

Actualización

Efectos adversos de contaminantes orgánicos persistentes (COPs) en el período perinatal: compuestos tipo dioxinas[#]

Dr. JORGE HERKOVITS*

Arch. argent. pediatr 2000; 98(3): 182

INTRODUCCION

La protección de la infancia del efecto tóxico de las sustancias químicas presentes en el ambiente es uno de los desafíos emergentes. En efecto, al creciente empleo de las sustancias químicas de uso tradicional se suman más de 15.000 nuevas sustancias de alto volumen de producción que se incorporan a la biósfera siendo especial el riesgo para la infancia asociado a la desproporcionada alta exposición y susceptibilidad inherente del período perinatal a los xenobióticos. Uno de los grupos de sustancias reconocidos por el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) como prioritarios debido a sus efectos muy adversos sobre el ecosistema y la salud humana son los contaminantes orgánicos persistentes (COPs) por sus siguientes características comunes: 1) la altísima toxicidad expresada en numerosas patologías, desde alteraciones en el comportamiento hasta tumores malignos, 2) su prolongada persistencia tanto en los ecosistemas como en los individuos contaminados debido a su limitadísima biodegradabilidad y 3) su penetrante distribución aun en lugares remotos como, por ejemplo, la región del Ártico. La principal causa para que los residuos organoclorados continúen persistiendo en el medio ambiente e inclusive aumenten, tal como se comprobó en el ecosistema ártico, se debe muy probablemente a que muchos de estos productos, como es el caso del DDT, tienen a nivel mundial un uso más extendido actualmente que en 1970 cuando se prohibieron en EE.UU. a raíz de los severos efectos que producen sobre la salud humana y los ecosistemas.

Entre los contaminantes orgánicos persistentes merecen una especial atención los compuestos

tipo dioxina, CPCDs y PCDFs que no existían en la naturaleza ni son producidos intencionalmente por el hombre, sino que resultan de actividades tales como la producción de otras sustancias (v.g. PCBs y fenoles clorados), la incineración de distintos residuos como los municipales, hospitalarios, industriales, desechos tóxicos, la combustión de derivados del petróleo, etc.¹ Estos compuestos, por sus severos efectos tóxicos, representan un altísimo riesgo, especialmente para las personas que tienen actividades en lugares próximos a su generación o donde se concentran y que pueden ser tan remotos en relación al lugar de su emisión como lo es la región ártica.

La toxicidad de estas sustancias depende de la especie, del sexo y de la edad de los organismos afectados y entre sus efectos adversos cabe destacar la pérdida de peso corporal, hepatotoxicidad, afecciones gástricas, porfiria, carcinogénesis, efectos inmunotóxicos, alteraciones en el desarrollo y la función reproductiva, del sistema nervioso y endocrino.¹ Si bien como valor de referencia en la población humana se han encontrado sólo 20 ng/kg de peso corporal (en tejido adiposo), cabe advertir que en casos por ahora excepcionales, el nivel de estas sustancias en los organismos ha llegado a superar los 50 ng/kg. Una idea de la toxicidad de estos compuestos queda esbozada por el hecho que tan sólo 1 ng/kg por día puede producir efectos adversos sobre la reproducción, mientras que administrado en el rango de 0,01 a 0,1 µg/kg de peso corporal puede producir carcinoma hepatocelular.¹ Otro ejemplo de la diversidad de efectos tóxicos según la estructura química de cada una de estas sustancias queda reflejado en el caso del Aroclor 1254, en el que una exposición de las madres a 25 µg/kg resultó en una reducción del 15% en el peso de los recién nacidos que se profundizó con posterioridad, mientras que las otras alteraciones informadas se producen en los dedos, las uñas y en las estructuras del riñón y el páncreas.¹ Por otra parte, existe también una gran variabilidad en la toxicidad de estos productos según la especie: 0,6 mg/kg de peso corporal de TCDD representa una DL50 para el cobayo mien-

Trabajo presentado en el Taller Subregional de Sensibilización sobre los Contaminantes Orgánicos Persistentes (COPs) organizado por la Unidad de Productos Químicos PNUMA, Puerto Iguazú, Argentina, 1-3 de abril de 1998.

