



Foto: Danielle Donders/Mothership Photography

\* Publicado originalmente en *Environmental Health Perspectives*, volumen 120, número 4, abril 2012, páginas A158-A163.

# CARACTERIZACIÓN DE LOS EXPOSOMAS

## Herramientas para medir las exposiciones ambientales personales\*

**L**as exposiciones que provocan enfermedades crónicas suelen tener lugar años, tal vez incluso décadas, antes de que se diagnostique la enfermedad. Por ese motivo los bioindicadores recogidos en puntos individuales en el tiempo no pueden ofrecer un panorama completo del modo en que la enfermedad se produce en una persona. Para ello es necesario echar un vistazo al “exposoma”, es decir, al conjunto de exposiciones experimentadas por una persona a lo largo de su vida. Sin embargo, los esfuerzos por vincular las exposiciones ambientales con las enfermedades se han visto obstaculizados por la dificultad de medir con precisión esas exposiciones que suceden día con día, así como las sustancias que están presentes en los cuerpos de las personas.

El término “exposoma” fue acuñado originalmente en el año 2005 por Christopher Wild,<sup>1</sup>

actual director de la Agencia Internacional de Investigación sobre Cáncer, en reconocimiento del hecho de que los factores genéticos no explican en su mayor parte la variabilidad de las enfermedades humanas. El concepto de exposoma refleja la realidad de que las personas están expuestas a agentes que pueden llegar a dañar su salud debido tanto a la contaminación como a factores no relacionados con ésta, incluyendo sustancias químicas industriales, emisiones de la combustión, radiación, calor/frío, ruido y alimentos. El exposoma también incluye factores conductuales tales como los niveles de actividad y las respuestas al estrés. Por último, el exposoma de un individuo incluye su microbioma,<sup>2</sup> esto es, su enorme conjunto de microbios comensales. Todas estas exposiciones y factores pueden variar en el transcurso de un día, por no hablar de las semanas, meses y años que conforman una vida.

**E**l exposoma de una persona es la suma total de los múltiples factores de exposición que llenan los días, meses y décadas de la vida de esa persona: las exposiciones a sustancias químicas, radiación, calor/frío, ruido, alimentos, estrés y otros agentes ambientales; los comportamientos de salud y actividades, y el perfil único de las bacterias comensales que hacen de una persona un individuo.

En los últimos años han comenzado a surgir metodologías y herramientas que prometen captar con mayor facilidad información sobre al menos algunas de las exposiciones ambientales con las que una persona puede entrar en contacto en el transcurso de su vida. Las nuevas herramientas provienen de una amplia gama de disciplinas—algunas de las cuales quedan fuera del dominio ordinario de la salud ambiental—y ya están ayudando a los investigadores a reunir datos sobre exposiciones en el mundo real. Estas herramientas también prometen facilitar la realización de estudios que puedan poner de manifiesto vínculos inesperados entre las exposiciones ambientales y las enfermedades.

Varios de los enfoques y herramientas más prometedoras fueron examinados en un taller del Comité Ejecutivo de Ciencias Emergentes para la Salud Ambiental de las Academias Nacionales en diciembre de 2011.<sup>3</sup> Algunas de estas herramientas ya están ayudando a los investigadores a entender la manera en que los factores ambientales contribuyen a generar importantes riesgos para la salud, incluyendo enfermedades cardiovasculares y cáncer, dice Steve Rappaport, director del Centro de Biología de las Exposiciones de la Universidad de California (UC), Berkeley, quien organizó el taller.

### **Medición de las exposiciones externas**

Las herramientas para medir el exposoma están dirigidas hacia las exposiciones que tienen lugar tanto fuera (“dosis de exposición”) como dentro del cuerpo (“dosis absorbida”); ambas son importantes para determinar si un agente ambiental realmente provoca un daño, según afirma Linda Birnbaum, directora del Instituto Nacional de Ciencias de la Salud Ambiental (NIEHS). Por ejemplo, tal como lo han demostrado

algunos estudios, como las investigaciones que incluyen mediciones del arsénico en la tierra, el polvo doméstico y la orina,<sup>4</sup> un gran incremento en la exposición externa no necesariamente conduce a un incremento considerable de la exposición interna. Al mismo tiempo, si no se puede decir de dónde proviene una sustancia química medida internamente, es imposible prevenir la exposición.

Algunas de las nuevas herramientas para medir las exposiciones externas sacan partido del hecho de que la mayoría de los ciudadanos del mundo—aproximadamente 5 900 millones de personas—están suscritos a servicios de telefonía celular.<sup>5</sup> Los teléfonos celulares ya contienen componentes que los hacen adecuados para recopilar información clave asociada a las exposiciones ambientales, señala Michael Jerrett, profesor adjunto del programa de Ciencias de la Salud Ambiental de la Escuela de Salud Pública de la UC en Berkeley. Estos instrumentos incluyen medidores de luz ambiental, sensores del Sistema de Posicionamiento Global (GPS) y acelerómetros, que miden la velocidad. Estos últimos dos instrumentos pueden indicar cuando las personas están viajando en un vehículo de motor, el cual puede ser una importante fuente de exposición a contaminantes atmosféricos, señala.

En un estudio piloto inédito realizado en Barcelona, Jerrett ha estado probando la aptitud de los teléfonos celulares para rastrear las exposiciones ambientales. Los movimientos de los estudiantes, rastreados por los teléfonos celulares y otros dispositivos que pueden llevarse puestos, se superponen a los modelos desarrollados por la Agencia de Energía de esa ciudad y otros organismos para predecir los niveles de contaminación atmosférica. Jerrett dice que las mediciones recolectadas mediante los teléfonos celulares se comparan favorablemente con las que se toman por medio del equipo que se ha uti-

lizado tradicionalmente para medir las exposiciones personales, el cual con frecuencia era del tamaño de una mochila.

Otra manera en que los teléfonos celulares pueden ayudar a los investigadores es interconectándose con dispositivos que recogen importante información relacionada con las exposiciones. Un dispositivo prometedor es el monitor SensPod apto para Bluetooth, que recoge datos sobre ozono, monóxido de carbono, dióxido de carbono, óxidos de nitrógeno, ruido y radiación ultravioleta. En Copenhague, dice Jerrett, una red de ciclistas individuales viajan por toda la ciudad con SensPods montados en sus bicicletas. Los monitores informan a los ciclistas sobre sus exposiciones personales conforme se mueven por la ciudad, y los datos pueden ser cargados a una aplicación que los reúne en un mapa de la contaminación. Los usuarios pueden sincronizar sus SensPods con un teléfono inteligente con Android mediante una aplicación móvil que permite que ambos dispositivos se comuniquen entre sí y compartan los datos con una red más amplia de usuarios de SensPod. Personas de más de veinte países de Europa, Asia y América del Norte están utilizando los sensores móviles, según Sensaris, la compañía que fabrica estos dispositivos.<sup>6</sup> No es descabellado imaginar que los investigadores empleen estos dispositivos para fines de investigación.

Entre los investigadores que trabajan para expandir la variedad de sustancias químicas que pueden ser detectadas por los sensores de bolsillo se encuentra Nongjian (NJ) Tao, director del Centro de Bioelectrónica y Biosensores del Instituto de Biodiseño de la Universidad Estatal de Arizona. Él ha creado un dispositivo inalámbrico del tamaño de un teléfono celular que se puede llevar puesto en un cinturón, y que tiene la capacidad de detectar hidrocarburos derivados del petróleo,

**E**l esfuerzo físico es una consideración importante cuando se mide la exposición porque los niveles de actividad pueden la cantidad de un contaminante que una persona inhala. Según un estudio sobre las diversas modalidades de desplazamiento, las personas que se desplazaban en bicicleta inhalaban más de ocho veces la cantidad de aire por minuto que aquellas que viajaban en automóvil, y la mitad más que las personas que se desplazaban a pie.<sup>8</sup> Por supuesto, la respuesta para evitar las exposiciones no es hacer menos ejercicio; más bien, puede ser que algún día la tecnología inteligente aconseje a las personas que se desplazan pequeños cambios de comportamiento (como el dejar espacio detrás del vehículo precedente o tomar una ruta ligeramente distinta) que pueda reducir significativamente la exposición a los contaminantes.



Foto: P2 Photography

tales como benceno, tolueno, etileno y xileno (de todos los cuales se sabe o se sospecha que son carcinógenos para el ser humano).<sup>7</sup> Las pruebas de campo realizadas en una planta de tratamiento de desechos del estado de Arizona demostraron que el sensor era capaz de detectar vapores ácidos asociados al tratamiento de desechos, incluyendo ácido fosfórico y ácido hidroclorhídrico. Tao afirma que sus dispositivos han demostrado ser lo suficientemente sensibles como para detectar benceno, tolueno, etileno y xileno en concentraciones de 1 ppb, por lo que son comparables con los detectores disponibles en el mercado.

Las pruebas que Tao ha realizado hasta la fecha pueden ser de utilidad para evaluar las exposiciones personales, puesto que pueden generar resultados similares a los que muestran los sistemas de monitoreo de la Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos. Tao se está preparando para comenzar a realizar pruebas piloto de los monitores en estudios epidemiológicos.

