

Cuadro clínico tóxico producido por dioxinas

M. Teresa Frejo Moya, M. Andrés Capó Martí

Introducción

Las dioxinas son subproductos no intencionados que se originan al fabricar, utilizar o verter cloro o productos químicos derivados del cloro, entre los cuales se incluye la fabricación de determinados plaguicidas. El término dioxina se aplica a un conjunto de sustancias aromáticas cuyo núcleo esencial es el 1,10-dioxantraceno o dibenzo-p-dioxina. Dentro de estas, los derivados clorados o clorodibenzo-p-dioxinas (CDD) son los más conocidos y las toxinas más potentes.

Las dioxinas (PCDD/Fs) son representantes típicos de los contaminantes orgánicos persistentes (COPs). La familia de los contaminantes orgánicos persistentes ha centrado en la última década una parte importante de la investigación médica en salud ambiental debido a su notable toxicidad, que se caracteriza fundamentalmente por afectar al sistema nervioso, al sistema inmunitario, e inducir la aparición de desordenes endocrinos que provocan trastornos en la reproducción y la aparición de malformaciones no sólo en los individuos expuestos sino también en sus descendientes. Por otra parte, su persistencia en el medio ambiente, su tendencia a la bioacumulación y su capacidad de transporte a gran escala, hacen que sean compuestos considerados como peligrosos actualmente.

La literatura científica designa con el término genérico dioxinas al grupo de las dibenzo-p-dioxinas policloradas (PCDD) y de los dibenzofuranos policlorados (PCDF). Se obtienen como productos secundarios de diversos procesos industriales: la producción de PCBs, fenoles y bencenos, la combustión de hidrocarburos y de residuos, la cloración de la pulpa de papel y otros muchos procesos en los que se emplea cloro en alguna de sus etapas.

Descripción

Las dibenzo-p-dioxinas (PCDDs) policloradas y dibenzofuranos (PCDFs) son dos grupos de com-

puestos aromáticos que tienen una estructura plana y tricíclica. Las PCDDs tienen dos anillos de benceno unidos a través de dos átomos de oxígeno. En los PCDFs los dos anillos de benceno están unidos a través de un único átomo de oxígeno.

La siguiente figura muestra el criterio de numeración de las posiciones de los átomos de cloro en las moléculas de PCDD/Fs.

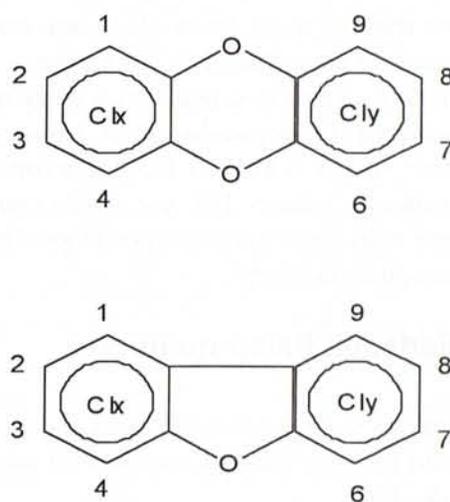


Figura 1. Estructuras químicas de PCDDs y PCDFs.

En los PCDDs y PCDFs, la sustitución de un determinado número de átomos de hidrógeno en posiciones del 1 al 4, y del 6 al 9 por átomos de cloro conduce a 210 compuestos individuales diferentes o congéneres, 75 de los cuales son PCDDs y 135 PCDFs, de los cuales solo son tóxicos 7 en el caso de las dioxinas y 11 en el caso de los furanos.

El número y la posición de los sustituyentes de cloro determinan el carácter tóxico de cada congénere. Respecto al número de átomos de cloro, los congéneres que tienen de uno a tres no presentan apenas significación toxicológica frente a los homólogos con un número mayor de átomos de cloro. Por otra parte, en cuanto a las posiciones substituidas, los homólogos más tóxicos son los que tienen los átomos de cloro al menos en las posiciones 2, 3, 7 y 8, particularmente la 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (2,3,7,8-TCDD).