* Miembro de la Carrera del Investigador del CONICET.
Correspondencia: Programa de Seguridad Química, Instituto de Ciencias Ambientales y Salud Fundación PROSAMA, Paysandú 752/760. (1405) Ciudad de Buenos Aires.

tras que para lograr un efecto similar en el hamster se requieren 5.051 mg/kg, pero cabe destacar que los efectos tóxicos sobre embriones se producen con dosis maternas similares independientemente de la especie.²

Los efectos bioquímicos de los TCDD pueden ser agrupados en tres clases: 1) alteraciones en el metabolismo debidas a cambios enzimáticos; 2) alteraciones en la homeostasis secundarias a alteraciones de distintas hormonas y sus receptores y 3) alteraciones en el crecimiento y la diferenciación como resultado de cambios en los factores de crecimiento y sus receptores.³ El paradigma actual es que los efectos tóxicos de los compuestos tipo dioxina (DLCs y TCDD) se producen principalmente a través del receptor Ah, pero otros mecanismos de acción, como su unión a hormonas, enzimas y alteración en la concentración de aminos biológicas también han sido informados. Como hipótesis de trabajo se podría considerar que los TCDDs y DLCs pueden actuar como disruptores endocrinos o mimetizar hormonas esteroideas, lo que parece coincidir con los múltiples efectos adversos que producen durante el período perinatal, especialmente en los sistemas inmune, endocrino, reproductivo y del desarrollo neurológico. Actuando como hormonas o disruptores endocrinos, estas sustancias también pueden producir neoplasia durante el período de desarrollo o en adultos.

El desarrollo embrionario representa uno de los procesos más complejos dentro del ciclo vital y es excepcionalmente sensible a los tóxicos. Las sustancias químicas interfieren con los procesos normales a través de múltiples mecanismos de acción, como interacciones con el material genético, con componentes de las membranas celulares, enzimas, receptores, etc. Debido a la susceptibilidad diferencial a los tóxicos según el estadio del desarrollo embrionario,⁴ cuando la exposición a estos tóxicos coincide con los períodos más sensibles del desarrollo, los efectos adversos pueden alcanzar excepcional gravedad, inclusive llegando a interrumpir funciones vitales básicas que resultan en la muerte del embrión o producir efectos subletales consistentes en malformaciones y alteraciones funcionales. Es importante destacar que todos estos efectos, al igual que en el caso de otras sustancias con efectos teratogénicos, se producen en concentraciones significativamente inferiores a las que resultan tóxicas para la madre.^{5,6} Por otra parte, cabe mencionar que durante el desarrollo embrionario existe una capacidad de regulación y regeneración excepcionalmente importante tal como se ha demostrado, por ejemplo, con la capa-

cidad de regulación de la forma⁷ y recuperación de embriones afectados por la exposición al plomo,⁸ motivo por el cual las malformaciones o alteraciones funcionales que se registran en un recién nacido deberían ser consideradas como el daño remanente de una situación mucho más comprometida sufrida por el embrión debido al estrés químico y que transcurrió oculto a nuestro conocimiento.

Si bien los COPs se almacenan principalmente en el tejido adiposo, es importante destacar que atraviesan la placenta y son excretados en la leche materna ampliando la exposición de estas sustancias durante todo el período de la lactancia.^{1,9} En el caso de los niños, sumado al factor nutricional que incluye un mayor requerimiento calórico por kg de peso, éstos tienen también un mayor riesgo que los adultos de ser afectados debido a una menor barrera de absorción a través de la piel, el tracto gastrointestinal y los pulmones, motivo por el cual se puede estimar que incorporan aproximadamente 100 veces más que un adulto y además tienen un menor nivel de enzimas de detoxificación.⁹