Otro aspecto importante de la exposición personal gira en torno a los niveles de esfuerzo de los individuos. Stephen Intille, profesor adjunto del Colegio de Ciencias de la Información y de la Computación del Colegio Bouvé de Ciencias

de la Salud en la Universidad del Noreste, dirigió el desarrollo del sistema Wockets, un dispositivo que se puede llevar puesto y que tiene la capacidad de registrar la actividad física de las personas. Estos datos son importantes para la evaluación de las exposiciones porque el esfuerzo físico puede modificar la dosis de contaminación que una persona recibe. Según un estudio, las personas que viajaban en automóvil o en autobús inhalaban aproximadamente 4.5 l de aire por minuto, mientras que las personas que viajaban en metro inhalaban 10 l/min, las que se desplazaban a pie inhalaban 23 l/min, y los ciclistas, 37 l/min.<sup>8</sup>

Los dispositivos Wockets de Intille son diferentes de los monitores de actividad que se pueden llevar puestos y que están orientados al consumidor, tales como los monitores del ritmo cardíaco y los podómetros en el sentido de que proporcionan datos continuos sobre el tipo, intensidad, duración y localización de la actividad física de las partes superior e inferior del cuerpo del usuario durante meses enteros. Además, recogen datos sobre el cumplimiento de las instrucciones, de modo que los investigadores sepan si se están utilizando o no los monitores. En un principio los Wockets fueron diseñados con la participación de un grupo de voluntarios autodenominados “no tecnófilos” de entre 22 y 82 años de edad a fin de garantizar que sean suficientemente fáciles de usar incluso para los participantes del estudio con menos destrezas tecnológicas. El equipo de Intille también ha creado aplicaciones de “recordatorio” para los teléfonos Android y los programas de Windows Mobile a fin de estimular a los participantes para que cumplan los protocolos de la investigación. Espera haber recopilado suficientes datos para verificar, a más tardar a finales de 2012, que los Wockets funcionan tal como se ha prometido.

Dado que los datos obtenidos de sensores personales como los que produce Sensoris pueden ser subidos en línea casi en tiempo real, esto crea el marco para lo que Jerrett llama “redes de detección participativa” alimentadas por las aportaciones de los ciudadanos conectados. (Si bien se puede disponer muy rápidamente de los datos de los Wockets, el acceso a ellos estará estrictamente controlado por los investigadores, subraya Intille). Independientemente de si los datos provienen de individuos o de estaciones de monitoreo centralizadas, tienen un enorme potencial educativo, afirma Intille: aquellas personas que participen en la red podrían aprender sobre las exposiciones potenciales

asociadas a cualquier punto dado en el espacio y el tiempo, y contar con datos pormenorizados sobre las exposiciones también permitiría a los investigadores diseñar intervenciones para reducir las exposiciones, las cuales podrían programarse en dispositivos inteligentes.

“Una cosa es saber dónde están expuestas las personas o a qué cantidades están expuestas, pero una vez que usted sepa además algo sobre su comportamiento, quizá podrá ayudarlas a cambiar sus niveles de exposición”, dice Intille. Por ejemplo, la tecnología inteligente podría revelar cuándo los cambios pequeños en el comportamiento (como el permanecer más lejos de los autos que van delante en el tráfico o el tomar una ruta ligeramente distinta) podrían producir cambios considerables en la exposición a contaminantes que exacerban el asma, señala. Sin embargo, Intille y Jerrett coinciden en que es necesario resolver importantes cuestiones de privacidad antes de que estos conceptos puedan ser puestos en práctica plenamente.

### Datos de exposición interna

Una gran ventaja de enfocarse en el exposoma interno es que no es necesario saber con exactitud qué se está buscando para encontrar algo importante para la salud humana, dice Rappaport. “Comparando patrones complejos de señales químicas detectadas en la sangre de personas sanas y de personas enfermas, es posible identificar determinadas sustancias químicas cuyos niveles son más elevados o más bajos en las personas que padecen la enfermedad”, explica. Añade que esto resulta prometedor para ayudar a los científicos a descubrir y caracterizar aquellos factores de riesgo hasta ahora desconocidos que subyacen en una gran porción de la carga de las enfermedades crónicas.

Las tecnologías para recopilar datos sobre el exposoma interno in-

cluyen ensayos en los que se emplea el plasma de la sangre, orina, heces fecales y células de la parte interior de la mejilla o de una fosa nasal. Algunas de estas tecnologías ya existen para otros fines. Por ejemplo, Rajeshwari Sundaram, investigador del Instituto Nacional Eunice Kennedy Shriver de Salud Infantil y Desarrollo Humano, señala que los monitores de fertilidad que se venden sin necesidad de prescripción médica y que son utilizados por las parejas que buscan el embarazo pueden ser de utilidad para recopilar datos hormonales de mujeres en edad fértil. Sundaram participa en la Investigación Longitudinal de Fertilidad y Medio Ambiente (LIFE por sus siglas en inglés) de los Institutos Nacionales de Salud, estudio que utiliza los monitores para captar los cambios diarios de los niveles de las hormonas reproductivas en un grupo de mujeres que están intentando embarazarse. El estudio LIFE, en el que también participan hombres, está investigando la manera en que la exposición a diversos compuestos que provocan trastornos endocrinos afecta a los tejidos cuyo funcionamiento depende de las hormonas, tales como la calidad del semen, el tiempo para el embarazo, la esterilidad, la pérdida del embarazo, la duración de la gestación y el tamaño del producto al momento de nacer.<sup>9</sup>

Otro proyecto en marcha para recopilar datos sobre el exposoma interno es el dirigido por Avrum Spira, pulmonólogo de la Universidad de Boston. Spira está examinando los perfiles de expresión de genes en las vías aéreas humanas como indicios de la exposición interna al humo de tabaco y de los fogones. Este grupo se enfoca actualmente en el estudio de la expresión de las vías aéreas en las pequeñas secuencias no codificantes del ARN conocidas como microARN o miARN, las cuales regulan la respuesta genética al humo de tabaco.<sup>10</sup> El trabajo del grupo de Spira se basa en la hipótesis de que la exposición al

humo de cigarrillo y a otros tipos de humo altera la expresión de los genes de las epiteliales a lo largo de todo el tracto respiratorio<sup>11</sup> y de que la variabilidad en esta respuesta de expresión genética está asociada con el riesgo de desarrollar cáncer de pulmón.<sup>12</sup> Uno de los proyectos actuales del grupo consiste en identificar nuevos miARN en las vías aéreas que puedan llegar a servir como bioindicadores para detectar cáncer de pulmón con base en una muestra que pueda tomarse

fácilmente a través de la nariz o de la boca. El equipo también está investigando si la exposición a la biomasa en combustión, como la que se deriva de los fogones, altera la expresión de los genes en estas células.

Uno de los hallazgos más inesperados que resultaron de una investigación sobre el exposoma interno fue publicado el año pasado, cuando un grupo dirigido por Stanley Hazen, jefe de la Sección de Cardiología Preventiva y Rehabilitación

de la Clínica de Cleveland, atrajo la atención porque identificó una posible asociación entre el consumo de colina y otros nutrientes en conjunto con el microbioma y la génesis de enfermedades cardiovasculares.<sup>13</sup> Según Hazen, el microbioma es particularmente importante porque es un filtro de lo que llama nuestra máxima exposición ambiental (es decir, lo que comemos) y es uno de los factores que más contribuyen a nuestra exposición interna.

**E**l microbioma es particularmente importante porque es un filtro de lo que constituye quizá nuestra máxima exposición ambiental: los alimentos. Es más, diversas bacterias intestinales pueden convertir a los contaminantes en nuevas formas que pueden ser más o menos biodisponibles que el compuesto original. Las variaciones en los microbiomas de los individuos podrían ayudar a entender por qué las diferentes personas tienen niveles distintos de susceptibilidad a las enfermedades influidas por el medio ambiente.



Foto: Ralph Crane

Hazen es el principal investigador en un estudio clínico en el que se está dando seguimiento a más de 10 000 pacientes en un intento por identificar, en el plasma sanguíneo y vías relacionadas, moléculas pequeñas cuya presencia permita predecir un riesgo incrementado de eventos cardiovasculares importantes como los infartos. Estudiando muestras de 150 personas seleccionadas al azar que experimentaron un ataque cardíaco o un derrame cerebral en los tres años que siguieron al inicio del estudio, junto con sujetos de control del mismo sexo y edad, el grupo de Hazen detectó una multitud de compuestos candidatos asociados al riesgo de enfermedades cardiovasculares.

La investigación reveló que cuando los animales y las personas consumen una dieta rica en colina (un compuesto que abunda en la carne, las aves de corral y los huevos), los microbios de sus intestinos pueden transformar la colina en trimetilamina. La trimetilamina se metaboliza rápidamente en el hígado, convirtiéndose en óxido de *N*-trimetilamina (TMAO). Hazen descubrió que los ratones con niveles elevados de TMAO sufrían un engrosamiento acelerado de las paredes arteriales debido a la acumulación de colesterol, en comparación con los ratones cuyos niveles de TMAO eran bajos. El grupo de Hazen demostró además que un cóctel de antibióticos de amplio espectro podía suprimir la flora intestinal en los ratones y prevenir la producción de TMAO aterogénico a partir de la colina que se encontraba en la lecitina ingerida en la yema de huevo.<sup>13</sup>

Hazen también reportó que en un grupo de casi 2 000 pacientes con enfermedad cardiovascular y controles, los niveles de TMAO en plasma pronosticaron un riesgo futuro de eventos cardíacos independiente de los factores de riesgo tradicionales.<sup>13</sup> Esto sugiere que el perfil del microbioma de una persona podría afectar su riesgo de sufrir un ataque cardíaco

tanto o más que la alimentación. También podría ayudar a explicar por qué algunas personas pueden ingerir sin problemas una dieta rica en colesterol mientras que otras no: tal vez aquellas cuya flora intestinal no produce mucho TMAO tienen un menor riesgo por ingerir alimentos ricos en grasas, dice Hazen. Si bien la colina es un micronutriente esencial para el desarrollo del cerebro, es posible que muchas personas la estén consumiendo en exceso, añade Hazen, en parte debido al uso generalizado de la lecitina en los productos horneados comerciales para mantenerlos suaves y fáciles de masticar.

