde el momento de la exposición de un individuo a un carcinógeno químico hasta la detección clínica del tumor. Este proceso de carcinogénesis química incluye el daño en el ADN y la posterior fijación de estas mutaciones (iniciación), seguida de la expansión clonal selectiva (promoción), un segundo mecanismo mutagénico responsable de la transición de la lesión a maligna (conversión), y la habilidad de algunas células malignas para adquirir características de mayor agresividad, que permitan la expansión de las subpoblaciones de tumores que han perdido los mecanismos de control del crecimiento, obteniendo una ventaja proliferativa en comparación con las células normales (progresión) [63]. Los carcinógenos químicos pueden alterar cualquiera de estos procesos (iniciación, promoción, conversión y progresión) para inducir sus efectos carcinogénicos (figura 9) [30].



FIGURA 9

Proceso de carcinogénesis química (iniciación, promoción, progresión)

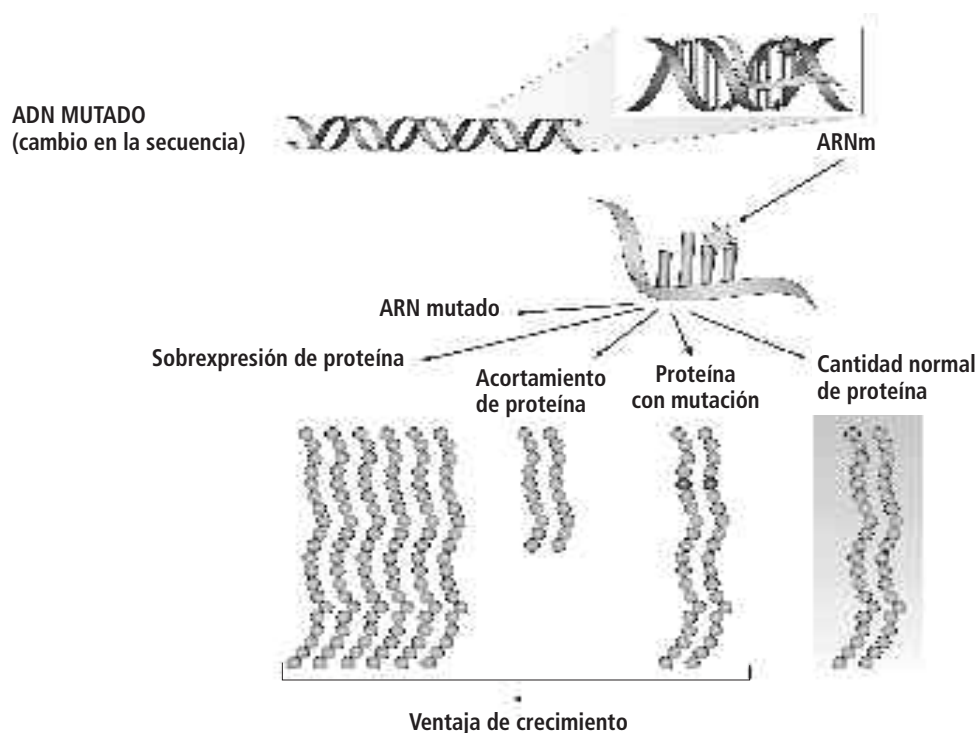


Fuente: Oliveira (2007) [63]

Los modelos experimentales de carcinogénesis química revelan que la formación de aductos en el ADN (unión covalente de la sustancia cancerosa al ADN) es en algunos casos necesaria, pero nunca suficiente, para la formación de tumores con significación clínica. Desde luego, se pueden formar aductos con el ADN en órganos donde no se desarrolle un tumor; ello nos recuerda la importancia de factores de riesgo tejido-específicos, tales como que la capacidad proliferativa de cierto tipo celular puede asimismo contribuir a la inducción tumoral [64].

FIGURA 10

Desarrollo de productos génicos alterados por carcinógenos químicos



Fuente: Poirier (2004) [64].



El ADN se altera estructuralmente tras unirse un carcinógeno químico a una de sus bases nucleotídicas (estrella roja) (genotoxicidad directa). Posteriormente se produce la inserción de una base errónea en la hebra complementaria durante la replicación. La mutación se transcribe posteriormente al ARN mensajero, que codificará una proteína mutada. Los aductos en el ADN pueden causar también sobreexpresión de proteínas, subexpresión o rotura, o una proteína de tamaño normal con un cambio de aminoácido que altera la función de la misma. En algunas ocasiones los aductos del ADN no afectan a la función o la cantidad, dando como resultado proteínas normales [64].

Entre los compuestos carcinógenos que contribuyen a causar cáncer por mecanismos no genotóxicos encontramos promotores tumorales (como el 1,4-diclorobenceno), disruptores endocrinos (17 β -estra-diol), mediadores de receptores (2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina), inmunosupresores (ciclosporina) e inductores de toxicidad y de respuestas inflamatorias específicas de tejido (metales como el arsénico y el berilio) [30].

3.3. Evaluación del riesgo de sustancias cancerígenas y mutágenas

Tradicionalmente, la estimación del riesgo de las sustancias carcinógenas incluye la identificación del riesgo, la caracterización del riesgo (dosis-respuesta) y la estimación de la exposición.

El determinante fundamental en la selección de metodologías para la estimación del riesgo de un carcinógeno es la distinción entre carcinógenos responsables del tumor por interacción (directa) con el material genético (carcinógenos genotóxicos) y carcinógenos responsables del tumor por otros mecanismos que no incluyen la genotoxicidad directa (carcinógenos no genotóxicos).

3.3.1. Identificación del riesgo

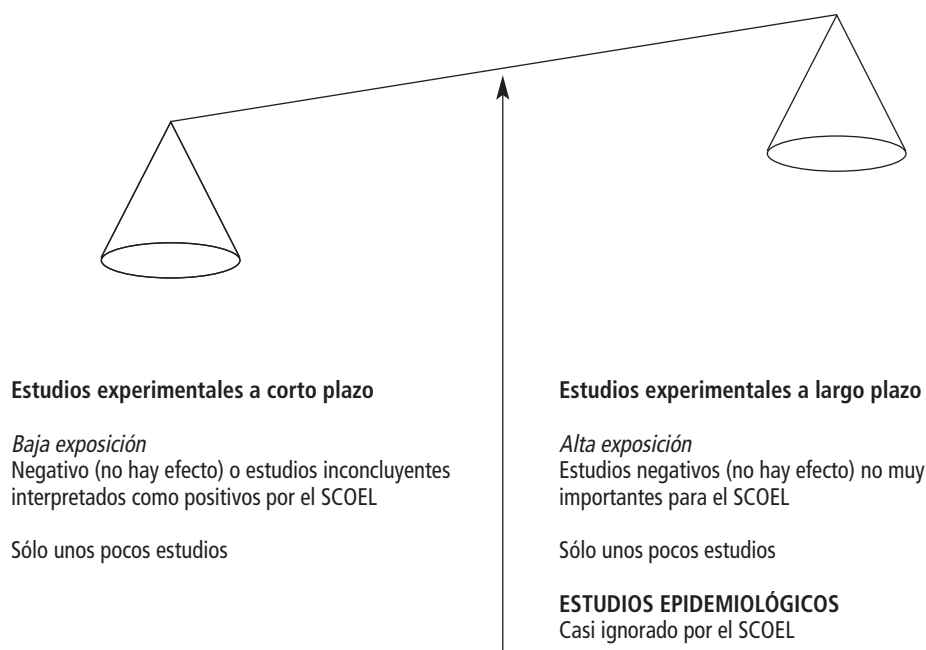
La identificación del riesgo de los carcinógenos requiere de manera general estudios de experimentación animal de un mínimo de dos años de duración [65]. Mediante estos estudios se pretende identificar el potencial de los agentes químicos para inducir lesiones neoplásicas, pero también se persiguen otros objetivos, tales como la identificación de los órganos diana, el establecimiento de relaciones dosis-respuesta y la aportación de información sobre el modo de acción. Los estudios de experimentación animal de menor duración utilizan protocolos de identificación de efectos preneoplásicos, a veces en un único tejido (pruebas o tests en animales transgénicos, inducción de focos preneoplásicos o análisis genómicos [50]). La identificación del riesgo se puede basar también en observaciones en la incidencia de tumores en poblaciones humanas expuestas a un agente químico, pero esta información sólo se encuentra disponible para muy pocos agentes carcinógenos, a exposiciones elevadas y en relación a una respuesta tumoral muy específica.

La valoración de los resultados obtenidos en dichos estudios y sus limitaciones asociadas suponen un hecho controvertido, especialmente entre los sectores de nuestra sociedad que presentan grandes intereses en dichos resultados, resultados que, tal y como hemos apuntado, no escapan a las limitaciones de la identificación del riesgo. Un ejemplo de dicha controversia lo apunta la Asociación de Minería Sueca, que aduce que los OELs se establecen sin tener en cuenta ciertos factores que necesitan ser considerados para que estos valores sean factibles en situaciones del mundo real. Entre estos factores consideran que no se ha tenido en cuenta los factores socioeconómicos, la viabilidad de los valores propuestos y el hecho de no otorgar la importancia suficiente a los estudios epidemiológicos. Esto se ha representado en la figura 11, tomando por ejemplo la situación que se deriva:



FIGURA 11

Paradoja del equilibrio de los OELs



Fuente: Presentación de Knut Sörensen «Occupational exposure limits for the workplace. The case of NO₂ and CO and the mining industry (and NO) - unfinished business for the SHCMOEL», de Svenska Gruvföreningen, The Swedish Mining Association para la Fundación Barredo, Septiembre 2007.

La identificación del riesgo de genotoxicidad se basa, en una primera fase, en estudios *in vitro*, que establecen la mutagenicidad de los agentes, y en una segunda fase, de confirmación de los resultados previamente observados, mediante estudios *in vivo*. Los estudios *in vitro* permiten determinar la capacidad genotóxica de estos agentes. Es necesario un mínimo de 3 baterías de pruebas de toxicología genética realizadas en bacterias y células de mamíferos, en base a las recomendaciones de las agencias reguladoras, para poder estimar efectos en los tres principales tipos de daño genético, los cuales determinan el riesgo potencial de inducción tumoral en las poblaciones expuestas [66]. Estos principales efectos en el material genético son:

- Mutaciones genéticas (mutaciones puntuales, deleciones de un único gen o bloques de genes, etc.).
- Clastogenicidad (cambios estructurales del cromosoma).
- Aneuploidía (aberraciones cromosomales numéricas).

La evaluación crítica de los datos ya disponibles de la sustancia en estudio suele aportar información importante, especialmente útil a la hora de seleccionar las pruebas *in vitro*, pero todavía más en la elección de las pruebas *in vivo*.

Siempre que sea posible, antes de iniciar las pruebas de mutagenicidad de cualquier sustancia química (o grupo de sustancias) deben tenerse en cuenta las siguientes características de la sustancia [67].

- Estructura química, clase de agente (posibles relaciones estructura-actividad), propiedades físico-químicas, solubilidad y estabilidad.
- Rutas de metabolismo, actividad / reactividad química y biológica, relación con agentes químicos genotóxicos ya conocidos.
- Vías de exposición, biodisponibilidad y órganos diana.



La combinación de dos o tres pruebas posee mayor sensibilidad que los tests individuales, obteniendo una sensibilidad aproximada del 90% o incluso mayor, dependiendo de las combinaciones de las siguientes pruebas [68]:

- Prueba en bacterias para mutaciones en genes (Test de Ames en *S.typhimurium*).
- Prueba para detectar mutaciones cromosomales, incluyendo indicadores de aneuploidía
 - análisis de la metafase;
 - prueba de micronúcleo.
- Ensayos en células de mamíferos (Anexo, Fig. 1).

La genotoxicidad de un agente puede derivarse, en algunos casos, de la estimación de los llamados efectos indicadores, tales como daños en el ADN tras la formación de aductos o inducción de reparación de ADN. Es por ello de vital importancia, tal y como señalan Thybaud et al., distinguir entre los «tests de mutagenicidad» en el sentido estricto y los «tests indicadores», que proporcionan evidencias de interacción con el ADN, que puede ir seguida o no de mutaciones (por ej., aductos en el ADN, intercambio entre cromátidas hermanas) [68].

Puede que existan conocimientos científicos que sugieran que el agente químico en estudio tiene un modo de acción «indirecto»; por ejemplo, no genotóxico, tal como un desequilibrio del «pool» de nucleótidos, disrupciones del huso mitótico, inhibición de la síntesis de ADN o de las topoisomerasas, etc. Cuando existen datos de esta índole se debe seleccionar pruebas adicionales, que confirmen estas hipótesis y descarten mecanismos de acción directa sobre el ADN. En cambio, aquellas sustancias químicas cuya estructura sugiere mutagenicidad en el ADN, pero que obtienen resultados negativos en la batería de pruebas del proceso regulatorio inicial, normalmente no requieren pruebas adicionales que demuestren que la batería inicial es sensible al tipo de efecto que sugería su estructura [68].

En el caso de las sustancias que obtienen resultados positivos de efectos mutagénicos en células somáticas *in vivo*, debe necesariamente considerarse su potencial de mutagénesis en células germinales. Existe un amplio número de pruebas disponibles en células germinales que se agrupan en dos clases (Anexo, Fig. 2) [67]:

- Clase 1. Tests en células germinales *per se*.
- Clase 2. Tests que detectan los efectos en la progenie de animales expuestos.

En Europa, la implementación del REACH ha reducido de forma significativa el número de bioensayos de cáncer, por lo que el potencial carcinogénico de los agentes químicos nuevos y existentes está basado, en su mayoría, en su potencial genotóxico [30]. Además, la estrategia de análisis establecida en el REACH (*Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals*, ya mencionado) está basada en efectos genotóxicos (test de mutagénesis en bacterias, genotoxicidad en células de mamíferos tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*, y a los tests de mutagenicidad en células germinales). Estas pruebas evalúan la capacidad genotóxica de las sustancias químicas, es decir, la unión de las sustancias al material genético de manera directa, por lo que las sustancias que actúan mediante mecanismos no genotóxicos no son detectadas [30]. Para los carcinógenos no genotóxicos se acepta la existencia de un nivel umbral cuando se dispone de información que indica que estos agentes a concentraciones bajas no tóxicas no presentan tumorigenicidad [66]. La diversidad de los modos de acción de las sustancias no genotóxicas, su especificidad de tejido y la ausencia de genotoxicidad confieren a la identificación y caracterización de estas sustancias una mayor dificultad. Dichos inconvenientes inherentes en la detección de las sustancias no genotóxicas han provocado la necesidad de desarrollar métodos alternativos focalizados en la variedad de los mecanismos de acción [30]:

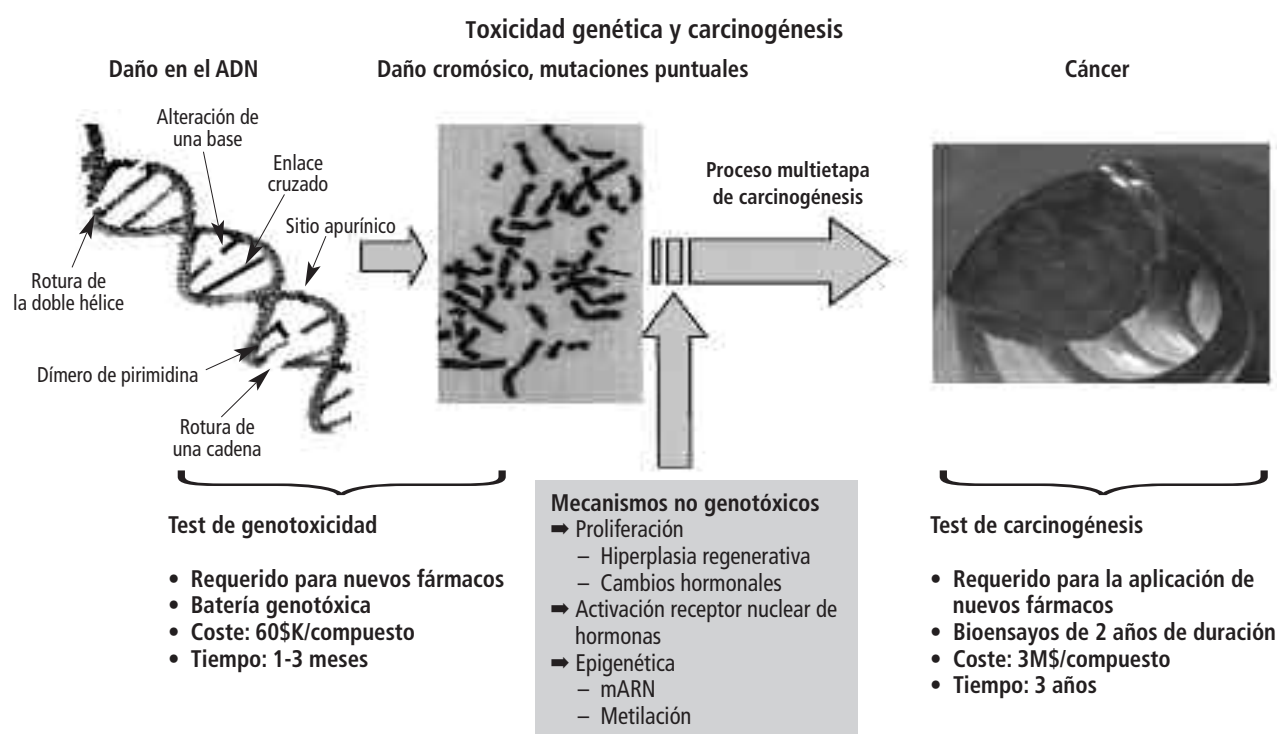
- (Q)SAR, modelos para la detección de carcinógenos NGTX utilizando diversos marcadores de toxicidad celular *in vitro* que incluyen la inhibición de las comunicaciones intercelulares, la modulación de la apoptosis y la inducción de la proliferación celular.
- Medición de la síntesis del ADN replicativa (RDS) como indicador de la proliferación celular.
- Ensayos de transformación celular *in vitro* que detectan el potencial carcinógeno de la sustancia química mediante su habilidad para causar transformaciones morfológicas.

- Medición de la inhibición de las comunicaciones intercelulares tipo Gap (*GJICs*).
- Toxicogenómica: utiliza los perfiles de expresión génica con redes mecánicas para la identificación de potenciales marcadores de carcinógenos no genotóxicos.