A partir de la información antes mencionada resulta que todos los organismos integrantes del ecosistema, incluyendo los humanos, tienen incorporados compuestos del tipo de las dioxinas en niveles que presumiblemente representan algún riesgo para su salud o la de su descendencia. Tomando en consideración la alta susceptibilidad a los tóxicos durante el desarrollo embrionario y el período perinatal, en el presente trabajo de actualización se van a enfatizar los efectos adversos de este tipo de compuestos durante dichos períodos y particularmente sobre el sistema nervioso, reproductivo, inmunológico y endocrino. También se va a considerar la necesidad de anticipar potenciales efectos adversos sobre la salud humana y la biota en general mediante estudios basados en monitoreos ambientales y biomarcadores que nos permitan obtener información sobre niveles de exposición y efectos adversos. Por último, se fundamenta dentro del objetivo de alcanzar un desarrollo sustentable, la necesidad de realizar en la región del Mercosur, estudios de evaluación de riesgo debido a los COPs para los ecosistemas y la salud humana.

Efectos de la exposición perinatal a compuestos tipo dioxina sobre la reproducción

Los efectos adversos de los compuestos tipo dioxina sobre el desarrollo del aparato reproductivo masculino y femenino, han sido ampliamente do-

cumentados.^{10,11} Por ejemplo, en peces, aves y mamíferos expuestos a estas sustancias, se comprobó un desarrollo muy limitado llegando, inclusive, a no alcanzar la madurez sexual. Tan solo 1 µg de TCDD en el día 15 de la gestación produce la desmasculinización de las ratas, incluyendo en su vida pospuberal la reducción en el número de espermatozoides y anomalías en su comportamiento sexual.¹² También en el caso de las hembras se han registrado efectos adversos en su desarrollo reproductivo, como malformaciones del clítoris y ausencia de la apertura vaginal lo que permite sugerir que estas malformaciones pueden ser consideradas secundarias a efectos estrogénicos.¹³ La exposición de animales después de su nacimiento también produce alteraciones como reducción en el tamaño y el peso de los testículos, trastornos en la espermatogénesis y en la fertilidad,¹⁰ mientras que en hembras se detectó una disminución de la fertilidad y una mayor incidencia de abortos. El sexo femenino resultó más severamente afectado en su capacidad reproductiva, aparentemente por el agregado de un cuadro clínico de endometriosis.¹⁴ En humanos se han registrado efectos similares a los descritos para otros mamíferos y es importante destacar que la exposición *in utero* puede resultar en un retraso del desarrollo de caracteres sexuales secundarios y del crecimiento en la pubertad; más aún, en la etapa pospuberal pueden manifestarse reducción de la fertilidad, ciclos menstruales anormales y una menopausia prematura.^{1,14,15} En el sexo masculino se verificó también alteración en la calidad del semen. Algunos estudios epidemiológicos como, por ejemplo, el caso de los inuits (esquimales) que viven en la zona ártica del Quebec, cuya dieta consiste principalmente en mamíferos marinos, revelaron una concentración siete veces mayor de compuestos tipo dioxinas (y PCBs) en la leche materna que en la de mujeres de la zona sur de la misma provincia.¹⁵

Efectos sobre el desarrollo nervioso y el comportamiento

La administración perinatal de PCBs en ratas (compuestos 18, 28, 118 y 153) causa alteraciones en la conducta similares a las producidas por lesiones en la corteza prefrontal, aparentemente mediadas por un déficit en las dopaminas. La exposición perinatal de ratas y monos a PCBs produce déficit en la memoria y en la capacidad de aprendizaje.⁹ La evaluación del comportamiento de niños expuestos a PCBs durante la gestación por madres que habían consumido peces contami-

nados del Lago Michigan demostró una reducción en la precisión de los procesos intelectuales.⁹ Otro estudio realizado en Taiwán reveló que la incorporación de PCB y PCDF produjo una deficiencia en el sistema nervioso central, demostrada por una diferencia de 4 a 8 puntos en la prueba de inteligencia con respecto a los controles.¹⁶ Estos efectos adversos no se revirtieron en años subsiguientes y se comprobaron también en sus hermanos menores. Específicamente para los compuestos tipo dioxina, cabe destacar el caso de la contaminación en Times Beach, Missouri, donde a partir de 1971 y hasta 1983, año en el que se procedió a la evacuación del lugar, se reconocieron numerosos casos de alteraciones nerviosas aparentemente relacionadas también con lesiones en las áreas frontal y prefrontal.