Existen por lo menos otros diez ejemplos en los que los investigadores han utilizado un enfoque de detección sin un objetivo específico, propio de las ciencias “ómicas”, como el que utilizó el grupo de Hazen, para identificar indicadores potenciales de las enfermedades, dice Rappaport. “Acumulando las sustancias químicas activas de estos estudios en una biblioteca de riesgos ambientales potenciales, en el futuro los investigadores podrán determinar si estas sustancias químicas intervienen en multitud de enfermedades cuyos orígenes se desconocen actualmente”, dice.

### Gestión de los datos

Sin embargo, para caracterizar verdaderamente al exposoma se deben integrar estas modalidades de medición interna y externa. Si bien las exposiciones externas no se prestan para el enfoque no focalizado de las ciencias ómicas que ha dado lugar a avances recientes relativos al exposoma interno, Rappaport hace hincapié en que la contaminación atmosférica y del agua, así como otros factores externos como el ejercicio y el estrés, contribuyen a las enfermedades humanas y deben ser controlados. “Para esto se requerirán más y mejores métodos para vigilar en forma simultánea múltiples factores estresantes externos focalizados y,

con el tiempo, para combinar las mediciones externas con los exposomas internos”, agrega.

La capacidad de comparar muestras tomadas antes y después que se presente cualquier manifestación de una enfermedad es una ventaja obvia para el estudio del exposoma. Rappaport señala que los investigadores pueden llevar adelante la ciencia desarrollando estudios prospectivos de cohorte que reúnan datos sobre los factores estresantes externos a la vez que obtienen y almacenan sangre u otros bioespecímenes para mediciones futuras de los exposomas internos.

De conformidad con lo anterior, Nathaniel Rothman, director de Estudios Moleculares del Instituto Nacional del Cáncer, dice que actualmente se están realizando en el mundo entre 40 y 50 estudios generales prospectivos de cohorte con diversas muestras biológicas e información de historias clínicas disponibles que los científicos podrían utilizar en futuros estudios del exposoma. Observa que los estudios en los que se han tomado muestras repetidas pueden ser de particular utilidad. Birnbaum añade que el NIEHS mantiene una enorme colección de especímenes biológicos obtenidos de estudios realizados por investigadores intramuros. Suzanne Fitzpatrick, jefa de asesores científicos de la Oficina del Científico Principal de la Administración de Alimentos y Medicamentos, señala que las muestras recolectadas durante las pruebas de medicamentos pueden estar disponibles para ser utilizadas asimismo por otros investigadores. Paul Elliott, jefe del Departamento de Epidemiología y Salud Pública de la Escuela de Salud Pública del Colegio Imperial de Londres, dice que el Reino Unido está considerando una propuesta para readaptar las instalaciones construidas para las pruebas de detección de drogas en los Juegos Olímpicos del verano de 2012, con el fin de invertir

en lo que denominó la investigación exposómica”.

Chirag Patel, investigador de postdoctorado de la Escuela de Medicina de la Universidad Stanford, considera que ahora es posible establecer exhaustivamente la conexión entre los factores ambientales y las enfermedades utilizando los métodos de análisis de alto rendimiento comúnmente utilizados en las investigaciones basadas en los genomas. Para probar su concepto de los llamados estudios de asociación en todo el medio ambiente utilizó muestras del suero sanguíneo y de orina de las cohortes de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES) desde 1999 hasta 2006. En 2010 su grupo reportó asociaciones inesperadas entre la diabetes tipo 2 y las exposiciones ambientales al epóxido de heptacloro y al  $\gamma$ -tocoferol.<sup>14</sup> También encontró asociaciones con los bifenilos policlorados (PBC), que ya antes habían sido asociados a esta forma de diabetes, así como con los plaguicidas. Algunos investigadores en otros lugares han planteado la hipótesis de que estas sustancias químicas podrían incrementar el riesgo de obesidad y enfermedades metabólicas.

Más recientemente, el grupo de Patel utilizó las mismas técnicas con datos de la encuesta NHANES para detectar asociaciones entre ciertas sustancias químicas y la presencia de lípidos en la sangre.<sup>15</sup> Los hallazgos preliminares sugieren que puede haber una asociación entre los niveles más elevados de triglicéridos y los niveles más bajos de lipoproteína colestero de alta densidad o “buena”, por una parte, y las concentraciones más elevadas de contaminantes solubles en grasa como los PBC y los dibenzofuranos, por la otra. Patel dice que estas asociaciones ameritan mayor investigación, si bien aclara que es necesario investigar mediante estudios longitudinales y de seguimiento el potencial para medir factores de confusión y revertir los sesgos causa-

les. Es decir, dado que estos estudios son transversales, es absolutamente posible que estas asociaciones sean una consecuencia y no la causa de la enfermedad.

En el futuro a largo plazo, Patel pronostica una época en la que las mejoras en nuestra capacidad de medir tanto el exposoma interno como el externo permitirán a los investigadores evaluar cientos o millares de factores diferentes en relación con enfermedades o estados de salud específicos. Prevé que a fin de utilizar esa información para descubrir asociaciones con la enfermedad, se requerirán nuevos métodos analíticos e informáticos. Esto fue un tema de discusión en los primeros estudios de genómica, y llegado un momento dio lugar a una proliferación de nuevas técnicas estadísticas y al campo de la bioinformática, señala.

Birnbaum, por su parte, es cautelosamente optimista respecto a la promesa de estudios de asociación en todo el medio ambiente. “Los factores genéticos son inherentemente menos complejos que los factores ambientales”, subraya. “Es posible que necesitemos algunas herramientas adicionales para lidiar con el medio ambiente. Si bien ahora la informática está realizando un trabajo excelente con la información genética, me parece que nos queda todavía un largo camino por recorrer, y necesitamos una mayor comprensión y muchos más enfoques bioinformáticos para manejar la riqueza de información que se derivará del exposoma”.

**Kellyn S. Betts**, ha escrito sobre los contaminantes ambientales, los riesgos y la tecnología para resolver problemas ambientales para publicaciones tales como *EHP* y *Environmental Science & Technology* durante más de doce años.

## Referencias y notas

1. Wild C. Complementing the genome with an “exposome”: the outstanding challenge

of environmental exposure measurement in molecular epidemiology. *Cancer EpidemiolBiomarPrev* 14(8):1847-1850 (2005); <http://dx.doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-05-0456>.

2. Betts K. A study in balance: how microbiomes are changing the shape of environmental health. *Environ Health Perspect* 119(8):A340-A346 (2011); <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.119-a340>.

3. Emerging Technologies for Measuring Individual Exposomes [workshop], Washington, DC, 8-9 Dec 2011. Washington, DC: Las Academias Nacionales (2012). Disponible en: <http://nas-sites.org/emergingscience/workshops/individual-exposomes/> [consultada el 5 de marzo de 2012].

4. Kavanagh P, et al. Urinary arsenic species in Devon and Cornwall residents, UK. A pilot study. *Analyst* 123(1):27-29 (1998); <http://dx.doi.org/10.1039/A7048931>.

5. The World in 2011: ICT Facts and Figures [página web]. Ginebra, Suiza: Unión Internacional de Telecomunicaciones (2011). Disponible en: <http://www.itu.int/ITU-D/ict/facts/2011/material/ICTFactsFigures2011.pdf> [consultada el 5 de marzo de 2012].

6. Sensaris. Discover our SensPods [página web]. Crolles, Francia: Sensaris (2012). Disponible en: <http://www.sensaris.com/products/senspod/> [consultada el 5 de marzo de 2012].

7. NTP. Report on Carcinogens, 12th Edition. Research Triangle Park, NC: Programa Nacional de Toxicología, Departamento de Salud y Servicios Humanos de Estados Unidos (2011). Disponible en: <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/roc12.pdf> [consultado el 5 de marzo de 2012].

8. de Nazelle A, et al. Improving health through policies that promote active travel: a review of evidence to support integrated health impact assessment. *Environ Intd* 37(4):766-777 (2011); <http://dx.doi.org/10.1016/j.envint.2011.02.003>.

9. Buck Louis GM, et al. Heavy metals and couple fecundity, the LIFE Study. *Chemosphere*; <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2012.01.017> [en línea a partir del 4 de febrero de 2012].

10. Schembri S, et al. MicroRNAs as modulators of smoking-induced gene expression changes in human airway epithelium. *ProcNatAcadSci USA* 106(7):2319-2324 (2009); <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0806383106>.

11. Spira A, et al. Effects of cigarette smoke on the human airway epithelial cell transcriptome. *ProcNatAcadSci USA* 101(27):10143-10148 (2004); <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0401422101>.

12. Spira A, et al. Airway epithelial gene expression in the diagnostic evaluation of smokers with suspect lung cancer. *Nature Med* 13(3):361-366 (2007); <http://dx.doi.org/10.1038/nm1556>.

13. Wang Z, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 472(7341):57-63 (2011); <http://dx.doi.org/10.1038/nature09922>.

14. Patel CJ, et al. An environment-wide association study (EWAS) on type 2 diabetes mellitus. *PLoS ONE* 5(5):e10746 (2010); <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0010746>.

15. Patel CJ, et al. Systematic evaluation of environmental factors: persistent pollutants and nutrients correlated with serum lipid levels. *Int J Epidemiol*; <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dys003> [en línea a partir del 15 de marzo de 2012].