Debido a la relación mecánica entre el daño del material genético y el cáncer, y a las limitaciones prácticas de los ensayos de carcinogénesis en condiciones *in vivo*, los resultados de ensayos genotóxicos se han utilizado como sustitutos de los datos carcinogénicos. A pesar de que la asociación entre el daño genético y los procesos carcinógenos está ampliamente documentada, las limitaciones de los tests son numerosas; entre ellas destaca el impreciso potencial que tienen estos tests de genotoxicidad para predecir un resultado carcinogénico. Esto se debe a las limitaciones inherentes en los ensayos de genotoxicidad, a la incertidumbre de los ensayos *in vitro* para vaticinar la situación de los órganos diana *in vivo* y a la propia complejidad de los mecanismos de carcinogénesis [69] (figura 12).

FIGURA 12

Tests de genotoxicidad y carcinogénesis. Los tests de genotoxicidad estándar permiten detectar de manera precisa el daño genético causado por la acción de los agentes testados. Por otro lado, los tests sobre carcinogénesis permiten evaluar el potencial de estos agentes de inducir tumores en animales



Fuente: Ellinger-Ziegelbauer y cols. (2009) [69].

Actualmente, de los resultados de estudios de colaboración internacional y de las amplias bases de datos disponibles para la realización de ensayos de toxicidad se deduce que ningún ensayo de toxicología genética simple es capaz por sí solo de detectar todas las sustancias genotóxicas existentes. Esto no es sorprendente, ya que sabemos que un amplio abanico de eventos genéticos puede ocurrir. Por ejemplo, algunos mutágenos inducen mutaciones a nivel de genes mediante sustituciones de pares de bases o mutaciones de cambio de un nucleótido, mientras que otros agentes inducen mutaciones a nivel cromosómico, y, sin embargo, no muestran evidencia de provocar mutaciones en un gen [67].



Poblaciones susceptibles

La identificación de subgrupos de población más susceptibles a los efectos tóxicos de las exposiciones laborales a veces tiene fundamentos científicos y aplicaciones reales. Sin embargo, también puede tener inconvenientes éticos, y a menudo no es factible [39, 70]. La estimación del riesgo de los cancerígenos no requiere considerar la existencia de poblaciones susceptibles; puede plantearse y efectuarse perfectamente en el conjunto de una población laboral, e incluso en el conjunto de la población general. Que existan variaciones en la toxicocinética de los agentes químicos en grupos específicos de población no es razón suficiente, ni científica ni práctica, para que los esfuerzos de prevención se centren en hipotéticos grupos más susceptibles [66]. Los parámetros que afectan la susceptibilidad incluyen variaciones genéticas, ventanas de susceptibilidad a los efectos de dichos agentes y enfermedades que predisponen a una mayor susceptibilidad (por ej., algunas enfermedades pueden afectar la expresión de enzimas involucradas en el metabolismo de agentes genotóxicos). No obstante, el conocimiento actual es todavía muy limitado respecto a los polimorfismos en los genes implicados en la metabolización de las mezclas de sustancias cancerígenas más comunes. Dado que la mayoría de los cancerígenos genotóxicos necesitan activación metabólica para producir sustancias electrofílicas que puedan interactuar con el material genético, las diferencias en la capacidad de biotransformación de las enzimas y los procesos metabólicos dosis-respuesta tienen teóricamente una influencia notable en las concentraciones de sustancias intermedias reactivas formadas por cancerígenos. Aún así, la mayoría de estos polimorfismos no han sido relacionados de forma suficientemente consistente con un defecto funcional o clínico específico, como un incremento de las tasas de cáncer [74, 75].

En 2005, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció que no era necesario establecer factores de incertidumbre extra para proteger a las poblaciones más sensibles [76]. En su lugar, las poblaciones potencialmente susceptibles debían ser consideradas de manera separada. En 2006, la OMS concluyó que las variantes o polimorfismos en los genes relacionados con la metabolización de los xenobióticos deberían tenerse en cuenta cuando el factor de incertidumbre establecido por defecto no cubriese la variabilidad en la susceptibilidad interindividual, y por tanto debería ser modificado apropiadamente [77].

3.3.2. Caracterización de la relación dosis-respuesta

La existencia de algún tipo de relación (lineal o no) entre la exposición o dosis y el efecto o respuesta es un criterio de causalidad clásico; cuando hay una relación dosis-respuesta solemos considerar que es más probable que haya una relación causal entre la exposición y el efecto, pero hay que matizar que dicha relación no es un criterio ni necesario ni suficiente para concluir que hay una relación causal [2,4].

La caracterización de la relación dosis-respuesta pretende integrar buena parte de la información toxicológica, física y química disponible sobre un compuesto con el fin de determinar su posible potencial carcinogénico en humanos, así como la curva dosis-respuesta del efecto cancerígeno en base al peso de la evidencia existente. La caracterización de la curva dosis-respuesta es utilizada igualmente para investigar el modo de acción de los agentes químicos [78].

Para las sustancias cancerígenas genotóxicas, la caracterización de la relación dosis-respuesta se basa en los resultados de los ensayos sobre carcinogénesis en animales. La extrapolación de estos resultados a las condiciones de exposición que se dan en los seres humanos implica la integración de la información toxicocinética y toxicodinámica, así como la comprensión del modo de acción de la genotoxicidad, la influencia de procesos no genotóxicos y la consideración de potenciales subpoblaciones con especial susceptibilidad. La extrapolación a humanos de los resultados obtenidos en experimentación animal conlleva enormes dificultades. En el documento *Principles for modelling dose-response for the risk assessment of Chemicals*, de la OMS, se subraya que en los últimos años se han desarrollado una variedad de metodologías para la extrapolación de los efectos adversos en humanos procedentes de datos de experimentación animal, incluyendo la caracterización basada en niveles por debajo de los cuales no se observan efectos adversos (NOAEL), ya enunciada anteriormente en este documento, y la dosis diaria



aceptable (*acceptable daily intake*, ADI), así como otros métodos de extrapolación que mejoran las dificultades inherentes en la extrapolación a bajas dosis. Los diferentes métodos de modelización de la relación dosis-respuesta tienen en cuenta la información completa de la curva dosis-respuesta, mientras que el enfoque NOAEL identifica una dosis única por debajo de la cual no se producen efectos adversos. Una limitación en el uso de valores NOEL en la caracterización de esta relación consiste en que no es posible cuantificar el grado de variabilidad e incertidumbre presente. Otra limitación asociada a esta metodología es la incorporación de información biológica a través de la aplicación de la opinión de expertos, suponiendo por ello la introducción de subjetividad en la caracterización de la relación dosis-respuesta. Otras metodologías pueden facilitar el análisis de sensibilidad e incertidumbre. Por el contrario, un modelo dosis-respuesta puede optimizar el diseño del estudio y clarificar la necesidad de estudios adicionales. Los modelos dosis-respuesta aportan un análisis más científico en términos de inclusión de datos cuantitativos (factores, covariables, etc.) en los modelos [78].

Existen diferencias interespecíficas inherentes en cuanto a la fisiología, absorción, distribución, metabolismo y excreción de los agentes químicos. Estudios sobre metabolismo demuestran que en la metabolización de ciertos agentes químicos el organismo humano genera metabolitos específicos que no se observan en modelos celulares ni animales realizados en el laboratorio. En este caso, el agente químico no estaría siendo adecuadamente evaluado respecto al riesgo humano existente. Por lo tanto, si dicho metabolito concreto se encontrara en niveles importantes en el organismo humano, precisaría de tests adicionales propios para este metabolito (o del sistema productor) con el fin de evaluar correctamente el potencial del químico para generar efectos genotóxicos en los seres humanos [68].

Ejemplo 2: Arsénico

La exposición a arsénico (As) en humanos se da principalmente vía aire, agua y alimentos, teniendo dicha exposición un origen tanto natural como antropogénico. La evidencia epidemiológica indica una asociación entre arsénico y cáncer de piel, pulmón y vejiga en humanos. El arsénico inorgánico por sí solo se observó que no causaba tumores en animales, excepto en un modelo de ratón transplacentar, y tampoco causaba cáncer de piel. Esto sugiere que el arsénico inorgánico puede no ser completamente carcinógeno o un genotóxico carcinógeno. El arsénico actúa sinérgicamente con otros contaminantes ambientales, incluyendo el humo del tabaco y las radiaciones ultravioletas, lo que podría explicar su asociación con el cáncer de piel, pulmón y vejiga.

46

Asimismo, otra limitación en la extrapolación de los resultados de estudios *in vivo* proviene de la aplicación de dosis muy elevadas en las pruebas en animales para compensar el reducido número de animales que pueden utilizarse por grupo. A partir de esos estudios, es difícil predecir efectos carcinogénicos en la población humana, que tiene una fisiología diferente, susceptibilidades genéticas diferentes y se encuentra habitualmente expuesta a dosis mucho menores [68].

Uno de los parámetros utilizado en el REACH en la estimación del riesgo y en el establecimiento de la relación dosis-respuesta es el DNEL. El nivel determinado sin efecto (DNEL) se define en el anexo 1 del REACH como aquel nivel de exposición que no debe ser superado por los seres humanos. el REACH requiere a los fabricantes y a los importadores de sustancias químicas que calculen DNELs como parte de la «Evaluación de Seguridad de las Sustancias Químicas» (CSA, Chemical Safety Assessment) para cualquier producto químico usado en cantidades iguales o superiores a 10 toneladas por año. El DNEL se utiliza en la caracterización del riesgo del CSA, como valor de referencia para establecer el control adecuado en los diferentes escenarios de exposición.

Si los niveles de exposición estimados no exceden el DNEL apropiado, el riesgo en los seres humanos puede considerarse adecuadamente controlado. En el REACH se especifica que los DNELs deben reflejar las vías, la duración y la frecuencia probables de la exposición. Si es probable que ocurra más de una vía de exposición (oral, dérmica o inhalatoria), se debe establecer un DNEL para cada vía de exposición y para la exposición combinada de todas ellas. Puede también ser necesario identificar diversos DNELs para diferentes grupos poblacionales relevantes (ej. trabajadores, consumidores y seres humanos expuestos ambientalmente) y posiblemente para ciertas subpoblaciones más vulnerables (ej. niños, mujeres embarazadas).



Los DNELs incorporan la incertidumbre que se desprende de la variabilidad en los datos experimentales, la variación intra e interespecies, la naturaleza y severidad del efecto y la sensibilidad de la población y subpoblación humana a la cual aplica la información cuantitativa y/o cualitativa de la exposición. El valor resultante puede considerarse como un NOAEL para una sustancia química, basado en la integración de toda la información relevante disponible sobre los efectos adversos para la salud humana.

Los valores DNELs son más restrictivos que los límites de exposición ocupacional convencionales (OELs). El cálculo de los DNELs sigue un enfoque basado en la aplicación de una serie de factores estandarizados de incertidumbre con el fin de considerar las diferencias intra e interespecies. Esto da lugar a un valor muy conservador, de uno o dos órdenes de magnitud inferiores a los obtenidos en el proceso tradicional de ajuste de los OELs. Este margen de seguridad adicional asociado a la derivación de los DNELs es acogido favorablemente desde un punto de vista de protección de la salud, pero plantea dudas en cuanto a su factibilidad, es decir, a la aplicación práctica real de los DNELs [79].

Procedimientos de caracterización del riesgo

A continuación describiremos diferentes procedimientos usados para la caracterización del riesgo de las sustancias químicas en humanos, cuya elección como método para establecer valores límite depende de la información disponible sobre estas sustancias:

Extrapolación lineal

Se han desarrollado modelos matemáticos para la extrapolación de los resultados de dosis elevadas en estudios animales a bajas dosis de exposición humana. Tres métodos diferentes de extrapolación han sido utilizados por las autoridades reguladoras de Europa y EEUU, siendo el descriptor de dosis T25 el método utilizado en Europa. El T25 se determina mediante una extrapolación lineal partiendo de dosis bajas que proporcionan un aumento de los procesos de tumorigénesis estadísticamente significativo. Posteriormente se calcula el equivalente humano al descriptor de dosis animal, dividiéndolo por un factor de estimación para las diferencias en la tasa metabólica. Se emplea, asimismo, un factor de corrección para las dosis de exposición crónicas para los trabajadores expuestos 8 h/día, 5 días/semana durante 40 años de su vida laboral, ya que se dispone de datos de estudios de toxicidad a corto plazo para un amplio número de sustancias químicas, pero los datos de estudios toxicológicos a largo plazo son escasos [66].

El uso de factores de estimación para evaluar la duración de la exposición está basado en la asunción de que los efectos observados en exposiciones subagudas o subcrónicas son probablemente los mismos que se observan a dosis bajas tras exposiciones crónicas [80]. Esta asunción puede no cumplirse en algunos o en numerosos casos.

Se usan factores de estimación para conocer los efectos que producirán estas sustancias en la población humana y paliar las diferencias procedentes de los estudios en animales, tales como diferencias interespecíficas, diferencias entre la población media y las subpoblaciones más sensibles, diferencias en la duración de la exposición, y diferencias entre las vías de exposición experimentales y las esperadas. La mayoría de las extrapolaciones incluyen dos o más factores de estimación al mismo tiempo, los cuales se multiplican. Sin embargo, a pesar de que el grado de protección de cada factor de estimación de manera individual sea conocido, el resultado obtenido mediante la multiplicación de ambos factores no es realmente calculable a partir de esta información. Se utiliza un factor de estimación de 10 para la corrección de la variabilidad intrahumana, el cual protege al 80-95% de la población humana, aunque no resulta suficiente para amparar a grupos vulnerables de la población como son los niños o las personas mayores [80].

Esta metodología de extrapolación lineal se utiliza cuando no existe suficiente información sobre el modo de acción o cuando las evidencias disponibles indican que la curva dosis-respuesta a dosis bajas es o se espera que sea lineal [66].



Margen de exposición (MOE, Margin of exposure)

El MOE representa el ratio entre la dosis descrita para la formación de tumores en animales o en humanos y la exposición en humanos medida o estimada. La aplicación de un enfoque MOE requiere información fiable sobre carcinogénesis en animales de experimentación o estudios epidemiológicos fiables, así como una buena estimación de la exposición. Por otro lado, esta metodología precisa de un ajuste al tipo de punto de partida, ya que este punto representa dosis que inducen diferentes incidencias tumorales y, por lo tanto, están influyendo las conclusiones sobre el riesgo.

ALARA

El principio ALARA no es una metodología de estimación del riesgo *per se*, es una herramienta de gestión del riesgo que debe ser entendida en el contexto de la caracterización del riesgo. Es utilizada regularmente por grupos asesores o por organismos reguladores y su aplicación pretende mantener la exposición a sustancias carcinógenas al mínimo nivel posible, generalmente limitado por limitaciones técnicas o consideraciones económicas [66].

Umbral de preocupación toxicológica (TTC)

El principio TTC se aplica en aquellos compuestos de toxicidad desconocida. En base a la estructura química de un compuesto se establece un valor umbral de exposición humana diaria. Este método ha sido criticado por ser demasiado conservador cuando se ha aplicado, por ejemplo, en el conjunto de sustancias consideradas impurezas en los medicamentos, ya que el uso de un valor numérico infiere un nivel de precisión que no puede ser garantizado [81].

(Q)SAR para la estimación de agentes genotóxicos y carcinógenos

Dado que los bioensayos sobre carcinogénesis en roedores son largos, costosos y requieren el uso de muchos animales, la carcinogénesis química ha sido blanco de numerosas tentativas de crear modelos predictivos *in silico* (enteramente computacionales). Existe un gran número de programas informáticos disponibles sobre carcinogénesis y genotoxicidad de sustancias químicas basados en estos modelos predictivos. En estudios comparativos sobre la habilidad predictiva de los (Q)SAR test y de los tests genotóxicos en animales (mutación inversa en bacterias, aberración cromosómica) se ha observado que estos programas presentan una mayor efectividad en la predicción de la carcinogénesis, ya que estos programas SAR también detectan a los carcinógenos no genotóxicos [66].

Presentan limitaciones en su capacidad predictiva para todas aquellas sustancias que presentan una estructura no definida en el software, como por ejemplo: compuestos inorgánicos, organometales, mezclas y compuestos con base siliconada, no pueden obtener una predicción significativa mediante estos programas.

3.3.3. Estimación de la exposición

La cuantificación de la exposición, tanto en individuos como en poblaciones, es un prerequisite para la cuantificación del riesgo. Las dimensiones de la exposición incluyen factores como la intensidad, frecuencia, ruta y duración de la exposición. La estimación de la exposición humana a un determinado xenobiótico implica una estimación inicial de las posibles fuentes de exposición. Para tal estimación los inventarios de fuentes de exposición aportan información básica sobre vías de exposición (inhalación, ingestión, absorción), poblaciones particularmente a riesgo y niveles de exposición. En muchos casos la duración y el nivel de exposición, especialmente después de un contacto crónico, pueden ser estimados únicamente por los niveles ambientales de dicho xenobiótico y las estimaciones serán menos aproximadas. Si el número de población potencialmente expuesta es grande, en algunos casos la información sobre exposición incluye la determinación de la dosis interna [66, 82-78].

En estos últimos años ha aumentado considerablemente el reconocimiento y la importancia de la estimación de la exposición, provocando un rápido desarrollo de metodologías (analíticas, de medición y estadísticas) para la estimación de los niveles de exposición, su variabilidad y sus determinantes [83].

Los procedimientos específicos que permiten estimar la exposición externa incluyen medidas directas del agente químico en muestras ambientales como agua, aire o suelo. En cambio, la exposición interna o dosis interna se



estima mediante la medición del agente, de sus productos de interacción o metabolitos, o de sus productos de biotransformación con macromoléculas celulares (proteínas y ADN) [66]. La epidemiología molecular del cáncer proporciona el uso de biomarcadores como instrumento de mejora y perfeccionamiento para la estimación de la exposición. Entre las ventajas potenciales del uso de biomarcadores de exposición destacamos las siguientes: suponen una medida más objetiva de la exposición individual y una medida relevante sobre los sucesos de, o relacionados con, la vía causal; proporcionan información importante respecto a la plausibilidad biológica de la asociación exposición-enfermedad, y son capaces de detectar niveles bajos de exposición utilizando técnicas sensibles de laboratorio [88]. El uso de biomarcadores en epidemiología del cáncer se ha basado principalmente en el estudio de sustancias químicas que dañan de forma directa el ADN, por lo que los biomarcadores de efectos genotóxicos incluyen: aductos con el ADN, marcadores de estrés oxidativo del ADN, aberraciones y otras alteraciones cromosómicas, intercambio de segmentos entre cromátidas hermanas de un cromosoma o incrementos en la frecuencia de formación de micronúcleos [66]. La aplicación de nuevas tecnologías como la transcryptogenómica, la proteómica y la metabolómica en la investigación del cáncer puede contribuir al desarrollo de una nueva generación de biomarcadores de exposición a sustancias con mecanismos indirectos de carcinogénesis [88].

