

RIESGOS DEL HERBICIDA 2,4 – D



Lars Neumeister

experto independiente en pesticidas

Una publicación conjunta entre Testbiotech,
GeneWatch UK, Pesticides Action Network
(PAN) Europe

2014

Resumen	2
Introducción	3
2. El herbicida 2,4-D.....	4
3. El uso potencial de 2,4-D en los Estados Unidos	6
4. Toxicocinética	8
5. Exposición sobre los umbrales toxicológicos	15
6. Dioxina y 2,4-D	18
7. Efectos en el sistema endocrino	21
8. Propiedades CMR y 2,4-D.....	23
Otros efectos	25
REFERENCIAS.....	26

Resumen

El herbicida 2,4-D es uno de los pesticidas sintéticos más antiguos. Salió al mercado en los años cuarenta y se convirtió tristemente célebre gracias a que formaba parte del compuesto químico defoliante “Agente Naranja” en la guerra de Vietnam. 2,4-D es hasta el día de hoy, utilizado ampliamente alrededor del mundo.

En el 2011, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos recibió una propuesta de uno de los mayores productores del 2,4-D, la empresa DowAgroSciences referente a los granos de soya y maíz que han sido modificados genéticamente para tolerar el 2,4-D y otros herbicidas. Estas plantas modificadas han sido propuestas como una solución contra las “supermalezas” que se han vuelto resistentes al herbicida glifosato.

Esta propuesta, especialmente sobre los granos de soya, puede incrementar tremendamente el uso de 2,4-D y consecuentemente incrementar los efectos adversos en la salud humana y el ambiente.

Este informe identifica varias fallas en la evaluación actual (y en curso) del herbicida 2,4-D:

1. No es claro si los productos 2,4-D contienen o no impurezas de dioxinas y furanos altamente tóxicos y de ser así, en qué medida,
2. La absorción dérmica ha sido muy subestimada e incluso desconocida para el caso de los ésteres usados ampliamente, lo que conduce a,
3. Una subestimación de la exposición de los usuarios de 2,4-D.

Estas fallas son realmente preocupantes. Las dioxinas y los furanos son carcinógenos humanos; disruptores endocrinos; permanecen en el ambiente y se acumulan en la cadena alimenticia. Existe también evidencia de que una concentración de dioxina puede multiplicarse bajo la luz solar.

Algunos estudios han demostrado que la piel humana puede absorber hasta un 80% de 2,4-D, pero las autoridades de evaluación de riesgos han establecido un límite mucho menor. Se ha demostrado que una absorción dérmica baja (4%) en trabajadores que no han estado debidamente protegidos, ha causado una exposición superior a la recomendada; siendo los trabajadores que utilizan equipos de dispersión manual, los más afectados. Además, las mediciones en la orina de los trabajadores han demostrado una alta exposición a este herbicida; estos valores no pueden explicarse solamente por una absorción dérmica baja.

Este informe no es exhaustivo, existen miles de estudios sobre el herbicida 2,4-D; muchos de ellos han sido escritos por los científicos de las compañías que los producen o han sido financiados por dichas compañías. Este hecho causa una gran confusión porque podría asumirse que el interés económico conduce a que se produzca un sesgo hacia las publicaciones que no muestran efectos negativos. En consecuencia, esta confusión organizada hace imposible juzgar las propiedades carcinógenas de 2,4-D. Sin embargo si los productos que contienen 2,4-D presentan impurezas de dioxina, pueden ser considerados al menos como “posibles carcinógenos” y también disruptores endocrinos, por lo que causarían potenciales efectos negativos en la reproducción.

Introducción

En Septiembre del 2010, los científicos de la compañía Dow AgroSciences presentaron una publicación científica (Wright et. al. 2010) sobre las plantas modificadas genéticamente que son resistentes al 2,4-D y otros herbicidas. Los autores describen estas nuevas plantas como una solución contra las malezas que se han vuelto resistentes al herbicida glifosato.

En Octubre del 2011, el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos recibió una petición de la compañía Dow AgroSciences sobre los granos de soya (DAS-44406-6) que han sido modificados para tolerar el 2,4-D, el glifosato y glufosinato (Dow AgroScience, 2011). Dos meses después, este Departamento recibió otra petición sobre el maíz (das-40278-9) modificado genéticamente para tolerar el 2,4-D y los herbicidas ariloxifenoxi-propionato, inhibidores de la acetil coenzima A carboxilasa (inhibidores ACAC¹) o también conocidos como “herbicidas fop” (Dow AgroScience, 2011b).