# Estrategias en disputa para mitigar la contaminación por nitrógeno reactivo\*

La munificencia agrícola de California central, que durante décadas ha surtido a los estantes de las tiendas de abarrotes de toda América del Norte, también ha abastecido de nitratos a las aguas subterráneas de la región, según un estudio realizado a lo largo de dos años por investigadores de la Universidad de California en Davis.<sup>1</sup> Los acuíferos, que proveen de agua potable a millares de personas, exceden regularmente los límites estatales de seguridad<sup>1</sup> de las concentraciones de nitratos, por lo que pueden llegar a incrementar el riesgo de trastornos tiroidales, resultados adversos del parto, problemas circulatorios y cáncer.<sup>2</sup>

El estudio se ha denominado SBX2 1 en honor al proyecto de ley<sup>3</sup> de 2008 del Senado de California, el cual exigía al Consejo para el Manejo de los Recursos Hídricos del Estado de California presentar un informe sobre la contaminación del agua potable con nitratos, un problema sobre el cual advirtió el gobierno estatal unos 20 años antes.<sup>4</sup> El informe, preparado por el Centro de Ciencias de Cuencas de la UC en Davis, reúne datos de dos docenas de agencias privadas y gubernamentales, conformando una

base de datos que comprende 100 000 muestras de casi 20 000 pozos. Los resultados fueron anunciados formalmente en un taller realizado el 13 de marzo de 2012.

El informe concluye que las acciones reguladoras llevadas a cabo hasta la fecha no han logrado contener la contaminación por nitratos de las aguas subterráneas, problema que puede de hecho empeorarse en las próximas décadas. No obstante, añaden los autores, existen opciones de costo bajo y moderado que podrían controlar eficazmente la contaminación, siempre y cuando se aplique la voluntad política e industrial adecuada para implementarlas. “Me siento muy optimista en cuanto a que dentro de veinte años no habrá otro informe a la legislatura”, concluyó el investigador principal Thomas Harter después del taller de tres horas, que incluyó una mesa redonda para exponer una amplia gama de enfoques del problema.

Este sentimiento se vio reflejado en la edición de *Issues in Ecology* [Cuestiones de ecología] del invierno de 2012, titulada “Exceso de nitrógeno en el medio ambiente de Estados Unidos: tendencias, riesgos y soluciones”.<sup>5</sup> Un

\* Publicado originalmente en *Environmental Health Perspectives*, volumen 120, número 5, mayo 2012, páginas A200-A203.

equipo de autores dirigidos por Eric A. Davidson, director ejecutivo y científico principal del Centro de Investigación Woods Hole, informaron que se han logrado “importantes éxitos en la reducción de emisiones de nitrógeno a la atmósfera, y esto ha mejorado la calidad del aire”. También señalaron que se han identificado opciones eficaces para reducir las pérdidas de nitrógeno en la agricultura, “si bien sigue habiendo impedimentos políticos y económicos para adoptarlas”.

### ¿Qué es la contaminación por nitrógeno reactivo?

Los efectos de la contaminación por nitrógeno pueden encontrarse en todos aquellos lugares donde el nitrógeno haya transformado el aire, el agua o la tierra. El culpable en todos los casos es el nitrógeno reactivo, es decir, cualquier forma del elemento que no sea el gas atmosférico no reactivo  $N_2$ . Allí donde ocurren reacciones, los productos más comunes son el óxido nitroso ( $N_2O$ ), el nitrito ( $NO_2$ ), el nitrato ( $NO_3$ ), el amoníaco ( $NH_3$ ) y los óxidos de nitrógeno ( $NO_x$ ).

La mayor parte del nitrógeno reactivo del medio ambiente proviene de la agricultura.<sup>6</sup> En 1909 los químicos Fritz Haber y Carl Bosch, laureados con el premio Nobel, desarrollaron el proceso Haber, que permitía la producción de amoníaco a escala industrial para su uso en fertilizantes y explosivos. En el siglo siguiente se desplomó el precio del amoníaco, y ahora el mundo utiliza cada año más de 200 mil millones de kilogramos de esta sustancia, que en su mayoría va a dar a los campos de cultivo.<sup>7</sup> Entre otras fuentes antropogénicas de nitrógeno reactivo se cuentan la industria, el transporte y la generación de electricidad; los insumos naturales incluyen los rayos y la fijación bacteriana de nitrógeno.<sup>5</sup>

Una reseña publicada en el año 2007 por el Programa del Medio

Ambiente de las Naciones Unidas y el Centro de Investigación Woods Hole señaló los problemas que ocasiona el nitrógeno reactivo en diversos entornos en todo el mundo. Por ejemplo, dondequiera que florecen los motores de combustión interna, emiten grandes volúmenes de  $NO_x$  que ha sido vinculado a enfermedades respiratorias, a la reducción del funcionamiento del corazón y de los pulmones y a problemas reproductivos.<sup>2,9</sup> Los compuestos de nitrógeno también reaccionan con otros contaminantes atmosféricos para formar ozono tóxico y material particulado.<sup>8</sup>

En el mundo desarrollado, las medidas legislativas que exigen a los fabricantes limitar estas emisiones han obtenido un éxito notable. Según el informe “Nitrógeno reactivo en los Estados Unidos: análisis de insumos, flujos, consecuencias y opciones de manejo”, publicado en 2011 por el Consejo Consultivo Científico de la Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos (EPA), las pruebas de calidad del aire realizadas por esta dependencia en la última década demostraron que entre 1990 y 2002 las emisiones de  $NO_x$  asociadas a la quema de combustibles fósiles se redujeron en una tercera parte, y las emisiones asociadas a la generación de la energía eléctrica disminuyeron en 70%.<sup>10</sup>

De manera similar, investigadores del valle del río Platte en Nebraska han pasado los últimos años demostrando lo acertado de una de las principales recomendaciones del informe SBX2 1. Al cambiar 17% del área de estudio de la irrigación por surcos a la irrigación con aspersores, mejor controlada, se requirió menos fertilizante, y el rendimiento de las cosechas incrementó, lo que significa que las plantas absorbieron más nitrógeno de esa superficie. En consecuencia, las concentraciones de nitrato en las aguas subterráneas se redujeron lenta pero constantemente

entre 1994 y 2003, llevando a los investigadores a la predicción de que en algunas décadas quedará por debajo de los niveles peligrosos.<sup>11</sup>

No obstante, en otros lugares las comunidades siguen luchando por poner freno al nitrógeno reactivo. Los residentes de la densamente poblada cuenca de la Bahía de Chesapeake deben lidiar con fuentes de nitrógeno tales como las chimeneas de las plantas de energía eléctrica, plantas de tratamiento de aguas residuales y escorrentías de granjas. Si bien la calidad del aire y del agua de la zona han mejorado desde los años noventa, el constante desarrollo y el crecimiento de la población han hecho difícil reducir la cantidad de nitrógeno que entra en la bahía, donde los elevados niveles de acidez y de nitratos han dañado a las pesquerías locales. Seis estados además del Distrito de Columbia colindan con este enorme estuario, lo que complica los esfuerzos de regulación para reducir estos insumos.<sup>8</sup>

Mientras tanto, el Programa de Evaluación de Efectos de Conservación del Departamento de Agricultura de Estados Unidos ha obtenido resultados encontrados respecto a la mejor manera de reducir las concentraciones de nitratos en la cuenca del Río Mississippi, que en última instancia son responsables de la enorme región hipóxica, conocida como “zona muerta”, del Golfo de México.<sup>12</sup> Los intentos de limitar las escorrentías de nitrógeno en la cuenca superior del río han tenido un éxito limitado, y las concentraciones de nitrato en algunos sitios a lo largo del río se han incrementado hasta en 76% desde 1980. No obstante, los principales afluentes que desembocan en el río no han mostrado tal incremento, y se encontró que las concentraciones en el propio Mississippi se incrementaban en forma estacional después del derretimiento de las nieves y las lluvias de la primavera, lo que sugiere que la fuente del nitrato puede estar de hecho en los mantos freáticos de los alrededores.<sup>13</sup>

El informe SBX2 1 se centró en la contaminación por nitratos en la Cuenca del Lago Tulare y el Valle de Salinas en California, una región que comprende cuatro de los condados con mayor producción agrícola de Estados Unidos y que abastece de diversos alimentos a todo el continente a lo largo del año. Allí se ha cultivado intensivamente la tierra desde la Segunda Guerra Mundial, y entre 2006 y 2010 en muchos lugares las concentraciones de nitrato en las aguas subterráneas excedieron regularmente el nivel máximo de contaminación del estado, de 45 mg/l. Unas 250 000 personas que utilizan esa agua subterránea la obtienen de sistemas de tratamiento que no están equipados para lidiar con este tipo de contaminación.<sup>1</sup>

### **Soluciones: sencillas pero no fáciles**

Harter, coautor del informe SBX2 1, advierte que no hay una solución fácil para la contaminación por nitratos en los mantos freáticos, la cual probablemente seguirá empeorando si no se realiza un cambio en las políticas y prácticas agrícolas. En su enorme mayoría, esta contaminación por nitratos es resultado de la prolongada aplicación de fertilizantes, y el material más recientemente aplicado seguirá abriéndose paso hacia los mantos acuíferos durante varias décadas. Tampoco existen buenas soluciones técnicas para eliminar esta contaminación *in situ*, lo cual sería extremadamente costoso.

No obstante, el informe SBX2 1 presenta una serie de soluciones prometedoras al reto que plantea el nitrógeno reactivo, todas las cuales podrían ser implementadas, según los autores, sin necesidad de una investigación científica ni un desarrollo tecnológico ulteriores. Lo que se requiere es orientación normativa, incluyendo el hacer que se respeten las regulaciones existentes o la intro-

ducción de nuevas leyes para mejorar la supervisión pública del manejo del agua.