Ejemplo 3: Fenantreno

El fenantreno pertenece a los hidrocarburos policíclicos aromáticos (PAHs), productos derivados de una combustión incompleta, los cuales son carcinógenos en humanos correctamente clasificados. Estos hidrocarburos poseen un rol importante en la etiología del cáncer de pulmón en fumadores y en trabajadores de ciertas ocupaciones. Se han descrito diferencias humanas interindividuales en la metabolización de los PAH, se ha teorizado que aquellos cuyo metabolismo se activa en mayor medida poseen un mayor riesgo de desarrollo del cáncer. Existen métodos específicos y sensibles para la detección de productos activos del metabolismo (biomarcadores) del fenantreno en la orina, se ha propuesto que la ratio de dichos metabolitos pueda predecir el riesgo cancerígeno de la exposición a PAHs [83].

3.3.4. Estimación del riesgo

La estimación del riesgo comprende toda la información disponible sobre el modo de acción, incluyendo efectos genotóxicos y efectos no genotóxicos, identificación de los niveles de no observación de aquellos efectos adversos más sensibles (NOAEL) y escenarios de exposición humana.

Mezclas

Kortenkamp introduce que los efectos en salud de las mezclas son, de manera general, ignorados en la estimación del riesgo de las sustancias químicas y que en general se asume la estimación del riesgo del componente más tóxico de todos los componentes de dicha mezcla. Por mezclas entendemos aquellas sustancias que son mezclas por sí solas (por ejemplo: UVCBs), productos que contienen más de una sustancia química (ej.: comida), los químicos emitidos conjuntamente y aquellos químicos que se dan a la vez en la comida, en el ambiente o en los tejidos biológicos. Kortenkamp expone que la práctica actual relativa a la estimación individual del riesgo aplicado en mezclas se justifica en caso de tratarse de una mezcla siempre que únicamente un químico sea tóxico y el resto inerte [89]. También estaría justificada dicha práctica si el efecto conjunto en salud de dicha mezcla fuera menor que el efecto del componente más tóxico de la mezcla. En este caso, las exposiciones a/por debajo de una concentración a la cual no se prevén efectos (PNEC) puede considerarse segura.

Del artículo de Silva et al. se desprende que, aunque las mezclas sean de químicos estructuralmente similares o con efectos en salud similares, es necesaria una consideración especial en la estimación del riesgo. Se observa que existe un efecto aditivo en el riesgo resultante y que las mezclas de múltiples compuestos de xenoestrógenos producirían efectos significativos cuando cada uno de estos compuestos se combina a una concentración inferior a su nivel de no observación de efectos adversos (NOAEL) [90].



En algunos casos, la exposición química a mezclas necesita de una estimación del riesgo específica para cada uno de los componentes químicos de esa multiexposición. Rajapak muestra un ejemplo de la relación dosis-respuesta para seis químicos con actividad estrogénica y estructura química similar y utiliza un modelo aditivo de concentración para calcular la predicción de su efecto conjunto [91]. En dicho estudio se observa que el efecto combinado de la mezcla de sustancias no cumple la expectativa de efecto aditivo y que presenta un ligero efecto antagónico.

A nivel europeo (Directiva 98/24/CE), en la estimación del riesgo de una mezcla se considera que cada uno de los componentes de dicha mezcla aporta un incremento de riesgo en base a un principio de adición. En el Real Decreto 374/2001 [10] se establece que los VLA para mezclas de químicos se establecen asumiendo por defecto el efecto aditivo de dichos componentes, a falta de información que indique efectos sinérgicos o independientes.

Dicho todo esto, es evidente que la estimación del riesgo es una tarea sumamente compleja y que en casos específicos puede no captar la totalidad del riesgo al que un sujeto se expone, ya que la mezcla química puede darse por la presencia de varias sustancias específicas en el ambiente de trabajo, en el entorno, por emisión conjunta de éstas o por el efecto aditivo, sinérgico o antagónico de dichas sustancias una vez se encuentran simultáneamente en un tejido biológico.

Esta complejidad para caracterizar el riesgo se incrementa aún más si consideramos las limitaciones comentadas sobre la identificación del riesgo, la caracterización de la relación dosis-respuesta y la estimación de la exposición.

3.4. Valores límite de exposición profesional a agentes cancerígenos y mutágenos. Razones y limitaciones

Parece lógico y probable que muchos valores límite se hayan establecido en buena medida atendiendo tanto a razones biológicas, físicas y médicas como a razones de factibilidad y de interés económico empresarial. No obstante, es evidente que existe una fuerte necesidad de encontrar otras fórmulas para superar las limitaciones científicas y prácticas de los valores límite –podríamos decir que para superar «los límites de los límites».

A continuación sintetizaremos las principales limitaciones de la determinación y la adopción de los VL para cancerígenos y mutágenos que hemos ido identificando y tratando a lo largo del presente documento.

El propio INSHT expone un principio básico respecto a la naturaleza de los valores límite: «Los límites de exposición no constituyen en absoluto una línea divisoria entre concentraciones inocuas y concentraciones dañinas. No obstante, se admite la existencia de una relación “intensidad de exposición - probabilidad del efecto” que permite deducir –o esperar– que cuanto más baja sea la exposición a estos agentes menor será el riesgo» [17]. Coincidimos en que los límites de exposición no constituyen una línea divisoria «absoluta» entre concentraciones inocuas y concentraciones dañinas: en ciencia nada es absoluto, ninguna barrera o límite o valor es absoluto, y menos todavía cuando analizamos procesos biológicos que afectan a la salud humana. No obstante, cuando el INSHT admite –o espera– la existencia de una relación «intensidad de exposición - probabilidad del efecto» a lo que también alude es a la inevitabilidad o conveniencia de establecer límites prácticos en la regulación de actividades humanas. Naturalmente, al establecer tal tipo de límites es inexcusable integrar con el máximo rigor los conocimientos científicos disponibles sobre los procesos biológicos que afectan a la salud humana; pero es inevitable que en el proceso de establecimiento de los límites intervengan factores no científicos.

Base documental pobre

Existe una patente falta de actualización de la documentación toxicológica en la que el INSHT se basa para el establecimiento de VL. Asimismo, en la documentación que el INSHT cita al establecer los VL se aprecia una ausencia generalizada de estudios epidemiológicos que aporten información sobre la exposición humana a estas sustancias. El propio INSHT subraya que no se han realizado estudios de carcinogénesis apropiados para todas las posibles vías de exposición a dichos agentes químicos, por ello consideramos que la interpretación de la información disponible en estos casos debe ser prudente [20].



Efecto combinado de las mezclas

Los VLA se establecen para agentes químicos específicos y no para las mezclas de éstos. Sin embargo, cuando están presentes en el ambiente varios agentes que ejercen la misma acción sobre los mismos órganos o sistemas su efecto combinado es el que requiere una consideración preferente. Desafortunadamente, tal y como actualmente se realiza, los procesos de decisión sobre los VL no tienen en consideración el efecto combinado de varios agentes químicos y, por tanto, la estimación del riesgo puede no captar la totalidad del riesgo al que un sujeto se expone. Asimismo, la asunción de un modelo aditivo por defecto en la estimación del riesgo de una mezcla de sustancias químicas puede llevar a una estimación errónea de dicho riesgo, dado que ciertas combinaciones de sustancias han mostrado una desviación de dicho modelo aditivo. De la misma forma, la estimación del riesgo asociado a una mezcla de sustancias presenta una elevada complejidad y limitada fiabilidad científica dada la cantidad de sustancias presentes en el ambiente y en el ambiente laboral. Los VL se establecen sin tener en cuenta las potenciales interacciones entre cada uno de los agentes químicos específicos presentes en el entorno, sea laboral o ambiental, que pueden darse antes de ser incorporados en el organismo o una vez en el propio tejido biológico [89-91].

Escasez de estudios toxicológicos y epidemiológicos en humanos

A nivel internacional, uno de los principales problemas a la hora de establecer valores límite es la escasez de estudios toxicológicos y epidemiológicos en poblaciones humanas que proporcionen una base científica sólida en la que basar los límites de exposición ocupacional. Debido a ello, la determinación de los valores límite para las sustancias cancerígenas y mutágenas recae principalmente en estudios *in vitro* e *in vivo* en animales de experimentación. Dado que los estudios *in vivo* tienen importantes limitaciones para estudiar genotoxicidad y carcinogénesis en las personas, es importante desarrollar más investigación sobre carcinogénesis en seres humanos [69].

En Europa, la entrada en vigor del REACH ha provocado una disminución importante del número de bioensayos. Debido a ello, los conocimientos sobre el potencial carcinogénico de los agentes químicos se basa, en su mayoría, en pruebas que evalúan la unión de las sustancias al material genético de forma directa, por lo que las sustancias que actúan mediante mecanismos no genotóxicos no son detectadas [30].

Diferentes modos de acción

La gran diversidad de los modos de acción de los carcinógenos no genotóxicos, mediante los cuales pueden desencadenar el proceso tumorigénico (como promotores tumorales, disruptores endocrinos, mediadores de receptores, inmunosupresores e inductores de toxicidad y de respuestas inflamatorias), y el hecho de que una misma sustancia pueda actuar por más de un mecanismo, su especificidad de tejido y la ausencia de unión directa con el material genético otorgan a la identificación y caracterización de estas sustancias una mayor dificultad.

Dificultades de las extrapolaciones

Existen dificultades inherentes en la extrapolación de los resultados provenientes de la experimentación animal para estimar la exposición humana a las sustancias químicas en estudio, ya que existen diferencias metabólicas específicas entre los modelos animales realizados en el laboratorio y el metabolismo humano [68]. Otra causa asociada a la extrapolación de los resultados de estudios *in vivo* es la utilización de dosis realmente elevadas en las pruebas realizadas en animales para compensar el reducido número que pueden utilizarse por grupo. De los resultados de estos estudios es muy complicado predecir efectos carcinogénicos en la población humana, ya que poseen una fisiología y susceptibilidades genéticas diferentes y habitualmente está expuesta a dosis mucho menores [39,72]. Asimismo el conocimiento actual es todavía muy limitado respecto a los polimorfismos genéticos implicados en la metabolización de las mezclas de carcinógenos más comunes.

Limitaciones de los NOAEL

Encontramos también limitaciones en la caracterización basada en niveles por debajo de los cuales no se observan efectos adversos (NOAEL), ya que no es posible cuantificar el grado de variabilidad e incertidumbre presente. Otro problema asociado a esta metodología es la incorporación de información biológica a través de la aplicación de la opinión de expertos, lo que supone la introducción de subjetividad en la caracterización. Por el contrario, un



modelo dosis-respuesta puede optimizar el diseño del estudio y clarificar la necesidad de estudios adicionales. Los modelos dosis-respuesta aportan un análisis más científico en términos de inclusión de datos cuantitativos (factores, covariables, etc.) en los modelos [77].

Perspectivas de futuro

La epidemiología molecular del cáncer proporciona el uso de biomarcadores como instrumento de mejoría y perfeccionamiento para la estimación de la exposición a agentes cancerígenos y mutágenos. El uso de biomarcadores de exposición posee ventajas tales como: son una medida más objetiva de la exposición individual, proporcionan información respecto a la plausibilidad biológica de la asociación exposición-enfermedad, y son capaces de detectar niveles bajos de exposición utilizando técnicas sensibles de laboratorio [83]. La aplicación de nuevas tecnologías como la transcriptómica, la proteómica y la metabolómica en la investigación del cáncer pueden contribuir al desarrollo de una nueva generación de biomarcadores de exposición a sustancias con mecanismos indirectos de carcinogénesis [83].



4. SUSTANCIAS TÓXICAS PARA LA SALUD REPRODUCTIVA

4.1. Clasificación según su mecanismo y modo de actuación

Se consideran como tóxicas para la reproducción aquellas sustancias o agentes que afectan a la salud reproductiva de la mujer o del hombre o alteran la capacidad de las parejas para tener descendencia sana. Según la normativa de clasificación de sustancias [21], la toxicidad para la reproducción incluye los efectos adversos sobre la función sexual y la fertilidad de hombres y mujeres adultos, y los efectos adversos sobre el desarrollo de los descendientes. Por lo que se refiere a los agentes químicos, se acepta que un tóxico químico para la reproducción (reprotóxico) es aquel producto que por inhalación, ingestión o penetración cutánea puede producir efectos negativos en la descendencia, o aumentar la frecuencia de éstos, o afectar de forma negativa a la función o a la capacidad reproductora [92].

En el proceso de reproducción humana intervienen diversos mecanismos biológicos, cuya alteración puede venir determinada por exposiciones paternas o maternas antes o después de la concepción, y pueden manifestarse en una amplia gama de efectos. Con frecuencia un mismo agente puede producir interferencias a diferentes niveles, que van a manifestarse también en diferentes tipos de alteraciones.

Las alteraciones en la reproducción hacen referencia a dos tipos de efectos:

1. Efectos sobre la fertilidad al actuar sobre el sistema endocrino, los órganos sexuales y los órganos reproductivos de hombres y mujeres. Puede ocurrir como resultado de la exposición a determinados agentes o factores en cualquier momento de la vida de la persona. En esta categoría se incluyen alteraciones de la libido, de la función endocrina, trastornos de la erección, la espermatogénesis y la ovulación, infertilidad y una alteración de la duración de la vida reproductiva (inicio de la pubertad, menarquia y menopausia), espermatogénesis, infertilidad y duración de la vida reproductiva (inicio de la pubertad o de la menopausia).

2. Los efectos adversos sobre el desarrollo de la descendencia. Estos efectos pueden aparecer durante el proceso de gestación o después del nacimiento y son el resultado de la exposición materna o paterna antes de la concepción, durante el desarrollo embrionario y durante el periodo de lactancia. Incluyen los efectos embriotóxicos o fetotóxicos como abortos espontáneos, defectos congénitos, retraso del crecimiento intrauterino, parto pretérmino, bajo peso al nacimiento, alteraciones en el desarrollo psicomotriz infantil, cáncer infantil y mortalidad perinatal [93].

En relación a su mecanismo de acción los reprotóxicos se pueden diferenciar en:

- **Tóxicos para el desarrollo**, aquellos capaces de afectar a la descendencia desde el momento de la concepción y que se transmiten al embrión por vía transplacentaria.
- **Tóxicos para la fertilidad**, que en exposiciones previas a la concepción pueden alterar la fertilidad masculina y femenina.

En ambos casos se trata de efectos no hereditarios.

Mutágenos

Por otra parte, las sustancias mutágenas pueden afectar también a la reproducción actuando sobre los gametos paternos o maternos y de este modo alterando el material genético, pudiendo ser transmitida a la descendencia. Esta alteración puede manifestarse en forma de infertilidad, abortos o malformaciones congénitas, entre otros efectos. También las sustancias mutágenas pueden actuar directamente sobre las células somáticas del embrión y ser origen de diversos trastornos, entre los que se encuentran las neoplasias y la teratogénesis [94, 95].

Los efectos sobre la reproducción dependerán del momento de la absorción del tóxico; así, durante el periodo preconcepcional puede afectar a los gametos y dificultar la gametogénesis y la maduración de los gametos origi-



nando infertilidad. Durante el periodo concepcional puede interferir en la fertilización y, por último, durante el periodo posconcepcional puede dificultar la implantación del cigoto (primeros 20 días de gestación) interrumpiendo la gestación. Los cuatro primeros meses puede alterar la organogénesis y posteriormente interferir en la maduración y crecimiento del feto.

Cancerígenos

Otras sustancias que pueden afectar a la salud reproductiva son las cancerígenas, debido a su capacidad para inducir daños a nivel genético, pueden afectar a la reproducción en forma de mutaciones de los gametos masculinos y femeninos por exposiciones antes de la concepción, de mutaciones que ocurren inmediatamente después de la concepción, o por exposición transplacentaria [96, 97]. Son escasos los estudios que se hayan centrado en los posibles mecanismos de estos efectos. En la práctica, las sustancias mutágenas en un 85% son también cancerígenas.

Disruptores endocrinos

En el proceso de reproducción humana, diferentes hormonas del sistema endocrino regulan de forma fundamental las diferentes etapas del ciclo reproductivo. Los disruptores endocrinos son sustancias químicas exógenas al organismo animal o humano, presentes en el ambiente, y también en muchos procesos de trabajo, que tienen actividad hormonal o antihormonal y que, actuando como agonistas o antagonistas hormonales, pueden alterar la homeostasis del sistema endocrino [98]. Las exposiciones a disruptores endocrinos durante los periodos críticos de desarrollo pueden constituir los orígenes para el desarrollo de futuras enfermedades en la vida adulta y a través de exposiciones paternas o maternas a estas sustancias pueden afectar a la descendencia a través de modificaciones epigenéticas [99, 100].

Neurotóxicos

La exposición de madres embarazadas a sustancias químicas neurotóxicas durante las ventanas de vulnerabilidad en periodos críticos de la organogénesis e histogénesis del cerebro puede producir en el embrión una alteración de la función cerebral de por vida o que aparezca en su etapa adulta. Las sustancias neurotóxicas interfieren directa o indirectamente en los procesos del neurodesarrollo: directamente aceleran o retardan los procesos y alteran la formación de mielina, potenciándose con las deficiencias nutricionales en el periodo del desarrollo y el lugar del cerebro donde se estén produciendo los procesos. En este sentido hay que tener en cuenta que existen periodos precoces de vulnerabilidad donde la exposición puede tener impacto sobre la función cerebral de por vida. De la exposición al mismo agente tóxico pueden resultar efectos diferentes sobre el aprendizaje y la conducta; esto depende de la acción indirecta sobre la función placentaria y de si los agentes tóxicos, por ejemplo, actúan como disruptores endocrinos y alteran la acción o metabolismo de las hormonas. La placenta proporciona protección frente a diferentes sustancias químicas, pero muchas de ellas, como los plaguicidas o metales, pueden atravesarla y acumularse en el sistema nervioso fetal, algunas veces a concentraciones más altas que en el propio organismo materno [101].

