



EVALUACIÓN DE CONTAMINANTES AMBIENTALES

*Dr. Miguel Motas Guzmán
Jefe del Área de Toxicología Ambiental – CNSA, ISCIII*

31 de enero de 2019

TOXECOTOX - II Jornadas Científicas de Toxicología Ambiental y Ecotoxicología



MINISTERIO
DE ECONOMÍA
Y COMPETITIVIDAD



CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

cnsa





MINISTERIO
DE ECONOMÍA
Y COMPETITIVIDAD



CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL



Datos de interés:

Carretera Pozuelo-Majadahonda km 5,1
28220 Majadahonda (Madrid) España

E-mail: dirección.cnsa@isciii.es

Página web: <http://www.isciii.es>





MINISTERIO
DE ECONOMÍA, INDUSTRIA
Y COMPETITIVIDAD

30.
ANIVERSARIO
(1986-2016)

isc
Instituto
de Salud
Carlos III

CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

cnsa

Ciudadanos



Desarrollo
tecnológico



Salud Ambiental



Prevenir, controlar y corregir
factores potencialmente
nocivos para la salud humana
y el medioambiente

Administración
Pública

CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

APOYO TÉCNICO-CIENTÍFICO





MINISTERIO
DE ECONOMÍA
Y COMPETITIVIDAD



CENTRO NACIONAL DE SANIDAD AMBIENTAL

cnsa



Orgánicamente

Ministerio de Ciencia,
Innovación y Universidades
(Real Decreto 865/2018)

Funcionalmente

Ministerio de Sanidad,
Consumo y Bienestar Social
(Real Decreto 1047/2018)



Decreto 252/1974, de 25 de enero
**“Órgano científico-técnico de apoyo a las
Administraciones Públicas en aspectos
sanitarios relacionados con el Medio
Ambiente”**



MINISTERIO
DE ECONOMÍA, INDUSTRIA
Y COMPETITIVIDAD

30.
ANIVERSARIO
(1986-2016)

isc
Instituto
de Salud
Carlos III

CENTRO NACIONAL DE
SANIDAD AMBIENTAL

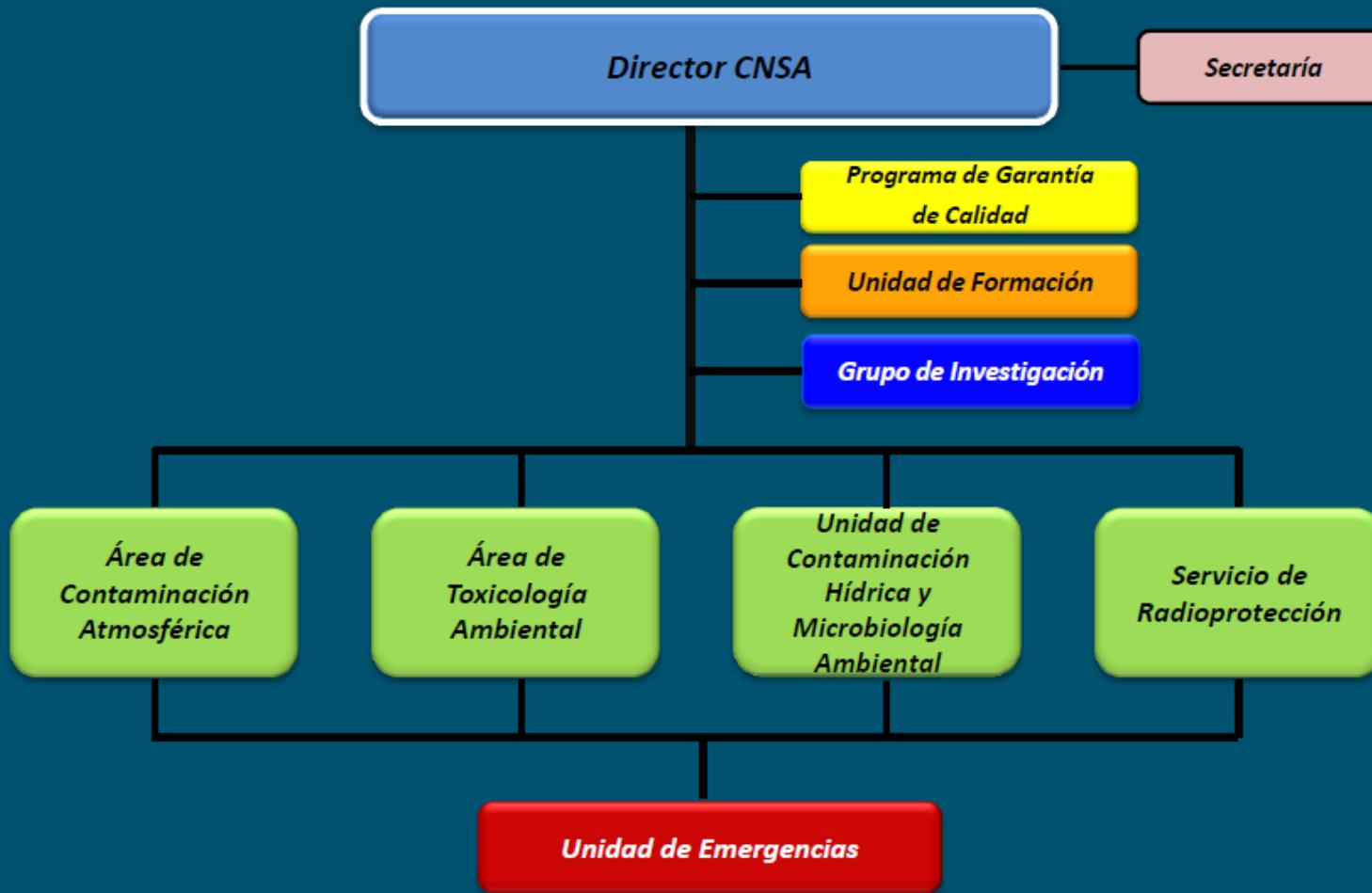
cnsa

Actividades

- Apoyo científico-técnico a las Administraciones Públicas en materias de Salud Ambiental
- Centro Nacional de Referencia
- Coordinador de ejercicios de Intercomparaciones
- Apoyo operativo en casos de emergencias y crisis medioambientales
- Análisis de riesgos
- Actividades de Normalización en métodos de medición
- Laboratorio acreditado para la RE-LAB (Orden PRE/305/2009, de 18 de febrero)
- Actividades de investigación (Grupo de Investigación del CNSA)
- Docencia y Formación especializada



Organigrama





El Centro Nacional de Sanidad Ambiental apuesta por la política de garantía de calidad y por ello está acreditado según la Norma UNE-EN/ISO/IEC 17025, único sistema de calidad que representa el reconocimiento formal de la competencia técnica de los laboratorios de ensayo y dispone de 174 ensayos acreditados en distintas matrices ambientales.





MINISTERIO
DE ECONOMÍA, INDUSTRIA
Y COMPETITIVIDAD

30.
ANIVERSARIO
(1986-2016)

ic
Instituto
de Salud
Carlos III

CENTRO NACIONAL DE
SANIDAD AMBIENTAL

cnsa

Actividades

- Análisis toxicológicos y ecotoxicológicos.
- Análisis de la contaminación química en muestras ambientales.
- Unidad de emergencias del CNSA.
- Dosimetría de radiaciones ionizantes.
- Análisis de la contaminación radiactiva en muestras ambientales, alimentos y residuos.
- Estudio de ambientes interiores: partículas, gases, radón.
- Medidas de exposición personal a contaminantes ambientales.
- Elaboración de mapas de riesgo atmosféricos.
- Calibración de patrones de transferencia de ozono.



MINISTERIO
DE ECONOMÍA, INDUSTRIA
Y COMPETITIVIDAD

30.
ANIVERSARIO
(1986-2016)

ic
Instituto
de Salud
Carlos III

CENTRO NACIONAL DE
SANIDAD AMBIENTAL

cnsa

ÁREA DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

Evaluación de los contaminantes sobre el hombre y poblaciones naturales

Líneas de actuación

- Biomonitorización de la población, mediante la medida de contaminantes (y/o metabolitos) en muestras humanas
- Determinación de metales
 - en pelo (acred. ENAC)
 - orina y sangre (sala blanca)
- Determinación de compuestos orgánicos en suero y orina
 - ✓ (Cotinina, Metabolitos Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, etc.)
 - ✓ (Plaguicidas organoclorados, Bifenilos Policlorados, Difenil Éteres Polibromados, etc.)
 - ✓ (niveles ultra-traza) (Compuestos Perfluorados, Bisfenol A, etc.)



Expertos para la Comisión Europea en Biomonitorización Humana (ESBIO)
Asesores de la OMS Europa para Biomonitorización Humana



MINISTERIO
DE ECONOMÍA, INDUSTRIA
Y COMPETITIVIDAD

30.
ANIVERSARIO
(1986-2016)

ic
Instituto
de Salud
Carlos III

CENTRO NACIONAL DE
SANIDAD AMBIENTAL

cnsa

ÁREA DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

Evaluación de riesgo, caracterización de naturaleza y magnitud del riesgo sobre la salud, derivado de la exposición a sustancias peligrosas presentes en el medio

Líneas de actuación

- ✓ **Evaluación Toxicológica de Fitosanitarios** para la inclusión de las sustancias activas en el Anexo I del Reglamento (CE) de Comercialización de Productos Fitosanitarios 1107/2009
- ✓ **Evaluación de preparados de Productos Fitosanitarios**



Expertos nominados por la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA)

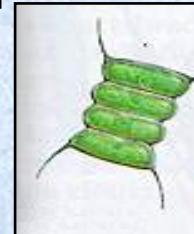


ÁREA DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

Ecotoxicología

Líneas de actuación

- **Sistema de Garantía de Calidad. Acreditación UNE-EN ISO/IEC17025**
 - ✓ Ensayos Ecotoxicológicos (*in vivo* e *in vitro*)
 - Medio acuático (Algas, *Daphnia magna*, Peces, Células de peces y Embriones de pez cebra)
 - Medio terrestre (Lombriz de Tierra, Semillas, Plantas- *Lactuca Sativa*)



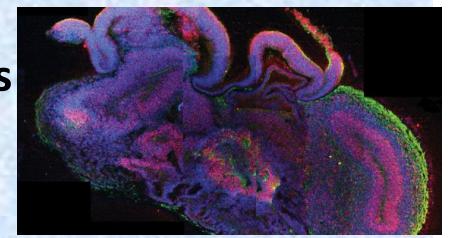
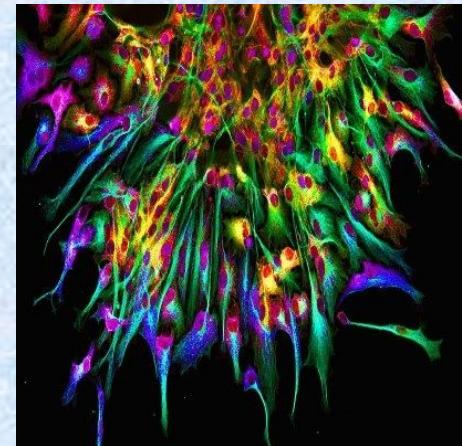


ÁREA DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL

Evaluación riesgo toxicológico mediante cultivos celulares

Líneas de actuación

- Búsqueda de biomarcadores de exposición
- Búsqueda de biomarcadores de efecto
- Evaluación del riesgo toxicológico de mezclas de contaminantes
- Estudio de etiopatogenia y fisiopatología de enfermedades neurodegenerativas debida a exposición a contaminantes ambientales
- Uso de células madre neurales de origen humano y microcerebros

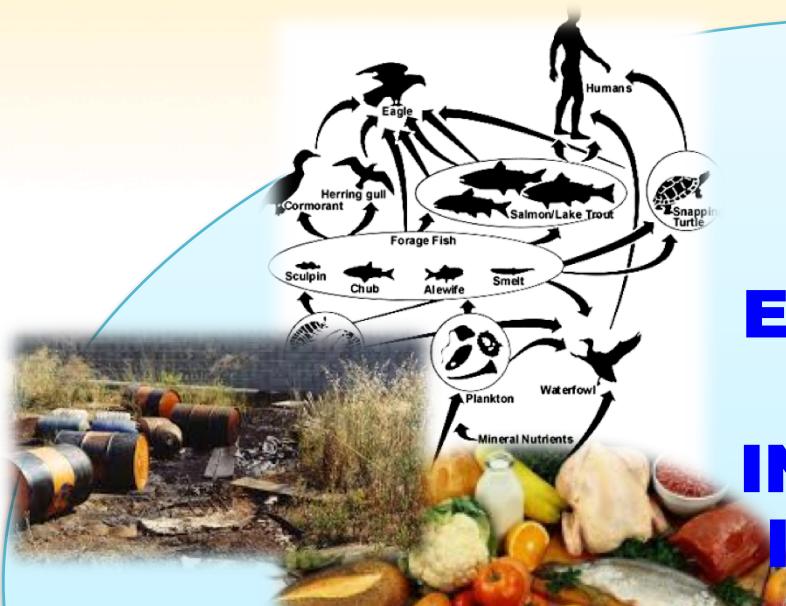


BIOVIGILANCIA HUMANA (HBM)

Medida directa de la exposición a contaminantes ambientales mediante el análisis de su concentración o de sus metabolitos en sangre, orina o cualquier otra matriz biológica.