Un enfoque costo-efectivo citado por el informe SBX2 1 es el uso de aguas subterráneas ricas en nitrógeno para regar y fertilizar los cultivos de una manera más eficiente. Otros enfoques prácticos consistirían en resolver el problema del nitrógeno más cerca de su fuente, y no ya una vez que está en el suelo o en el agua. Por ejemplo, humedales artificiales o biorreactores instalados en la periferia de entornos agrícolas podrían captar y tratar las escorrentías ricas en nitratos antes de que éstos entren en el medio ambiente más amplio.

Por desgracia, este tipo de infraestructura representa un importante gasto financiero, que además se sumaría a la carga de trabajo de los operadores agrícolas. El gobierno de California, que tiene problemas de liquidez, no podría subsidiar con facilidad estas instalaciones, y las comunidades de agricultores tampoco podrían tomar esta carga sobre sus hombros, según los autores. Una estrategia más sencilla podría ser la implementación de un impuesto sobre el uso de los fertilizantes, el cual proporcionaría un incentivo diario para que se aplique menos de este material y así se reduzca la cantidad de nitrógeno que va a dar a la tierra. Se podría establecer un impuesto similar sobre el flujo de nitrógeno, medido en las escorrentías de las granjas y otros arroyos de aguas residuales. Pero dependiendo de la forma en que se aplique tal impuesto, los modelos sugieren que el rendimiento y los ingresos de la granja podrían disminuir.<sup>1</sup>

El informe señala al papel crucial del seguimiento y la evaluación por cuerpos como los consejos del agua regionales y estatales. Pero a lo largo de todo su estudio, los autores del informe SBX2 1 escribieron que “con frecuencia nos vemos frente a dificultades insalvables para obtener acceso a datos sobre las aguas subterráneas

y sobre la contaminación de las aguas subterráneas ya recopilados por numerosas agencias locales, estatales y federales. Las inconsistencias en los registros, el etiquetado y los nombres de los registros de los pozos hacen difícil combinar [los datos] sobre un mismo pozo que se encuentran en diversas bases de datos o que fueron recopilados por diferentes agencias. Se requiere de un esfuerzo a nivel estatal para integrar las distintas actividades de recopilación de datos relacionados con el agua por diversas agencias estatales y locales con un amplio rango de jurisdicciones”.<sup>1</sup> Los autores sugieren que estas actividades podrían incrementarse con el apoyo de cuotas por el uso del agua y de fertilizantes.

Entre las autoridades que estarían al frente de esta supervisión se encuentra Celeste Cantú, gerente general del Proyecto de la Cuenca de Santa Ana (Santa Ana Watershed Project Authority). Como parte de la mesa redonda que siguió a la publicación del informe SBX2 1, ella hizo énfasis en la naturaleza cooperativa que deberá adoptar cualquier solución.

“No existe una bala de plata, pero tenemos muchos perdigones de plata”, dice, al observar que cualquier solución que funcione tendrá que ser multifacética, esparciendo los diversos costos y ganancias entre los distintos socios. “Sólo se podrá realizar trabajando región por región, con la singularidad que corresponde a la de la tierra y las circunstancias de cada una”, dice.

Por lo que atañe a aquellos lugares donde la calidad del agua potable ya se ha puesto y se seguirá poniendo en riesgo por algún tiempo, los autores argumentan que el tratamiento del agua en el punto de uso representa la opción más factible. A corto plazo, se podría ayudar a los hogares individuales con la compra del equipo necesario para eliminar la contaminación por nitratos. Llegado un momento, esta asistencia se podría

extender a los municipios pequeños, ayudándolos a mejorar sus operaciones de tratamiento del agua o a integrar estas operaciones con plantas regionales más grandes que sean capaces de eliminar los nitratos.

### **Precisar el destino del nitrógeno reactivo**

Sin embargo, estas medidas son apenas el comienzo del trabajo que hay por hacer, dice Tom Tomich, profesor de desarrollo comunitario, ciencias ambientales y políticas de la Universidad de California en Davis. Es el principal investigador de un proyecto independiente pero relacionado, la Evaluación del nitrógeno en California,<sup>14</sup> que ha estado en vigor durante unos tres años con una amplia gama de participación, que va desde los grupos activistas locales hasta productores agrícolas clave. Este proyecto se inspiró en otra pieza de legislación de California, la ley del estado sobre el calentamiento global AB 32,<sup>15</sup> que reunió a científicos y a encargados de elaborar las normas con el fin de que deliberaran las emisiones de N<sub>2</sub>O, un gas invernadero de gran potencia.

Actualmente se entiende que el nitrógeno ayuda a regular el ciclo del carbono y ejerce efectos de enfriamiento y calentamiento sobre el clima.<sup>5</sup> Por ejemplo, los compuestos de nitrógeno pueden incrementar la captura y almacenamiento de carbono (un efecto de enfriamiento) al estimular el crecimiento de los árboles y retardar la descomposición de la materia orgánica en algunos suelos. También pueden contribuir a la contaminación por material particulado, la cual ejerce un efecto de enfriamiento a corto plazo al modular la radiación del sol. Por otra parte, el N<sub>2</sub>O de larga vida tiene unas 300 veces más potencial de calentamiento que el dióxido de carbono.

Si bien los datos atmosféricos indican que el N<sub>2</sub>O representa sólo una proporción menor de todos los

gases invernadero,<sup>16</sup> surgieron algunas percepciones de la Evaluación del nitrógeno en California que dan más que pensar. Por ejemplo, sólo aproximadamente la mitad de todo el nitrógeno aplicado a los suelos como fertilizante pasa a formar parte de las cosechas que se obtienen de ellos; el resto se pierde en el medio ambiente.<sup>17</sup> “Por cada átomo de nitrógeno que entró en el estado”, dice Tomich, “una cuarta parte terminó en el agua subterránea como nitrato”.

Según Alan Townsend, coautor del informe publicado en *Issues in Ecology* [*Cuestiones de ecología*] y quien actualmente funge como director de la División de Biología Ambiental de la Fundación Nacional de Ciencias de Estados Unidos, el mayor reto al que se enfrentan los esfuerzos de investigación sobre la contaminación por nitrógeno es que dependen del rastreo indirecto del flujo de nitrógeno. En un artículo publicado en la revista *Science* en 2008, Townsend y sus colegas sostenían que una gran cantidad de incertidumbre persigue a cualquier intento de precisar el destino del nitrógeno reactivo.<sup>7</sup> Unas dos terceras partes del total pueden estarse acumulando en los suelos, la vegetación y las aguas subterráneas, sugieren. Desde allí podría desnitrificarse, transformado en N<sub>2</sub> simple, y ser emitido a la atmósfera, pero aún no está claro cuál es el destino último de ese nitrógeno que se acumula.<sup>18</sup>

“Entre más rápido se desnitrifica el nitrógeno reactivo, más pronto se saca de sus ‘excesos criminales’ a una de esas moléculas de nitrógeno reactivo y se la pone de vuelta allí donde no nos dañe”, dice Townsend. “Pero es muy difícil medir ese proceso excepto en una escala muy pequeña, como un laboratorio o una situación de campo controlada”.

En términos geológicos, Townsend y su colega Stephen Porder señalaron en un nuevo informe que el enorme trastorno causado por la humanidad al ciclo natural del nitró-

geno ha ocurrido en apenas un abrir y cerrar de ojos. Por ende tenemos sólo una breve ventana de observación con base en la cual predecir el resultado ambiental último de este trastorno, cuyo “legado nos acompañará durante varias generaciones”.<sup>19</sup> Mientras tanto, la fabricación global de nitrógeno reactivo se acelera y podría seguir haciéndolo, dependiendo de si las naciones alteran o no sus estrategias agrícolas.<sup>20</sup>

No obstante, Townsend considera que el éxito espectacular de la Ley del Aire Limpio<sup>21</sup> para reducir el nitrógeno reactivo en la atmósfera, que según cálculos de la EPA previno unas 165 000 muertes prematuras en Estados Unidos en sólo el año 2012,<sup>22</sup> como un testimonio de lo que se puede lograr sobre el terreno en relativamente poco tiempo. “Se ve que puede funcionar sin una especie de gigantesca agitación social o económica”, señala.

En este contexto, considera las iniciativas tales como el informe SBX2 1 y la Evaluación del Nitrógeno en California como modelos del modo adecuado de promover el apoyo público y privado para políticas que ya han demostrado su valor. Añade, “no se trata sólo de esbozar el problema y obtener los datos, sino de entrar en profundidad con los interesados, hablar con todos ellos y buscar afinidades y soluciones comunes: esta es una manera de avanzar”.

#### **Tim Loughheed,**

ha trabajado como escritor independiente en Ottawa, Canadá, desde 1991. Fue presidente de la Asociación Canadiense de Escritores Científicos, y sus artículos cubren una amplia gama de temas de ciencia, tecnología, medicina y educación.