Dow AgroSciences no es la única compañía de pesticidas que responde, con las plantas modificadas genéticamente, a las nuevas oportunidades que presenta el mercado debido al surgimiento de las supermalezas resistentes al glifosato:

- BASF presentó una petición para los granos de soya que son tolerantes a todos los herbicidas imidazolinona ² (imazapic, imazapir, imazametabenz-metil, imazetapir, imazaquin, e imazamox),

¹ More info: <http://www.hracglobal.com/Publications/ClassificationofHerbicideSiteofAction.aspx>

² http://www.aphis.usda.gov/publications/biotechnology/2012/basf_soybean.pdf

- BayerCrop Science presentó una petición para los granos de soya que toleran el glifosato y el isoxaflutol,³
- Monsanto presentó una petición para los cultivos resistentes al herbicida dicamba y,
- Pioneer Hi-Bred ya obtuvo el permiso para producir y sacar al mercado la soya y el maíz tolerantes al glifosato y al inhibidor ALS⁴

Varios de estos herbicidas son altamente tóxicos (por ejemplo el glufosinato, quizalofop-p-tefuril, isoxaflutol, etc.) y algunos incluso cumplen el criterio de exclusión de la Unión Europea -como lo establece la normativa 1107/2009/EC. Este informe se enfoca en uno de los herbicidas más antiguos 2,4-D. Este herbicida ha sido investigado por más de 70 años y al realizar una búsqueda con las palabras 2,4-diclorofenoxiacético, la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos de los Institutos Nacionales de Salud lista 3055 publicaciones.

Muchas de estas publicaciones son de autoría de los científicos que trabajan para las compañías fabricantes de 2,4-D o están financiados por ellas. Este hecho genera una gran confusión porque por un lado puede asumirse que el interés económico conduce a que se produzca un sesgo hacia los estudios que muestran que no existen efectos negativos. Un estudio reciente de Diels et. al. (2011) ha demostrado que en los estudios de cultivos modificados genéticamente, existe una fuerte relación entre el financiamiento y los resultados. Algunas publicaciones financiadas por la industria dejan de lado información importante; por ejemplo Ross et al. (2005) no mencionó los resultados que muestran una alta absorción dérmica de 2,4-D; otros como Burns y Swaen (2012), incluyen varios estudios financiados por la industria pero no los especifican; así este tipo de revisiones producen incluso una mayor confusión.

Los estudios financiados y/o de autoría de la industria generan una ‘dilución de información’ – una táctica también aplicada por la industria del tabaco. Las similitudes entre la industria del tabaco y la industria de los pesticidas son múltiples, no solo en su argumentación y estrategias, sino en los resultados finales que consiguen, ya que a pesar de la evidencia existente, los agentes causantes de cáncer aun no se prohíben Este informe trata de resaltar algunas de las lagunas en la evaluación del 2,4-D. Debido al gran número de estudios existentes, este informe no puede ser exhaustivo, sin embargo se enfoca en los aspectos que posiblemente no han sido cubiertos anteriormente.

2. El herbicida 2,4-D

El ácido 2,4- diclorofenoxiacético (CAS 94-75-7) fue descrito por primera vez en 1942 como un auxin sintético, es decir un tipo de hormona de las plantas. Esta sustancia es usada como un herbicida sistémico y actúa como un inhibidor del crecimiento, como puede notarse en la curvatura de las hojas que provoca dicho compuesto. Las sales son absorbidas por las raíces mientras los ésteres (véase abajo) son principalmente absorbidos por las hojas.

³ http://www.aphis.usda.gov/brs/fedregister/BRS_201207131.pdf

⁴ Inhibition of acetolactate synthase (ALS) see: HRAC Group B: <http://www.hracglobal.com/Publications/ClassificationofHerbicideSiteofAction.aspx>

Controla las malezas de hojas anchas (dicotiledóneas) mientras las monocotiledóneas como por ejemplo los cereales (incluyendo el maíz) y las plantas herbáceas (incluyendo la caña de azúcar y el bambú) en su mayoría no se ven afectadas por este ácido (oPM 2012). La tolerancia natural de las monocotiledóneas es de cierta forma limitada, ya que por ejemplo sí afecta a las plantas de maíz en las etapas más tardías de vida.