National Research Council, 2006

VALORACIÓN INTEGRADA



Contaminación agua
y suelos



EXPOSICIÓN DÉRMICA INHALACIÓN INGESTIÓN



Contaminación
atmosférica



Exposición ambientes
interiores



PBDEs ARE EVERYWHERE
Items in your home and office that may contain deca:
PRODUCTS WITHOUT DECA

ESTUDIOS DE BIOVIGILANCIA HUMANA

- **Evaluar la eficacia de las medidas de reducción de la contaminación**

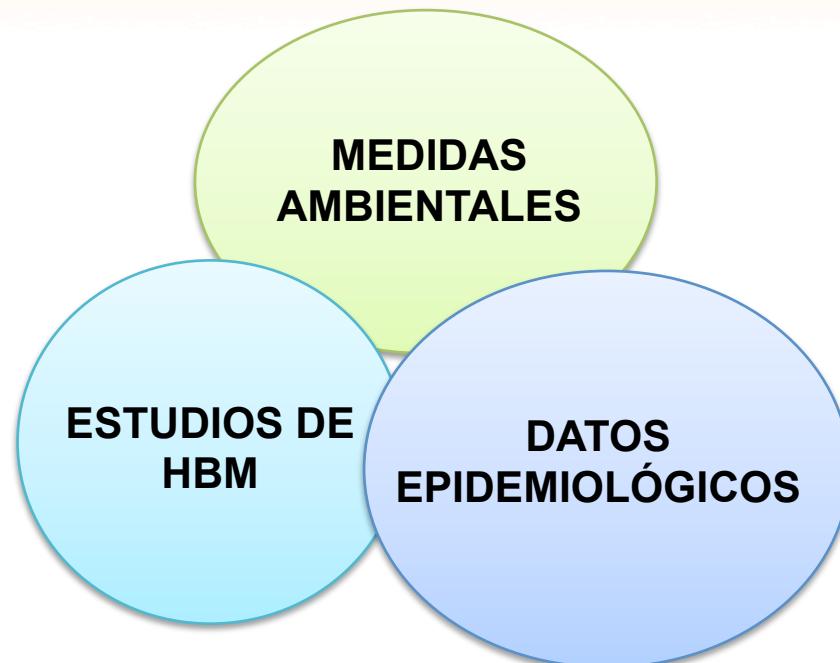
Reduce incertidumbre asociada a los datos de exposición ambiental

- **Seguimiento de tendencias temporales**

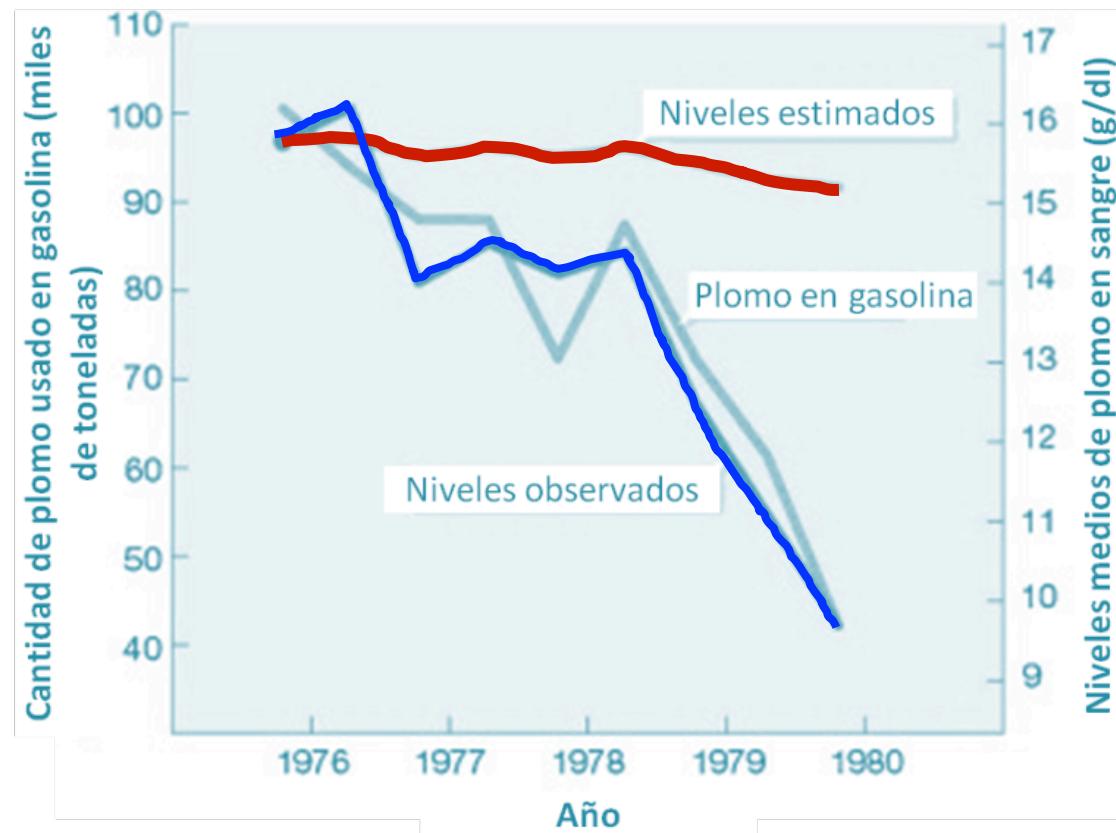
- **Establecer tendencias geográficas (“hot spots”)**

- **Identificar grupos más expuestos y poblaciones vulnerables**

INFORMACIÓN COMPLETA



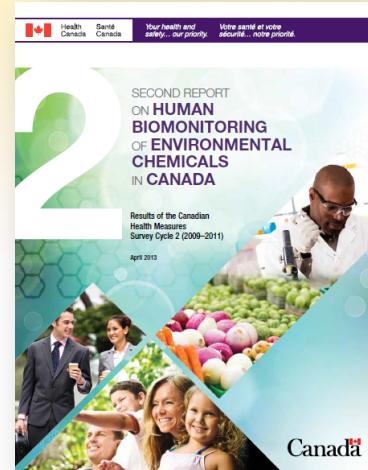
Reducción de los niveles de plomo en sangre en la población de US



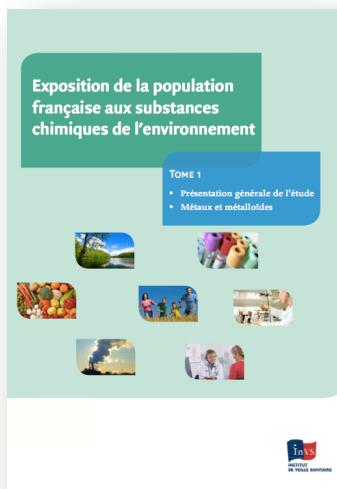
Paschal D. J. Chem. Health and Safety. 15:8-13. 2008..

HBM en el mundo

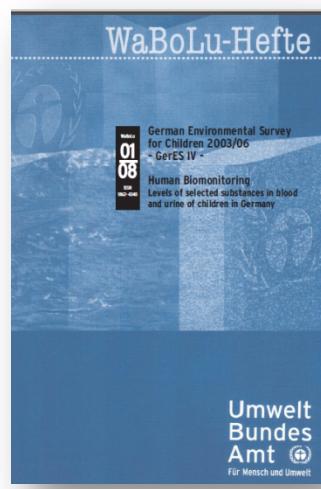
Estados Unidos NHANES



Canadá CHMS



Francia



Alemania GerEs

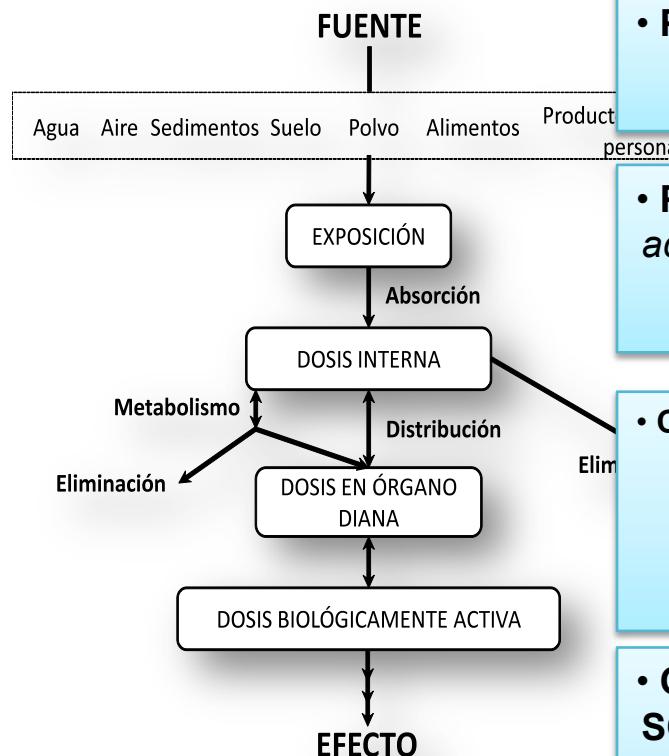
ANÁLISIS & INTERPRETACIÓN



COMPLEJIDAD

Análisis químico, análisis estadístico, gran volumen de información recogida, etc.)

MEDIO AMBIENTE & SALUD



- CONVENIO DE ESTOCOLMO SOBRE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES, art. 11(*investigación, desarrollo y vigilancia*)

“b) Presencia, niveles y tendencias **en las personas y en el medio ambiente**”

- PNA DEL CONVENIO DE ESTOCOLMO

“6.1.7. Programa de vigilancia”

“Medida 13: Fomentar las actividades de vigilancia y control de COP...”