Dado que la toxicidad de las dioxinas y compuestos análogos estructuralmente se explica a través de una primera etapa del mecanismo que es la misma para todos ellos, la similitud de los aspectos toxicológicos del conjunto de los productos indicados ha permitido establecer un parámetro para poder definir la toxicidad relativa de cada uno de ellos. Se trata del Factor de Equivalencia Tóxica o TEF que utiliza al TCDD como referencia asignándole un valor de 1.

La mayor parte de los valores de TEF para los diferentes compuestos han sido establecidos; sin embargo, la compleja naturaleza de las mezclas existentes en el medio ambiente, complica notablemente la evaluación de los riesgos ambientales y sanitarios.

Por este motivo, se ha desarrollado otro parámetro que facilita la determinación de los riesgos y el control regulatorio sobre la exposición a estas mezclas. Este parámetro es conocido como Concentración Equivalente Tóxica o TEQ, (I-TEQ) que combina los correspondientes valores TEF para cada uno de los congéneres individuales presentes en la mezcla con su concentración en la misma.

Propiedades fisico-químicas

Las dioxinas son apenas solubles en agua pura, disminuyendo la solubilidad al aumentar el número de átomos de cloro.

El coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}) que es un índice del carácter lipófilo de las sustancias, es de los más elevados entre todos los contaminantes orgánicos. Esta característica explica que las dioxinas, una vez han sido emitidas al medio, se depositen y se adsorban con facilidad en las superficies de partículas de polvo del aire, partículas del suelo, sedimentos, lodos, aceites, así como en el tejido adiposo humano y de animales. Se dice entonces que estos medios actúan como fuentes secundarios o reservorios de estas sustancias.

Estos compuestos también tienen una gran estabilidad frente al calor. Así por ejemplo, la descomposición térmica de la 2, 3, 7, 8-TCDD, solamente sucede a temperaturas superiores a 750°C.

Asimismo, la notable estabilidad química de las PCDD/Fs frente a otros compuestos fuertemente oxidantes, reductores, ácidos, básicos y agentes biológicos explica que experimenten transportes en el aire hasta largas distancias sin modificar su estructura química. En la literatura, aparece cierta incertidum-

bre sobre la importancia de las degradaciones fotolíticas y las reacciones con radicales hidroxilo en el aire, pero se sabe que las especies con menos átomos de cloro son más susceptibles a la degradación atmosférica que las que tienen un mayor número

Se han producido episodios de intoxicaciones masivas conocidas por todos como por ejemplo, en el accidente de la fábrica de Monsanto, en Virginia, donde se sintetizaba 2, 4, 5-T. Entre 1962 y 1969, en la guerra de Vietnam, con el uso del Agente Naranja formado a partes iguales por 2, 4-D y por 2, 4, 5-T, donde se ha demostrado que existía TCDD como contaminante. Pero sin lugar a dudas, el accidente más dramático fue el ocurrido en 1974 en Seveso, Italia donde se produjo una gran contaminación ambiental que afectó a una gran parte de la población de esta localidad, por rotura de un contenedor de la cadena reactiva en la fabricación del 2, 4, 5-T.

Ha habido también una serie de intoxicaciones accidentales debido a la introducción casual de dioxinas y furanos en la cadena alimentaria. Las más conocidas son:

- 1968 Yusho (Japón). Contaminación de aceite de arroz.
- 1999 Bélgica. Contaminación de piensos para alimentación animal que a su vez contaminaron carnes y huevos.
- 1999 Bélgica. Contaminación de un lote de bebidas de una conocida marca de bebidas refrescantes.
- 1999 Alemania. Contaminación de piensos para alimentación animal.
- 2004 Alerta alimentaria por contaminación de piensos para alimentación animal debido a la utilización de mondas de patatas contaminadas.

Igualmente se han producido exposiciones ocupacionales en trabajadores de distintas fábricas de herbicidas alcanzando concentraciones elevadas en sangre.

Debido a todos los problemas que presenta la toxicidad de dioxinas y furanos, es necesario conocer adecuadamente sus vías de distribución atmosférica y los mecanismos por los cuales puede alterar la salud.

Fuentes de dioxinas y análogos

Las dioxinas y furanos no tienen interés industrial como tales y por ello nunca han sido sintetizados de forma intencionada, salvo a escala de laboratorio con fines científicos y/o analíticos.