El Compendio de Nombres Comunes de Pesticidas⁵ incluye para el 2,4-D, 29 sales y ésteres, mientras que el Manual de Pesticidas del Consejo de Protección de Cultivos del Reino Unido que se encuentra en el Internet lista 15 sales y ésteres (oPM, 2012) (véase Anexo I). De acuerdo con Dow AgroSciences, la sal 2,4-D dimetilamonio (2,4-DMA), el éster 2,4-D etilhexil (2,4-d EHE) representa 90-95% de las fórmulas que se encuentran en el mercado (Charles et al., 2001). Para los cultivos modificados genéticamente Dow AgroScience desarrolló una nueva fórmula de 2,4-D utilizando una sal colina. Esta nueva fórmula de 2,4D es químicamente identificada como el ácido 2,4 diclorofenoxiacético (2 hidroxietil) sal trimetilamonio.

El Manual de Pesticidas del Consejo de Protección de Cultivos del Reino Unido muestra que la mayoría de productos contienen la sal 2,4-DMA, el ácido puro y el éster 2,4-D EHE (oPM, 2012) (véase la figura 10).

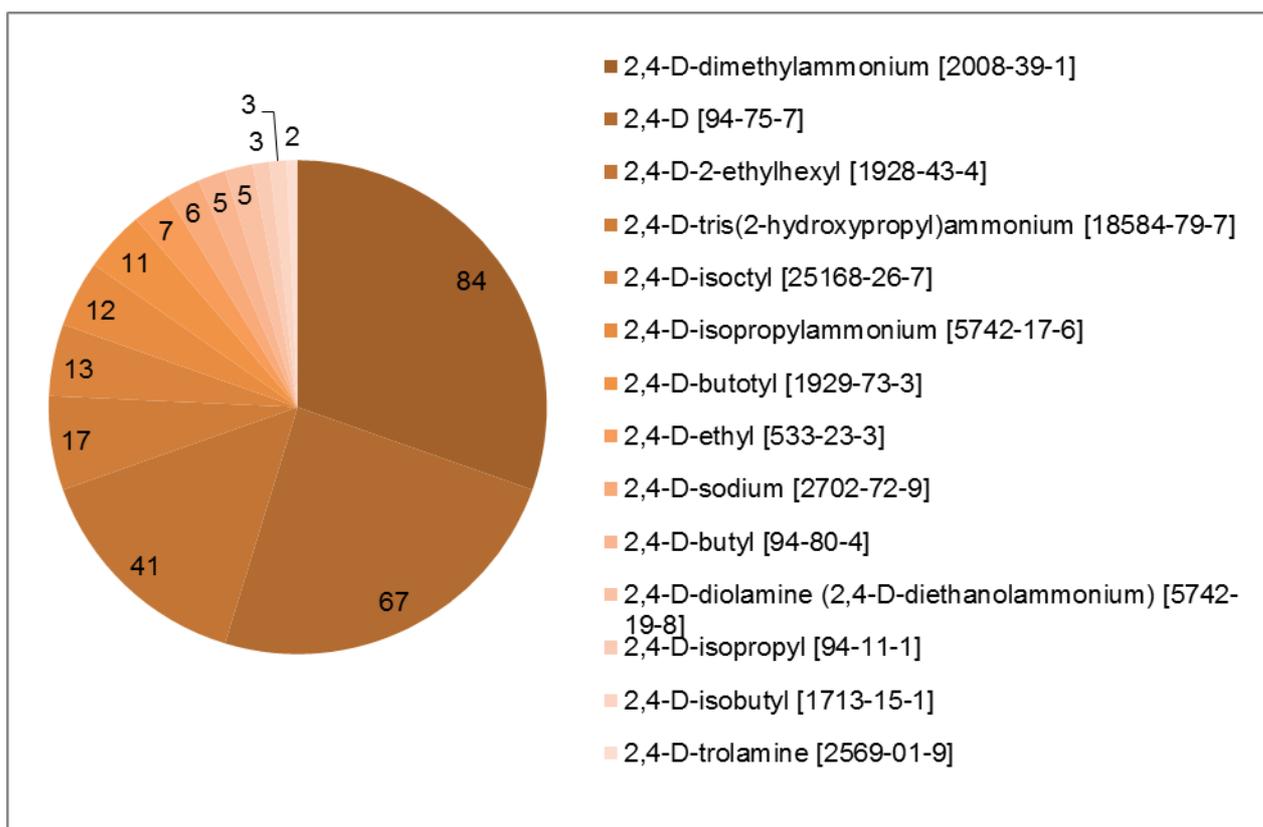


Figura 1: Número de productos por fórmula (elaboración propia basada en [(oPM, 2012))

Existen al menos 75 compañías que producen pesticidas y que comercializan productos que contienen derivados de 2,4-D. Nufarm y Dow AgroSciences tienen la gama de

⁵ <http://www.alanwood.net/pesticides/2,4-d.html>

productos más grande (ibid) (véase figura 2), pero el número de productos no representa la cuota que tienen en el mercado.