- PLAN DE ACCIÓN EUROPEO DE MEDIO AMBIENTE Y SALUD, acción 3

“Desarrollar un enfoque coherente de la **vigilancia biológica** en Europa”

- CONVENIO DE MINAMATA, art. 22 (evaluación de la eficacia)

“...datos monitorizados comparables sobre la presencia y los movimientos de mercurio y compuestos de mercurio en el medio ambiente, así como sobre las tendencias de los niveles de mercurio y compuestos de mercurio observados en los **medios bióticos y las poblaciones vulnerables**”

- OCTAVA CONFERENCIA PARTES CONVENIO DE ESTOCOLMO SOBRE CONTAMINANTES ORGÁNICOS PERSISTENTES, segundo informe de vigilancia mundial

“seguir vigilando presencia de COP, en aire, **leche o sangre humana**”

ESTABLECIMIENTO DE BASES PARA SU DESARROLLO

- **Campañas de muestreo población general**
 - BIOAMBIENT.ES (población adulta; 16-65 años) 2007-2010
 - DEMOCOPHES (madres e hijos de 7-11 años) 2010-2012
 - BEA (población adolescente; 14-16 años) 2015-2019
- **Biobanco**
 - > 7.500 muestras (sangre, suero, orina y pelo)
- **Desarrollo y validación de métodos analíticos**
- **Más de 12.000 determinaciones analíticas**

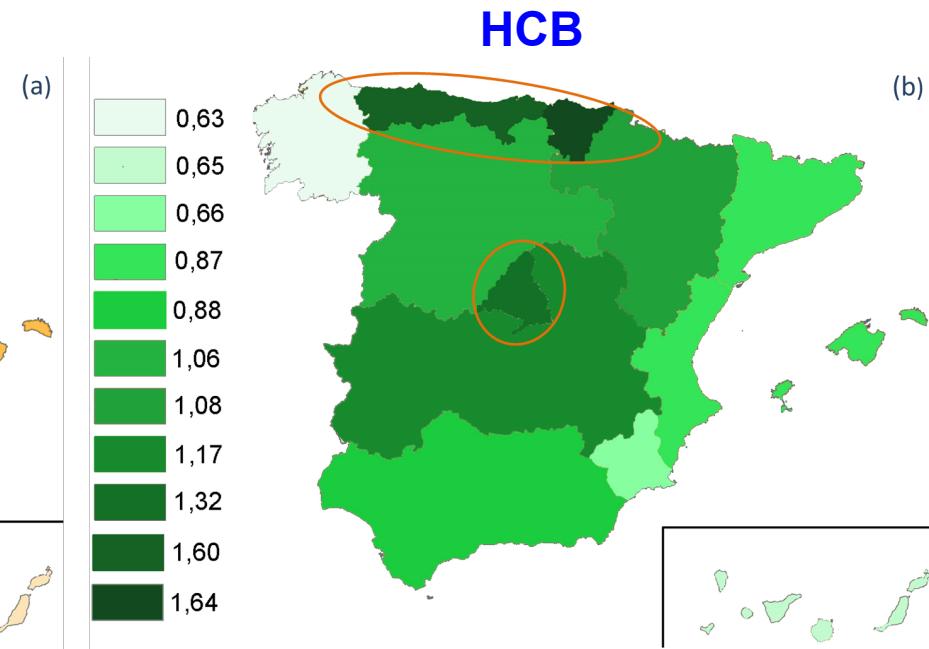
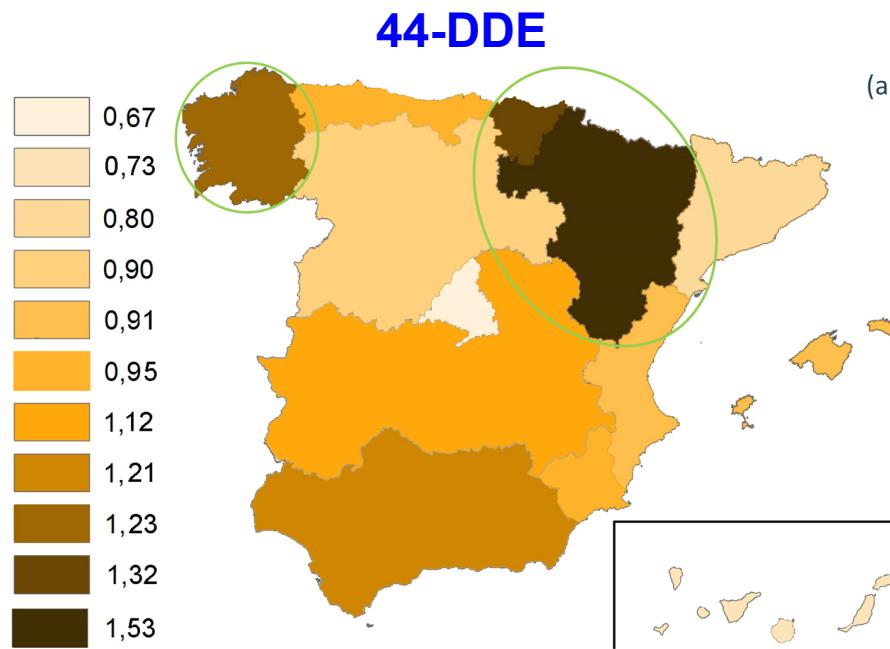


RESULTADOS

- Posición estratégica en la biovigilancia humana europea
- Laboratorio de referencia de la OMS para el análisis de mercurio en pelo y cadmio en orina
- Datos básicos necesarios para elaborar estrategias que mejoren aprovechamiento de recursos (*PCBs, PBDEs, mercurio*)
- Resultados a nivel nacional (Bioambient.es, BEA) y europeo (*Democophes, HBM4EU*): *metales pesados, COPs, disruptores endocrinos y algunos contaminantes emergentes*
- Evaluar factores de exposición relacionados

Plaguicidas organoclorados en suero, n=950

Aldrin, Dieldrin, Heptacloro, Epóxido de heptacloro, Endrin, HCB, 2,4'-DDE', 2,4'-DDE, 2,4'-DDT, 4,4'-DDT, α -HCH, β -HCH, γ -HCH



[Organochlorinated pesticides levels in a representative sample of the Spanish adult population: The Bioambient.es project.](#)

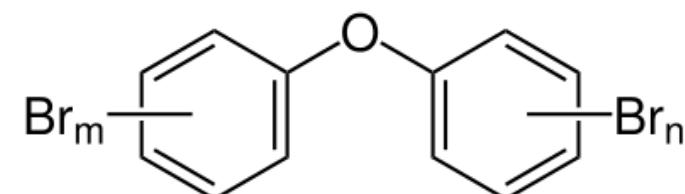
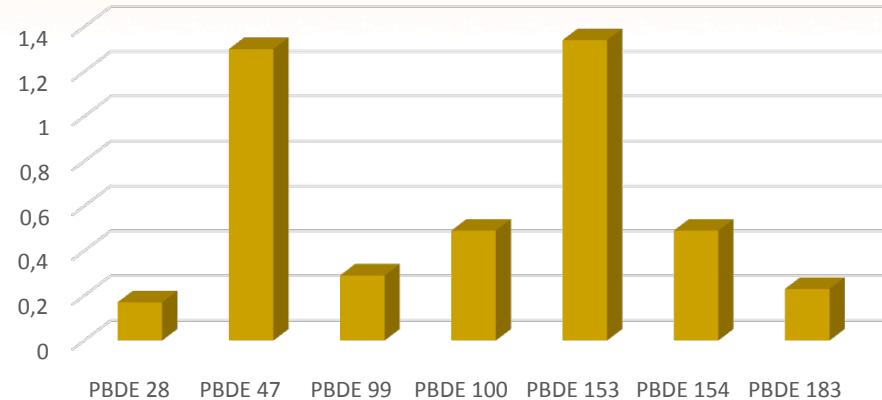
Ramos JJ, Huertos O, González S, Esteban M, Calvo E, Pérez-Gómez B, Castaño A; Bioambient.es.

Int J Hyg Environ Health. 2017 Mar;220(2 Pt A):217-226. doi: 10.1016/j.ijheh.2016.10.005.

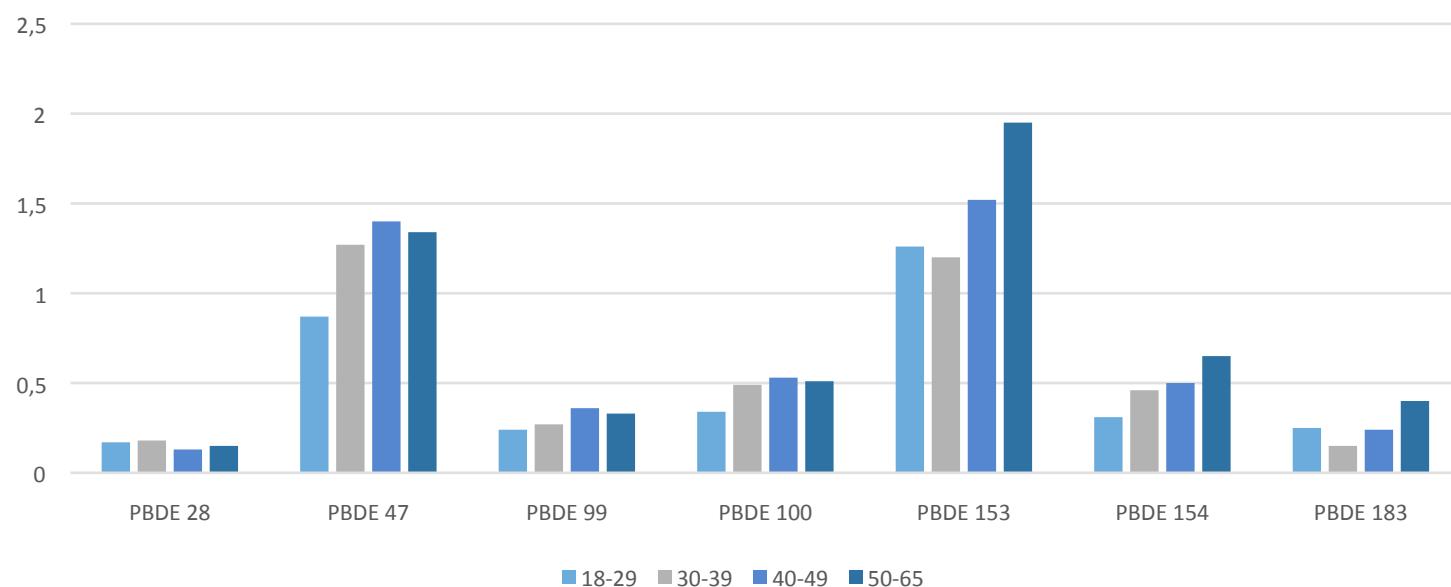
Polibromo difenil éteres (PBDE) en suero, n=950

PBDE 28, PBDE 47, PBDE 99, PBDE 100, PBDE 153, PBDE 154, PBDE 183

Niveles de PBDEs (percentil 95)