Diversas instituciones nacionales e internacionales publican listados con sustancias con efectos sobre la función reproductora. Entre ellas destacan:

RISCTOX. Realizada en España, se trata de una base de datos sobre sustancias peligrosas y ofrece información sobre los riesgos para la salud y el medio ambiente de las sustancias químicas que pueden estar presentes en los productos en el medio laboral. Se han encontrado 846 registros de tóxicos para la reproducción. Disponible en: <http://www.istas.net/risctox/index.asp>.

CERHR Chemicals. Base de datos del Centro para la Evaluación de Riesgos a la Reproducción Humana (CERHR) fue establecido en 1998 por el Programa Nacional de Toxicología (NTP) y el Instituto Nacional de Ciencias de la Salud Ambiental (NIEHS) de los Estados Unidos. Facilita información sobre el riesgo potencial que los agentes químicos puedan presentar a la reproducción o al desarrollo humano. Posee información



tanto de sustancias que ya han sido evaluadas como de aquellas que están en proceso. Disponible en: <http://cerhr.niehs.nih.gov/chemicals/index.html>.

Produits chimiques cancérogènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction. Classification réglementaire. Este documento contiene un listado completo de sustancias CMR, tal como figuran en el anexo VI de la Directiva 67/548/CE modificada relativa a la clasificación y etiquetado de sustancias peligrosas. Es un listado exhaustivo que abarca incluso una lista completa de derivados del petróleo, así como de colorantes azoicos derivados de la toluidina y bencidina. Disponible en: [http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/IntranetObject-accesParReference/ED%20976/\\$FILE/ed976.pdf](http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/IntranetObject-accesParReference/ED%20976/$FILE/ed976.pdf).

Genetic toxicology data bank (GENE-TOX). Base de datos integrada dentro de Toxicology Data Network (TOXNET®). Creada por: Agencia de Protección Ambiental (EPA), National Institute of Environmental Health Sciences, the National Center for Toxicological Research of the Food and Drug Administration, and the National Library of Medicine de los Estados Unidos. Contiene información tóxico-genética (mutagenicidad) de más de 3.000 productos químicos. El programa GENE-TOX se estableció para seleccionar sistemas para la evaluación, de revisión de datos de la literatura científica, y recomendar protocolos de ensayo y evaluación adecuados para estos sistemas [102]. Disponible en: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?GENETOX>.

Developmental and reproductive toxicology database (DART). Del mismo grupo que la anterior, recopila información sobre aspectos de la toxicología del desarrollo y la reproducción. Contiene más de 200.000 referencias a la literatura. Disponible en: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/htmlgen?DARTETIC>

REPROTOX. Contiene información de los efectos de los productos químicos en el embarazo, la reproducción y el desarrollo. Disponible en: <http://www.reprotox.org/Default.aspx>.

Base de datos del Servicio de Pediatría del Hospital Marina Alta de Denia. Recoge información sobre la incompatibilidad de determinados productos químicos con la lactancia y además clasificados por el grado del riesgo. Dispone de una página web muy completa, en relación con el manejo e información de fármacos y sustancias ambientales. Disponible en: <http://www.e-lactancia.org/>.



4.2. Clasificación de sustancias y preparados peligrosos para la reproducción y la lactancia según la normativa europea

El Anexo X del Real Decreto 363/95 [103], sobre clasificación y etiquetados de sustancias y preparados, establece los criterios de clasificación de sustancias y preparados peligrosos para la reproducción, diferenciando tres categorías de tóxicos para la reproducción. Sin embargo, a partir del 1 de diciembre de 2010, todas las sustancias se clasifican, etiquetan y envasan según los criterios del nuevo Reglamento 1272/2008 CLP. La siguiente tabla (tabla 6) muestra los criterios de clasificación según las dos normativas y sus equivalencias:

TABLA 6

Equivalencias entre el RD 363/1995 y el Reglamento 1272/2008

RD 363/1995	Reglamento 1272/2008 CLP
Categoría 1 Sustancias de las que se sabe que perjudican la fertilidad de los seres humanos: Se dispone de pruebas suficientes para establecer una relación entre la exposición de los seres humanos a la sustancia y los problemas de fertilidad. Clasificación: T; R60: Puede perjudicar la fertilidad. Sustancias de las que se sabe producen toxicidad para el desarrollo de seres humanos: Se dispone de pruebas suficientes para establecer una relación entre la exposición de los seres humanos a la sustancia y la aparición posterior de efectos tóxicos para el desarrollo de la descendencia. Clasificación: T; R61: Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto. Categoría 2. Sustancias que deben considerarse como perjudiciales para la fertilidad de los seres humanos Se dispone de elementos suficientes para suponer firmemente que la exposición de los seres humanos a la sustancia puede producir problemas para la fertilidad, a partir de pruebas claras de estudios con animales de problemas para la fertilidad en ausencia de efectos tóxicos, o bien pruebas de problemas para la fertilidad que se presentan aproximadamente a los mismos niveles de dosis que otros efectos tóxicos, pero no pueden considerarse como consecuencia inespecífica de los otros efectos tóxicos. Clasificación: T; R60: Puede perjudicar la fertilidad. Sustancias que deben considerarse como tóxicas para el desarrollo de los seres humanos Se dispone de elementos suficientes para suponer firmemente que la exposición de seres humanos a la sustancia puede producir toxicidad para el desarrollo, generalmente a partir de resultados claros en estudios con animales adecuados en que se hayan observado efectos en ausencia de signos de toxicidad marcada para la madre, o a los mismos niveles de dosis aproximadamente que otros efectos tóxicos, pero sin que se trate de una consecuencia secundaria inespecífica de los otros efectos tóxicos. Clasificación: T; R61: Riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto.	Categoría 1A o Categoría 1B Sustancias de las que se sabe o se supone que son tóxicas para la reproducción humana Las sustancias se clasifican en la categoría 1 de toxicidad para la reproducción cuando se sabe que han producido efectos adversos sobre la función sexual y la fertilidad o sobre el desarrollo de las personas o cuando existen pruebas procedentes de estudios con animales que, apoyadas quizás por otra información suplementaria, hacen suponer de manera firme que la sustancia es capaz de interferir en la reproducción humana. La clasificación de una sustancia se diferencia más adelante, en base a que las pruebas utilizadas para la clasificación procedan principalmente de datos en humanos (categoría 1A) o de datos en animales (categoría 1B). • Categoría 1A. Sustancias de las que se sabe que son tóxicas para la reproducción humana. La clasificación de una sustancia en esta categoría 1A se basa fundamentalmente en la existencia de pruebas en humanos. • Categoría 1B. Sustancias de las que se supone que son tóxicas para la reproducción humana. La clasificación de una sustancia en esta categoría 1B se basa fundamentalmente en la existencia de datos procedentes de estudios con animales. Estos datos deberán proporcionar pruebas claras de la existencia de un efecto adverso sobre la función sexual y la fertilidad o sobre el desarrollo, en ausencia de otros efectos tóxicos, o, si no fuera así, demostrar que el efecto adverso sobre la reproducción no es una consecuencia secundaria e inespecífica de los otros efectos tóxicos. No obstante, si existe información sobre el mecanismo que ponga en duda la relevancia de los efectos para el hombre, resultará más apropiado clasificar la sustancia en la categoría 2. Indicación de peligro: H360 (Puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto).


TABLA 6 (continuación)

Equivalencias entre el RD 363/1995 y el Reglamento 1272/2008

RD 363/1995	Reglamento 1272/2008 CLP
Categoría 3 Sustancias preocupantes para la fertilidad humana Esta preocupación se basa generalmente en resultados en estudios con animales adecuados que proporcionan pruebas suficientes para suponer firmemente la presencia de problemas para la fertilidad en ausencia de efectos tóxicos, o bien pruebas de problemas para la fertilidad presentes a, aproximadamente, los mismos niveles de dosis que otros efectos tóxicos, pero sin que las pruebas sean suficientes para clasificar la sustancia en categoría 2. Clasificación: Xn; R62: Posible riesgo de perjudicar la fertilidad. Sustancias preocupantes para los seres humanos por sus posibles efectos tóxicos para el desarrollo Esta preocupación se basa generalmente en resultados de estudios con animales adecuados que proporcionan pruebas suficientes para suponer firmemente la presencia de toxicidad para el desarrollo en ausencia de signos de toxicidad marcada para la madre, o bien a, aproximadamente, los mismos niveles de dosis que otros efectos tóxicos, y sin que las pruebas sean suficientes para clasificar la sustancia en la categoría 2. Clasificación: Xn; R63: Posible riesgo durante el embarazo de efectos adversos para el feto.	Categoría 2 Sustancias de las que se sospecha que son tóxicas para la reproducción humana. Las sustancias se clasifican en la categoría 2 de toxicidad para la reproducción cuando hay pruebas en humanos o en animales, apoyadas quizás por otra información suplementaria, de la existencia de efectos adversos sobre la función sexual y la fertilidad o sobre el desarrollo, que no son lo suficientemente convincentes como para clasificar la sustancia en la categoría 1. Si las deficiencias en un estudio hacen que las pruebas se consideren menos convincentes, la categoría 2 podría ser la clasificación más apropiada. Estos efectos se habrán observado en ausencia de otros efectos tóxicos, o, si no fuera así, se considera que el efecto adverso sobre la reproducción no es una consecuencia secundaria e inespecífica de los otros efectos tóxicos. Indicación de peligro: H361 (Se sospecha que puede perjudicar a la fertilidad o dañar al feto).

Efectos sobre la lactancia o a través de ella

La normativa agrupa en una categoría única y diferente los efectos sobre la lactancia o a través de ella. Se reconoce que no existe información sobre los efectos adversos que, a través de la lactancia, muchas sustancias pueden originar en los descendientes. No obstante, las sustancias que son absorbidas por las mujeres y cuya interferencia en la lactancia ha sido mostrada o aquellas que pueden estar presentes (incluidos sus metabolitos) en la leche materna, en cantidades suficientes para amenazar la salud de los lactantes, deberán clasificarse y etiquetarse para indicar el peligro que representa para los bebés alimentados con la leche materna. Esta clasificación puede hacerse sobre la base de:

- pruebas en humanos que indiquen que existe un peligro para los lactantes; o
- resultados de estudios en una o dos generaciones de animales que proporcionen pruebas claras de la existencia de efectos adversos en los descendientes, transmitidos a través de la leche, o de efectos adversos en la calidad de la misma; o
- estudios de absorción, metabolismo, distribución y excreción que indiquen la probabilidad de que la sustancia esté presente en la leche materna, en niveles potencialmente tóxicos.

Indicación de peligro según Reglamento 1272/2008: H362: Puede perjudicar a los niños alimentados con leche materna.

Frases R según RD 363/1995: R64: Puede perjudicar a los niños y niñas alimentados con leche materna.

La lista armonizada de clasificación y etiquetado de sustancias peligrosas del Reglamento 1272/2008 incluye únicamente 4 sustancias con la frase H362 (lindano, mirex, fenarimol, pentabromodifenileter).

Las sustancias que se acumulen en el organismo y que puedan pasar posteriormente a la leche durante la lactancia podrán etiquetarse con R33 (Peligro de efectos acumulativos) y R64.



4.3. Evaluación del riesgo de sustancias tóxicas para la salud reproductiva

La evaluación del riesgo de sustancias tóxicas para la salud reproductiva sigue un procedimiento que implica evaluaciones colectivas por grupos de especialistas en diferentes áreas y tiene como objetivo aportar los elementos científicos esenciales a la propuesta de acciones preventivas o correctivas por los gestores del riesgo.

Selección de los estudios

El establecimiento de la dosis umbral para cualquier sustancia química se fundamenta en resultados obtenidos en estudios de experimentación en animales y en estudios epidemiológicos en humanos.

Sin embargo, en el caso de los reprotóxicos, los estudios epidemiológicos para la valoración de los efectos en el sistema reproductivo derivados de la exposición laboral presentan una serie de limitaciones en la determinación de los valores límite y para establecer una asociación de causalidad entre una sustancia química y un efecto [92,104]. Varias razones fundamentan esta afirmación [105, 106]; por una parte, para determinados problemas de salud reproductiva el número de estudios epidemiológicos es muy escaso. Para otras exposiciones, a pesar del importante número de estudios publicados sobre determinados factores laborales, la evidencia de asociación que permita dar recomendaciones es muy limitada y sólo está confirmada para un número muy restringido de exposiciones. De manera paralela, también falta información sobre los niveles de exposición de la sustancia evaluada, utilización de mezclas y exposiciones múltiples, así como la consideración de los períodos de máxima susceptibilidad para los efectos. La mayoría de los estudios son de tipo transversal, imposibilitando establecer la posible relación causal. En efectos concretos, como los relacionados con el desarrollo neurológico, la obtención de resultados requiere de muchos años de seguimiento para obtener resultados, por lo tanto son aún más difíciles de documentar [99]. Los estudios con datos primarios tienen, en muchas ocasiones, limitaciones de tamaño muestral, afectando a la precisión de los resultados. En muchas ocasiones no se puede descartar con un margen de seguridad el efecto de sesgos o factores de confusión, y la falta de información sobre factores personales o de estilo de vida que pueden estar interfiriendo en la asociación.

58

Por lo tanto, el cálculo de los valores límite de exposición profesional de los agentes químicos se basa fundamentalmente en estudios de experimentación animal. Diversos organismos [107] han elaborado protocolos con recomendaciones para evaluar la relación ente dosis-respuesta y la toxicidad, así como para determinar la dosis más elevada de una sustancia que no ha mostrado en las pruebas tener efectos NOAEL (Non Observed Adverse Effect Level). Si no es posible determinar este nivel, se establecerá la menor dosis /concentración en la que haya efecto adverso, es decir el menor LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level).

La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE), en particular, ha desarrollado unas guías para evaluar los efectos de los productos químicos en la salud reproductiva de acuerdo con la normativa europea. Así, por ejemplo, la guía de la OCDE 414 sobre la determinación de la toxicidad prenatal incluye la valoración de trastornos embriofetales como mortalidad, malformaciones y alteraciones en el crecimiento fetal. Las pruebas para la toxicidad perinatal se realizan de acuerdo con la guía 415 OCDE en una generación o la 416 de toxicidad en dos generaciones. También las 421 y 422 analizan los métodos de cribado de toxicidad y desarrollo por dosis repetidas. Finalmente, la 426 describe los pasos para el estudio de los efectos neurológicos en la descendencia después de la exposición materna durante la gestación o lactancia [108]. Originalmente, ninguno de los protocolos de la OCDE o UE se diseñó para detectar disrupción endocrina. Sin embargo, en la actualidad este organismo ha desarrollado y validado las guías para la evaluación de los disruptores endocrinos. Concretamente la guía 407 trata uno de los tres ensayos *in vivo* prioritarios para la determinación de disruptores endocrinos con efectos tóxicos en la reproducción, que consiste en ampliar el ensayo de dosis repetidas de 28 días en roedores. Amplía asimismo el estudio histológico y de bioquímica clínica con la finalidad de detectar diversos tipos de alteraciones endocrinas, además de las neurológicas. El segundo de estos ensayos a corto plazo *in vivo* para roedores macho es el test de Hershberger de 5 ó 7 días para la detección de andrógenos y antiandrógenos. Este ensayo ha sido recientemente validado por la OCDE e investiga la variación en el peso de vesículas seminales y próstata. En tercer lugar, el ensayo



uretrófico de 3 días para detectar capacidad endocrina. En este ensayo se controla el incremento del peso uterino derivado de la estimulación de la mitogénesis [108].

Otros organismos, como la Agencia de Protección de Estados Unidos, han propuesto un sistema de cribado y ensayo de disruptores endocrinos, integrado por varios tests *in vitro* e *in vivo* [109].

Para evaluar la neurotoxicidad sobre el desarrollo se utiliza la guía 426 de la OCDE. El ensayo consiste en administrar a los animales durante la gestación y la lactancia la sustancia a evaluar. La descendencia se selecciona al azar para la evaluación de la neurotoxicidad y se observarán para determinar anormalidades neurológicas o en el comportamiento, se valorará el desarrollo físico, la ontogenia del reflejo, la actividad motora y la función motora y sensorial, el aprendizaje y la memoria y la evaluación de neuropatologías durante el desarrollo posnatal y la madurez.

En realidad, no todos los estudios experimentales se realizan de acuerdo con las recomendaciones estandarizadas de la OCDE o incluso con el principio de buenas prácticas de laboratorio y sin el necesario control de su aplicación para las pruebas sobre las sustancias químicas. Por ello es recomendable que aquellos estudios que se vayan a incluir se revisen previamente aplicando un protocolo de evaluación de la calidad. La guía Klimisch es el sistema más ampliamente utilizado para valorar la calidad en los estudios experimentales de evaluación de sustancias químicas y sus efectos en la salud [110].

En resumen, y siguiendo la recomendación del grupo de expertos para la elaboración de la lista de valores límite en Francia, se requiere en primer lugar valorar si existe algún estudio epidemiológico, de calidad, y en el que las exposiciones estén claramente definidas, en segundo lugar incluir los estudios experimentales siempre que cumplan los criterios de calidad de acuerdo con la guía de Klimisch mencionada anteriormente.

Además del elevado costo de las pruebas toxicológicas en experimentación animal y la dificultad que entraña su realización, existen limitaciones inherentes a ellas; por ejemplo, en estudios de neurotoxicidad no se incluye la exposición durante el período de desarrollo posnatal completo, así como existe una evaluación limitada del aprendizaje y la memoria. En el caso de las pruebas de toxicidad prenatal en el desarrollo no proporcionan información sobre la posible reversibilidad y reparación de los efectos, no se estudia el periodo previo a la implantación, no se evalúa la función de los órganos fetales, no puede ser identificado el período específico susceptible de desarrollo y la evaluación de la toxicidad maternal y adulta es limitada.