En el ámbito industrial son producidos como elementos de desecho a partir de diverso procesos químicos y de combustión.

En términos generales pueden agruparse las posibles fuentes de dioxinas y análogos en:

1.- Fuentes primarias

a) De origen térmico: Se producen las dioxinas en condiciones térmicas adecuadas y en presencia de precursores clorados

- Procesos de incineración y combustión: Incineración de basuras y de otros residuos sólidos, tales como medicamentos, restos biológicos y otros elementos peligrosos, procesos metalúrgicos tales como la producción de acero a alta temperatura, recuperación de metales en altos hornos, combustión de carbón, madera, productos petrolíferos y neumáticos usados

b) De origen químico: Asociados a la producción de compuestos clorados

- Producción de papel: Los procedimientos de blanqueado de papel mediante el empleo de cloro pueden conducir a la formación de dioxinas a partir de los derivados polifenólicos presentes de forma natural en la pulpa de la madera empleada en la producción de pasta de papel

- Industria química: Producción de cloro y derivados clorados con fines diferentes como por ejemplo insecticidas, herbicidas, catalizadores y productos intermedios para la síntesis de otras sustancias

2.- Fuentes secundarias

Son aquellas fases en las que se acumulan las dioxinas. Por ejemplo, en la combustión de la madera tratada con pentaclorofenol, sustancia que se ha empleado como conservante de la madera, como fungicida y como bactericida, germicida y molusquicida. La combustión incompleta de pentaclorofenol en la madera y en los rastrojos da lugar a la formación de dioxinas por lo que es una de las causas por la que está prohibido. Además normalmente, esta quema al aire libre esta acompañada de quema de envases de PVC y plásticos que son una fuente potencial también de formación de dioxinas.

Otra fuente secundaria de dioxinas es también la combustión de transformadores, y aparatos que contienen PCBs formándose en este caso furanos. En lo que respecta a los reservorios naturales, el TCDD es un compuesto lipófilo y se liga

fuertemente a los sólidos y a otras materias particuladas del suelo. Es poco soluble en agua y a la mayoría de los líquidos orgánicos incorporándose a los sistemas acuáticos. La investigación de dioxinas en aguas, suelos, aire y alimentos tanto de origen animal como vegetal ha revelado la presencia de concentraciones por encima de los valores recomendados, lo cual está incidiendo de manera negativa en los distintos ecosistemas.

Distribución ambiental

Las dioxinas entran en contacto con el medio ambiente a través de alguna de sus fuentes, primarias o secundarias, entrando en la atmósfera en forma de vapores, aerosoles o partículas sólidas, recorriendo de esta forma grandes distancias. Apenas se fotodegradan en la atmósfera, y su degradación está en relación inversa con el número de cloros de su molécula.

En el agua apenas se disuelven y se pueden quedar fijados en los sedimentos durante años. Pueden introducirse en el ciclo del agua volviendo a la tierra en forma de agua o nieve, por lixiviación y esorrentia, por aplicación directa en el agua y por liberación de efluentes industriales. En el agua se acumulan en la cadena trófica en peces y mamíferos marinos hasta 200.000 veces dependiendo del producto, produciendo un fenómeno llamado biomagnificación. La biodegradación por bacterias aerobias es insignificante.

En el suelo se adsorben fuertemente, pudiendo pasar a la atmósfera por volatilización de las partículas sólidas. A través de los herbicidas sobre todo los clorofenoxi, entra en contacto con las plantas y el suelo y son ingeridos de forma directa por los herbívoros entrando de esta forma en la cadena alimentaria. No pueden pasar como lixiviados a las capas inferiores y se acumulan en la cadena trófica terrestre, pudiéndose repetir el ciclo aire-agua-suelo durante décadas.

La mayor exposición para el ser humano proviene de los alimentos tanto de origen vegetal como animal, especialmente carne, huevos, pescado y productos lácteos. Debido a la preocupación actual por estos compuestos y debido a que la principal fuente de exposición son los alimentos la Organización Mundial de la Salud recomendó en 1998 una IDT, ingesta diaria tolerable de 1-4 pg/kg/día.