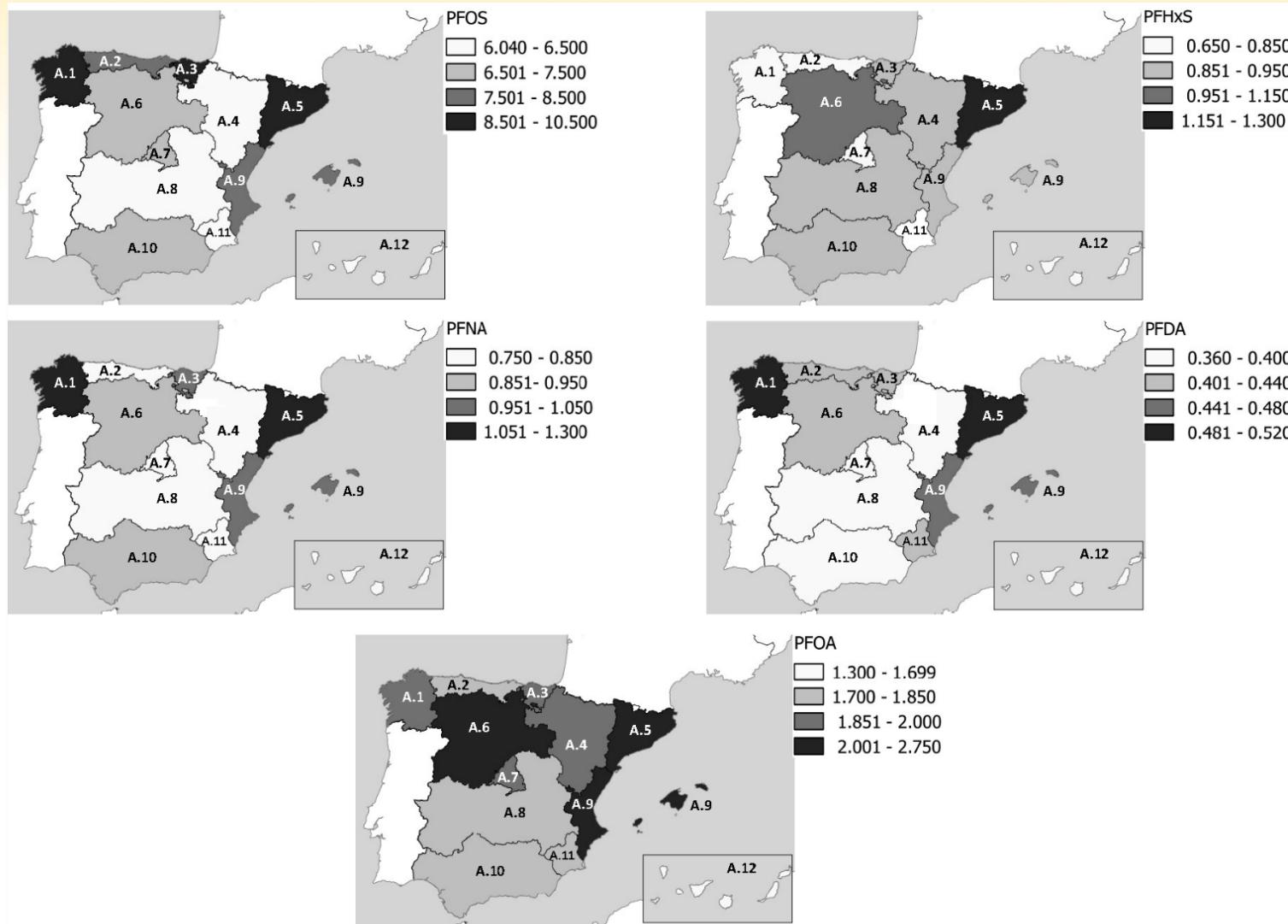


EDAD



Compuestos perfluorados en suero, n=755

PFHxS, PFOA, PFOS, PFNA, PFDA, N-MeFOSAA



[Perfluorinated alkyl substances in Spanish adults: Geographical distribution and determinants of exposure.](#)
Bartolomé M, Gallego-Picó A, Cutanda F, Huetos O, Esteban M, Pérez-Gómez B; Bioambient.es, Castaño A.
Sci Total Environ. 2017 Dec 15;603-604:352-360. doi: 10.1016/j.scitotenv.2017.06.031.

NUEVA ENCOMIENDA MAPAMA-ISCIII

Investigación sobre la presencia y vigilancia de contaminantes orgánicos persistentes y otras sustancias en humanos

Fechas de ejecución: nov 2015 - nov 2019

Presupuesto: 398.000 euros

Principales tareas

1. Determinación de contaminantes ambientales en población general (18-65 años, BIOAMBIENT.ES)
 - **Retardantes de llama bromados emergentes** en suero
 - Metabolitos de **Ftalatos** en orina
2. Nueva campaña de muestreo en población adolescente (Estudio BEA)

Retardantes de llama bromados emergentes (NBFRs) en suero

EH-TBB, BTBPE, BEH-TEBP, PBDE 197, PBDE 203, PBDE 196, PBDE 209, DBDPE,
TBBPA-DBPE

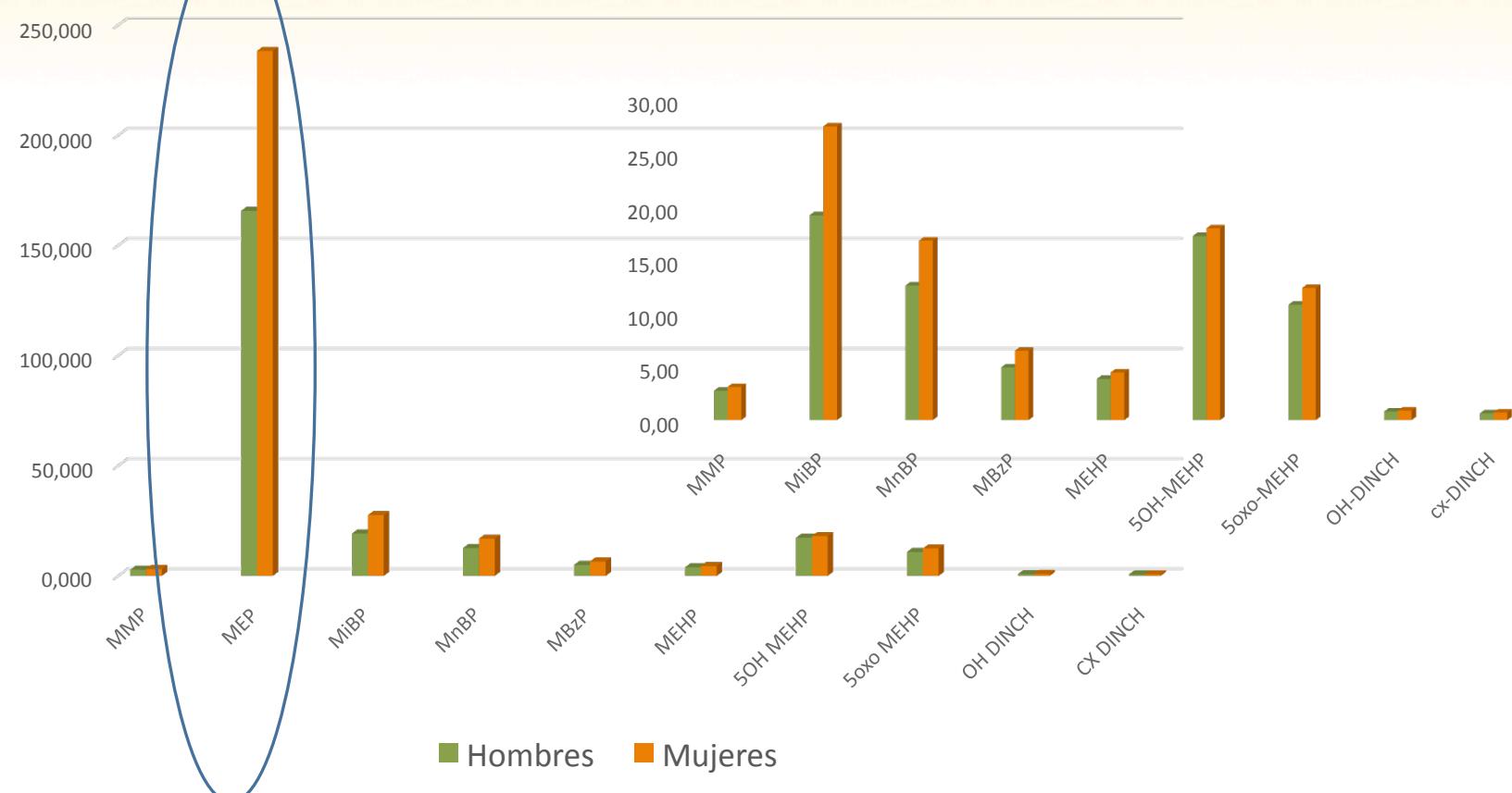
- Desarrollo de nuevo método analítico para la determinación de NBFRs
 - ✓ Puesta a punto
 - ✓ Validación de método analítico

“Optimization of an analytical method for the determination of Higher-Brominated Diphenyl Ethers and new Brominated Flame Retardants in serum” Grande C, Castaño A. y Ramos J.J. V National Meeting of Dioxins, furans and persistent organic related compounds. 14-16 junio 2017 Barcelona, España

- Análisis de NBFRs en población adulta Española, n=400
 - ✓ Análisis químico
 - ✓ Estudio estadístico
- ❖ Pendiente interpretación de los resultados

Metabolitos de ftalatos en orina, n=391

MMP, MEP, MiBP, MnBP, MBzP, MEHP, 5OH-MEHP, 5oxo-MEHP, OH-DINCH, cx-DINCH



ESTUDIO BEA

(Biomonitorización En Adolescentes)

FINANCIADO POR EL MINISTERIO DE AGRICULTURA Y PESCA, ALIMENTACIÓN Y MEDIOAMBIENTE



- 11 Ciudades (> 150.000 h)
- 18 Institutos Públicos
- Voluntarios de 14-16 años
- 500 muestras
- Cabello y orina



ESTUDIO BEA

- **Orina:** Bisfenol A, Triclosán, metabolitos de ftalatos, cadmio, *mercurio*
- **Cabello:** mercurio
- Sangre (solo opcional)*: *Contaminantes Orgánicos Persistentes*

Cuestionario: Sobre estilo de vida, alimentación, entorno...

C. Exposición a tabaco					
1. ¿Fuma alguien dentro de tu casa?		2. ¿Tú fumas?			
Sí	<input type="radio"/>	Sí, diariamente	<input type="radio"/>		
¿Cuánto Cigarrillos/puros al día? --		¿Cuántos cigarrillos?			
		Sí, el fin de semana	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
		Sí, de vez en cuando	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
		No, dejé de fumar.	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
¿Cuántas personas? --		¿Hace cuánto tiempo?			
		Años <input type="radio"/>			
		Meses <input type="radio"/>			
No <input type="radio"/>		No, nunca he fumado <input type="radio"/>			
		No contesta <input type="radio"/>			
3. ¿Con qué frecuencia te encuentras en espacios cerrados donde hay humo del tabaco?					
En casa	<input type="radio"/>	A diario	<input type="radio"/>	2-3 veces a la semana	<input type="radio"/>
En casa de amigos/vecinos	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	1 vez a la semana	<input type="radio"/>
En el coche	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	1 vez al mes	<input type="radio"/>
En otros lugares	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	Casi nunca	<input type="radio"/>
				Nunca	<input type="radio"/>
D. Exposiciones relevantes					
1. ¿Con qué frecuencia utilizas...?					
Maquillaje (por ej., polvos, iluminador, etc.)	<input type="radio"/>	A diario	<input type="radio"/>	2-4 veces semana	<input type="radio"/>
Maquillaje para ojos (por ej., sombras, rímel, lápiz de ojos, etc.)	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	1 vez semana	<input type="radio"/>
Pintalabios o similar	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	1-2 veces al mes	<input type="radio"/>
Champú	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>	Casi nunca o nunca	<input type="radio"/>
Productos para el cabello (mascarillas, espuma, gomina, laca, etc.)	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>		<input type="radio"/>
Cremas (por ej., crema de manos, facial, corporal)	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>		<input type="radio"/>
Perfume o colonia.	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>		<input type="radio"/>
Desodorante corporal	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>		<input type="radio"/>
Desodorantes para pies (plantillas, polvos)	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>		<input type="radio"/>
Aceite corporal	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>		<input type="radio"/>
Esmalte de uñas	<input type="radio"/>		<input type="radio"/>		<input type="radio"/>

Criterios de exclusión

- ✓ Tener suficiente conocimiento del castellano
- ✓ Residir al menos durante 5 años en la ciudad de muestreo
- ✓ Imprescindible informar sobre enfermedades metabólicas o del riñón

* Toma de muestras de sangre financiado por el Instituto de Salud Carlos III



BEA
BIOMONITORIZACIÓN
EN ADOLESCENTES

Estudio de Biomonitorización de Contaminantes Ambientales en Población Adolescente

INICIO GALERÍA MULTIMEDIA NOTICIAS AGENDA FAQ'S CONTACTO

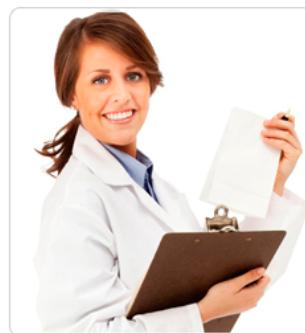
GOBIERNO DE ESPAÑA MINISTERIO DE ECONOMÍA, INDUSTRIA Y COMPETITIVIDAD

isc Instituto de Salud Carlos III

Estudio BEA Financiación Biomonitorización España » Biomarcadores Sustancias de estudio Medios de comunicación



¿Qué es BEA?