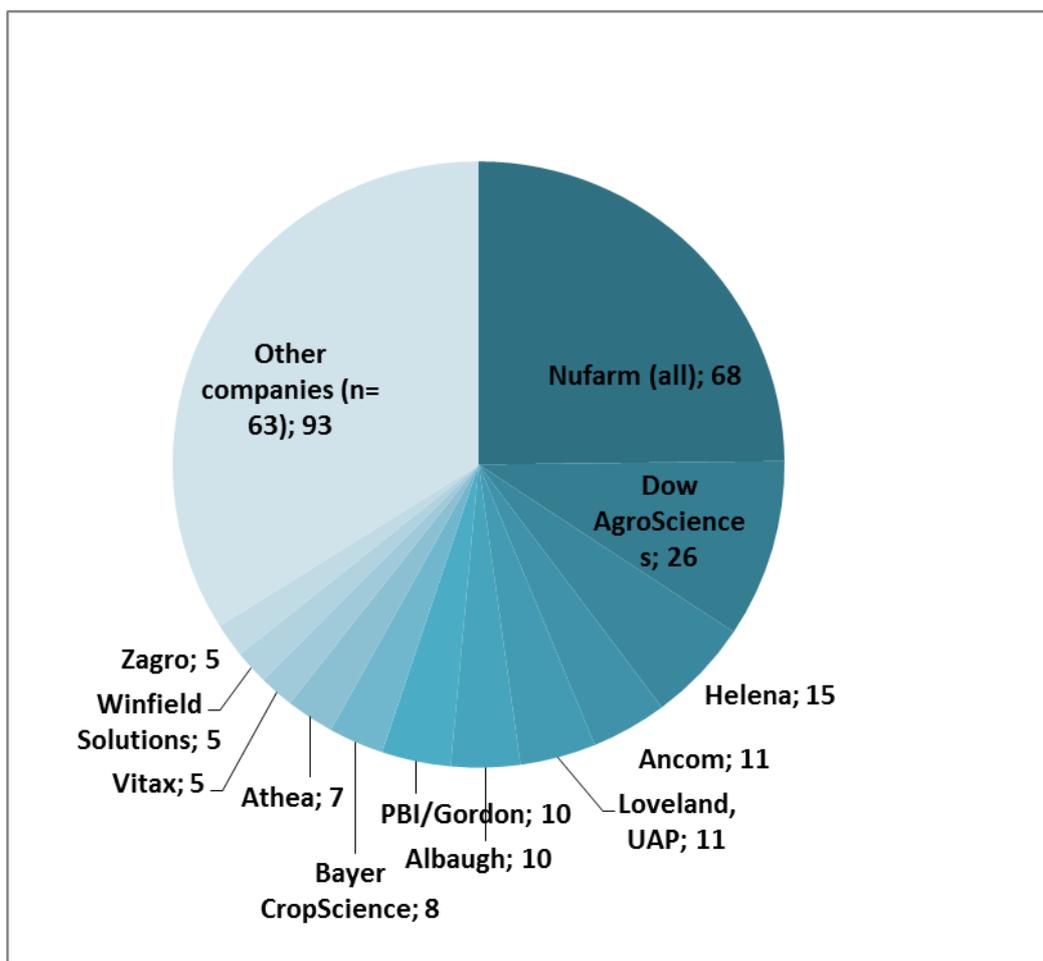


Figura 2: Número de productos por compañía que contienen derivados de 2,4-D

2,4-D es producido a partir de 2,4-diclorofenol, el cual también se encuentra como parte de las impurezas en los productos 2,4-D y es un producto de degradación o metabolito relevante. 2,4-D es parte del grupo de las sustancias clorofenoxi como por ejemplo MCPA, MCPP, 2,4-DB y 2,4,5-T. El Centro de Investigación Internacional sobre el Cáncer ha clasificado a estas sustancias dentro del grupo de carcinógenos 2B, “posible carcinógeno para humanos”(IARC 2013^a). Los fabricantes manifiestan que esta clasificación es injustificada ya que 2,4-D no es genotóxico y proclaman que las impurezas genotóxicas como dioxinas/furanos (las impurezas fenólicas del compuesto 2,4-D puede generar dioxinas y furanos por medio de reacciones de condensación) no son detectadas por sobre el límite de cuantificación. Esta declaración es parcialmente verdadera como se describe en el capítulo 60.

3. El uso potencial de 2,4-D en los Estados Unidos

Dow AgroSciences presentó una propuesta para el maíz y los granos de soya modificados genéticamente, por lo tanto la tecnología -si no se amplía- se limitaría a estos cultivos. La principal razón para la presentación de esta propuesta, es el

incremento de la resistencia de las malezas al glifosato. El glifosato es el herbicida más utilizado actualmente en los cultivos de soya y maíz en los Estados Unidos.

Hasta ahora, debido al dominio de otros herbicidas (glifosato, atrazina, etc), 2,4-D se aplicaba en un 8% de la superficie de sembríos de maíz (2005⁶) y en un 3% del área de cultivos de granos de soya (2006).⁷

Obviamente, Dow AgroSciences desarrolló la tecnología Enlist para generar ganancias, por lo tanto esta compañía espera un incremento en el uso de las fórmulas de 2,4-D. Sin embargo, la escala del incremento potencial es difícil de estimar.