Entre las alteraciones neurológicas más reconocidas en adultos expuestos a estas sustancias, cabe mencionar la disfunción sexual (pérdida de libido e impotencia), dolor de cabeza, neuropatías, alteraciones en la vista y la memoria visual, el sentido del gusto y del olfato y efectos psiquiátricos como alteraciones del sueño, depresión, pérdida de la energía vital y angustia. Las alteraciones en el comportamiento humano pueden ser el resultado de interacciones muy complejas entre el sistema neuropsicológico y neuroendocrino. Algunos compuestos de PCB pueden disminuir las dopaminas en la corteza cerebral de adultos, como así también los niveles de T4 en individuos nacidos de hembras expuestas a estas sustancias.¹⁷

Efectos endocrinos

Los estudios realizados en roedores expuestos a TCDD informaron una reducción de la libido y del tamaño testicular, así como alteraciones en las hormonas masculinas, que también fueron verificadas en humanos. La exposición perinatal al TCDD puede causar malformaciones en el aparato reproductor y en roedores; concentraciones tan bajas como 0,064 a 1 mg/kg aplicados en el día 15 pueden causar una disminución posterior en la espermatogénesis y alteraciones en la conducta sexual en función de la dosis. El efecto del TCDD alcanza también a la diferenciación del sistema nervioso central por alteraciones en la testosterona en el período intrauterino, reduciendo su masculinización. Con respecto al eje tiroideo, la administración de mezclas de PCB durante el período perinatal disminuye el nivel de hormonas tiroideas pero cabe mencionar que algunos compuestos de PCB (los números 118, 128, 153 y 180) y compuestos de tipo dioxinas no siempre inciden

significativamente con el nivel de hormona tiroidea.¹⁸ Los estudios epidemiológicos indican que la exposición *in utero* a contaminantes o mediada por la lactancia puede estar asociada con una disminución en el desarrollo neurológico y físico.¹⁸

Efectos inmunológicos

Los efectos inmunotóxicos del TCDD en el período perinatal sobre el timo y, en particular, sobre la respuesta inmune mediada por las células T y los macrófagos son severos, mientras que las células B parecen ser menos sensibles, tal como se informó en ratones.¹⁹ Los efectos de las sustancias del tipo de las dioxinas pueden modificar la maduración de las células en el timo e incidir sobre la migración de las células de la médula ósea hacia dicho órgano. Entre otros efectos adversos cabe mencionar: 1) la alteración en la relación entre los linfocitos de origen tímico "ayudantes" y "supresores" CD4/CDg (2= normal; <1 comprometido) y 2) efectos sobre los linfocitos tímicos CD29 vinculados con la memoria inmunológica. La población inuit en el ártico canadiense es uno de los casos mejor conocidos de efectos adversos de los compuestos tipo dioxina sobre el sistema inmunológico. En dicha población, la incidencia de infecciones como meningitis y otitis, es 20 veces mayor durante el primer año de vida que en individuos alejados de esos focos de contaminación. La lactancia, debido al pasaje de estas sustancias a la leche materna, tiene un efecto agravante para una respuesta inmunológica adecuada en el período perinatal.²⁰

Biomarcadores de exposición y efectos de compuestos del tipo de las dioxinas

Un biomarcador se define como un cambio bioquímico, morfológico o funcional que indica exposición, respuesta o susceptibilidad potencial a una sustancia o agente ambiental. En general, los biomarcadores se utilizan para incrementar la sensibilidad, especificidad o capacidad resolutive para poder establecer la relación causal entre un agente químico y su efecto sobre un organismo. Para evaluar la exposición a los compuestos del tipo dioxina, su condición de altamente lipofílicos permite medir estos compuestos en el tejido adiposo y en la leche, como así también reconocer fenómenos de bioamplificación de estos compuestos en organismos pertenecientes a niveles cada vez más altos de las redes tróficas. El mismo fundamento permite evaluar el nivel residual de estos compuestos en el organismo. Los biomarcadores de