BEA (Biomonitorización En Adolescentes) es un estudio a nivel nacional cuyo objetivo es conocer la exposición de la población adolescente a determinados contaminantes ambientales (bisfenoles, triclosán, ftalatos, cadmio y mercurio), muy presentes en la vida cotidiana (alimentación, perfumes, plásticos,...). Este tipo de estudios se están llevando a cabo paralelamente en otros países europeos debido a la preocupación común por las sustancias seleccionadas, así como a la necesidad de llevar a cabo estudios en este sector poblacional por escasez de datos a nivel europeo.

Este estudio está dirigido por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) y cofinanciado por el Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (MAPAMA). En el estudio participarán un total de 500 voluntarios adolescentes de ambos性es estudiantes de 3º y 4º de la ESO en institutos públicos de

Cad...

Este elemento puede encontrarse de natural en pequeñas cantidades en el aire, agua y suelo (carbono o minerales).

Es muy frecuente que este elemento se extraiga como subproducto durante la obtención de zinc, plomo o cobre.

[Leer más](#)



Buscar



Noticias

15/11/17

Empieza la campaña de muestreo

El 6 de noviembre se inicia la campaña de muestreo en el I.E.S Miguel

14/10/11

Comienzan las visitas a los institutos

La semana pasada comenzaron las charlas informativas a los alumnos de 3º y 4º

[Ver más noticias](#)

Agenda

30/11/2017 – Recogida de muestras de los voluntarios del IES Santa Clara y del IES Laaf...

Pilar 1: De la Ciencia a la Política

WP4: Priorización y aportaciones a
 los planes de trabajo anuales

WP5: Traducción de
 resultados a políticas

WP6: Sostenibilidad y
 capacitación

Pilar 2: Plataforma Europea de Biomonitorización

WP7: Diseño de estudios y preparación de
trabajo de campo 

WP8: Campaña de trabajo de campo y
alineamiento de estudios a nivel
europeo 

WP9: Análisis de laboratorio y control de
calidad 

WP10: Gestión y análisis de datos 

Pilar 3: Exposición y Salud

WP11: Enlazando HBM, encuestas de
salud y registros 

WP12: De HBM a exposición 

WP13: Establecimiento de asociaciones
exposición-salud 

WP14: Biomarcadores de efecto 

WP15: Mezclas, HBM y riesgos para
la salud 

WP16: Compuestos químicos
emergentes 

Gestión Científica y Administrativa

WP3: Convocatorias internas 

WP17: Requerimientos éticos 

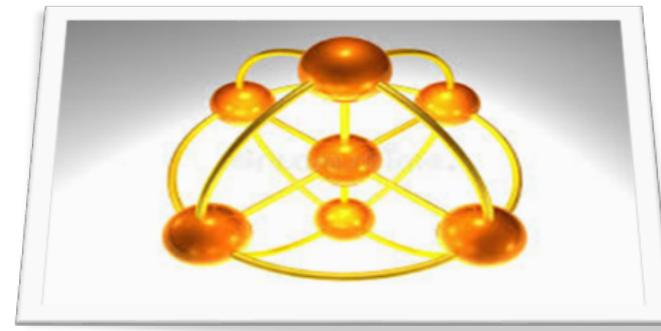
WP2: Nodo del conocimiento 

WP1: Gestión y Coordinación del Programa 

NODO NACIONAL DE BIOMONITORIZACIÓN HUMANA

Necesidad de crear una plataforma fuerte y sostenible cuyos objetivos sean

- ❖ Facilitar colaboración en red en el seno de diferentes grupos de interés nacionales
- ❖ Facilitar intercambio de conocimiento y reconocimiento de intereses mutuos
- ❖ Identificar prioridades nacionales y selección de compuestos prioritarios
- ❖ Integrar participación de autoridades locales y regionales, organizaciones ciudadanas y profesionales en el desarrollo de planes anuales de trabajo
- ❖ Constituir foro formal para el flujo de prioridades nacionales hacia la Unión Europea a través del HBM4EU y desde ésta hacia los estados miembros
- ❖ Promover generación y desarrollo de conocimiento en el ámbito de la biomonitorización humana, en particular de relaciones causales entre exposición y efectos sobre la salud



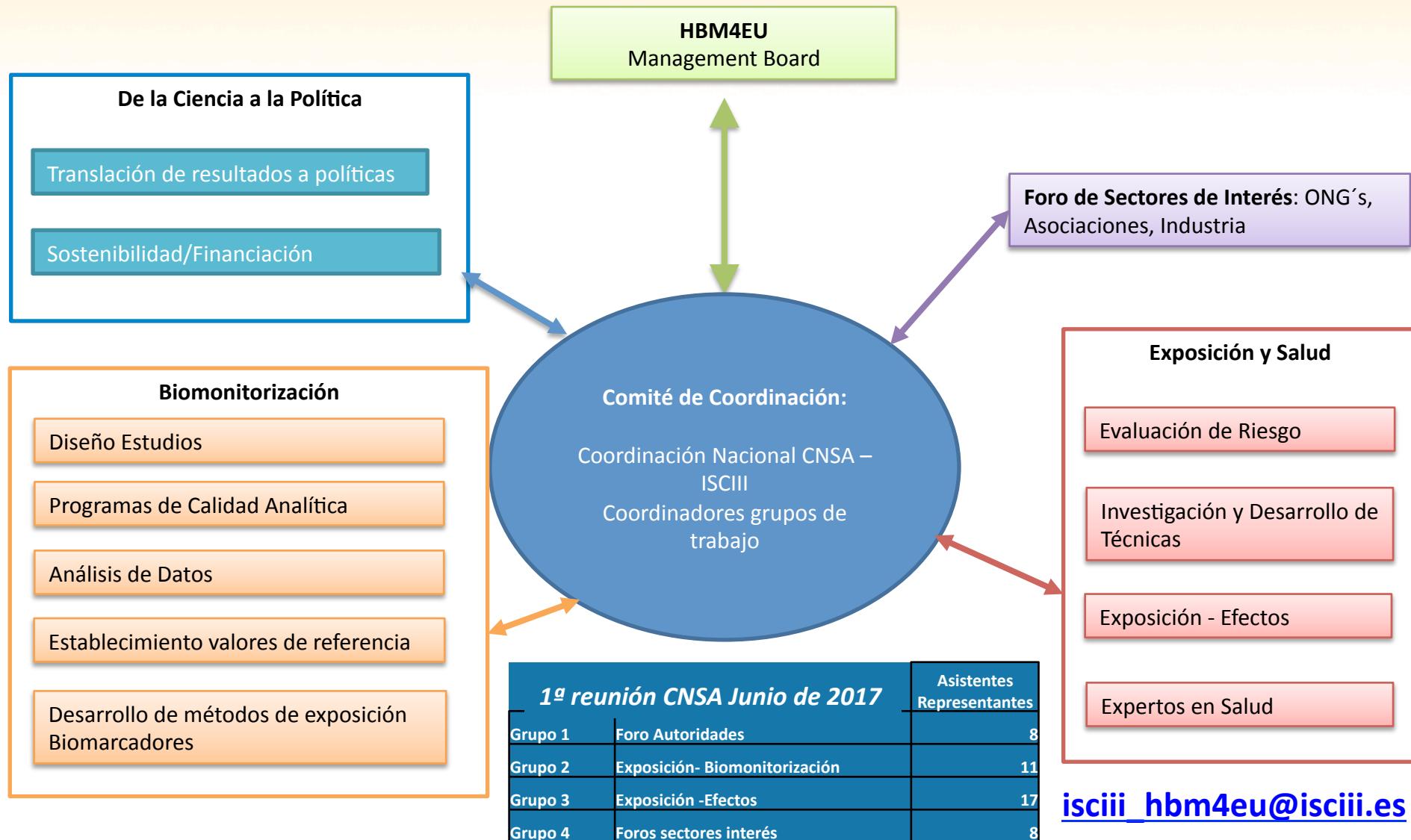
BIOMONITORIZACIÓN HUMANA - FUTURO

CREACIÓN DEL NODO NACIONAL DE BIOMONITORIZACIÓN HUMANA: ESTRUCTURA ESTABLE Y SOSTENIBLE

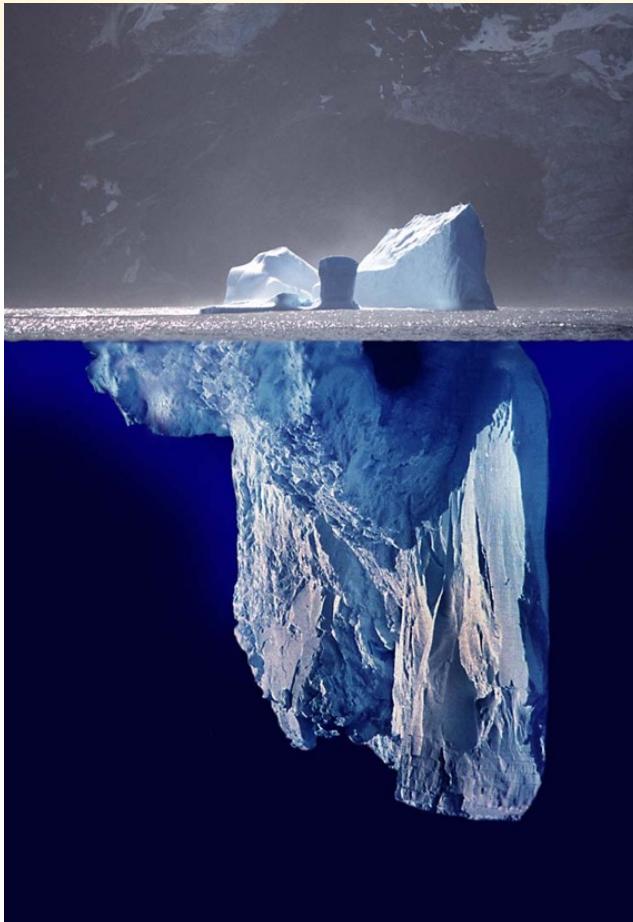
- **Coordinación** las actividades de biomonitorización a escala nacional
 - Red de laboratorios
 - Estudios periódicos con cobertura nacional (ligados a la ENS)
- **Enlace** entre la plataforma Europea (HBM4EU) y las entidades nacionales
 - Transponer las actividades europeas a nivel nacional
 - Contribuir a consolidar la plataforma europea de Biomonitorización Humana