### **Referencias y notas**

1. Harter T, et al. Addressing Nitrate in California's Drinking Water with a Focus on Tulare Lake Basin and Salinas Valley Groundwater. Report for the State Water Resources Control Board Report to the

- Legislature. Davis, CA: Centro de Ciencias de Cuencas, Universidad de California, Davis (2012). Disponible en: <http://groundwater.nitrates.ucdavis.edu/> [consultado el 12 de abril de 2012].
2. Ward MH, et al. Workgroup report: drinking-water nitrate and health—recent findings and research needs. *Environ Health Perspect* 113(11):1607–1614 (2005); <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.8043>. Los bebés que consumen agua con niveles elevados de nitratos, inclusive como parte de una fórmula, pueden desarrollar un padecimiento potencialmente mortal conocido como metahemoglobinemia o síndrome del bebé azul, en el cual la sustancia contaminante <compromiso> la capacidad de la sangre de transportar oxígeno. En los adultos, la exposición alimentaria a los nitratos y nitritos se ha asociado a la formación de compuestos carcinogénicos N-nitrosos en el tracto digestivo.
  3. Legislatura del Estado de California. Proyecto de Ley SBX2 1: Calidad del agua, Control de inundaciones, Almacenamiento de agua y Preservación de la fauna y de la flora. En vigor desde el 30 de septiembre de 2008. Disponible en: [http://www.leginfo.ca.gov/pub/07-08/bill/sen/sb\\_0001-0050/sbx2\\_1\\_bill\\_20080930\\_chaptered.html](http://www.leginfo.ca.gov/pub/07-08/bill/sen/sb_0001-0050/sbx2_1_bill_20080930_chaptered.html) [consultado el 12 de abril de 2012].
  4. Anton EC, et al. Nitrate in Drinking Water, Report to the Legislature, Informe No. 88-11WQ. Sacramento, CA: Consejo Estatal para el Manejo de Recursos Hídricos, Agencia de Protección al Medio Ambiente, California. Disponible en: <http://groundwater.nitrates.ucdavis.edu/files/138960.pdf> [consultado el 12 de abril de 2012].
  5. Davidson EA, et al. Excess Nitrogen in the U.S. Environment: Trends, Risks, and Solutions. *Issues in Ecology*, Winter 2012, Report #15. Washington, DC: Sociedad Americana de Ecología (2012). Disponible en: [http://www.esa.org/science\\_resources/issues/FileEnglish/issuesinecology15.pdf](http://www.esa.org/science_resources/issues/FileEnglish/issuesinecology15.pdf) [consultado el 12 de abril de 2012].
  6. Townsend AR, Howarth RW. Fixing the global nitrogen problem. *Sci Am* 302(2):64–71 (2010); <http://dx.doi.org/10.1038/scientificamerican0210-64>.
  7. Galloway JN, et al. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions. *Science* 320(5878):889–892 (2008); <http://dx.doi.org/10.1126/science.1136674>.
  8. UNEP/WHRC. Reactive Nitrogen in the Environment: Too Much of a Good Thing? Paris, France and Falmouth, MA: Programa al Medio Ambiente de las Naciones Unidas y el Centro de Investigaciones Woods Hole (2007). Disponible en: <http://www.unep.fr/scp/publications/details.asp?id=DTI/0904/PA> [consultado el 12 de abril de 2012].
  9. EPA. Integrated Science Assessment for Oxides of Nitrogen—Health Criteria. EPA/600/R-08/071. Research Triangle Park, NC: Centro Nacional de Evaluación del Medio Ambiente, Oficina de Investigación y Desarrollo, Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos (julio de 2008). Disponible en: [http://ofmpub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p\\_download\\_id=475020](http://ofmpub.epa.gov/eims/eimscomm.getfile?p_download_id=475020) [consultado el 12 de abril de 2012].
  10. EPA SAB. Reactive Nitrogen in the United States: An Analysis of Inputs, Flows, Consequences, and Management Options. EPA-SAB-11-013. Washington, DC: Consejo Consultivo de Ciencias, Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos (agosto de 2011). Disponible en: <http://yosemite.epa.gov/sab/sabproduct.nsf/WebBOARD/INCSupplemental?OpenDocument> [consultado el 12 de abril de 2012].
  11. Exner ME, et al. Long-term response of groundwater nitrate concentrations to management regulations in Nebraska's Central Platte Valley. *Sci World J* 10:286–297 (2010); <http://dx.doi.org/10.1100/tsw.2010.25>.
  12. NOAA. Gulf of Mexico Hypoxia Watch [página web]. Stennis Space Center, MS: Centro Nacional de Datos Costeros, Administración Nacional Oceánica y Atmosférica, Departamento de Comercio de Estados Unidos (revisada el 9 de abril de 2012). Disponible en: <http://www.ncddc.noaa.gov/hypoxia/> [consultado el 12 de abril de 2012].
  13. Sprague LA, et al. Nitrate in the Mississippi and its tributaries, 1980 to 2008: are we making progress? *Environ Sci Technol* 45(17):7209–7216 (2011); <http://dx.doi.org/10.1021/es201221s>.
  14. California Nitrogen Assessment [website]. Davis, CA: Instituto de Sostenibilidad Agrícola, Universidad de California Davis (2012). Disponible en: <http://nitrogen.ucdavis.edu/research/nitrogen> [consultado el 12 de abril de 2012].
  15. Legislatura del Estado de California. Proyecto de Ley AB 32: Ley de Soluciones para el Calentamiento Global. En vigor desde el 27 de septiembre de 2006. Disponible en: [http://www.leginfo.ca.gov/pub/05-06/bill/asm/ab\\_0001-0050/ab\\_32\\_bill\\_20060927\\_chaptered.pdf](http://www.leginfo.ca.gov/pub/05-06/bill/asm/ab_0001-0050/ab_32_bill_20060927_chaptered.pdf) [consultado el 12 de abril de 2012].
  16. Air Resources Board. California Greenhouse Gas Inventory Data 2000–2009 [website]. Sacramento, CA: Consejo de Recursos del Aire, Agencia de Protección al Medio Ambiente, California (actualizado el 6 de abril de 2012). Disponible en: <http://www.arb.ca.gov/cc/inventory/data/data.htm> [consultado el 12 de abril de 2012].
  17. Viers JH, et al. Nitrogen Sources and Loading to Groundwater. Technical Report 2: Assessing Nitrate in California's Drinking Water with a Focus on Tulare Lake Basin and Salinas Valley Groundwater. Davis, CA: Centro de Ciencias de Cuencas, Universidad de California, Davis (2012). Disponible en: <http://groundwater.nitrates.ucdavis.edu/files/139110.pdf> [consultado el 12 de abril de 2012].
  18. Sutton MA, et al. Challenges in quantifying biosphere–atmosphere exchange of nitrogen species. *Environ Pollut* 150(1):125–139; <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2007.04.014>.
  19. Townsend AR, Porder S. Agricultural legacies, food production and its environmental consequences. *Proc Natl Acad Sci USA*; <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.1203766109> [en línea, 16 de abril de 2012].
  20. Townsend AR, Palm CA. The Nitrogen Challenge. *BioScience* 59(10):822–823 <http://dx.doi.org/10.1525/bio.2009.59.10.2>.
  21. Clean Air Act of 1970 [Ley de Aire Limpio, 1970] (CAA). Ley Pública No. 95-95. Disponible en: <http://www.epa.gov/air/caa/> [consultado el 12 de abril de 2012].
  22. EPA. The Benefits and Costs of the Clean Air Act from 1990 to 2020. Final Report. Washington, DC: Oficina del Aire y Radiación, Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos (marzo de 2011). Disponible en: <http://www.epa.gov/air/sect812feb11/fullreport.pdf> [consultado el 12 de abril de 2012].

## Biología molecular

# Más sustancias químicas presentan efectos epigenéticos de una generación a otra\*

Si el combustible para los aviones de propulsión a chorro hubiera existido cuando su bisabuela se embarazó, usted habría heredado un potencial de infertilidad que podría convertirlo en el último miembro de su árbol genealógico. Pero si la ciencia de los bioindicadores de la herencia epigenética transgeneracional continúa desarrollándose, los investigadores podrán llegar por lo menos a rastrear la causa de su infertilidad hasta la exposición de su bisabuela a estos agentes. Esos son dos aspectos importantes del más reciente de una serie de estudios realizados por Michael Skinner, profesor de epigenética reproductiva y ambiental, y sus colegas de la Universidad del Estado de Washington.<sup>1</sup>

Los cambios epigenéticos ocurren cuando la función de un gen se ve alterada por diversos mecanismos aun cuando su secuencia de ADN permanezca estable. La exposición de una madre produce efectos transgeneracionales que se heredan a través de generaciones sucesivas en ausencia de una exposición directa de los descendientes.<sup>2</sup> Estos efectos inducidos por el medio ambiente han sido demostrados en personas, roedores, aves, peces, insectos, gusanos, plantas y microbios, en algunos casos a lo largo de docenas de generaciones.<sup>3</sup>

En el estudio actual, el equipo de Skinner administró inyecciones diarias a ratas hembras durante los días 8-14 de la gestación, el período de determinación de las gónadas embrionarias. Los investigadores las expusieron a cuatro clases de sustancias químicas representativas, cada una con un sistema de transducción de señales diferente: una mezcla de plásticos, una mezcla de plaguicidas, una dioxina (2,3,7,8- tetraclorodibenzo-*p*-dioxina, TCDD) y un producto hidrocarburo (combustible para aviones JP-8).<sup>4</sup>

Las sustancias químicas seleccionadas representan una gama de sustancias a las que las personas se ven expuestas regularmente en entornos civiles y militares. Se han publicado evidencias de efectos de herencia transgeneracional vinculados al aditivo de los plásticos bisfenol A y a la TCDD, pero no a las demás sustancias químicas probadas, señala Lisa Helbling Chadwick, administradora en ciencias de la salud del Instituto Nacional de Ciencias de la Salud Ambiental (NIEHS), cuyo ámbito incluye la epigenética transgeneracional. (El NIEHS financió el estudio junto con el Departamento de Defensa de Estados Unidos.)