Selección de la dosis crítica y de los factores de incertidumbre

Una vez identificado el efecto en la reproducción y el agente, es necesario cuantificarlo, es decir, determinar en qué concentración un efecto adverso o tóxico puede aparecer.

El Scientific Committee on Occupational Exposure Limits (SCOEL), organismo de la Comisión Europea, para establecer el límite de exposición profesional de cada sustancia aplica un factor de incertidumbre (UF, Uncertainty Factor). Este índice incorpora todos los aspectos variables relacionados con la extrapolación necesaria de unos datos más o menos limitados (en cuanto a la especie de la población en estudio, las vías de entrada estudiadas, las condiciones de la exposición, la precisión de los datos, entre otros) a una situación laboral de exposición de trabajadores y trabajadoras a proteger. Este índice se ha denominado también factor de seguridad, de evaluación, de extrapolación o de protección [111].

Es decir, este factor se aplica como un coeficiente mediante el que se deriva un valor límite del correspondiente NOAEL o LOAEL. Cuanta mayor fiabilidad ofrece la información sobre el producto en cuanto a tipo y calidad de estudios que la conforman, menor será el valor del coeficiente. Los factores de incertidumbre se definen sustancia por sustancia y no admiten normas generales, y dependerán del tipo de efecto [112].

Para la mayoría de sustancias se dispone de datos muy limitados sobre sus efectos en la salud reproductiva, pero



ello no impide que estas sustancias se encuentren presentes en el medio laboral de la población trabajadora [108]; por ejemplo, se estima que de los 80.000 productos químicos presentes en los lugares de trabajo, la ACGIH (American Conference of Industrial Hygienists) dispone de información reproductiva de tan sólo unas 4.000 sustancias [113]. Sin embargo, esta limitación se debe hacer constar en el documento de resumen y recomendaciones. Se trata de un anexo que amplía la información científica sobre la toxicidad, y en el cual se debe hacer constar todas las limitaciones de la información sobre los efectos reproductivos de la sustancia en particular [114].

En Europa, según los datos disponibles [115], solo se ha realizado la batería completa de ensayos de toxicidad reproductiva a 504 (20%) de las 2.465 sustancias de alto volumen de producción (HPVC). Estas son sustancias con una producción superior a las 1.000 toneladas al año por fabricante. La realización de evaluaciones de riesgo a estas sustancias se estableció como prioridad en 1993. En la actualidad, en la Unión Europea sólo se disponen de evaluaciones de riesgo completas siguiendo las directrices establecidas por el Reglamento (EC) 1488/94 de 141 sustancias [116].

En los últimos años se ha cuestionado el uso del NOAEL/LOAEL por diversos motivos, entre los que se incluyen: el cálculo de las dosis umbral dependen notablemente del protocolo experimental, sobre todo del número de dosis testadas, del intervalo entre las dosis y del número de animales incluidos en el estudio, además no se aplican intervalos de confianza con lo que el grado de incertidumbre no está debidamente cuantificado. Por estos motivos desde algunos foros científicos se propone, en lugar de usar estas medidas, la utilización de las llamadas dosis de referencia (Benchmark dose) [117]. La utilización de estas dosis de referencia permite realizar una evaluación del riesgo más precisa, utilizando un nivel de referencia diferente al NOAEL, que consiste en la identificación de una dosis para la cual se espera un cierto nivel de respuesta. Por ejemplo, se puede obtener un punto en el que el 10% de la población exhibe respuesta (ED10). Además, se pueden establecer límites de incertidumbre y un nivel de dosis correspondiente al límite superior de incertidumbre. Esta aproximación tiene ventajas debido a que incluye información de la forma de la curva de dosis respuesta y del riesgo a exposiciones en niveles cercanos a la dosis de respuesta. Otra metodología recientemente descrita consiste en incluir métodos probabilísticos, los cuales utilizan distribuciones en lugar de estimaciones puntuales para la entrada de parámetros mediante un software específico. Estos métodos pueden reducir la subjetividad en la determinación de niveles seguros de exposición [118].

Por otra parte, algunas sustancias presentan efectos nocivos para la reproducción, y en especial para el desarrollo, a niveles sensiblemente inferiores a los que causan otros tipos de toxicidad. En los casos en los que los efectos sobre la fertilidad o el desarrollo permitan establecer un NOAEL, el SCOEL recomendará un valor límite lo suficientemente bajo como para proteger a la población trabajadora de tales efectos. Si existe indicación de peligro de toxicidad, pero no se dispone de datos cuantitativos, se considerará la aplicación de un factor de incertidumbre mayor.

En los últimos años se ha avanzado en el desarrollo de experimentación *in vitro*, sin embargo, algunos autores [119, 120] cuestionan desde un punto de vista toxicológico la flexibilidad de este tipo de estudios, y resalta que los estudios *in vitro* sólo permiten la identificación por el sistema de ensayo específico de determinados riesgos en la salud. Además, la información apropiada sobre la dosis-respuesta de los efectos adversos, la identificación de umbrales y NOEL, que son esenciales para la caracterización del riesgo, no puede ser obtenida de estos estudios. En consecuencia, la identificación de todas las propiedades potencialmente peligrosas y criterios de valoración de los efectos adversos sólo se pueden determinar en experimentación animal con ensayos de toxicidad por dosis repetidas, en los que generalmente la administración de la sustancia se realiza durante 28 días o 90 días. En ausencia de tal información, la identificación de los riesgos es incompleta y no hay ninguna base para la evaluación apropiada del riesgo de exposición humana. Por lo tanto, cualquier renuncia de los estudios de dosis repetidas en animales tiene la probabilidad de efectos imprevistos en caso de exposición humana aguda o continua [120].

Como regla general, excluyendo las sustancias mutagénicas que quedan fuera del presente capítulo, los efectos reprotóxicos se consideran que ocurren siempre sobre un valor umbral de dosis. Esto refleja la opinión aceptada por la comunidad científica y que tienen en cuenta la mayoría de agencias e instituciones en la elaboración de re-



comendaciones [125, 107, 121]. No obstante, investigaciones que se están desarrollando en la actualidad sobre precursores de biomarcadores de determinadas sustancias pueden originar descensos en los valores de las curvas dosis-respuesta e incluso la desaparición de estas dosis umbrales [125].

La consideración de una sustancia como cancerígena categoría 1 o categoría 2 lleva implícito que en los ensayos se ha comprobado su genotoxicidad, siendo una condición que se valora como indiscutible para dicha clasificación de carcinogenicidad. Igualmente en la valoración de sustancias mutagénicas la comprobación experimental de efectos sobre células germinales y efectos sobre el ADN son criterios indispensables para clasificar una sustancia como tal [122].

4.4. Valores límite de exposición profesional a sustancias tóxicas para la salud reproductiva

4.4.1. Criterios establecidos en España para la evaluación de la exposición a riesgos químicos de las trabajadoras embarazadas y lactantes

Recientemente se ha publicado en España el Real Decreto 298/2009, de 6 de marzo, en relación con la aplicación de medidas para promover la mejora de la seguridad y de la salud en el trabajo de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia. Este decreto transpone, con 17 años de retraso, los anexos de la Directiva 92/85/CEE [123], que incluyen las listas no exhaustivas de agentes y condiciones de trabajo de riesgo a evaluar para proteger a las trabajadoras embarazadas, que hayan dado a luz o en período de lactancia.

En relación a los agentes químicos las medidas a tomar para la protección de la mujer embarazada y lactante son las siguientes:

«...En todo caso, la trabajadora embarazada no podrá realizar actividades que supongan riesgo de exposición a los agentes o condiciones de trabajo incluidos en la lista no exhaustiva de la parte A del anexo VIII, cuando, de acuerdo con las conclusiones obtenidas de la evaluación de riesgos, ello pueda poner en peligro su seguridad o su salud o la del feto. Igualmente, la trabajadora en período de lactancia no podrá realizar actividades que supongan el riesgo de una exposición a los agentes o condiciones de trabajo enumerados en la lista no exhaustiva del anexo VIII, parte B, cuando de la evaluación se desprenda que ello pueda poner en peligro su seguridad o su salud o la del niño durante el período de lactancia natural. En los casos previstos en este párrafo se adoptarán las medidas previstas en el artículo 26 de la Ley 31/1995, de 8 de noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales».

El RD 298/2009 incluye las listas de agentes químicos a los que las embarazadas y lactantes no deberán estar en ningún caso expuestas en los lugares de trabajo (Anexo VIII) o cuya exposición se deberá evaluar (Anexo VII).

Anexo VIII del Real Decreto 298/2009: Lista no exhaustiva de agentes y condiciones de trabajo a los cuales no podrá haber riesgo de exposición por parte de trabajadoras embarazadas o en período de lactancia natural.

A) Trabajadoras embarazadas: Agentes químicos:

1. Las sustancias etiquetadas R60 y R61, o etiquetadas como H360F, H360D, H360FD, H360Fd y H360Df por el Reglamento (CE) 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.
2. Las sustancias cancerígenas y mutágenas para las que no haya valor límite de exposición asignado (Tabla III de los Límites de Exposición Profesional para Agentes Químicos) [19].
3. Plomo y derivados, en la medida en que estos agentes sean susceptibles de ser absorbidos por el organismo humano.



B) Trabajadoras en período de lactancia. Agentes químicos:

1. Las sustancias etiquetadas R64 o H362 por el Reglamento (CE) nº 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.
2. Las sustancias cancerígenas y mutágenas para las que no haya valor límite de exposición asignado, conforme a la tabla III del citado documento [19].
3. Plomo y derivados, en la medida en que estos agentes sean susceptibles de ser absorbidos por el organismo humano.

Por lo tanto, en España existe una prohibición estricta de exposición durante el embarazo para todas las sustancias con frases R60, R61 (H360) y con frases R64 (H362) durante la lactancia. No se contempla la utilización de ningún tipo de valor límite de exposición. En la actual lista de valores límite de España [124] no se especifica esta circunstancia para las sustancias R60, R61 y R64, a diferencia de lo que ocurre con las sustancias cancerígenas. Respondiendo a la normativa europea y como ya han adelantado otros países como Francia [125], se han incluido sustancias cancerígenas y mutágenas para las que no haya valor límite de exposición asignado.

El Real Decreto 298/2009 incorpora, asimismo, otro epígrafe relativo a la evaluación de los riesgos respecto a las trabajadoras embarazadas o madres en período de lactancia. En su anexo VII indica que: «Debe prestarse especial atención en la evaluación de riesgos».

Anexo VII del Real Decreto 298/2009: Lista no exhaustiva de agentes, procedimientos y condiciones de trabajo que pueden influir negativamente en la salud de las trabajadoras embarazadas o en período de lactancia natural, del feto o del niño durante el período de lactancia natural.

Agentes químicos. Los siguientes agentes químicos, en la medida en que se sepa que ponen en peligro la salud de las trabajadoras embarazadas o en período de lactancia, del feto o del niño durante el período de lactancia natural y siempre que no figuren en el anexo VIII:

1. Las sustancias etiquetadas R40, R45, R46, R49, R68, R62 y R63, o etiquetadas como H351, H350, H340, H350i, H341, H361f, H361d y H361fd por el Reglamento (CE) nº 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, en la medida en que no figuren todavía en el anexo VIII.
2. Los agentes químicos que figuran en los anexos I y III del Real Decreto 665/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes cancerígenos durante el trabajo.
3. Mercurio y derivados.
4. Medicamentos antimitóticos.
5. Monóxido de carbono.
6. Agentes químicos peligrosos de reconocida penetración cutánea.
7. Procedimientos industriales que figuran en el anexo I del Real Decreto 665/1997, de 12 de mayo, sobre la protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes cancerígenos durante el trabajo.

Se desprende que el anexo VII del Real Decreto 298/2009 introduce cierta ambigüedad. En la práctica esta ambigüedad viene siendo interpretada en el sentido de que mientras no se superen los valores límite profesionales para agentes químicos, se puede permitir la exposición durante el embarazo a estas sustancias.



Sin embargo, hay que tener en cuenta las siguientes consideraciones: en primer lugar, las sustancias R62 y R63 constituyen el grupo 3 de la clasificación de sustancias tóxicas para la reproducción definidas como sustancias preocupantes para los seres humanos por sus posibles efectos tóxicos para el desarrollo. Esta preocupación se basa generalmente en resultados de estudios con animales que proporcionan pruebas suficientes para suponer firmemente la presencia de toxicidad para el desarrollo en ausencia de signos de toxicidad marcada para la madre, o bien a, aproximadamente, los mismos niveles de dosis que otros efectos tóxicos, y sin que las pruebas sean suficientes para clasificar la sustancia en la categoría 2. Es decir, son agentes tóxicos para la reproducción demostrados en experimentación animal y sin pruebas suficientes en seres humanos.

Las sustancias que la norma considera de riesgo son, por tanto, las incluidas en la directiva del año 1992. No actualiza el conocimiento científico generado desde entonces en relación a la toxicidad para la salud reproductiva.

4.2.2. Criterios utilizados en otros países en relación a los valores límite profesionales y la salud reproductiva

La revisión de diferentes publicaciones e informes de organismos e instituciones internacionales pone de manifiesto que la utilización y criterios para establecer los valores límite de exposición profesional para proteger la salud reproductiva se trata de un tema actualmente en discusión y en continua actualización y revisión [92]. Así, una interesante revisión que comparaba los sistemas de clasificación de carcinógenos, la valoración del riesgo para la salud y los procedimientos utilizados para el establecimiento de los límites de exposición profesional en varios países europeos y organizaciones científicas, señalaba que las diferencias existen en parte debido a la falta de definición del objetivo último de la clasificación y la importancia relativa de los diferentes tipos de datos (por ejemplo si procede la información de estudios en animales o de humanos). En general se coincide más en la clasificación de productos químicos con buena evidencia de carcinogenicidad en humanos, y menos en la clasificación de productos químicos con pruebas positivas en animales y pruebas limitadas en humanos. La mayoría de las entidades distinguen entre los productos químicos genotóxicos y no genotóxicos para realizar evaluaciones de riesgo. Aunque el enfoque de evaluación de riesgo utilizado para los productos químicos no genotóxicos es bastante similar entre los grupos, los enfoques de evaluación de riesgo para los carcinógenos genotóxicos varían ampliamente [126].

La tabla 7 muestra los países de la Unión Europea que disponen de listado con clasificación de sustancias reproductivas, la dirección para localizar la información y el organismo responsable de su realización. Han sido excluidos aquellos países en los cuales no se ha encontrado información específica o no estaba disponible en inglés, como es el caso de Polonia y Lituania.



TABLA 7

Países de la Unión Europea que disponen de listado con clasificación de sustancias reprotóxicas

País	Localización de la lista de sustancias reprotóxicas	Organismo que establece los valores límite de exposición ocupacional
Alemania	http://eu.wiley.com/WileyCDA/WileyTitle/productCd-3527325964.html List of MAK and BAT Values 2009: Maximum Concentrations and Biological Tolerance Values at the Workplace. Report 45 (previo pago).	Comité mixto: The DFG Senate Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work area The MAK Commission The Committee on Hazardous Substances Scientific departments of the chemical industry
España	http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/501a600/ntp_542.pdf	Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en Trabajo
Francia	http://www.inrs.fr/inrs-pub/inrs01.nsf/intranetobject-accesparreference/ED%20976/\$file/ed976.pdf	Comité Scientifique pour la Surveillance des Atmosphères de Travail http://www.afsset.fr/upload/bibliotheque/7835306184486112475931830093-54/32_valeurs_toxicologiques_reference_reprotox_rapport_document_reference_afsset.pdf
Finlandia	http://www.arbejdstilsynet.dk/graphics/at/engelsk-pdf/at-vejledninger/gvlisteuk.pdf	Advisory Committee for Occupational Health and Safety on Chemicals. http://www.ttl.fi/Internet/English/Information/Electronic+journals/Tyoterveiset+journal/1999-02+Special+Issue/08.htm
Reino Unido	http://www.hse.gov.uk/COSHH/table1.pdf	The Working Group on the Assessment of Toxic Chemicals (WATCH) subcomité de Health and Safety Commission's Advisory Committee on Toxic Substances (ACTS)
Suecia	http://www.av.se/dokument/inenglish/legislations/eng0517.pdf	Kriterigruppen för hygieniska gränsvärde, Arbetslivsinstitutet (Criteria Group of the National Institute of Working Life). http://www.av.se/arkiv/neg/

En líneas generales cabe señalar que, a diferencia de otros países como España [19] o Francia [127], Alemania [128] dispone de una clasificación de las sustancias que incorpora, en los cuatro grupos de riesgo químico con efectos en el desarrollo reproductivo, uno que indica que cuando los valores límite son respetados no hay razón para temer un efecto nefasto para el embrión o para el feto: «Grupo C: cuando los valores límite son respetados no hay razón para temer un efecto nefasto para el embrión o para el feto».

Además esta institución dispone de un catálogo, previo pago, que contiene alrededor de 1.000 sustancias químicas clasificadas como cancerígenas, mutágenas, sensibilizantes, embriotóxicas y sustancias de riesgo para el embarazo.

Otros países, como Francia, Finlandia u Holanda, utilizan un método pragmático que consiste en considerar, en ausencia de valores límite específicos, tomar como valor límite para el desarrollo fetal 1/10 del valor límite de exposición profesional. Se considera que este factor de seguridad igual a 10 para la extrapolación no es completamente arbitrario, ya que vienen a coincidir con los valores calculados en el laboratorio, es decir, los valores límite toxicológicos sin efecto sobre el desarrollo del feto. Este valor límite para las mujeres embarazadas tendría un carácter provisional y a la espera del establecimiento de unos valores de referencia específicos para el embarazo, elaborado con una metodología específica que garantice un conocimiento más exacto desde el punto de vista preventivo.

Esta extrapolación presenta limitaciones para aquellas sustancias que actúan a dosis muy bajas o que presentan curvas dosis-respuesta no monotónicas, como ciertos disruptores endocrinos, por ejemplo el bisphenol A (BPA), dieldrin, endosulfan, hexaclorobenceno o dietilhexilftalatos (DEHP), que presentan curvas dosis-respuesta en forma de U para ciertos efectos. Así, se observan efectos adversos a dosis decenas, centenares o miles de veces inferiores a dosis en las que no se observan efectos [129].