Sin embargo, hoy en día la EPA (Environmental Protection Agency) recomienda unas dosis muy por debajo, del orden de 6 fentogramos/kg/día, ya que estima que las dosis recomendadas por la OMS pueden no proteger debidamente a la salud pública. Algunos autores opinan hoy en día que la única dosis de seguridad para las dioxinas sería el nivel 0 ya que apoyan la idea de que no existe un umbral de seguridad para dichos compuestos.

En los vegetales la exposición se puede dar de forma directa a través del uso de herbicidas o fungicidas o a través de la sedimentación de partículas o a partir del agua o lodos utilizados como fertilizantes.

En los animales, la exposición se debe fundamentalmente a tres fuentes principales:

a) Contaminación de las materias primas vegetales. Por ejemplo, el TCDD contamina los pastos bien como contaminante del 2, 4, 5-T o a través de las partículas lanzadas al medio ambiente por las fábricas. La ingestión de las plantas contaminadas por parte del ganado hace que se den niveles elevados en leche y en grasa animal.

b) Contaminación en los piensos bien a través de alimentos de origen animal añadidos a los mismos tales como aceite de pescado, harina de pescado, grasa animal, productos lácteos, etc., o a través de contaminación en los procesos de manufactura; así en el año 1999 se produjo una crisis alimentaria por contaminación de piensos en Bélgica que a su vez se transmitió a pollos, huevos, cerdos y vacas. El origen de esta contaminación fue el uso de aceite de transformador que se introdujo en los aceites para la fabricación del pienso.

c) Contaminación a través de minerales añadidos a la dieta tales como arcillas añadidas como agentes ligantes y antiaglomerantes. También en Bélgica en 1999 se detectaron arcillas contaminadas con dioxinas procedentes de Alemania que se estaban utilizando para la fabricación de piensos, que a su vez contaminaron a pollos y huevos.

Fisiopatología

Se ha demostrado que el TCDD desarrolla sus efectos biológicos a través de un receptor celular denominado AhR (receptor hidrocarburo aromático o aromatic hydrocarbons receptor).

El AhR fue descubierto en 1979 (106 Kd), estando extensamente caracterizado en roedores. Se expresa fundamentalmente en hígado, pulmón, hígado y testículos y controla la expresión de varios genes, utilizándose la inducción del CYP1A1 como modelo.

El AhR es miembro de la superfamilia de factores de transcripción con secuencias básicas bHLH y se encuentra situado en la fracción soluble del citosol y su unión es saturable, reversible y de alta afinidad. Los ligandos con mayor afinidad son los planares y clorados (posee estereoespecificidad).

Este receptor se caracteriza porque une PCDD, PCDF, PCBs, Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y activa e induce la expresión de genes involucrando a CYP450 (CYP1A1, 1A2, 1B1), glutatión transferasa, quinona reductasa, UDP glucuronil transferasa y aldehído deshidrogenasa.

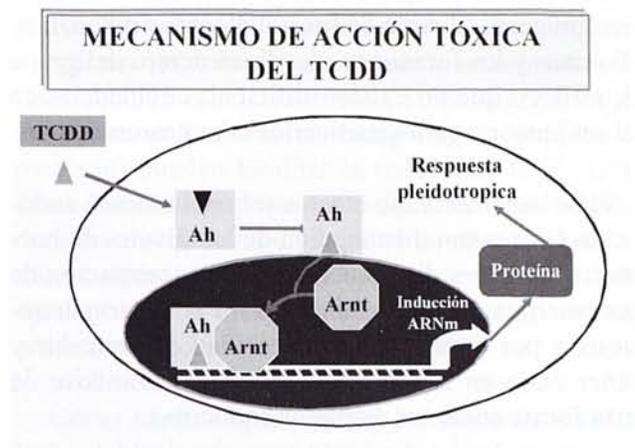
Su mecanismo de acción estaría envuelto en una serie de pasos que son:

- En primer lugar se une el TCDD al receptor Ah en el citosol de la célula siendo el complejo activado transportado al interior del núcleo celular.

- El receptor Ah es un factor de transcripción que funciona asociado con una proteína denominada Arnt (transferasa nuclear del receptor hidrocarburo aromático o Ah-receptor nuclear translocator protein), por lo tanto dicha proteína activará el complejo TCDD-Ah formando el complejo TCDD-Ah-Arnt.