efecto representan una forma rápida y económica de reconocer procesos patológicos antes de que se manifiesten los síntomas clínicos. Entre los biomarcadores de efectos cabe destacar el recuento de espermatozoides para los aspectos reproductivos, la relación CD4-CD8 para aspectos inmunológicos, el nivel de T4 para aspectos endocrinológicos, dopamina para aspectos neuroendocrinológicos y con respecto al neurocomportamiento, la prueba de habilidad cognitiva y motora. A nivel molecular, los estudios se basan fundamentalmente en la alta afinidad entre el receptor Ah (una proteína citoplasmática) y los compuestos del tipo de las dioxinas y otros contaminantes orgánicos persistentes, como los PCB coplanares. La unión de los compuestos tipo dioxina con los receptores Ah parece de fundamental importancia para un amplio espectro de efectos como teratogénesis, carcinogénesis, inmunotoxicidad y otros cambios bioquímicos como las enzimas detoxificadoras y factores de crecimiento. El complejo receptor-dioxina produce un incremento en la transcripción de un grupo de genes entre los cuales se encuentra el CYP1A1 que representaría uno de los mecanismos de acción de estas sustancias.²¹ Cabe mencionar que mediante un bioensayo desarrollado recientemente en base a la expresión del gen luciferasa (el ensayo CALUX), el límite de detección del TCDD expresado en equivalencia de toxicidad (TEQ) es menos de 0,1 fmol TEQ.²² Sin embargo, ninguno de estos biomarcadores de efecto y susceptibilidad permiten concluir en forma incontrovertible que la causa de una alteración dada sea debida a compuestos del tipo dioxinas, motivo por el cual es importante correlacionar esta información con datos de exposición y estudios epidemiológicos. Existen antecedentes de este tipo de investigaciones, por ejemplo, la relación entre el metabolismo de la hormona tiroidea en lactantes cuyas madres tienen distintos niveles de PCBs y PCDD en la leche,²³ el estudio de los niños inuits (Artico canadiense) midiendo compuestos del tipo de las dioxinas en la leche materna, suero y placenta, la inducción enzimática mediada por el receptor Ah, proteínas de estrés, la relación de linfocitos, CD4-CD8, intercambio de cromátides hermanas y nivel hormonal de T3, T4 y TCH.¹⁵

Evaluación de riesgo

La evaluación de riesgo es un proceso que permite reconocer sobre bases científicas la probabilidad de que se produzca un determinado hecho, en este caso efectos adversos sobre el ecosistema o la salud humana debidos a la expo-

sición de COPs. Para los humanos, la mayor fuente de exposición es a través de los alimentos, con valores promedio de 0,3 pg de TCDD/kg/día y de 3 a 10 pg/kg/día de PCB.¹ La estimación de la exposición implica el análisis del movimiento de las sustancias en el medio ambiente, la biota y su degradación. Para la caracterización de los efectos es importante tomar en cuenta tres variables: la concentración de la exposición, el tiempo de la exposición y la respuesta. Tomando en consideración que las dioxinas y los compuestos relacionados generalmente se presentan en mezclas complejas de sustancias con distintos niveles de toxicidad, se ha desarrollado el concepto de factor de equivalencia de toxicidad, que es una medida relativa de cada una o la mezcla en su conjunto respecto a la toxicidad del TCDD. Para la medición del efecto de un tóxico, una relación de fundamental importancia es la curva dosis-respuesta. Si bien varios estudios parecen indicar una relación dosis-respuesta para el caso de los COPs, habiéndose detectado mediante técnicas cuantitativas de PCR una sensibilidad 100 veces mayor a dichas sustancias que la registrada mediante ensayos enzimáticos, inmunológicos y de efectos sobre el desarrollo embrionario, no parece responsable proponer una concentración que represente un umbral para los efectos adversos de estas sustancias.²⁴