En los últimos años se llevan desarrollando iniciativas en el campo de las sustancias tóxicas para la reproducción, como es el caso de Francia, en el que recientemente la Agence Française de Sécurité Sanitaire de l'environnement et du travail ha realizado un documento de referencia con una propuesta metodológica para determinar los valores tóxicos para la reproducción. En el que se señalan los postulados fundamentales para la construcción de un VTR



reprotóxico, se definen los efectos negativos y los efectos críticos a considerar para la definición de los VTR, selecciona aquellos estudios en animales y de información en humanos a utilizar y determina la dosis y factores de incertidumbre adecuados en función de los datos disponibles [127]. Por otro lado, destaca también la labor del National Institute for Occupational Safety and Health, que en colaboración con diversos sectores académicos, administrativos e industriales viene desarrollando con la iniciativa National Occupational Research Agenda (NORA) en la que se incluyen 21 equipos de investigación, siendo uno de ellos el Reproductive Health Research Team [93]. En el último informe describe los progresos de la última década, priorizando los tóxicos para la reproducción a estudiar. Es una iniciativa colaborativa de diferentes profesionales como epidemiólogos, toxicólogos y biólogos. También abarca la promoción del análisis de la evaluación de los riesgos de la exposición ocupacional para la reproducción, en la vigilancia de la salud, así como fomenta la prioridad en el diseño de estudios de salud reproductiva en el trabajo. También describe las nuevas herramientas para la detección de tóxicos para la reproducción y para analizar el modo de acción.

No existe un criterio homogéneo en torno a la evaluación del riesgo para la reproducción de las sustancias químicas en los países europeos, así como tampoco para la determinación de valores límite para la reproducción. En la actualidad se están desarrollando múltiples iniciativas tanto de estudios de investigación como de informes de grupos de expertos promovidos desde la administración de diferentes gobiernos. Es preciso esperar los resultados de estos procesos para poder contar con un criterio con la evidencia suficiente que permita adoptar políticas preventivas adecuadas.

En cuanto a España, se debería promover la investigación y estudio sobre los riesgos tóxicos para la reproducción mediante la constitución de un grupo de trabajo en el marco de la Comisión Nacional de Seguridad y Salud en el trabajo, con la participación de profesionales de diferentes disciplinas (toxicólogos, epidemiólogos, médicos del trabajo, higienistas, clínicos, entre otros) para la elaboración de un diagnóstico de la situación y la elaboración de un programa de actuación a medio plazo.

4.5. Limitaciones de los límites de exposición profesional a sustancias tóxicas para la salud reproductiva

65

En España, la clasificación de una sustancia como tóxica para la reproducción según se ha descrito en el apartado anterior se realiza en base a las propiedades intrínsecas de la misma según establece la normativa europea, sin relación con su valor límite de exposición profesional.

Los conceptos y valores incluidos en el documento que anualmente publica el Instituto Nacional de Higiene y Seguridad en el Trabajo (INSHT) son el resultado de una evaluación crítica de los valores límite de exposición establecidos por diferentes entidades [130-133] teniendo en cuenta, fundamentalmente, la fecha de su actualización, la fiabilidad de los datos utilizados para el establecimiento de cada uno de ellos y los criterios de la UE para la adopción de los límites de exposición comunitarios.

Los valores límite de exposición profesional para agentes químicos están concebidos para población sana en general, sólo tienen en cuenta la vía inhalatoria, y por tanto no contempla otras vías como la dérmica. Esto puede suponer una insuficiencia para la valoración de la exposición global a una sustancia química.

Además la exposición expresada, por ejemplo, como un porcentaje del valor límite sólo proporciona una estimación de la probabilidad (o, más exactamente, un juicio sobre ella) a sufrir el daño específico que el agente en cuestión puede causar, pero nada dice acerca de la gravedad de este daño.

A fin de poder valorar no sólo la exposición existente, sino el riesgo asociado a la misma, exige tener en cuenta, también, la gravedad del efecto. En las tablas de la lista española de valores límite, en última columna «Frases R», figuran, para cada agente, las frases indicativas de las categorías de peligro que tiene asignadas en la Reglamentación sobre notificación de sustancias nuevas y clasificación, envasado y etiquetado de sustancias peligrosas. Se



indican en negrita las frases que hacen referencia a las propiedades toxicológicas y a los efectos específicos sobre la salud.

Como ejemplo podemos contemplar tal como aparece el plomo orgánico e inorgánico, con la indicación en la última columna de la frase R61.

EINECS	CAS	AGENTE QUÍMICO	LÍMITES ADOPTADOS		NOTAS	FRASES R
			VLA-ED ppm mg/m ³	VLA-EC ppm mg/m ³		
231-100-4	7439-92-1	Plomo inorgánico y sus derivados, como Pb	0,15		k,VLB, TR1	61-20/22-33-50-53-62
201-075-4	78-00-2	Plomo tetraetilo, como Pb	0,1		via dérmica, TR1	61-26/27/28-33-50-53-62
200-897-0	75-74-1	Plomo tetrametilo, como Pb	0,15		via dérmica, TR1	61-26/27/28-33-50-53-62
		Politetrafluoretileno, productos de su descomposición			I	
200-827-9	74-98-6	Propano	Véase Hidrocarburos alifáticos alcanos (C ₁ - C ₄) y sus mezclas, gases			12
200-878-7	75-55-8	Propilenimina			véase Apartado 7	45-11-26/27/28-41-51/53
204-062-1	115-07-1	Propileno	500			12
220-548-6	2807-30-9	2-Propoxietanol	20	86	vía dérmica	21-36
		Propino	véase Metilacetileno			
203-471-2	107-19-7	Prop-2-ino-1-ol	1	2,3	vía dérmica	10-23/24/25-34-51/53
200-340-1	57-57-8	β-Propiolactona			véase Apartado 7	45-26-36/38
204-043-8	114-26-1	Propoxur	0,5		VLBa, sr	25-50/53
		Protóxido de nitrógeno	véase Óxido de dinitrógeno			
		Quinona	véase p-Benzinoquinona			

Como ya se ha explicado, diferentes organismos internacionales han propuesto baterías de pruebas toxicológicas y bioensayos *in vitro* e *in vivo* de muy diversa índole para la identificación de los disruptores endocrinos; sin embargo, presentan una serie de limitaciones. En primer lugar, un compuesto químico puede tener efectos relacionados con disrupción endocrina a dosis inferiores a las actualmente aceptadas como Nivel de Efecto No Observado (NOAEL). Por otra parte, muchos de los tests de toxicidad no están diseñados para detectar los efectos que ocurren tras la exposición en los primeros momentos del desarrollo o incluso antes de la concepción. Asimismo, son muy pocos los tests que evalúan el efecto combinado de varios compuestos químicos. Por último, si los disruptores endocrinos actúan durante el desarrollo y afectan en períodos críticos a la homeostasis hormonal, las alteraciones de la función endocrina pueden manifestarse en cualquier órgano y en cualquier momento de la vida de la persona. En principio se debería desarrollar un sistema de cribado y de ensayos biológicos apropiados, que permitan clasificar los compuestos químicos por su capacidad para mimetizar o antagonizar a las hormonas naturales. También se deberían establecer tests toxicológicos que incluyeran períodos de observación prolongados en las distintas fases del desarrollo animal y con vigilancia expresa de los efectos transgeneracionales. Por otra parte, los estudios epidemiológicos deben considerar que debido a que los valores de hormonas circulantes varían en función de la edad, sexo o momento preciso de la medida, cualquier intento de estimación realista de las consecuencias de exposición a estas sustancias debe tener presente el patrón hormonal de cada persona y cómo pequeñas variaciones de la normalidad pueden afectar a la funcionalidad del sistema en su totalidad [134].



Igualmente la clasificación de los productos químicos como tóxicos para el desarrollo también presenta una serie de limitaciones. En primer lugar se basa en una aproximación al riesgo, sin tener en cuenta todas las condiciones reales de aplicación de los productos en el medio laboral, ni las condiciones de trabajo durante su manejo y utilización. Asimismo, la clasificación europea de los productos químicos que han mostrado toxicidad para el desarrollo en los tests de laboratorio no distinguen entre los que ocurren directamente en el embrión/feto (efectos primarios) y aquellos efectos provocados por los productos químicos, que están asociados con la alteración de la homeostasis materna (efectos secundarios). Los efectos biológicos y toxicológicos difieren profundamente dependiendo de la vía de penetración de la sustancia química en el organismo, por lo tanto la ruta y modo de administración de la sustancia a ensayo, la toxicocinética y toxicodinámica deben ser criterios importantes en el diseño del estudio.

En definitiva, y a menos que los organismos reguladores incorporen los principios modernos toxicológicos en sus paradigmas de evaluación de riesgos, se continuará ofreciendo una falsa seguridad y se deja, por tanto, de reconocer los riesgos de salud reales, planteados por la exposición crónica a bajas dosis, para un número cada vez mayor de sustancias químicas que forman parte de la composición de los productos utilizados habitualmente.

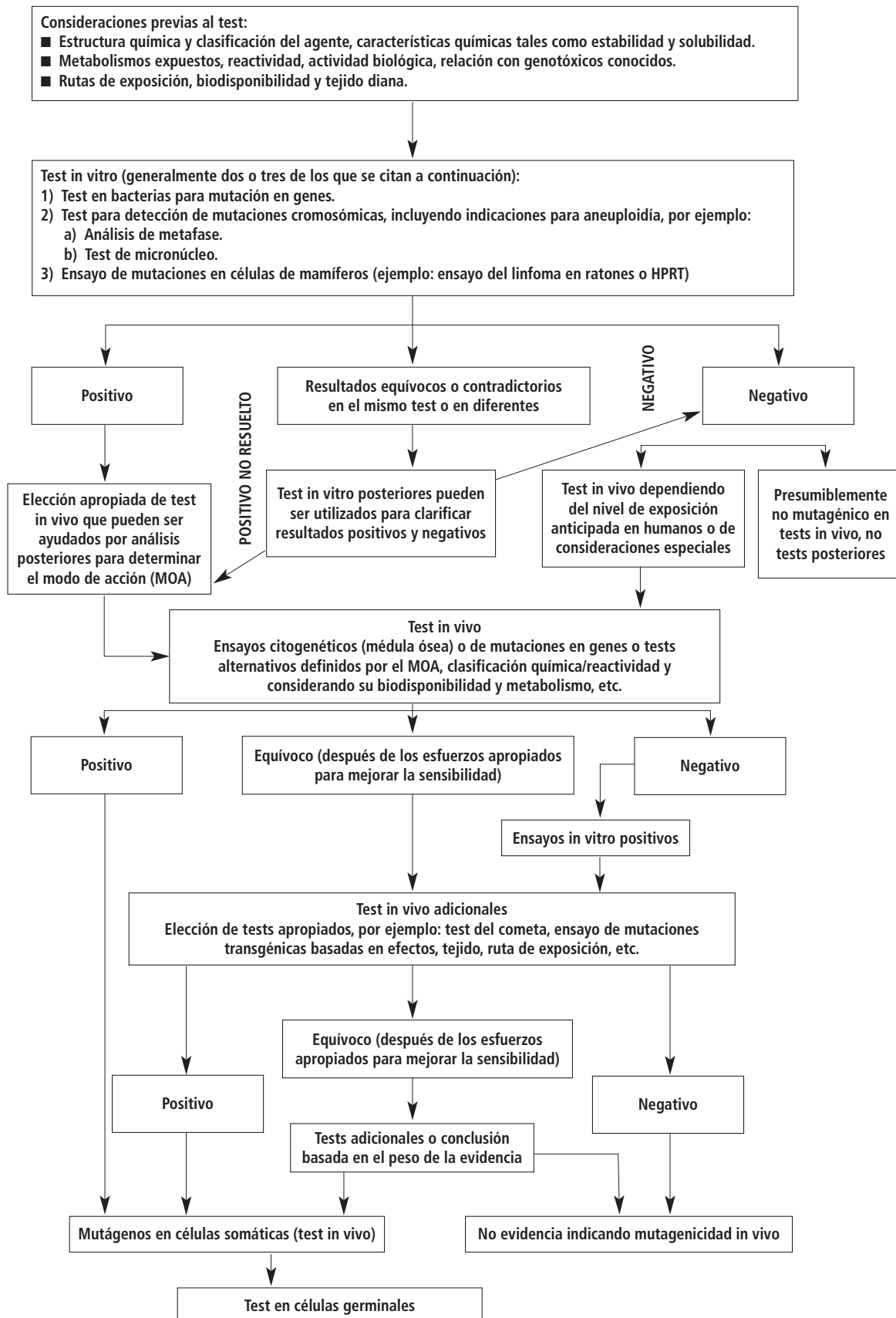
La normativa que establece en España las sustancias de riesgo para la salud de trabajadoras embarazadas y lactantes, el Real Decreto 298/2009, presenta varias y serias limitaciones para proteger de forma efectiva la salud reproductiva, ya que:

- No actualiza el conocimiento científico de riesgo generado en relación a la toxicidad para la salud reproductiva.
- No incluye entre las sustancias de riesgos, ni entre las sustancias a las que no deben estar expuestas embarazadas y lactantes los disruptores endocrinos, ni los neurotóxicos para el desarrollo.
- Permite la exposición de embarazadas y lactantes a sustancias cancerígenas y mutágenas con valor límite de exposición profesional, a pesar de que este límite no garantiza la protección de la salud de los fetos en desarrollo ni de los hijos de madres expuestas durante el embarazo y la lactancia.
- Permite la exposición de lactantes a sustancias tóxicas para el desarrollo y que, por tanto, pueden dañar la salud de los bebés lactantes.
- Permite la exposición de lactantes a sustancias tóxicas que pueden excretarse a través de la leche materna, a pesar de que la normativa europea de clasificación de sustancias reconoce que no existe información sobre los efectos adversos que, a través de la lactancia, muchas sustancias pueden originar en los descendientes.