NODO NACIONAL HBM: PROPUESTA DE ESTRUCTURA ORGANIZATIVA



...una buena base



- Estudio de tendencias temporales/geográficas
- Estudios comparativos de las concentraciones en diferentes matrices biológicas: selección de matriz adecuada
- Biobanco: nuevos contaminantes
- **Eficacia medidas de reducción/eliminación:**

Convenio de Estocolmo

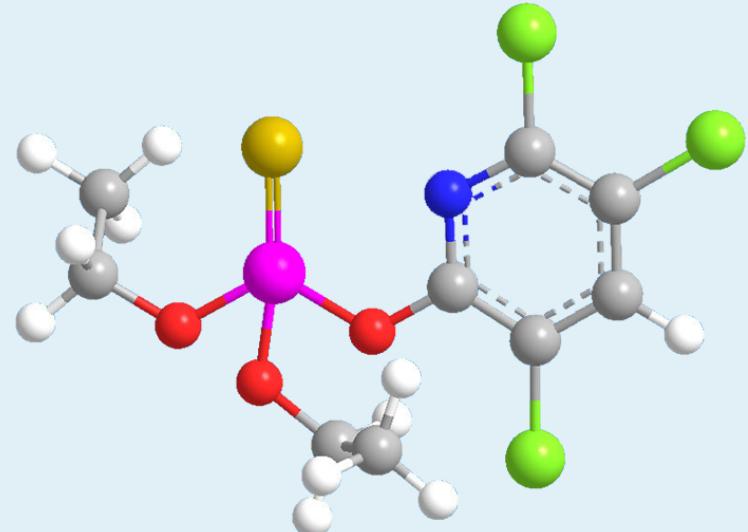
Convenio de Minamata

Investigación en Toxicología Ambiental: Biomonitorización- Aportaciones Científicas



1. Organochlorinated pesticides levels in a representative sample of the Spanish adult population: The Bioambient.es Project, *Int J Hyg and Environ Health*, 220 (2017): 217-226. IF: 3,83, Q1.
2. Perfluorinated alkyl substances in Spanish adults: Geographical distribution and determinants of exposure, *Sci Total Environ.*, 603-604 (2017) 352-360.
3. Passive smoking in Europe findings from the DEMOCOPHES human biomonitoring study, 2017. In press.
4. Human biomonitoring as a tool to support chemicals regulation in the European Union. *Int J Hyg Environ Health*, 2017. In press: IF: 3,83 Q1
5. Human biomonitoring pilot study DEMOCOPHES in Germany: Contribution to a harmonized European approach, *Int J Hyg Environ Health*, 2017.: IF:3,83 Q 1
6. Contribution to a harmonized European approach. *Int J Hyg Environ Health*. 2016 In press:IF: 3,83 Q1
7. A fast method for analysing six PFAS in human serum by solid-phase extraction on-line coupled to liquid chromatography tandem mass spectrometry, *Analyt bioanal Chem.*, 408(8):2159-70..IF:3,125 .
8. Urinary polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites levels in a representative sample of the Spanish adult population: the BIOAMBIENT.ES project. *Chemosphere*, 135:436-446.. IF:3,34 Q1.
9. DEMOCOPHES. España y su contribución a la armonización de la biovigilancia humana en Europa, en *Nutr Hosp* 32:394-402. IF: 1,04
10. Pilot study testing a European human Biomonitoring framework for biomarkers of chemical exposure in children and their mothers: experiences in the UK, *Environ Sci Pollut Res*, 22 (20):15821-34. IF: 2,83 Q.
11. Urinary levels of eight phthalates metabolites and bisphenol A in mother – child pairs from two Spanish locations. *Int J Hyg Environ Health*, 218:47-57. IF:3,83Q1.
12. Case study: Possible differences in phthalates exposure among the Czech, Hungarian, and Slovak populations identified based on the DEMOCOPHES pilot study results. *Environ Res.*, 141:118-124.. IF:4,37
13. Urinary cotinine levels and environmental tobacco smoke in mothers and children of Romania, Portugal and Poland within the European human biomonitoring pilot study, *Environ Res.*, 141:106-117.IF:4,37
14. The Danish contribution to the European DEMOCOPHES project: A description of cadmium, cotinine and mercury levels in Danish mother-child pairs and the perspectives of supplementary sampling and measurements. *Environ Res.*, 141:96-105. doi:10.1016/j.envres.2014.07.028. IF:4,37 Q1.
15. Interpreting biomarker data from the COPHES/DEMOCOPHES twin projects: Using external exposure data to understand biomarker differences among countries. *Environ Res.*, Vol. 141: 86-96..IF: 4,37
16. Urinary BPA measurements in children and mothers from six European member states: Overall results and determinants of exposure. *Environ Res.*, 141:77-85.. IF: 4,37 Q1.
17. Exposure determinants of cadmium in European mothers and their children. *Environ Res.*, 141:69–76.. IF: 4,37 Q1.
18. Fish consumption patterns in children and mothers from six European member states. *Environ Res.*, 141:50-60.. IF: 4,37 Q1.
19. Policy recommendations for biomonitoring in Europe. *Environ Res.*, 141:41-50.. IF: 4,37 Q1.
20. Communication in a European context: the case of biomonitoring. *Environ Res.*, 141:31-40.. IF: 4,37 Q1.
21. Mercury analysis in hair and blood of children and mothers from six European countries. *Environ Res.*, 141:21-30.. IF: 4,37 Q1.
22. Lessons learnt on recent biomonitoring studies. *Environ Res.*, 141:10-20.. IF: 4,37 Q1.
23. A pilot study on the feasibility of European harmonized human biomonitoring: Strategies towards a common approach, challenges and opportunities, *Environ Res.*, 141:3-14. IF:4,37 Q1.
24. Cadmium levels in a representative sample of the Spanish adult population: The BIOAMBIENT.ES Project, *J.Exp. Sci.Envirn.Epidem.*, 22:1-10. doi:10.1038/jes.2015.25. IF: 3,18 Q1.
25. Harmonized European human biomonitoring in small countries: Challenges, opportunities and lessons learned in Cyprus and Luxembourg from the DEMOCOPHES study, *Biomonitoring*, 2 (1):2300-4606.
26. The First steps towards harmonised human biomonitoring in Europe, *Environ Health Perspect*, 123 (3):255-263.. IF:7,98 Q1.
27. Anti-smoking legislation and its effects on urinary cotinine and cadmium levels. *Environ Res.* 136:227-233. IF: 4,37 Q1.
28. Mercury Exposure in Ireland: Results of the DEMOCOPHES Human Biomonitoring Study. *Int. Jour. Environ. Res. and Public Health*, 17, 11 (9):9760-9775..IF: 1,10 Q1.
29. Serum PCB levels in a representative sample of the spanish adult population: the BIOAMBIENT.es Project. *Sci Total Environ.* 5, 493:834-44.. IF:4,10 Q1.
30. High-performance liquid chromatography with diode-array detection cotinine method adapted for the assessment of tobacco smoke exposure. *Journal of Separation Science*, 37 (12):1404-10.. IF:2,74 Q2.
31. Hair mercury and urinary cadmium levels in Belgian children and their mothers within the framework of the COPHES/DEMOCOPHES projects. *Sci. Total Environ.* 472:730-740. IF: 4,10 Q1.
32. The European COPHES/DEMOCOPHES project: towards transnational comparability and reliability of human biomonitoring results, *Int J Hyg Environ Health*, 217(6):653-61.. IF:3,83 Q1.
33. Blood lead levels in a representative sample of the Spanish adult population: The BIOAMBIENT.ES project. *Int J Hyg Environ Health*, 217:452-459. doi: 10.1016/j.ijeh.2013.09.001. IF: 3,83 Q1.
34. A systematic approach for designing a HBM Pilot Study for Europe. *Int J Hyg Environ Health*, 217:312-322. IF: 3,83 Q1.
35. Risk of overestimation of urinary cadmium concentrations: interference from molybdenum. *E3S Web of Conferences* 1, 21003. doi: 10.1051/e3sconf/20130121003.
36. Aspectos prácticos de la fase pre-analítica del estudio de biovigilancia BIOAMBIENT.ES, *Gaceta Sanitaria*, 27(1):77-80..IF:1,19Q3.
37. Economic benefits of methylmercury exposure control in Europe: Monetary value of neurotoxicity prevention. *Environ Health*, 7, 12(1):3. doi: 10.1186/1476-069X-12-3. IF: 3,37 Q1.
38. BIOAMBIENT.ES study protocol: rationale and design of a cross-sectional human biomonitoring survey in Spain, *Environ Sci Pollut Res*, 20 (2):1193-1202. IF:2,83 Q1.
39. S-148: Testing the Feasibility of a Harmonised Fieldwork Concept for an Interdisciplinary and International HBM Study. *Epidemiology*, 23 (5S).. IF:5,73 Q1.
40. S-150: Strategies and Tools to Obtain Comparable Biomarker Results in the Pan- European COPHES Human Biomonitoring Project. *Epidemiology*, 23 (5S) ppg.. IF: 5,73 Q1.
41. Levels of polychlorinated dibenz-p-dioxins, dibenzofurans and dioxin-like polychlorinated biphenyls in placentas from the Spanish INMA birth cohort study. *Sci Total Environ.*, 441:49-56. IF:3,25 Q1.
42. S-148: "Testing the Feasibility of a Harmonised Fieldwork Concept for an Interdisciplinary and International HBM Study. *Epidemiology*, 23 (5S). doi: 10.1097/01.ede.0000417001.78093.33. IF: 5,73 Q1.
43. Mercury, lead and cadmium levels in the urine of 170 Spanish adults: A pilot human biomonitoring study. *Int J Hyg Environ Health*, 215 (2): 191-195. doi:10.1016/j.ijeh.2011.09.001. IF:3,83 Q1.
44. Harmonised Human Biomonitoring in Europe: Activities towards and EU HBM framework. *Int J Hyg Environ Health*, 215 (2): 172-175. doi:10.1016/j.ijeh.2011.08.010. IF:3,04 Q1.
45. Exploring Exposure in 27 Countries in a European. Human Biomonitoring Study-Cophes.2011 Epidemiology, 22 (1): S230-S231. IF: 5,57 Q1.
46. Non-invasive matrices in human biomonitoring: A review. *Env. Inter.*, 35 (2):438-449. doi:10.1016/j.envint.2008.09.003. IF: 4,79 Q1.

Effects of Chlorpyrifos on cell death, proliferation and cellular phenotypic specification of human neural stem cells to identify possible alterations in neurodevelopment.

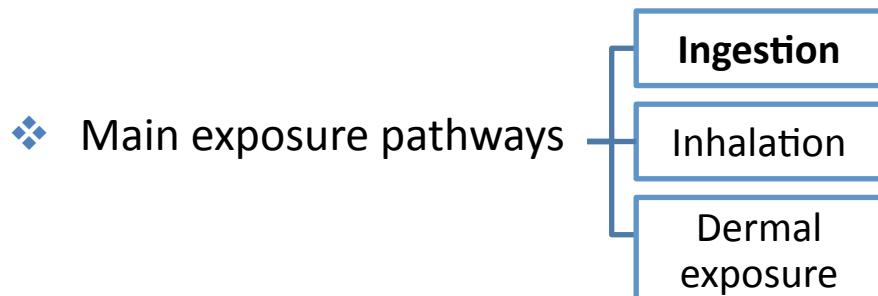


¹ Unidad de Regeneración Neural. Unidad Funcional de
Investigación de Enfermedades Crónicas.