Un nuevo informe de Stratus muestra que aproximadamente la mitad (49%) de los agricultores de Estados Unidos encuestados en el 2012 tienen malezas resistentes al glifosato en sus fincas.⁸ Si comparamos estos datos con el área de cultivo, podemos decir que podría afectar a 61 millones de acres.⁹

Sin embargo Dow Sciences no es la única compañía que está buscando una oportunidad en el mercado de las malezas resistentes al glifosato, ya que las variedades de plantas resistentes al 2,4-D están ‘*apiladas*’. Además, estas variedades tienen también múltiples resistencias a otros herbicidas (véase la Introducción).

El que el glifosato sea o no completamente sustituido por 2,4-D (u otros herbicidas) dependerá del precio de los paquetes que contienen semillas modificadas genéticamente y el herbicida; y también de la posibilidad de que aparezcan a futuro otras malezas resistentes. Si existiera una sustitución total aproximadamente 100 millones de acres podrían verse afectados – este es el tamaño que ocupan los cultivos de maíz y soya modificados genéticamente y que actualmente son fumigados con RoundUp Ready. Pero ¿será posible que cualquier otro paquete, que contenga semillas modificadas genéticamente y un herbicida, pueda competir con RoundUp Ready de Monsanto en las áreas que aún no contienen “supermalezas”?

Es muy probable que el futuro uso de 2,4-D (y otros herbicidas) se limite a las áreas donde la resistencia a las malezas constituye un problema. En estas áreas Enlist compite con otras “soluciones” de BayerCropScience y Co. No obstante, millones de acres ya están afectados con supermalezas y cada vez este número sigue aumentando, por lo tanto estas áreas podrían ser blanco de herbicidas más tóxicos. Sin embargo debe considerarse que algunas malezas ya han desarrollado resistencia a 2,4-D (Bernards et al., 2012), por lo tanto el uso “ilimitado” no constituye una opción de control de malezas a largo plazo (Egan et al. 2011).