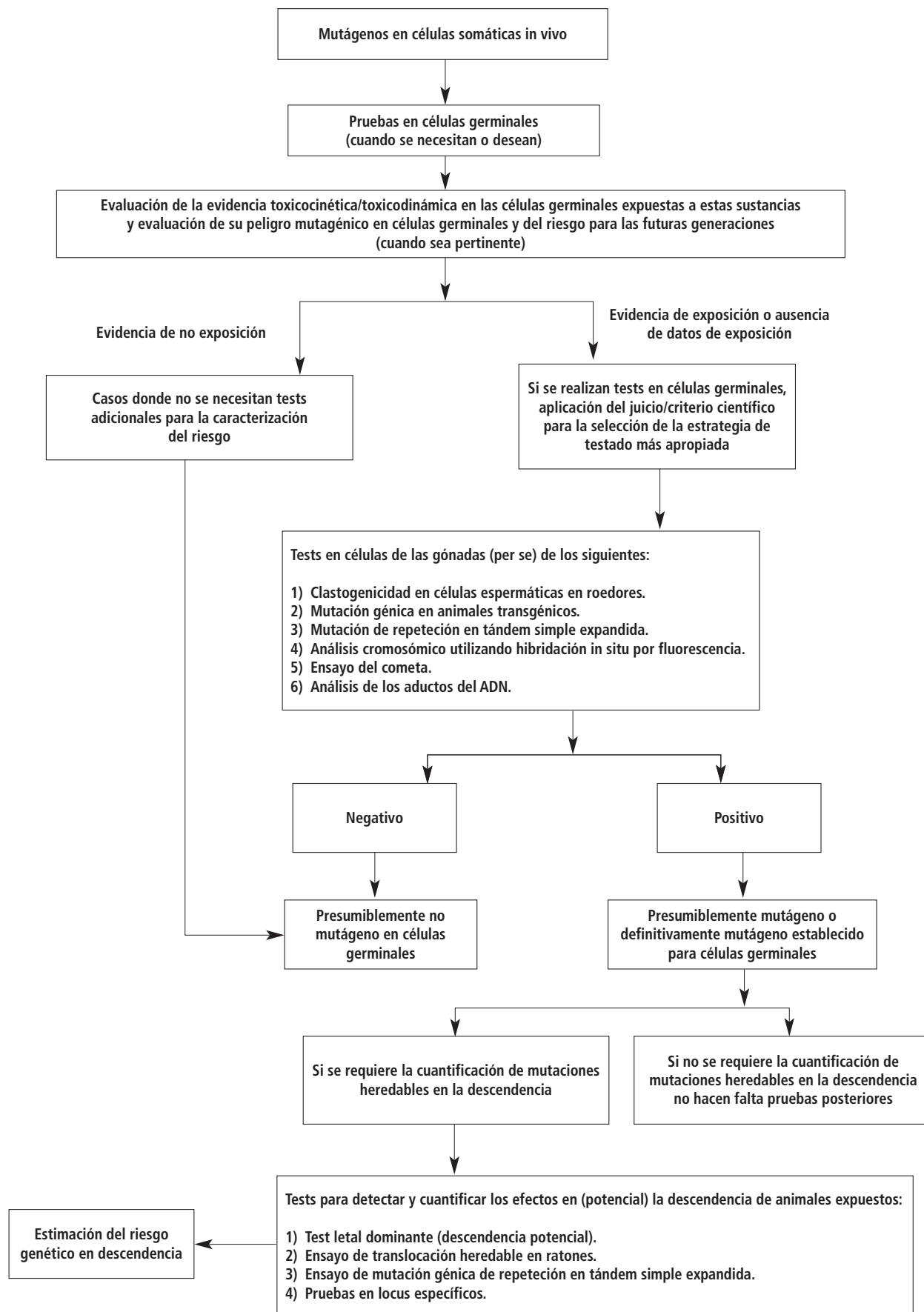
5. ANEXOS

ANEXO 1. Estrategia para las pruebas de mutagenicidad

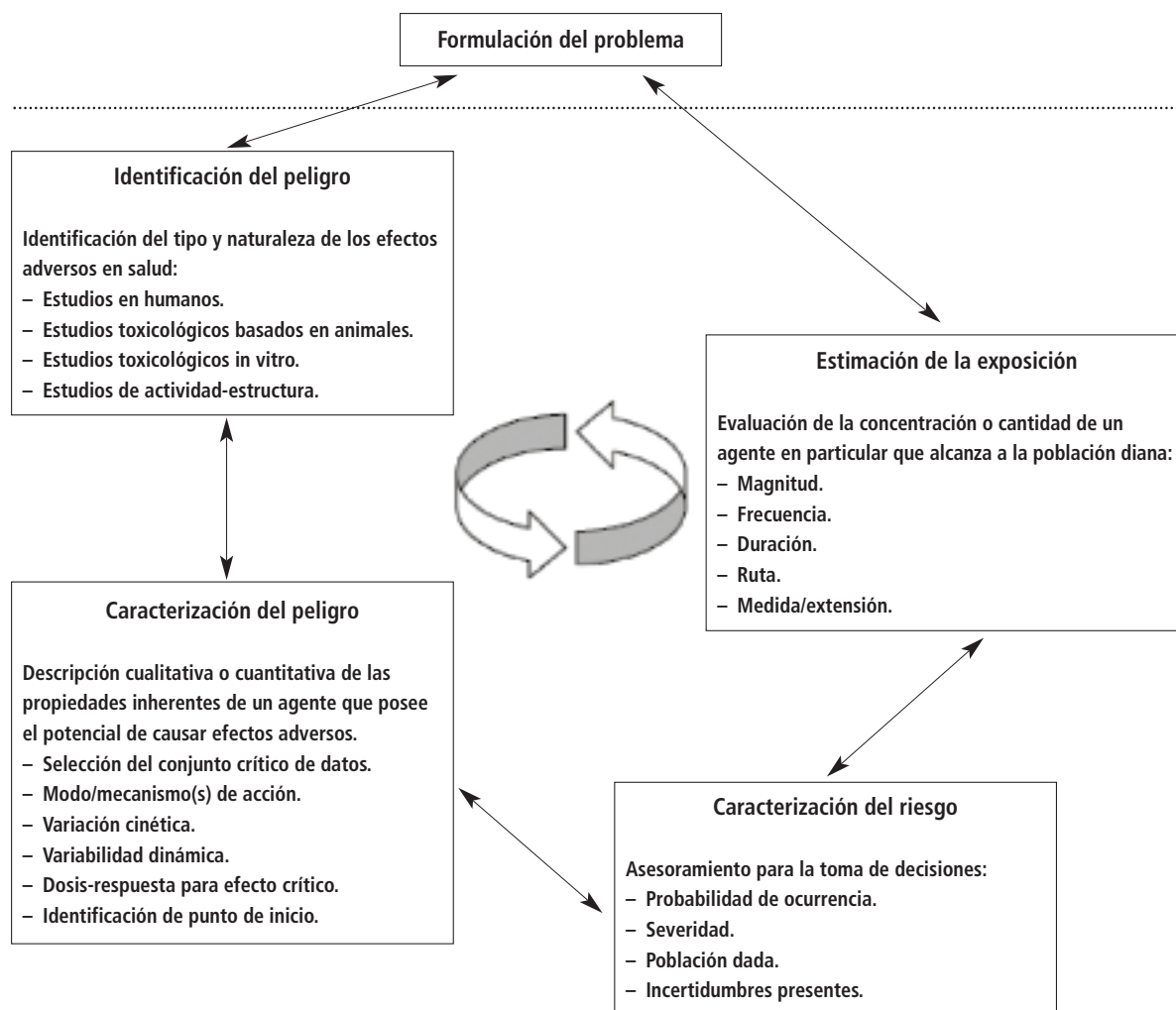




ANEXO 2. Estrategia para las pruebas de mutagenicidad en células germinales



ANEXO 3: Proceso de estimación del riesgo de sustancias químicas





ANEXO 4. Listado de sustancias

– Clasificación armonizada de sustancias peligrosas.

En el Reglamento (CE) nº 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 16 de diciembre de 2008, sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, y por el que se modifican y derogan las Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE y se modifica el Reglamento (CE) nº 1907/2006, se puede encontrar una lista de clasificación y etiquetado armonizado de sustancias peligrosas (páginas 340 a la 1351).

<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2008:353:0001:0001:ES:PDF>

– Información toxicológica y clasificación de las sustancias cancerígenas.

The Carcinogenic Potency Project

<http://potency.berkeley.edu/chemnameindex.html>



ANEXO 5. Selección de publicaciones recientes y relevantes a los efectos de este informe del Grup de Recerca en Epidemiologia Clínica i Molecular del Càncer del IMIM

- Porta M, Crous-Bou M, Wark PA, Vineis P, Real FX, Malats N, Kampman E. Cigarette smoking and K-ras mutations in pancreas, lung and colorectal adenocarcinomas: Etiopathogenic similarities, differences and paradoxes. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* 2009; 682: 83-93.
- Porta M, López T, Pumarega J, Jariod M, Crous-Bou M, Marco E, et al. In pancreatic ductal adenocarcinoma blood concentrations of some organochlorine compounds and coffee intake are independently associated with KRAS mutations. *Mutagenesis* 2009; 24: 513-521.
- Porta M, Pumarega J, López T, Jariod M, Marco E, Grimalt JO. Influence of tumor stage, symptoms and time of blood draw on serum concentrations of organochlorine compounds in exocrine pancreatic cancer. *Cancer Causes & Control* 2009; 20: 1893-1906.
- Porta M, Lee DH, Puigdomènech E. Transgenerational inheritance of environmental obesogens [Editorial]. *Occupational and Environmental Medicine* 2009; 66: 141-142.
- Lee DH, Jacobs DR Jr, Porta M. Hypothesis: a unifying mechanism between nutrition and chemicals as sources of lifelong modulators of DNA hypomethylation. *Environmental Health Perspectives* 2009; 117:1799-1802.
- Blair A, Saracci R, Vineis P, Grandjean P, Kogevinas M, Kriebel D, McMichael A, Pearce N, Porta M, Samet J, Vainio H, Zahm S, et al. Epidemiology, public health and the rhetoric of false positives. *Environmental Health Perspectives* 2009; 117:1809-1813.
- Lumbreras B, Porta M, Márquez S, Pollán M, Parker LA, Hernández-Aguado I. Sources of error and its control in studies on the diagnostic accuracy of 'omics' technologies. *Proteomics - Clinical Applications* 2009; 3: 173-184.
- Porta M, Puigdomènech E, Gasull M, Bosch de Basea M, Garí M, Grimalt JO. *Distribució de les concentracions sèriques de Compostos Orgànics Persistents (COPs) en una mostra representativa de la població general de Catalunya*. Barcelona: Departament de Salut de la Generalitat de Catalunya, Institut Municipal d'Investigació Mèdica, 2009 (215 pp).
- Porta M, Puigdomènech E, Ballester F, eds. *Nuestra contaminación interna. Concentraciones de compuestos tóxicos persistentes en la población española*. Madrid: Los Libros de la Catarata, 2009.
- Porta M, Gasull M, Bosch de Basea M. La epigenómica ambiental, la medicina y la salud pública ante la contaminación humana por compuestos tóxicos persistentes. *Eidon - Revista de la Fundación de Ciencias de la Salud* 2009; 16-19.
- Gasull M, Puigdomènech E, Bosch de Basea M, Porta M. *La química está servida: plaguicidas y otros Compuestos Tóxicos Persistentes en la dieta*. En: Observatorio DKV de Salud y Medio Ambiente en España. *Estado de la cuestión: Alimentación, medio ambiente y salud*. Madrid: DKV Seguros y ECODES (Fundación Ecología y Desarrollo), 2009: 37-53.
- Porta M, Bosch de Basea M, Benavides FG, López T, Fernández E, Marco E, et al. Differences in serum concentrations of organochlorine compounds by occupational social class in pancreatic cancer. *Environmental Research* 2008; 108: 370-379.
- Pérez-Cadahía B, Laffon B, Porta M, Lafuente A, Cabaleiro T, López T, et al. Relationship between blood concentrations of heavy metals and cytogenetic and endocrine parameters among subjects involved in cleaning coastal areas affected by the 'Prestige' tanker oil spill. *Chemosphere* 2008; 71: 447-455.
- Porta M, Puigdomènech E, Ballester F, Selva J, Ribas-Fitó N, Llop S, et al. Monitoring concentrations of persistent organic pollutants in the general population: the international experience. *Environment International* 2008; 34: 546-561.
- Porta M. *Genética y salud pública*. En: Sierra A, Sáenz MC, Gómez LI, et al. (eds). *Medicina Preventiva y Salud Pública*. 11ª ed. Barcelona: Elsevier; 2008: 939-948.



Alguacil J, Santibáñez M, Porta M. *Cáncer laboral y cáncer profesional*. En: Ruiz-Frutos C, García AM, Delclós J, Benavides FG, eds. *Salud laboral. Conceptos y técnicas para la prevención de riesgos laborales*. 3ª ed. Barcelona: Elsevier; 2007: 275-298.

Porta M. Persistent organic pollutants and the burden of diabetes. *The Lancet* 2006; 68: 558-559.

Lee DH, Jacobs DR Jr, Porta M. Could low level background exposure to Persistent Organic Pollutants contribute to the social burden of type 2 diabetes? [Editorial]. *Journal of Epidemiology & Community Health* 2006; 60: 1006-1008.

Porta M, Castaño Vinyals G, Güell F, Codony M. *El 'Prestige' y las personas. El impacto del vertido sobre la salud de las poblaciones humanas, la salud pública*. Un informe para Greenpeace España. Madrid: Greenpeace España, 2003 (1ª edición: 58 pp, febrero; 2ª edición: 77 pp, marzo).

Porta M, Malats N, Jarrod M, Grimalt JO, Rifà J, Carrato A, et al. Serum concentrations of organochlorine compounds and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. *The Lancet* 1999; 354: 2125-2129.

Alguacil J, Kauppinen T, Porta M, Partanen T, Malats N, Kogevinas M, et al. Risk of pancreatic cancer and occupational exposures in Spain. *Annals of Occupational Hygiene* 2000; 44: 391-403.

Alguacil J, Porta M, Benavides FG, Malats N, Kogevinas M, Fernandez E, et al. Occupation and pancreatic cancer in Spain: a case-control study based on job titles. *International Journal of Epidemiology* 2000; 29: 1004-1013.

Ojajärvi IA, Partanen TJ, Ahlbom A, Boffetta P, Hakulinen T, Porta M, et al. Occupational exposures and pancreatic cancer: a meta-analysis. *Occupational & Environmental Medicine* 2000; 57: 316-324.

Alguacil J, Porta M, Malats N, Kauppinen T, Kogevinas M, Benavides FG, et al. Occupational exposure to organic solvents and K-ras mutations in exocrine pancreatic cancer. *Carcinogenesis* 2002; 23: 101-106.

Alguacil J, Porta M, Kauppinen T, Malats N, Kogevinas M, Carrato A. Occupational exposure to dyes, metals, polycyclic aromatic hydrocarbons and other agents and K-ras activation in human exocrine pancreatic cancer. *International Journal of Cancer* 2003; 107: 635-641.

Porta M, Ayude D, Alguacil J, Jarrod M. Exploring environmental causes of altered ras effects: fragmentation plus integration? *Molecular Carcinogenesis* 2003; 36: 45-52.

Porta M, Zumeta E. Implementing the Stockholm treaty on POPs [Editorial]. *Occupational & Environmental Medicine* 2002; 59: 651-652.

Porta M, Crous M. La acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas: un proceso causal clave entre el medio ambiente y las enfermedades de etiología compleja [Editorial]. *Gaceta Sanitaria* 2005; 19: 273-276.

Porta M, Zumeta E, Ruiz L, Sunyer J, Kogevinas M, Ribas-Fitó N, Jarrod M. Persistent toxic substances and public health in Spain. *International Journal of Occupational and Environmental Health* 2003; 9: 112-117.

Vineis P, Porta M. Causal thinking, biomarkers and mechanisms of carcinogenesis. *Journal of Clinical Epidemiology* 1996; 49: 951-956.

Vineis P, Malats N, Porta M, Real FX. Human cancer, carcinogenic exposures and mutation spectra. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research* 1999; 436: 185-194.

Todas las publicaciones del grupo pueden consultarse en www.imim.es y solicitarse a yrovira@imim.es



6. BIBLIOGRAFÍA

1. Kant I. Citada en: Brownson RC, Baker E, Leet TL, Gillespie KN. Evidence-based public health. Nueva York: Oxford University Press, 2002.
2. Hill AB. The environment and disease: association or causation? Proc R Soc Med 1965; 58: 295-300.
3. Auster P. Invisible (a novel). Londres: Faber & Faber, 2009: 84.
4. Porta M, ed. A dictionary of epidemiology. Nueva York: Oxford University Press; 2008.
5. Reglamento (CE) nº 1907/2006 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 18 de diciembre de 2006, relativo al registro, la evaluación, la autorización y la restricción de las sustancias y preparados químicos (REACH), por el que se crea la Agencia Europea de Sustancias y Preparados Químicos, se modifica la Directiva 1999/45/CE y se derogan el Reglamento (CEE) nº 793/93 del Consejo y el Reglamento (CE) nº 1488/94 de la Comisión así como la Directiva 76/769/CEE del Consejo y las Directivas 91/155/CEE, 93/67/CEE, 93/105/CE y 2000/21/CE de la Comisión. Art 60.2. DOCE L 396, p 149 (30/12/06).
6. Real Decreto 298/2009, de 6 de marzo, por el que se modifica el Real Decreto 39/1997, de 17 de enero, por el que se aprueba el Reglamento de los Servicios de Prevención, en relación con la aplicación de medidas para promover la mejora de la seguridad y de la salud en el trabajo de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia. BOE 57, p 23288-23292 (7/3/09).
7. ACGIH. 2006. TLVs and BEIs. Threshold limit values for chemical substances and physical agents. American Conference of Governmental and Industrial Hygienists, Cincinnati, OH, USA. Disponible en: www.acgih.org/Products/tlvintro.htm.
8. DFG. 2005. MAK- und BAT-Werte-Liste 2005. Senatskommission zur Prüfung gesundheitsschädlicher Arbeitsstoffe. Mitteilung 41. Deutsche Forschungsgemeinschaft, Wiley-VCH, Weinheim, Alemania.
9. Directiva 98/24/CE del Consejo, de 7 de abril de 1998, relativa a la protección de la salud y la seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo (decimocuarta Directiva específica con arreglo al apartado 1 del artículo 16 de la Directiva 89/391/CEE). DOCE L 131 (05/05/1998).
10. Real Decreto 374/2001, de 6 de abril, sobre la protección de la salud y seguridad de los trabajadores contra los riesgos relacionados con los agentes químicos durante el trabajo. BOE 104 Sec 1 p.15893-99 (01/05/2001).
11. Foa V. «The SCOEL Work and Decision-Making Processes». Occupational Limit Values for Hazardous Substances - Healthy working conditions in a global economy Conference; 2007 May 7-8; Dortmund, Germany.
12. Hunter WJ, Aresini G, Haigh R, Papadopoulos P, Von der Hude W. Occupational exposure limits for chemicals in the European Union. Occup Environ Med. 1997;54:217-22.
13. Topping M. Occupational exposure limits for chemicals. Occup Environ Med. 2001;58:138-44.
14. Henschler D. Evaluation of adverse effects in the standard-setting process. Toxicol Lett. 1992;(Spec No: 53-7):64-65.
15. Nielsen GD, Ovrebø S. Background, approaches and recent trends for setting health-based occupational exposure limits: a minireview. Regul Toxicol Pharmacol. 2008;51:253-69.
16. Dourson ML, Andersen ME, Erdreich LS, MacGregor JA. Using human data to protect the public's health. Regul Toxicol Pharmacol. 2001;33:234-56.
17. Alessio L, Campagna M, Lucchini R. From lead to manganese through mercury: mythology, science, and lessons for prevention. Am J Ind Med. 2007;50:779-87.
18. Eduljee GH. Trends in risk assessment and risk management. Sci Total Environ. 2000;249:13-23.



19. INSHT. Límites de exposición profesional para agentes químicos en España, 2009. Ministerio de Trabajo e Inmigración. Madrid; 2009.
20. INSHT. Documentación toxicológica para el establecimiento de los límites de exposición profesional para los agentes químicos. Madrid; 2006. Disponible en: <http://www.insht.es/portal/site/Insht/menuitem.1f1a3bc79ab34c578c2e8884060961ca/?vgnextoid=31afd21548658110VgnVCM2000000805350aRCRD&vgnextchannel=1d19bf04b6a03110VgnVCM100000dc0ca8c0RCRD>
21. Reglamento (CE) No 1272/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo de 16 de diciembre de 2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas. DOCE L 353, p 100-07 (31/12/08).
22. Tatiana Santos, Dolores Romano, Rafael Gadea. Trade Union Priority List for REACH Authorisation. Madrid; 2009.
23. Gadea R y Romano D. La gestión del riesgo químico en las empresas bajo REACH. Intervención sindical. ISTAS, Madrid, 2009.
24. IARC. IARC monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Lyon, France; 2009. Disponible en: <http://monographs.iarc.fr>
25. IARC. Overall Evaluations of Carcinogenicity to Humans. Volumes 1-88. Lyon, France; 2004.
26. Huff J. Industry influences IARC carcinogenesis evaluations. Int J Occup Environ Health. 2003;9:83-4. Errata en: Huff J. Int J Occup Environ Health. 2002;8:249-70.
27. Melnick RL, Brody C, DiGangi J, Huff J. The IARC evaluation of DEHP excludes key papers demonstrating carcinogenic effects. Int J Occup Environ Health. 2003;9:400-2.
28. Needleman H, Huff J. The International Agency for Research on Cancer and obligate transparency. Lancet Oncol. 2005;6:920-1.
29. Siemiatycki J, Richardson L, Straif K, Latreille B, Lakhani R, Campbell S, et al. Listing occupational carcinogens. Environ Health Perspect. 2004;112:1447-59.
30. Hernández L, van Steeg H, Luijten M, van Benthem J. Mechanisms of non-genotoxic carcinogens and importance of a weight of evidence approach. Mutat Res. 2009;682:94-109.
31. Huff J. IARC monographs, industry influence, and upgrading, downgrading, and under-grading chemicals: a personal point of view. International Agency for Research on Cancer. Int J Occup Environ Health. 2002; 8: 249-70. Errata en: Int J Occup Environ Health. 2003; 9: 84.
32. Alguacil J, Santibáñez M, Porta M. Cáncer laboral y cáncer profesional. En: Ruiz-Frutos C, García AM, Delclós J, Benavides FG, eds. Salud laboral. Conceptos y técnicas para la prevención de riesgos laborales. 3ª edición. Barcelona: Masson / Elsevier; 2007: 275-98.
33. Report on Carcinogens. 11ª edición. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Toxicology Program; 2005.
34. Bolt HM, Foth H, Hengstler JG, Degen GH. Carcinogenicity categorization of chemicals –new aspects to be considered in a European perspective. Toxicol Lett 2004; 151: 29-41.
35. US EPA. United States Environmental Protection Agency. guidelines for carcinogen risk assessment. Risk Assessment Forum. SAB review draft. Washington, D.C.; 1999. Disponible en: <http://www.epa.gov/cancerguidelines/draft-guidelines-carcinogen-ra-1999.htm>
36. Sonich-Mullin C, Fielder R, Wiltse J, Baetcke K, Dempsey J, Fenner-Crisp P, et al. IPCS conceptual framework for evaluating a mode of action for chemical carcinogenesis. Regul Toxicol Pharmacol. 2001;34:146-52.
37. Dellarco VL, Baetcke K. A risk assessment perspective: application of mode of action and human relevance frameworks to the analysis of rodent tumor data. Toxicol Sci. 2005;86:1-3.