- Una vez formado el complejo, se une al DNA y provoca un aumento en la transcripción de un conjunto de genes con elementos sensibles en sus regiones promotoras. Entre los genes afectados se encuentran algunos de los que codifican la síntesis de enzimas que participan en el metabolismo de fármacos tales como las isoformas 1A1 1A2 y 1B1 del citocromo P450, la glutatión-S-transferasa y la glucuronil-transferasa.

Asimismo se asocia la activación de este receptor con la producción de atrofia tímica y la inducción de apoptosis en las poblaciones timocíticas, efectos que se asocian con la inmunosupresión ejercida por estas sustancias y que parece ser derivan de la capacidad de las dioxinas para alterar la maduración y diferenciación de las células T linfocíticas.



Otro de los mecanismos de acción que se imputan a estos compuestos es su capacidad de actuar como disruptores endocrinos, alterando el delicado equilibrio hormonal de los seres vivos. Este efecto tóxico de las dioxinas parece mediado por la activación del receptor Ah, el cual actúa inhibiendo o aumentando la expresión de otros receptores hormonales o bien modificando la biotransformación o el transporte, mediante proteínas específicas, de las hormonas endógenas.

Aunque este es el mecanismo principal de actuación de las dioxinas, se cree que no es el único. Se está estudiando hoy el día el efecto sobre la proteína quinasa C.

Cuadro clínico

La información de los efectos tóxicos descritos del TCDD provienen fundamentalmente de exposiciones ocupacionales crónicas durante la producción industrial de derivados clorados y de accidentes e intoxicaciones accidentales producidos en el hombre.

El TCDD es extremadamente tóxico estando su DL50 comprendida entre valores de 0,6 µg/kg y 2,5 µg/kg para el cobaya, el cual es la especie más sensible siendo el ser humano una de las especies más resistentes con una DL50 promedio de 300 mg/kg.

Los estudios de toxicocinética en animales de experimentación han revelado que se absorbe un 95% por vía pulmonar, 90% por vía oral y 40% por vía dérmica. Una vez absorbidas las dioxinas son rápidamente distribuidas a los órganos en especial al hígado y al tejido adiposo, dependiendo la vida media de eliminación de la especie, oscilando por

ejemplo en ratas entre 17 y 31 días y en el hombre 7 años. La excreción se realiza por heces y orina. Debido a su alta liposolubilidad son eliminados también por leche.

La principal vía de toxicidad del TCDD es la vía oral. Se ha visto que la absorción dérmica es escasa y muy lenta, por lo que se considera que el simple contacto físico no es suficiente para que sean absorbidas por la piel intacta. Por el contrario, sí parece existir un grado elevado de absorción por vía inhalatoria, lo que indica la posibilidad de absorción a partir de partículas aéreas procedentes de incineradoras de residuos sólidos.

El cuadro clínico que se presenta en el hombre se caracteriza por:

1) Cloroacné.- El cloroacné es la lesión más característica de la toxicidad del TCDD e histológicamente resulta de la desaparición de las glándulas sebáceas y su conversión a quistes queratinosos por metaplasia escamosa. La erupción de espinillas va acompañada de pequeños quistes amarillo pálido. Las lesiones más típicas implican la cara y a veces cuello. Las manos, las piernas y los pies son raramente afectados. El cloroacné aparece a las 1-3 semanas post-exposición aunque puede retrasarse a varios meses. La resolución requiere de 1-2 años y un 20% de los casos persisten. Aunque el cloroacné es el indicador más específico de la exposición de TCDD, también otros compuestos químicos tales como los cloronaftalenos, bromonaftalenos, policlorados bifenilos, dibenzofuranos, pentaclorofenol y otros causan igualmente cloroacné.

2) Inducción de enzimas hepáticas y hepatomegalia.- En el hígado se ha visto que no induce alteraciones hepáticas irreversibles. Se ha visto que se produce una elevación transitoria de los enzimas hepáticos durante el periodo agudo de la exposición.