La evaluación del riesgo propiamente dicho tiene como objetivo reconocer la probabilidad de que se produzcan efectos adversos como resultado de la exposición de los COPs motivo del estudio. Durante este proceso es importante el análisis de la información probatoria que fundamenta los datos de exposición y la de los efectos recopilados en las fases anteriores. En base a los datos disponibles acerca de la exposición a este tipo de sustancias químicas y los efectos que producen en las poblaciones, podemos anticipar que durante el período de desarrollo y el perinatal, los organismos vivos, incluyendo los seres humanos, se encuentran especialmente en riesgo de padecer efectos adversos por COPs. Otra población en riesgo es la de los trabajadores y la población en general que viven próximos a los lugares de producción, liberación y/o acumulación de estas sustancias y los que se alimentan de lo que pescan.^{3,25-27} Un dato que anticipa la magnitud del potencial efecto adverso de estas sustancias sobre la salud lo revela el hecho que, solamente como hormonas ambientales, podrían estar implicadas con tres de los cánceres reconocidos como los más comunes en mujeres de Estados Unidos.²⁸ La evaluación de riesgo

también puede extenderse al reconocimiento de los potenciales efectos adversos debidos a la diseminación de COPs en los ecosistemas y sus efectos sobre la vida silvestre.^{29,30} Los estudios de evaluación de riesgo debido a los COPs, como asimismo el de otras sustancias que producen severos efectos adversos sobre la salud, representarían un avance sumamente importante para objetivos de cuidado ambiental y de la salud de la población, especialmente tomando en consideración los significativos niveles de toxicidad de nuestros recursos naturales en las regiones con alta densidad poblacional.^{31,32}

BIBLIOGRAFIA

1. IPCS. Polychlorinated biphenyls and terphenyls. Environ Health Crit 1993; 140.
2. Olson JR, McGarrigle BP. Comparative developmental toxicity of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). Chemosphere 1992; 25: 71-74.
3. Birnbaum L. The mechanism of dioxin toxicity: Relationship to risk assessment. Environ Health Perspect 1994; 102 (Suppl 9): S157-S167.
4. Herkovits J, Cardellini P, Pavanati C, Perez-Coll C. Early life stages susceptibility to cadmium in *Xenopus laevis*. Environ Toxicol Chem 1997; 16 (Suppl 2): S312-S316.
5. Khera KS. Common fetal aberrations and their teratologic significance: A review. Fundam Appl Toxicol 1981; 1: 13-18.
6. Belmonte N, Rivera O, Herkovits J. Zinc protection against Cd effects on preimplantation mice embryos. Bull Environ Contam Toxicol 1989; 43: 107-110.
7. Herkovits J, Fernández A. Tolerancia a noxas durante el desarrollo embrionario. Medicina Buenos Aires 1979; 39: 400-408.
8. Perez-Coll C, Herkovits J. Stage dependent susceptibility to lead in *Bufo arenarum* embryos. Environ Pollut 1990; 63: 239-445.
9. Lindstrom G, Hooper K, Petreas M, Stephens R. Workshop on perinatal exposure to dioxin-like compounds. I. Summary. Environ Health Perspect 1995; 103 (Suppl 2): S135-S142.
10. Peterson RE, Theobald HM, Kimmel GL. Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: cross species comparisons. CRC Crit Rev Toxicol 1993; 23 (Suppl 3): S283-S335.
11. Eskenazi B, Kimmel G. Workshop on exposure to dioxin-like compounds. II. Reproductive effects. Environ Health Perspect 1995; 103:143-145.
12. Mably TA, Moore RW, Goy RW, Peterson RE. In utero and lactational exposure of male rats to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. 2. Effects on sexual behavior and the regulation of luteinizing hormone secretion in adulthood. Toxicol Appl Pharmacol 1992; 114: 108-117.
13. Gray LE, Ostby JS, Kelce W, Marshall R, Diliberto JJ, Birnbaum LS. Perinatal TCDD exposure alters sex differentiation in both female and male LE hooded rats. Abstracts: Dioxin '93, 13th International Symposium on Chlorinated Dioxins and Related Compounds, 1993, Viena; 337-339 [abstract].