²Toxicología ambiental, Centro Nacional Sanidad Ambiental

INTRODUCTION

- ❖ CHLORPYRIFOS (CPF) is a chlorinated organophosphate pesticide
 - ❖ Pest control (agriculture)
 - ❖ Household pests reduction
 - ❖ Garden and golf courses care
 - ❖ Mosquito control
- ❖ Introduced into the market in 1965
- ❖ Restricted use (EU and USA)
 - ❖ Controversy about toxicological reference values
 - ❖ Spain designated as Rapporteur Member State



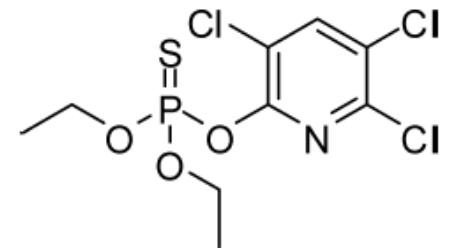
Eaton *et al.*, 2008

Structure and properties

- ❖ Highly lipophilic compound: capability to penetrate the Blood Brain Barrier and the placenta
- ❖ Action mechanism: Acetylcholinesterase inhibition (AChE)
 - ❖ Rapidly hydrolyzed by mammalian esterases : selectivity for invertebrates.

CPF affects both the central and peripheral nervous system (CNS and PNS)

- ✓ Acetylcholine (Ach) is the classical neurotransmitter of the neuromuscular junction.
- ✓ However, Ach also appears in CNS synapsis:
 - ✓ Striatal interneurons
 - ✓ Long projection neurons with axons travelling to the olfactory bulb, hippocampus and cerebral cortex from the brain stem



Chemical structure of chlorpyrifos.

Poisoning can occur because:

- 1) Exposure overcomes metabolic capacity of esterases
- 2) Metabolic capacity is impaired (e. g. co-exposure with other compounds)
- 3) Reduced capacity to detoxify CPF in developmental stages

Neurotoxicity & Developmental Neurotoxicity (DNT)

- ❖ NEUROTOXICITY involves adverse effects on the biochemistry, structure or function of the nervous system (NS) caused by exposure to a biological, chemical or physical agent.
- ❖ **DNT** refers to an adverse change in the structure or function of the NS that manifests after exposure to a chemical during the prenatal or gestational period (Mundy et al., 2015)



CPF-oxon interacts with other targets different to AChE

TCPy exerts biological effects on its own

CPF has effects itself, independent from AChE inhibition

Background

In vivo

Human studies

- ❖ Developmental delays
 - ❖ Impairments in mental and motor development
 - ❖ Attention problems
- (Eskenazi *et al.*, 2014)

Animal models

- ❖ Motor activity and spatial memory retrieval alterations (Yan *et al.*, 2012)
- ❖ Neurite outgrowth impairment (Slotkin *et al.*, 2006)
- ❖ Alterations in hippocampal neurogenesis (Ohishi *et al.*, 2013)

Available data

In vitro toxicity testing provides sufficient to understand the reproducible mechanisms results and may underlying DNT help to understand P high cellular may nonmechanistic consume underlying DNT. identify hazards for the developing human brain

In vitro

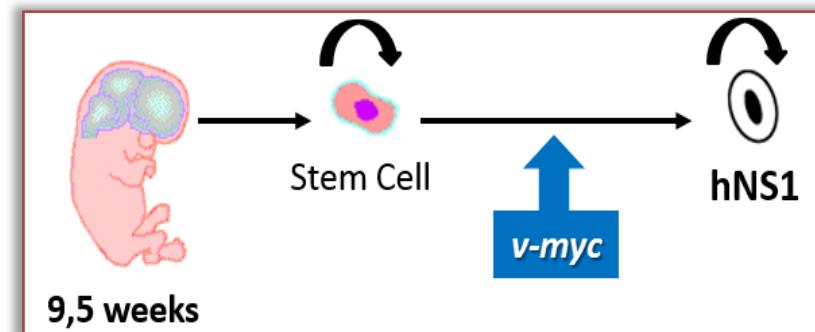
Neurotoxic effects induced by concentrations up to 1000 times smaller than those needed to inhibit AChE have been described:

- ❖ ROS production (Lee *et al.*, 2014)
- ❖ Histone modifications (Kim *et al.* 2016)
- ❖ Mitochondrial fragmentation (Yamada *et al.*, 2017)
- ❖ Alterations in neural markers

hNS1 cell line

- ❖ Human neural stem cells (hNSCs)
 - ❖ Multipotent: self-renewal capacity and potential to differentiate towards neuronal and glial phenotype
- ❖ hNS1
 - ❖ Clonal, multipotent stem cell line
 - ❖ Derived from the telencephalic region of a human fetus
 - ❖ Immortalized with v-myc

hNS1 can differentiate into neurons and astrocytes



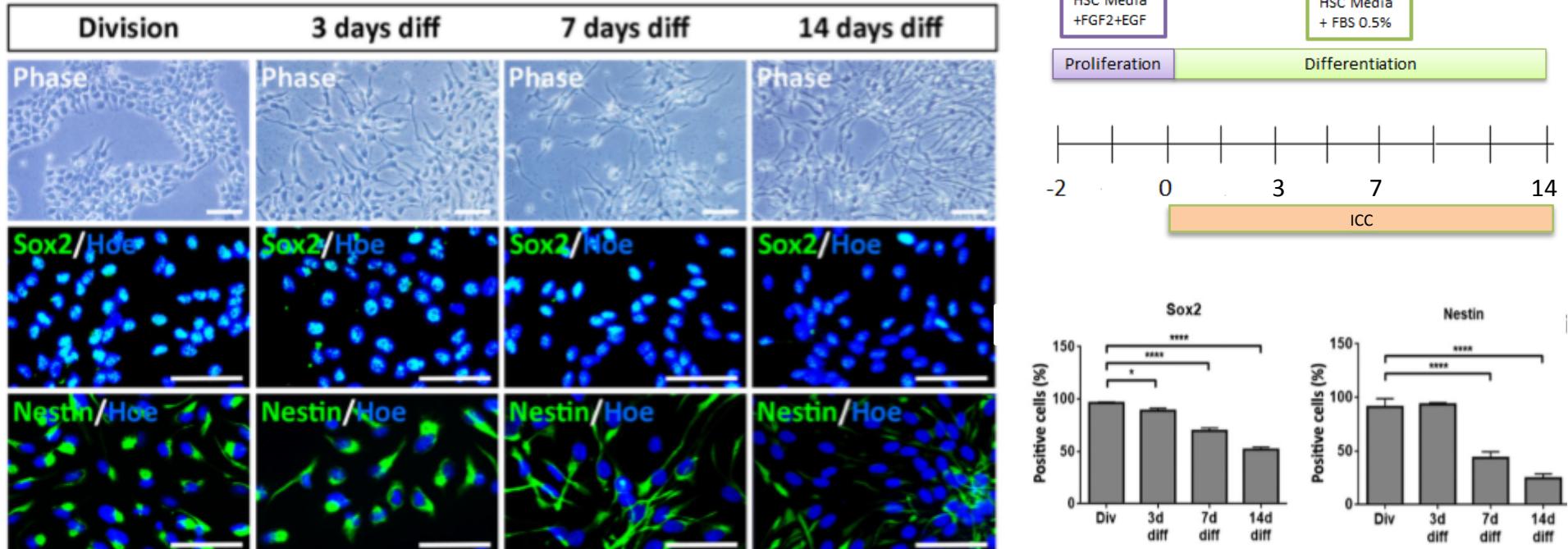
Generation of hNS1 cells ; Villa et al., 2000

OBJECTIVES

- 1) To characterize hNS1 cell line
- 2) To validate hNS1 cell line as a model for DNT chemical assessment
- 3) To assess the effects of CPF on the biology of hNS1 cells

RESULTS & DISCUSSION

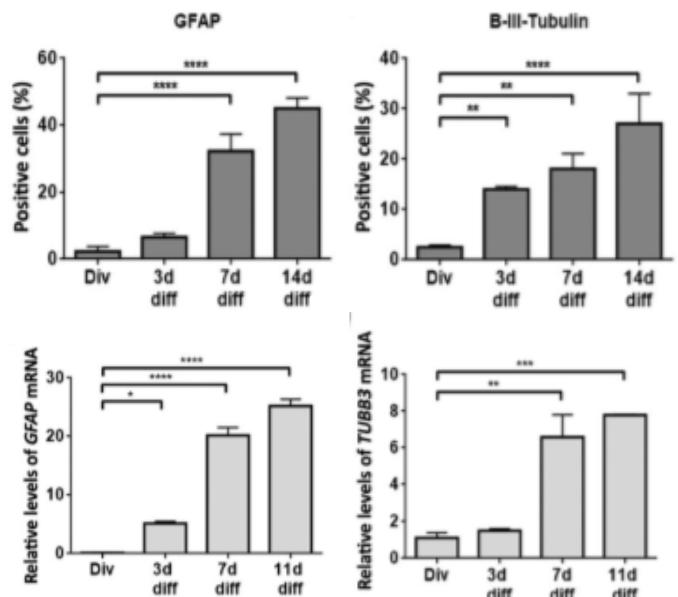
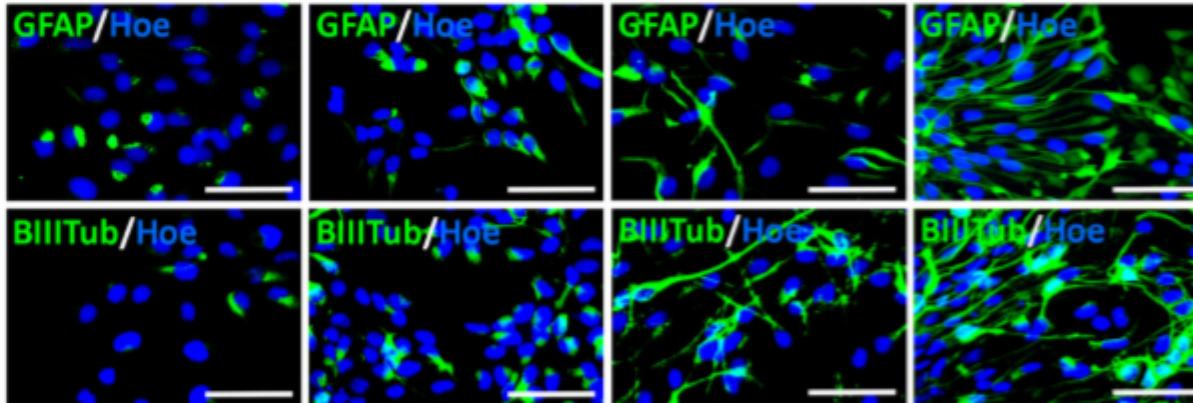
Characterization



- ❖ Nestin and Sox2 expression decreases along differentiation time.