3) Alteración del metabolismo de las porfirinas.- Se ha descrito que el TCDD es el estimulante químico conocido más potente de la enzima aminolevulinico ácido sintetasa la cual es la enzima limitante de la síntesis de porfirina y del grupo hemo, lo cual provoca una alteración del metabolismo de las porfirinas dando lugar además de la aparición de discrasias sanguíneas a alteraciones cutáneas tales como porfiria cutánea, fotosensibilidad, pigmentación de la piel y formación de vesículas en la misma.

4) Aparición de síntomas neuromusculares y sobre el SNC tales como fatiga, defectos en la visión, mialgias y parestesias, pudiendo producirse también alteraciones psicológicas fundamentalmente en forma de ansiedad y agresividad.

5) Aparición de efectos vasculares y metabólicos.- Se han descrito actualmente que las dioxinas son iniciadores de procesos aterogénicos relacionados con la capacidad del receptor Ah de modificar la expresión genética de factores de transcripción de las células musculares lisas vasculares. También se ha descrito que las dioxinas aumenta la incidencia de padecer diabetes en las poblaciones expuestas.

6) El TCDD es un compuesto teratógeno, que ha sido estudiado sobre todo en la población vietnamita y en los soldados que combatieron en dicha guerra, produciendo alteraciones perinatales en el feto tales como atrofia del timo y del bazo, disminución del crecimiento fetal y produciendo abortos y otra serie de modificaciones.

7) Se han observado también efectos sobre el sistema inmune. Es capaz de interferir la maduración de las células B, alterando la producción de anticuerpos humorales y la diferenciación de células T, produciendo también una atrofia tímica y esplénica e involución linfoidea. Estos efectos se dan sobre todo en niños ya que atraviesa la barrera placentaria y se excreta en leche. Se han realizado estudios en niños de Times Beach, Missouri, expuestos a TCDD por la contaminación de aceites que se utilizaban en las carreteras para no levantar polvo, y en niños del pueblo de los Inuit del Quebec Artico, en los que existe un alto nivel de TCDD debido a su alimentación rica en mamíferos marinos y peces, que revelaron cambios importantes en la cantidad de varios tipos de células del sistema inmune entre ellas los linfocitos.

8) Se han realizado numerosos estudios para determinar la carcinogenicidad del TCDD demostrándose que hay un incremento del riesgo de padecer diversos tipos de cáncer en animales de experimentación, por ejemplo carcinoma hepático y en trabajadores expuestos a altos niveles de dioxinas se ha demostrado que existe un incremento del riesgo de padecer diversos tipos de cáncer entre los que destacan cáncer de pulmón, gastrointestinal, sarcoma de tejidos blandos y linfoma de no-Hodgkin. Por todo ello en 1997, la Agencia Internacional para la investigación sobre el Cáncer ha clasificado al

TCDD dentro del grupo 1, es decir como sustancia carcinógena. El resto de los policlorados dibenzo-p-dioxinas y los furanos se clasifican dentro del grupo 3, es decir que no existen suficientes evidencias en el ser humano para clasificarlos como carcinógenos.

9) Se han observado efectos sobre el sistema endocrino tales como disminución de los niveles de hormona tiroidea y disminución en la concentración de testosterona con una reducción de la espermatogénesis y por lo tanto en la capacidad de concebir y tener éxito en la fecundación, caracterizándose de esta forma como un disruptor endocrino.

Diagnóstico

La detección de niveles de dioxinas requiere una compleja técnica que combine la cromatografía de gases con la espectrometría de masas porque los niveles que aparecen son del rango de nanogramos por litro (ppt).

El diagnóstico se basa en una historia completa así como en la inspección ocular de las instalaciones en busca de exposiciones potenciales, en la evaluación de las prácticas nutricionales y de gestación de los animales de abasto, en la eliminación de las etiologías más comunes y en la detección de hidrocarburos cíclicos halogenados en la grasa de la leche, tejido adiposo, muestras frescas de hígado, alimentos u otras fuentes sospechosas.

El diagnóstico clínico se debe de basar en la aparición del cuadro clínico sobre todo en la aparición de cloroacné y en análisis de sangre para detectar el aumento de enzimas hepáticas.