Las dosis utilizadas en los estudios (hubo dos para la mezcla de plásticos y una para cada una de las

otras exposiciones) fueron deliberadamente más altas que las que se suele encontrar en el medio ambiente. “Golpeamos [a las ratas] con un martillo para poder ver cuál era el destino final”, dice Skinner, y añade que se requiere de más investigación para determinar las implicaciones para las dosis reales a las que estamos expuestos los seres humanos; las vías de exposición, el momento de la exposición, las mezclas y otros factores. Otra incógnita es cómo puede relacionarse un trastorno endocrino potencial con cualquier impacto epigenético.

El equipo evaluó varios efectos sobre el sistema reproductivo y descubrió numerosos resultados estadísticamente significativos en la tercera generación sucesiva (F<sub>3</sub>). Las cuatro clases de sustancias químicas redujeron significativamente el número de folículos ováricos primordiales en aproximadamente un 30-40%, efecto que podría ocasionar trastornos reproductivos. En comparación con los controles, se asoció la mezcla de plásticos, JP-8 y TCDD a un adelanto de dos días en el inicio de la pubertad de las hembras (más o menos comparable a un adelanto de dos años en la especie humana, señala Skinner), y con reducciones de un 50-65% de la concentración de testosterona en la sangre en los machos. Las mismas

\* Publicado originalmente en *Environmental Health Perspectives*, volumen 120, número 6, junio 2012, página A228.

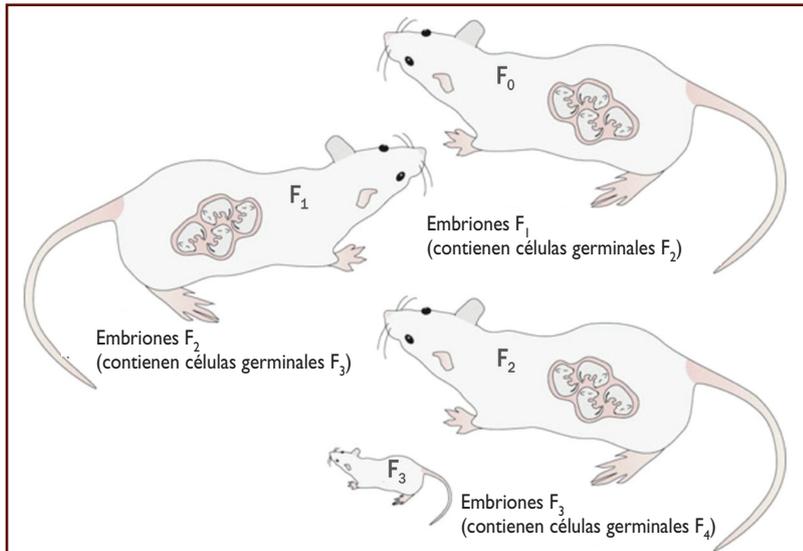


Foto: Walker y Gore (2011); doi:10.1038/nrendo.2010.215.

Cuando una hembra embarazada (F<sub>0</sub>) se ve expuesta a un agente, también hay una exposición directa para su feto (F<sub>1</sub>) y para la segunda generación sucesiva (F<sub>2</sub>) que existe como células germinales en desarrollo en el animal F<sub>1</sub>. F<sub>3</sub> representa a la primera generación que no tiene exposición directa.

sustancias se vincularon con un incremento de aproximadamente 20% en el índice de distancia anogenital en las hembras. La dosis menor en la mezcla de plásticos se asoció a un incremento de 15% en el índice de distancia anogenital en los machos. El combustible JP-8 se asoció a un incremento de aproximadamente 20% de apoptosis de las células espermáticas.

El equipo también identificó en el epigenoma de la esperma regiones únicas de metilación del ADN para cada clase de sustancias químicas, lo que sugiere que llegado un momento sería posible rastrear retroactivamente los efectos de sustancias químicas específicas.

John McCarrey, profesor de biología celular y molecular de la Universidad de Texas en San Antonio, encuentra convincentes estos resultados; ha estado estudiando la epigenética durante aproximadamente 30 años y colabora de manera

constante con Skinner, si bien no participó en este estudio. "Skinner et al. han proporcionado la prueba de principio de que es posible obtener estos tipos de defectos", señala McCarrey. "Asimismo han incrementado significativamente la lista de sustancias químicas que pueden provocar estas cosas". Sin embargo, añade que la "caja negra" de los mecanismos que intervienen lleva a muchos a permanecer escépticos de que tales efectos puedan ocurrir.

A fin de llenar las lagunas de conocimiento, Chadwick afirma que el NIEHS considerará la posibilidad de financiar estudios, incluyendo aquellos que puedan ayudar a definir la gama de las sustancias que pueden provocar estos efectos, determinar los mecanismos que intervienen para ello y evaluar los factores que afectan las variaciones individuales en cuanto a la susceptibilidad, por ejemplo, las diferencias genéticas. Este tipo de

investigación resulta particularmente necesario, puesto que los efectos observados no corresponden con la idea que se tiene en la actualidad de que normalmente el cuerpo repara los problemas epigenéticos que se presentan durante el desarrollo fetal. Esto sugiere que pueden entrar en juego mecanismos desconocidos o modificados.

Kaylon Bruner-Tran, profesora auxiliar de ginecología y obstetricia de la Universidad Vanderbilt, señala que estos y otros hallazgos bastan para concluir que "es muy probable que otros sistemas biológicos se vean afectados por exposiciones similares a sustancias tóxicas". En virtud de lo anterior y dado que sabemos que nunca eliminaremos todas las sustancias químicas que podrían causar estos efectos, un enfoque de investigación que le gustaría que se explorara es el modo en que la nutrición puede exacerbar o mitigar los impactos: "Ese es el siguiente gran problema: ¿qué hacemos respecto a los efectos?"

**Bob Weinhold, MA,**

ha escrito reportajes sobre temas de salud ambiental para gran cantidad de publicaciones desde 1996. Es miembro de la Sociedad de Periodistas Ambientales.

## Referencias y notas

1. Manikkam M, et al. Transgenerational actions of environmental compounds on reproductive disease and identification of epigenetic biomarkers of ancestral exposures. *PLoS ONE* 7(2):e31901 (2012); <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0031901>.
2. El enfocarse en los impactos de tercera generación garantiza que cualquier efecto observado no haya sido causado por exposiciones tóxicas a la primera generación sucesiva ni a la línea germinal de su siguiente generación.
3. Ho DH, Burggren WW. Epigenetics and transgenerational transfer: a physiological perspective. *J Exp Biol* 213(1):3-16 (2010); <http://dx.doi.org/10.1242/jeb.019752>.
4. La mezcla de plaguicidas incluye la permetrina, un plaguicida utilizado en los seres humanos

y en la agricultura, así como *N,N*-Dietil-metaltoluamida (DEET), un repelente de insectos. La mezcla de plásticos incluye bisfenol A y dos ftalatos, bis(2-etilhexil) ftalato y dibutil ftalato. El TCDD se forma durante numerosos procesos de combustión incompletos. JP-8 es utilizado

por varios servicios militares en todo el mundo para múltiples fines, incluyendo su uso como combustible de vehículos aéreos y terrestres y para controlar el polvo en las superficies de las carreteras.

5. La distancia anogenital es la longitud desde el ano a la base del pene o de la vagina. El índice es una forma estandarizada de medir esta distancia, tomando en cuenta variables tales como la edad, el peso y el sexo.

## Salud neurológica

# Un mecanismo recién descubierto de los efectos del clorpirifos sobre el neurodesarrollo\*

El insecticida organofosforado clorpirifos (CPF) provoca pérdida de células cerebrales en las ratas jóvenes,<sup>1</sup> y la exposición prenatal de los seres humanos al CPF se ha asociado a una considerable reducción del coeficiente intelectual en la niñez.<sup>2</sup> Ahora un estudio no invasivo de imagen por resonancia magnética (IRM) revela que en los niños expuestos al CPF *in utero*, este plaguicida altera la estructura de las regiones del cerebro que rigen una amplia gama de repercusiones conductuales, lo cual arroja nueva luz sobre la manera en que el CPF afecta al sistema nervioso central.<sup>3</sup>

Alguna vez se utilizó el CPF para los cultivos alimentarios, los campos de golf, el control de plagas en interiores y los collares antipulgas para mascotas.<sup>4</sup> Gradualmente se eliminó su uso residencial en el año 2001, después de que la Agencia de Protección del Medio Ambiente de Estados Unidos (EPA) publicó una evaluación revisada de los riesgos del plaguicida en la que pide una mayor protección para los niños y

para los trabajadores.<sup>5</sup> No obstante, se sigue utilizando ampliamente el CPF en la agricultura, con lo cual se expone potencialmente a los trabajadores agrícolas y a las personas que viven cerca de las granjas. El ingerir granos, frutas, verduras y otros alimentos que contienen residuos de CPF también puede exponer a las personas a niveles muy bajos de esta sustancia. En la encuesta más reciente del Programa de Datos sobre Plaguicidas del Departamento de Agricultura de Estados Unidos, los niveles de CPF detectados en los productos agrícolas fueron 3-500 veces menores que los niveles de tolerancia establecidos por la EPA para los alimentos individuales.<sup>6</sup>

El estudio actual es parte de un estudio mayor de cohorte que el Centro Columbia de Salud Ambiental Infantil (CCCEH) de la Universidad de Columbia está llevando a cabo en mujeres pertenecientes a grupos minoritarios y en sus hijos. El proyecto se inició en 1997, antes de que se eliminara el uso residencial del CPF. El CPF medido en los cordones

umbilicales de los niños indicaba el grado al que habían sido expuestos *in utero* a esta sustancia, en gran medida a través de la exposición de sus madres a plaguicidas rociados en los edificios de apartamentos.<sup>7</sup>

Informes anteriores de los investigadores del CCCEH encontraron una asociación entre los niveles mayores de exposición al CPF y un menor peso al momento de nacer.<sup>8</sup> Para la edad de tres años los niños con un mayor nivel de exposición al CPF *in utero* tendían a obtener puntajes inferiores a los de los niños con niveles bajos de exposición en las pruebas de desarrollo cognitivo y psicomotor,<sup>9</sup> y para la edad de siete años tendían a tener un coeficiente intelectual más bajo y menores puntajes de memoria a corto plazo.<sup>2</sup> El estudio actual evaluó los datos obtenidos mediante IRM de 40 niños de entre 6 y 11 años de edad, la mitad de los cuales tenían niveles de CPF de 4.39 pg/g o más en el plasma umbilical, mientras que la otra mitad tenía niveles inferiores a 4.39 pg/g. El nivel de exposición al plomo, otra sustancia tóxica ambien-

\* Publicado originalmente en *Environmental Health Perspectives*, volumen 120, número 7, julio 2012, páginas A270-271.

tal asociada a problemas cognitivos, era bajo en todos los niños.