RESULTS & DISCUSSION

Characterization



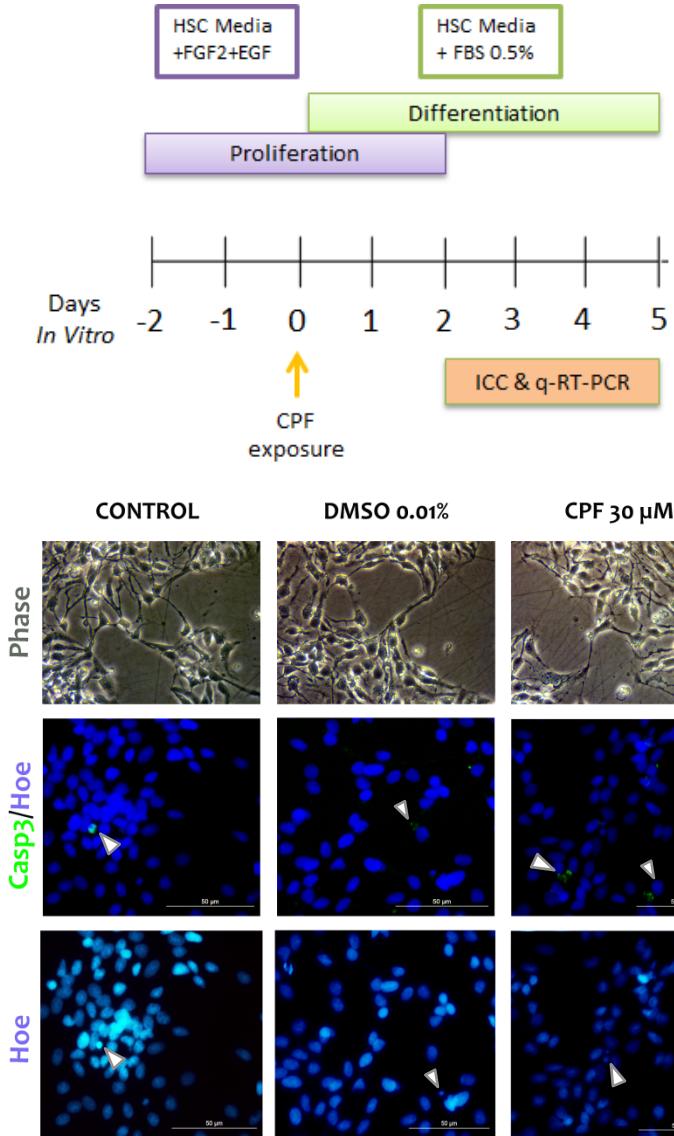
- ❖ GFAP and β -tubulin III expression is increased during differentiation

hNS1 cells are multipotent

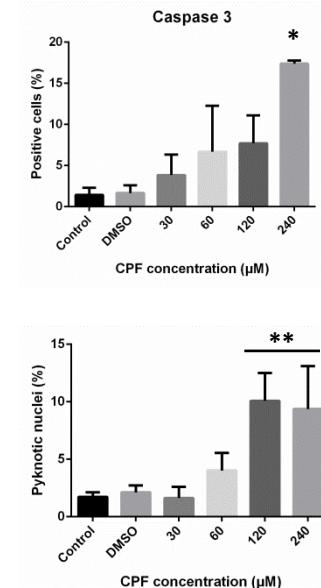
Asterisks indicate significant differences (* $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.0001$) in treated cells with respect to controls according to one-way ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

RESULTS & DISCUSSION

CPF exposures



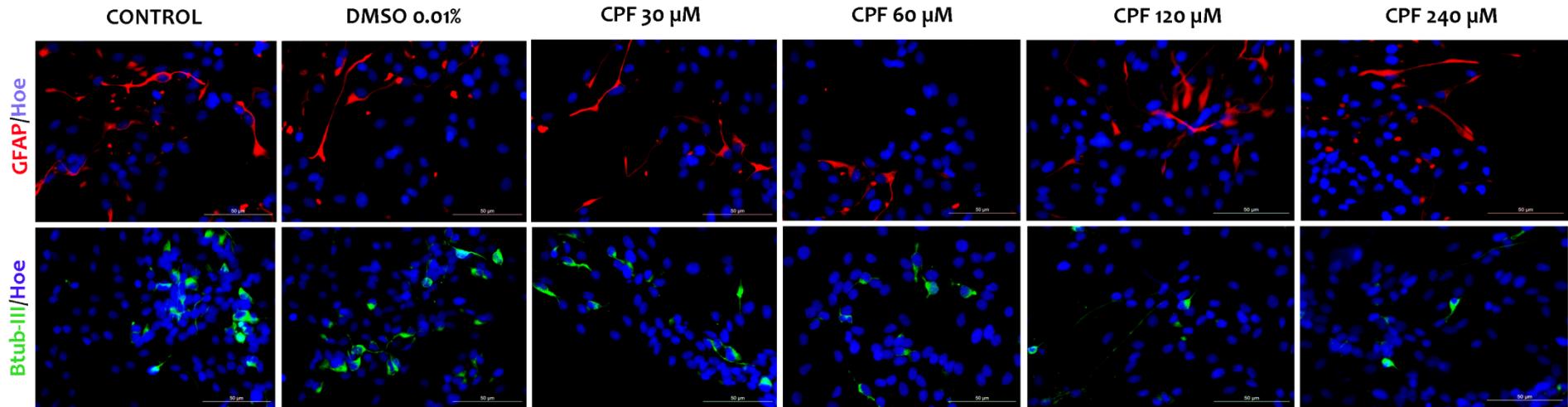
- ❖ Caspase 3 expression increases dramatically under CPF 240 µM exposure.
- ❖ Pyknotic nuclei are significantly more abundant at CPF 120 and 240 µM than in control groups.
- ❖ Cell death induced by CPF may be due to **apoptosis**, according to similar results from Lee et al. (2014)



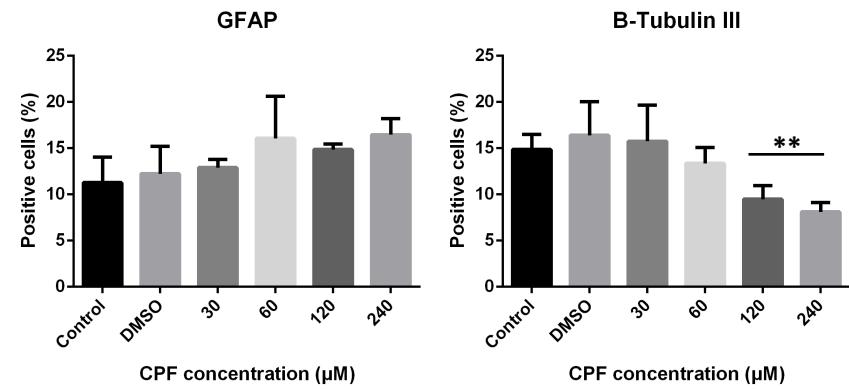
Asterisks indicate significant differences (* $p<0.05$; ** $p<0.01$) in treated cells with respect to controls according to ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

RESULTS & DISCUSSION

CPF exposures



- ❖ No significant differences were found in GFAP expression along different CPF concentrations exposure.
- ❖ β -Tubulin III was significantly lower at CPF 120 and 240 μ M.
- ❖ **Neurons seem to be more sensitive to CPF effects than glia.**

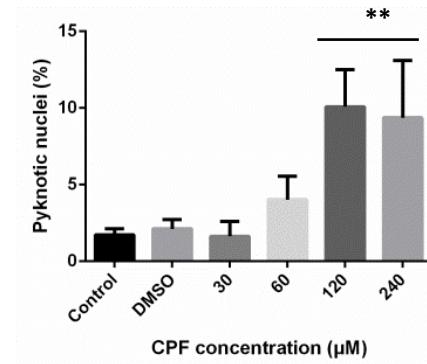
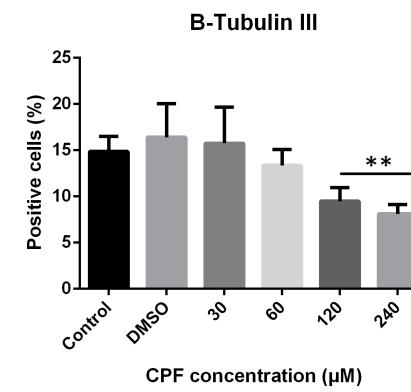
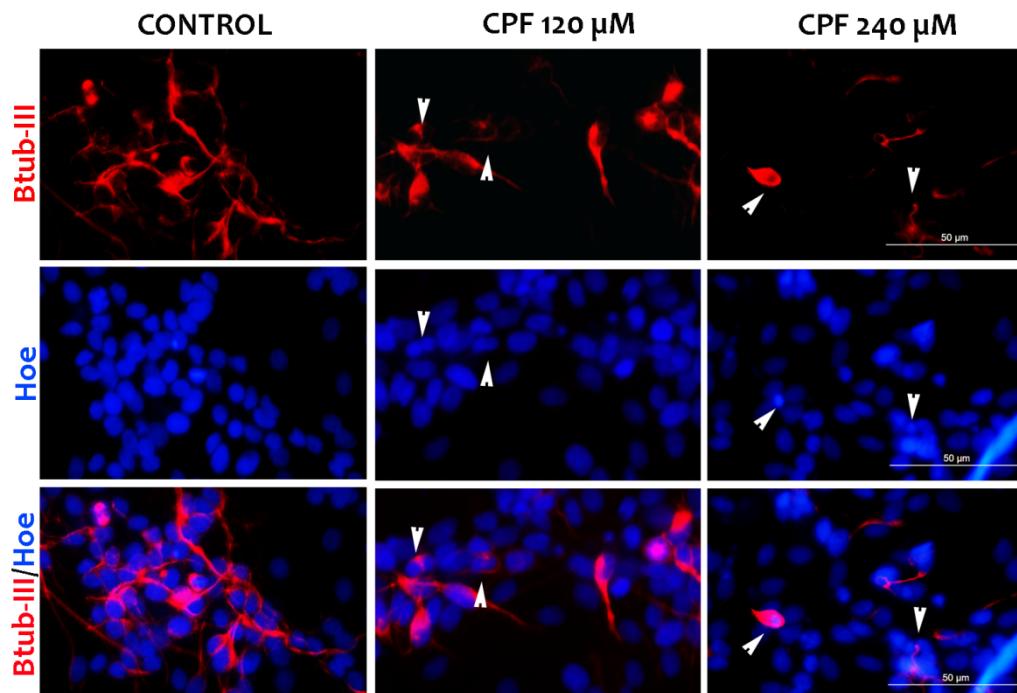


Asterisks indicate significant differences (** $p<0.01$) in treated cells with respect to controls according to ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

RESULTS & DISCUSSION

CPF exposures

- ❖ Pyknotic nuclei coincide with β -Tubulin III labelling, suggesting that CPF 120 and 240 μ M induce **neuronal death via apoptosis**.
- ❖ Decreases in β -Tubulin III expression have been previously described in a similar cell line (Kim et al., 2016), however, neuronal phenotype as a specific target of CPF toxicity has not been reported yet.



Asterisks indicate significant differences (** $p<0.01$) in treated cells with respect to controls according to ANOVA followed by Tukey multiple comparison test.

CONCLUSIONS & FUTURE PERSPECTIVES

- 1) hNS1 cells have self-renewal capacity and potential to differentiate towards neurons and astrocytes.
- 2) hNS1 cell line responds to potential toxic effects in a similar way than other cell lines described, and so it proves to be a valid model for DNT chemical assessment.
- 3) CPF induces cell death in the current cell line at 120 and 240 µM, and this process is probably occurring via apoptosis.
- 4) Apoptotic cell death induced by CPF on neural progenitors may be specific for neuronal phenotype.
- 5) CPF induces differentiation in the current cell line to glial phenotype.

FUTURE PERSPECTIVES

- ❖ To confirm results obtained with ICC techniques with RT-q-PCR and WB.
- ❖ To elucidate the molecular mechanisms underlying apoptotic neuronal death.
- ❖ To assess the effects of CPF on proliferating hNS1 cells.

CNSA: ÁREA DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL Unidad de Biomarcadores



Argelia
Castaño



Miguel Motas



Marta Esteban



Juan José
Ramos



Miguel Ángel
Lucena



Mónica
Bartolomé



Talina Rivas, Carolina
Rodríguez Charo
Martínez



Olga Huetos
María Rodríguez



Carmen
Navarro



Sara
González



Ana Cañas
Ana López



Silvia
Gómez



Mª Carmen
González



Susana
Pedraza



Antonio
Jiménez



Cristina
Grande



Montserrat
Rosado



Elena
Prieto



Helena
García



Ana Gil
Susana López

Jinny Sánchez
Paco Cutanda



Muchas gracias