Tratamiento

El tratamiento está basado en el descubrimiento y eliminación de la fuente de exposición tanto en animales como el hombre. El resto del tratamiento de una exposición aguda a dioxinas es meramente sintomático. El cloroacné suele ser refractario a los tratamientos dermatológicos convencionales. Se aconseja un tratamiento tópico a largo plazo con derivados del ácido retinoico, acompañado de tetraciclinas para evitar la infección secundaria de las pústulas.

En los animales de abasto, los problemas a largo plazo de los residuos duraderos y el daño ocasionado en los animales afectados puede hacer antieconómico el tratamiento de los animales.

Sin embargo, debido a que la pérdida de peso, el parto, la lactancia u otros cambios metabólicos movilizan las reservas de grasas e incrementan la tasa metabólica y la excreción, se ha sugerido, que las dietas deficitarias en energía (por ejemplo, el pastoreo) pueden facilitar la reducción de los residuos. No obstante, este tratamiento se debe realizar durante mucho tiempo ya que el tiempo de eliminación corporal en rumiantes oscila entre 33 y 100 días y como he dicho anteriormente puede resultar antieconómico.

Como medidas preventivas los distintos estados han estableciendo controles en las materias primas destinadas a la alimentación animal así como en los procesos de fabricación para evitar en lo posible su contaminación con dioxinas y se está llevando a cabo distintas reuniones mundiales con el fin de reducir la producción de productos clorados que pudieran dar origen a las dioxinas y otras sustancias similares en mas de un 70%.

Bibliografía

- Baker J I, Hites R A. Is combustion the major source of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to the environment? A mass balance investigation. *Environ Sci Technol* 2000; 34 : 2879-2886.
- Bertazzi P, Consonni D, Bachetti S, Rubagotti M, Baccarelli A, Zocchetti C, et al. Health effects of dioxin exposure : a 20-year mortality study. *Am. J. Epidemiol.* 2001; 153: 1031-1044
- Chapin, R. E.; Stevens, J. T.; Hughes, C. L.; Kelce, W. R.; Hess, R. A. and Daston, G. P. (1996). Symposium overview. Endocrine modulation of reproduction. *Fundamental and Applied Toxicology* 29, 1-17.
- Egeland GM, Sweeney MH, Fingerhut MA, Willie KK, Schnorr TM, Halperin WE. Total serum testosterone and gonadotrophins in workers exposed to dioxin. *Amer. J. Epidemiol.* 1994; 139:272-281
- Green N J L, Alcock R E, Johnston A E , Johnston A E, Jones K C. Are there natural dioxins? Evidence from deep soil samples. *Organohalogen Compounds* 2000; 46: 12-14.
- IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 1997. polychlorinated dibenzo-para-dioxins and polychlorinated debenzofurans, vol. 69. IARC, Lyon.
- Liem A K D, Furst P, Rappe C. Exposure of populations to dioxins and related compounds. *Food Addit Contam* 2000; 17: 241-259.
- McKay G. Characterization, formation and minimization during municipal solid waste (MSW) incineration. *Review. Chem. Eng. J.* 2002; 86: 343-368
- Safe S. Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-p-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs), and related compounds: environmental and mechanistic considerations wich support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *Crit Rev Toxicol.* 1990; 21: 51-88.
- Safe, S. (2001). Molecular biology of the Ah receptor and its role in carcinogenesis. *Toxicology Letters* 120, 1-7.
- Sharpe RM, Skakkebach NE. Are oestrogens involved in falling sperm counts and disorders of the male reproductive tract?. *Lancet* 1993; 341:1392-1395
- Schwarz M, Buchmann A, Stinchcombe S, Kalkuhl A, Bock K. Ah receptor ligands and tumor promotion: survival of neoplastic cells. *Toxicology Letter.* 2000; 112-113: 69-77.
- Toyoshiba H, walker N G, Bailer A J, portier c J. Evaluation of toxic equivalency factors for cytochromes P450 CYP1A1 and CYP1A2 enzyme activity by dioxin-like compounds. *Toxicology and Applied Pharmacology.* 2004; 194: 157-168.
- WHO Regional Office for Europe (2000). Polychlorinatd dibenzodioxins and dibenzofurans. In "Air Quality Guidelines". 2ª Edición. Editorial Who. Copenhagen, Denmark.