Los niños del grupo con mayor exposición tendían a mostrar una considerable dilatación de las regiones cerebrales que controlan la atención, el lenguaje, la cognición social (por ejemplo, la capacidad de reconocer rostros), las emociones y la inhibición, así como las funciones ejecutivas (por ejemplo, la planeación y el razonamiento), comparados con el grupo de menor exposición.<sup>3</sup> Estas diferencias concuerdan con los hallazgos de estudios sobre la exposición al CPF en animales.<sup>1</sup> En el grupo con niveles de exposición más bajos, los niños con una mayor dilatación cerebral tendían a tener coeficientes intelectuales más bajos, pero no se observó esta relación en el grupo con alto nivel de exposición.<sup>3</sup> “Que algo sea más grande no siempre significa que sea mejor cuando se trata del cerebro”, dice Bradley Peterson, psiquiatra de la Universidad de Columbia encargado de realizar los IRM y coautor del estudio.

Los escáners revelaron que buena parte de la dilatación cerebral correspondía a la glía, es decir, a la materia blanca.<sup>3</sup> El CPF daña a las neuronas y a la glía y genera tejido cicatrizal en los modelos animales;<sup>1</sup> y Peterson especula que la dilatación observada en los niños podría deberse a un daño similar. Los altos

niveles de exposición al CPF también se asociaron con la reducción o inversión de las diferencias normales en el desarrollo del cerebro relacionadas con el sexo. Por ejemplo, el lóbulo parietal derecho generalmente es más grande en las niñas que en los niños varones, pero esto se invertía en los niños con altos niveles de exposición. Se desconocen las consecuencias de estas alteraciones en la conducta, si es que las hay.<sup>3</sup>

Se encontraron diferencias entre los cerebros de ambos grupos con niveles de exposición al CPF muy por debajo de las dosis alimentarias de referencia señaladas por la EPA (0.005 mg/kg/día para el público en general y 0.0005 mg/kg/día para las mujeres y los niños).<sup>5</sup>

Este parámetro representa el nivel más bajo en el cual la exposición al CPF está asociada con la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, que descompone el neurotransmisor acetilcolina. Un exceso de acetilcolina puede provocar mareos, temblores y otros síntomas neurológicos.<sup>4</sup>

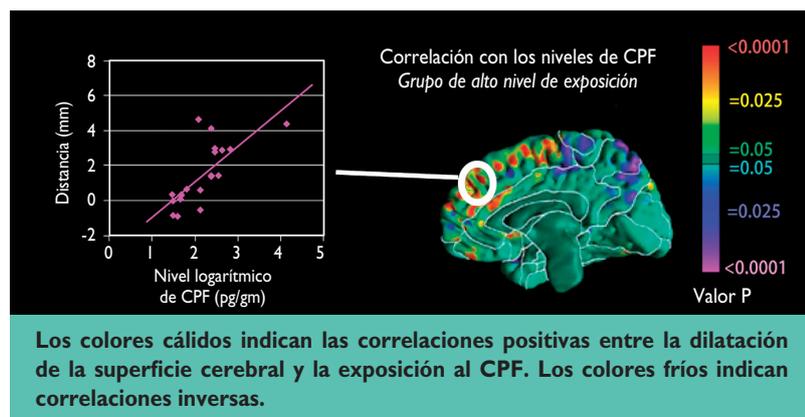
“Hasta ahora, las directrices para determinar los niveles aceptables de exposición a este plaguicida se han basado en el supuesto de que los efectos del clorpirifos sobre el sistema nervioso central se debían a trastornos de la neurotransmisión”, explica Joseph Jacobson, profesor de psiquiatría de la Escuela de Medicina

de la Universidad Estatal Wayne, en Detroit, Michigan. Señala que los nuevos datos de IRM “sugieren de manera convincente que un mecanismo muy diferente actúa a niveles mucho más bajos de exposición que los que antes se asociaban a un incremento del riesgo”. Por lo tanto, agrega, este estudio sugiere que posiblemente sea necesario revisar las directrices de la EPA para la exposición al CPF.

Robin Whyatt, coautora del estudio y subdirectora del CCCEH, coincide con él. “Nuestros datos y otros estudios experimentales demuestran que es muy probable que el clorpirifos afecte al desarrollo fetal mediante mecanismos distintos de la inhibición de la acetilcolinesterasa en dosis inferiores a aquellas que inhiben la acetilcolinesterasa”, dice.

Actualmente la EPA está finalizando una evaluación preliminar de los riesgos de la exposición al CPF, la cual se dio a conocer con el fin de someterla a comentario público en el verano de 2011 como parte de la reevaluación periódica de los plaguicidas registrados para ser utilizados en Estados Unidos.<sup>10</sup> Los días 10-13 de abril de 2012, el Grupo Consultivo Científico establecido en el marco de la Ley Federal de Insecticidas, Fungicidas y Raticidas se reunió para revisar la información más reciente sobre problemas de salud relacionados con la exposición al CPF. El estudio de IRM “será evaluado, junto con todos los demás datos que la agencia está valorando, conforme trabaja para finalizar la determinación de los riesgos para la salud humana”, según un vocero de la EPA que habló en condiciones de anonimato.

La combinación de datos epidemiológicos y datos de imágenes cerebrales en este estudio proporciona algunas de las evidencias más sólidas que existen hasta la fecha de que la exposición prenatal al CPF causa problemas de neurodesarrollo en los niños, según Peterson, quien afirma que este tipo de protocolo



“debe convertirse en la ola del futuro para contemplar la manera en que las [sustancias tóxicas] ambientales contribuyen a las enfermedades neuropsiquiátricas en los niños”.

#### Carol Potera

radica en Montana y ha publicado artículos en *EHP* desde 1996. También escribe para las revistas *Microbe*, *Genetic Engineering News* y *American Journal of Nursing*.

### Referencias

1. Campbell CG, et al. Chlorpyrifos interferes with cell development in rat brain regions. *Brain Res Bull* 43(2):179–189 (1997); [http://dx.doi.org/10.1016/S0361-9230\(96\)00436-4](http://dx.doi.org/10.1016/S0361-9230(96)00436-4).
2. Rauh V, et al. Seven-year neurodevelopmental scores and prenatal exposure to chlorpyrifos, a common agricultural pesticide. *Environ Health Perspect* 119(8):1196–1201 (2011); <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.1003160>.
3. Rauh VA, et al. Brain anomalies in children exposed prenatally to a common organophosphate pesticide. *Proc Natl Acad Sci USA* 109(20):7871–7876 (2012); <http://www.pnas.org/content/109/20/7871.full>.
4. ATSDR. Final Interaction Profile. Chlorpyrifos, Lead, Mercury, and Methylmercury. Apéndice A: Background Information for Chlorpyrifos. Atlanta, GA: Agencia de Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades (agosto de 2006). Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/interactionprofiles/ip-11/ip11-a.pdf> [consultada el 6 de junio de 2012].
5. Smegel DC, et al. Human Health Risk Assessment: Chlorpyrifos. Washington, DC: Oficina de Programas de Plaguicidas, Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos (8 de junio de 2000). Disponible en: [http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/2008/september/hed\\_ra.pdf](http://www.epa.gov/scipoly/sap/meetings/2008/september/hed_ra.pdf). [consultada el 6 de junio de 2012].
6. USDA. Pesticide Data Program: Annual Summary, Calendar Year 2010. Washington, DC: Programa de Datos sobre Plaguicidas del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (2012). Disponible en: <http://www.ams.usda.gov/AMSv1.0/getfile?dDocName=stelpdrc5098550> [consultada el 6 de junio de 2012].
7. Whyatt RM, et al. Residential pesticide use during pregnancy among a cohort of urban minority women. *Environ Health Perspect* 110(5):507–514 (2002); <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.02110507>.
8. Whyatt RM, et al. Prenatal insecticide exposures and birth weight and length among an urban minority cohort. *Environ Health Perspect* 112(10):1125–1132 (2004); <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.6641>.
9. Rauh VA, et al. Impact of prenatal chlorpyrifos exposure on neurodevelopment in the first 3 years of life among inner-city children. *Pediatrics* 118(6):e1845–e1859 (2006); <http://dx.doi.org/10.1542/peds.2006-0338>.
10. EPA. Chlorpyrifos [página web]. Washington, DC: Oficina de Programas de Plaguicidas, Agencia de Protección al Medio Ambiente de Estados Unidos (actualizada el 9 de mayo de 2012). Disponible en: [http://www.epa.gov/oppsrrd1/registration\\_review/chlorpyrifos/index.htm](http://www.epa.gov/oppsrrd1/registration_review/chlorpyrifos/index.htm) [consultada el 6 de junio de 2012].