38. Butterworth BE. A classification framework and practical guidance for establishing a mode of action for chemical carcinogens. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2006;45:9-23.
39. Porta M. Genética y salud pública. En: Sierra A, Sáenz MC, Gómez LI, et al. (eds). *Medicina Preventiva y Salud Pública*. 11ª ed. Barcelona: Elsevier; 2008. p. 939-48.
40. Porta M, Crous M. La acumulación de alteraciones genéticas y epigenéticas: un proceso causal clave entre el medio ambiente y las enfermedades de etiología compleja [Editorial]. *Gac Sanit*. 2005;19:273-6.
41. Rijnkels J. Health-Based Calculated Occupational Cancer Risk Values (HBC-OCRv) for genotoxic carcinogens. Presentation at workshop organised by DG Employment and the Advisory Committee for Safety and Health. Committee on Evaluating Carcinogenic Substances. Health Council of the Netherlands. The Hague; 2006.
42. Plant N. Can systems toxicology identify common biomarkers of non-genotoxic carcinogenesis? *Toxicology*. 2008;254:164-9.
43. IPCS. Transgenic animal mutagenicity assays. World Health Organization, International Programme on Chemical Safety (Environmental Health Criteria 233). Geneva; 2006.
44. Luch A. Nature and nurture - lessons from chemical carcinogenesis. *Nat Rev Cancer*. 2005;5:113-25.
45. Robison AK, Sirbasku DA, Stancel GM. DDT supports the growth of an estrogen-responsive tumor. *Toxicol Lett*. 1985;27:109-13.
46. Bigsby RM, Caperell-Grant A, Madhukar BV. Xenobiotics released from fat during fasting produce estrogenic effects in ovariectomized mice. *Cancer Res*. 1997;57:865-9.
47. Foster WG, Younglai EV, Boutross-Tadross O, Hughes CL, Wade MG. Mammary gland morphology in Sprague-Dawley rats following treatment with an organochlorine mixture in utero and neonatal genistein. *Toxicol Sci*. 2004;77:91-100.
48. Crebelli R. Threshold-mediated mechanisms in mutagenesis: implications in the classification and regulation of chemical mutagens. *Mutat Res*. 2000;464:129-35.
49. Bolt HM, Huici-Montagud A. Strategy of the scientific committee on occupational exposure limits (SCOEL) in the derivation of occupational exposure limits for carcinogens and mutagens. *Arch Toxicol*. 2008;82:61-4.
50. Bolt HM, Degen GH. Human carcinogenic risk evaluation, part II: contributions of the EUROTOX specialty section for carcinogenesis. *Toxicol Sci*. 2004;81:3-6.
51. Dybing E, Sanner T, Roelfzema H, Kroese D, Tennant RW. T25: a simplified carcinogenic potency index: description of the system and study of correlations between carcinogenic potency and species/site specificity and mutagenicity. *Pharmacol Toxicol*. 1997;80:272-9.
52. Morgan KT. A brief review of formaldehyde carcinogenesis in relation to rat nasal pathology and human health risk assessment. *Toxicol Pathol*. 1997;25:291-307.
53. Bogdanffy MS, Valentine R. Differentiating between local cytotoxicity, mitogenesis, and genotoxicity in carcinogen risk assessments: the case of vinyl acetate. *Toxicol Lett*. 2003;140-141:83-98.
54. Topping M. Occupational exposure limits for chemicals. *Occup Environ Med*. 2001;58:138-44.
55. Boobis AR, Daston GP, Preston RJ, Olin SS. Application of key events analysis to chemical carcinogens and noncarcinogens. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2009;49:690-707.
56. SCOEL. Derivation of Occupational Exposure Limits for Carcinogens. Presentation at workshop organised by DG Employment and the Advisory Committee for Safety and Health. Luxembourg; 2006.
57. Guyton KZ, Kyle AD, Aubrecht J, Coglian VJ, Eastmond DA, Jackson M, et al. Improving prediction of chemical carcinogenicity by considering multiple mechanisms and applying toxicogenomic approaches. *Mutat Res*. 2009;681:230-40.
58. Baccarelli A, Bollati V. Epigenetics and environmental chemicals. *Curr Opin Pediatr*. 2009;21:243-51.



59. Loeb L, Harris C. Advances in chemical carcinogenesis: A historical review and prospective. *Cancer Res.* 2008;68:6863-72.
60. Hengstler JG, Bogdanffy MS, Bolt HM, Oesch F. Challenging dogma: thresholds for genotoxic carcinogens? The case of vinyl acetate. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2003;43:485-520.
61. Perera FP. Molecular epidemiology: insights into cancer susceptibility, risk assessment, and prevention. *J Natl Cancer Inst.* 1996;88:496-509.
62. Vineis P, Perera F. Molecular epidemiology and biomarkers in etiologic cancer research: the new in light of the old. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2007;16:1954-65.
63. Oliveira PA, Colaço A, Chaves R, Guedes-Pinto H, De-La-Cruz P LF, Lopes C. Chemical carcinogenesis. *An Acad Bras Cienc.* 2007;79:593-616.
64. Poirier MC. Chemical-induced DNA damage and human cancer risk. *Nat Rev Cancer.* 2004;4:630-7.
65. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals. Disponible en: http://www.oecd.org/document/40/0,3343,en_2649_34377_37051368_1_1_1_1,00.html.
66. SCHER/SCCP/SCENIHR. Scientific Committee on Health and Environmental Risks. Risk assessment methodologies and approaches for genotoxic and carcinogenic substances, 27th plenary, January 2009.
67. Eastmond DA, Hartwig A, Anderson D, Anwar WA, Cimino MC, Dobrev I, et al. Mutagenicity testing for chemical risk assessment: update of the WHO/IPCS Harmonized Scheme. *Mutagenesis.* 2009;24:341-9.
68. Thybaud V, Aardema M, Clements J, Dearfield K, Galloway S, Hayashi M, et al. Strategy for genotoxicity testing: Hazard identification and risk assessment in relation to in vitro testing. *Mutat Res.* 2007;627:41-58.
69. Ellinger-Ziegelbauer H, Aubrecht J, Kleinjans JC, Juergen-Hans A. Application of toxicogenomics to study mechanisms of genotoxicity and carcinogenicity. *Toxicol Lett.* 2009;186:36-44.
70. Vineis P, Malats N, Lang M, et al, eds. Metabolic polymorphisms and susceptibility to cancer. IARC Scientific publications, no. 148. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1999.
71. Khoury MJ, Burke W, Thomson E, eds. Genetics and public health in the 21st century. Using genetic information to improve health and prevent disease. Nueva York: Oxford University Press; 2000.
72. Garte S, Gaspari L, Alexandrie AK, Ambrosone C, Autrup H, Autrup JL, et al. Metabolic gene polymorphism frequencies in control populations. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2001;10:1239-48.
73. Vainio H. Genetic biomarkers and occupational epidemiology—recollections, reflections and reconsiderations. *Scand J Work Environ Health.* 2004;30:1-3.
74. Caporaso NE. Why have we failed to find the low penetrance genetic constituents of common cancers? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2002;11:1544-9.
75. Vineis P, Schulte P, McMichael AJ. Misconceptions about the use of genetic tests in populations. *Lancet.* 2001;357:709-12.
76. WHO. Harmonization Project Document No.2: Chemical-specific adjustment factors for interspecies differences and human variability: guidance document for use of data in dose/concentration – response assessment. World Health Organization, Geneva; 2005. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/publications/2005/9241546786_eng.pdf
77. WHO. Assessing human health risks of chemicals: Derivation of guidance values for health-based exposure limits. *Environmental Health Criteria.* 2006;170:1-40.
78. WHO. Principles for modelling dose-response for the risk assessment of chemicals. World Health Organization. Geneva; 2004. Disponible en: http://www.who.int/ipcs/methods/harmonization/draft_document_for_comment.pdf
79. Bailey S. REACH - will «derived no-effect levels» (DNELS) set under REACH replace occupational exposure li-



- mits? The British Occupational Hygiene Society REACH Steering Group. Occup Hyg News. 2007;20. Disponible en: http://www.bohs.org/resources/res.aspx/Resource/filename/777/06_REACH_Feb_07_newsletter_article.pdf
80. Dourson ML, Felter SP, Robinson D. Evolution of science-based uncertainty factors in noncancer risk assessment. Regul Toxicol Pharmacol. 1996;24:108-20.
81. Humfrey CD. Recent developments in the risk assessment of potentially genotoxic impurities in pharmaceutical drug substances. Toxicol Sci. 2007;100:24-8.
82. Nieuwenhuijsen MJ, ed. Exposure assessment in occupational and environmental epidemiology. Oxford: Oxford University Press; 2003.
83. Wild C, Vineis P, Garte S, eds. Molecular epidemiology of chronic diseases. Chichester (UK): John Wiley & Sons; 2008.
84. Toniolo P, Boffetta P, Shuker DEG, et al., eds. Application of biomarkers in cancer epidemiology. IARC Scientific publications, n°142. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 1997.
85. Carrington M, Hoelzel R. Molecular epidemiology. Oxford University Press: New York; 2001.
86. Rebbeck TR, Ambrosone CB, Shields PG, eds. Molecular epidemiology: applications in cancer and other human diseases. New York: Informa; 2008.
87. Schulte PA, Perera F, eds. Molecular epidemiology. Principles and practice. Orlando, Florida: Academic Press; 1993.
88. Wild CP. Environmental exposure measurement in cancer epidemiology. Mutagenesis. 2009;24:117-25.
89. Kortenkamp A. Low dose mixture effects of endocrine disruptors: implications for risk assessment and epidemiology. Int J Androl. 2008;31:233-40.
90. Silva E, Rajapakse N, Kortenkamp A. Something from "nothing" --eight weak estrogenic chemicals combined at concentrations below NOECs produce significant mixture effects. Environ Sci Technol. 2002;36:1751-6.
91. Rajapakse N, Silva E, Scholze M, Kortenkamp A. Deviation from additivity with estrogenic mixtures containing 4-nonylphenol and 4-tert-octylphenol detected in the E-SCREEN assay. Environ Sci Technol. 2004;38:6343-52.
92. European Agency for Safety and Health at work. Exploratory survey of Occupational Exposure Limits (OELs) for Carcinogens, Mutagens and Reprotoxic substances (CMRs) at EU Member States level. European Risk Observatory Report; 2009.
93. Lawson CC, Grajewski B, Daston GP, Frazier LM, Lynch D, McDiarmid M, et al. Workgroup report: Implementing a national occupational reproductive research agenda--decade one and beyond. Environ Health Perspect. 2006;114: 435-41.
94. Bello Gutiérrez J, López de Cerain Salsamendi A. Fundamentos de Ciencia Toxicológica. Madrid: Ediciones Díaz de Santos; 2001.
95. Nomura T. Transgenerational effects from exposure to environmental toxic substances. Mutat Res. 2008;659:185-93.
96. Rosenstock L, Cullen MR. Textbook of clinical occupational and environmental medicine. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994.
97. Soffritti M, Belpoggi F, Esposti DD, et al. Consequences of exposure to carcinogens beginning during developmental life. Basic Clin Pharmacol Toxicol. 2008;102:118-24.
98. Foster WG, Agzarian J. Toward less confusing terminology in endocrine disruptor research. J Toxicol Environ Health B Crit Rev 2008;11:152-61.
99. Ma L. Endocrine disruptors in female reproductive tract development and carcinogenesis. Trends Endocrinol Metab. 2009;20:357-63.



100. Olea N, Fernández MF, Araque P, Olea-Serrano F. Perspectives on endocrine disruption. *Gac Sanit* 2002;16:250-6.
101. Julvez J, Grandjean P. Neurodevelopmental toxicity risks due to occupational exposure to industrial chemicals during pregnancy. *Ind Health*. 2009;47:459-68.
102. Waters M, Jackson M. Databases applicable to quantitative hazard/risk assessment--towards a predictive systems toxicology. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2008;233:34-44.
103. Real Decreto 363/1995, de 10 de marzo de 1995, por el que se regula la Notificación de Sustancias Nuevas y Clasificación, Envasado y Etiquetado de Sustancias Peligrosas. BOE. n. 133, p. 16544 – 7 (5/6/1995).
104. Hartwig A. MAK Values and pregnancy. Occupational toxicants and MAK values 2008. <http://www.mrw.interscience.wiley.com/makbat/articles/make001/sect1.html>
105. Burdorf A, Figa-Talamanca I, Jensen TK, et al. Effects of occupational exposure on the reproductive system: core evidence and practical implications. *Occup Med*. 2006;56:516-20.
106. Grajewski B, Coble JB, Frazier LM, McDiarmid MA. Occupational exposures and reproductive health: 2003 Teratology Society Meeting Symposium summary. *Birth Defects Res B Dev Reprod Toxicol*. 2005;74:157-63.
107. EPA UPAU. Guidelines for developmental toxicity risk assessment. Risk Assessment Forum. U.S. Environmental Protection Agency. Washington: D.C.; 1991.
108. Pardo Acosta B GMR. Modelos in vivo más usados para la identificación de disrupción endocrina potencial del aparato reproductor. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*. 2009;40:25-8.
109. Programme Endocrine Disruptor Screening Program. US EPA. 2009. Disponible en: <http://www.epa.gov/scipoly/oscpendo/pubs/assayvalidation/tier1battery.htm>
110. Klimisch HJ, Andreae M, Tillmann U. A systematic approach for evaluating the quality of experimental toxicological and ecotoxicological data. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1997;25:1-5.
111. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Criterios de establecimiento de valores límite de exposición profesional en la Unión Europea. Nota Técnica de prevención 525.
112. Brochard P, Cayrouse C. Poisons for reproduction in work environment. *Gynecol Obstet Fertil*. 2006;34:964-9.
113. Till C, Koren G, Rovet JF. Workplace standards for exposure to toxicants during pregnancy. *Can J Public Health*. 2008;99:472-4.
114. American Conference of Industrial Hygienists. Disponible en: <http://www.acgih.org/TLV/TLVPresentation.htm>.
115. Allanou R, Hansen B.G., Van der Bilt Y. Public availability of data on EU High Production Volume Chemicals. European Chemicals Bureau, 1999.
116. Online European Risk Assessment Tracking System (ORATS). Disponible en: <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/esis/index.php?PGM=ora>
117. Setzer WR KC. Use of NOAEL, benchmark dose, and other models for human risk assessment of hormonally active substances. *Pure Appl Chem*. 2003;75:2151–8.
118. U.S. Benchmark Dose Technical Guidance Document. Environmental Protection Agency. Risk Assessment Forum. Washington, DC; 2000.
119. Greim H, Arand M, Autrup H, Bolt HM, Bridges J, Dybing E, et al. Toxicological comments to the discussion about REACH. *Arch Toxicol*. 2006;80:121-4.
120. Winker R, Rudiger HW. Reproductive toxicology in occupational settings: an update. *Int Arch Occup Environ Health* 2006;79:1-10.



121. Moore JA, Daston GP, Faustman E, et al. An evaluative process for assessing human reproductive and developmental toxicity of agents. *Reprod Toxicol*. 1995;9:61-95.
122. L'institut national de recherche et de sécurité (INRS). Produits chimiques cancérigènes, mutagènes, toxiques pour la reproduction. 2008.
123. Directiva 92/85/CEE del Consejo, de 19 de octubre de 1992, relativa a la aplicación de medidas para promover la mejora de la seguridad y de la salud en el trabajo de la trabajadora embarazada, que haya dado a luz o en período de lactancia. DOCE L 348, p. 0001 - 8 (28/11/1992).
124. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Tóxicos para la reproducción femenina. Nota técnica de prevención 542. Madrid: Ministerio de Trabajo.
125. Dor F, Multigner L, Doornaert B, Lafon D, Duboudin C, Empereur-Bissonnet P, et al. The French approach to deriving toxicity reference values: An example using reprotoxic effects. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2009;55:353-60.
126. Seeley MR, Tonner-Navarro LE, Beck BD, Deskin R, Feron VJ, Johanson G, et al. Procedures for health risk assessment in Europe. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2001;34:153-69.
127. Agence Française de Sécurité Sanitaire l'environnement et du travail. 2006. Document de Référence pour la construction d'une valeur toxicologique de référence fondée sur des effets reprotoxiques. 2006.
128. Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). List f MAK and BAT Values 2009. Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. Report N°.45. 2009.
129. Myers JP, Zoeller RT, vom Saal FS. A Clash of Old and New Scientific Concepts in Toxicity, with Important Implications for Public Health. *Environ Health Perspect*. 2009;117:1652-5.
130. American Conference of Governmental Industrial Hygienists: 2007 TLVs® and BEIs®. Threshold Limit Values for Chemical Substances, Physical Agents and Biological Exposure Indices.
131. European Commission: Occupational Exposure Limits. Updated summary of SCOEL Recommendations (1999-2003).
132. Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). List f MAK and BAT Values 2009. Commission for the Investigation of Health Hazards of Chemical Compounds in the Work Area. Report N°.45. 2009.
133. Health and Safety Executive: EH40/2005 Workplace Exposure Limits 2005. HSE, Sudbury (Inglaterra).
134. Hennes EW, F; Ravenzwaay, B. Wiegand, HJ. Workshop: Influence of maternal toxicity in studies on developmental toxicity. *Regul Toxicol Pharmacol* 2005;43:114-5.