14. Rier S, Martin D, Bowman R, Dmowski WP, Becker J. Endometriosis in rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) following chronic exposure to 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Fundam Appl Toxicol* 1993; 21: 433-441.
15. Dewailly E, Ayotte P, Bruneau S, Laliberté C, Muir DCG. Inuit exposure to organochlorines through the aquatic food chain in Artic Québec. *Environ Health Perspect* 1993; 101: 618-200.
16. Brouwer A, Sauer PJJ. Effects of PCBs and dioxins during pregnancy and breast feeding on growth and development of newborn infants. A study design and preliminary results. Proceeding of the 12th International Dioxin Conference, Tampere, Finland, 1992.
17. Golub M, Jacobson S. Workshop on Perinatal Exposure to dioxin-like compounds. Neurobehavioral Effects. *Environ Health Perspect* 1995; 103 (Suppl 2): S151-S155.
18. Feeley M. Workshop on perinatal exposure to dioxin-like compounds. III. Endocrine effects. *Environ Health Perspect* 1995; 103 (Suppl 2): S147-S150.
19. Kerkvliet NI, Oughton JA. Acute inflammatory response to sheep red blood cell challenge in mice treated with 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p,dioxin (TCDD): Phenotypic and functional analysis of peritoneal exudate cells. *Toxicol Appl Pharmacol* 1993; 119: 248-257.
20. Birnbaum L. Workshop on perinatal exposure to dioxin-like compounds. V. Immunologic effects. *Environ Health Perspect* 1995; 103 (Suppl 2): S157-S160.
21. Hooper K, Clark GC. Workshop on perinatal exposure to dioxin-like compounds. VI. Role of biomarkers. *Environ Health Perspect* 1995; 103 (Suppl 2): S161-S117.
22. Murk A, Leonards P, Bulder A, Jonas A, Rozameijer M, Denison M, Koeman J, Brouwer A. The CALUX (chemical-activated luciferase expression) assay adapted and validated for measuring TCDD equivalents in blood plasma. *Environ Toxicol Chem* 1997; 16: 1583-1589.
23. Koopman-Esseboom C, Huisman M, Weisglas-Kuperus N, Van der Paauw CG, Tuinstra LGMT, Morse DC, Brouwer A, Sauer PJJ. Effects of PCBs and dioxins during pregnancy and breast feeding on growth and development of newborn infants. A study preliminary results. Proceedings of the 12th International Dioxin Conference, Tampere, Finland 1992.
24. Vanden Heuvel JP, Clark GC, Trischer AM; Greenlee WF. Lucifer response relationship using quantitative reverse transcriptase-polymerase chain reaction. *Cancer Res* 1992; 54: 62-68.
25. Ratner B, Hatfield J, Melancon M, Custer T, Tillitt D. Relation among cytochrome P450, Ah-active PCB congeners and dioxin equivalents in pippins black-crowned night-heron embryos. *Environ Toxicol Chem* 1994; 13: 1805-1812.
26. Rice D, Duffard AME, Duffard R, Iregren A, Satoh H, Watanabe C. Lesson for neurotoxicology from selected model compounds: SGOMSEC joint report. *Environ Health Perspect* 1996; 104 (Suppl 2): S205-S215.
27. Zabel E, Peterson R. TCDD-like activity of 2, 3, 6, 7-tetrachloroxanthene in rainbow trout in early life stages and in a rainbow trout gonadal cell line (RTG-2). *Environ Toxicol Chem* 1996; 15: 2305-2309.
28. Service RF. New role for estrogen in cancer. *Science* 1998; 279: 1631-1633.
29. Meyn O, Zeeman M, Wise M, Keane S. Terrestrial wildlife risk assessment for TCDD in land-applied pulp and paper mill sludge. *Environ Toxicol Chem* 1997; 16: 1789-1801.
30. Colborn T, Smolen MJ. Epidemiological analysis of persistent organochlorine contaminants in cetaceans. *Rev Environ Contam Toxicol* 1996; 146: 91-171.
31. Herkovits J, Perez-Coll CS, Herkovits FD. Ecotoxicity in the Reconquista River, Province of Buenos Aires, Argentina. A preliminary study. *Environ Health Perspect* 1996; 104:186-9.
32. Herkovits J, Perez-Coll CS, Herkovits FD. Ecotoxicity in the Reconquista River, Province of Buenos Aires, Argentina. Implications for human health risk assessment. Abstract Book, SETAC, 17th Annual Meeting, Washington DC, 1997.