No obstante el potencial de Enlist (2,4-D) es amplio, considerando los datos recientemente expuestos. Los estados que más soya producen son Iowa, Illinois, Minnesota, Indiana y Nebraska – estados que tienen una alta incidencia de supermalezas y donde la soya comúnmente se cultiva en rotación con maíz – en estos estados el uso total de 2,4-D por lo tanto se multiplicaría.

El borrador de la evaluación ambiental del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2011,2012) no especifica el número de superficie potencial de Enlist pero si muestra detalles sobre el uso específico de 2,4-D. En este informe se prevé el

⁶ http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/09_23301p_dpra.pdf

⁷ http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/09_34901p_dea.pdf

⁸ <http://www.stratusresearch.com/blog07.htm>

⁹ 1 acre = 4047 m²

uso de 0.71 libras de 2,4-D (equivalente ácido) por acre en los cultivos de soya y 3.0 libras/acre en los cultivos de maíz.¹⁰ Mientras que Dow AgroSciences asume una reducción del uso de 2,4-D comparado con el maíz convencional (véase la figura 3, Dow AgroSciences 2011b), el Departamento de Agricultura prevé que las tasas de aplicación se mantendrán (USDA 2011b).

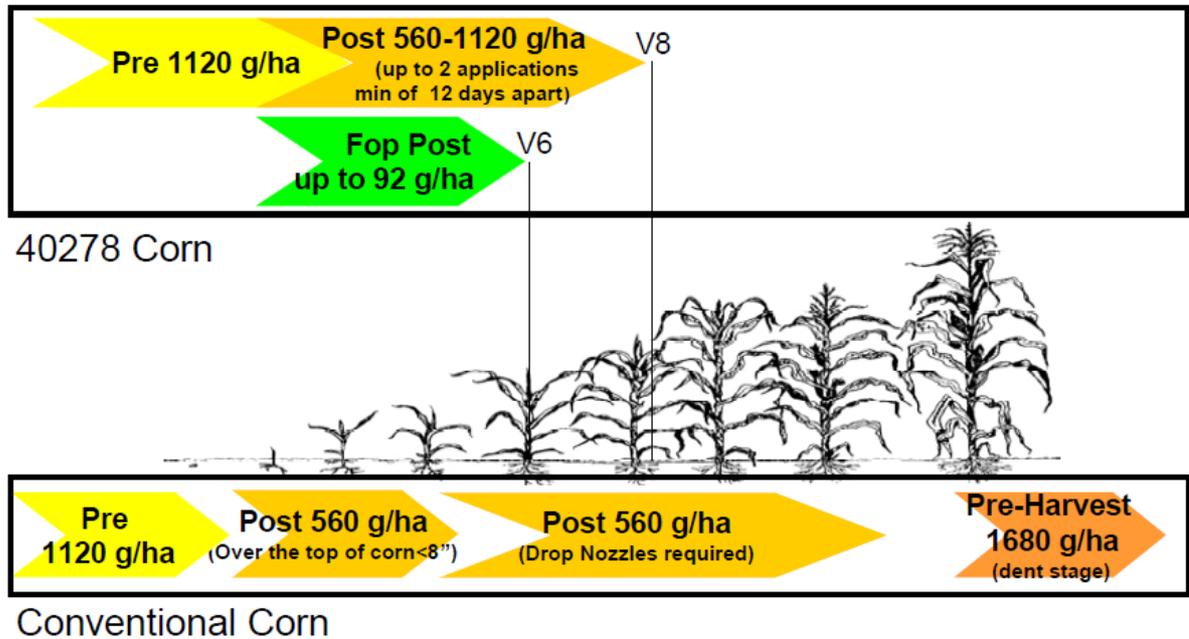


Figura 3: tiempos y tasas de aplicación del producto 2,4-D y herbicida Fop para el maíz convencional y el maíz DAS-40278-9 (Dow AgroSciences 2011)

No se realizó una comparación con otros tipos de maíz resistentes al herbicida y modificados genéticamente que se cultivan en aproximadamente un 70% del área total de cultivos de maíz.

4. Toxicocinética

Los humanos generalmente absorben 2,4-D a través de la piel, lo inhalan o podrían tragar las pequeñas gotas rociadas (en menores cantidades). La principal forma de exposición es a través de la piel, particularmente a través de las manos (Grover et al.1986) y parece que la absorción dérmica es ampliamente subestimada por las autoridades (10% por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos [US EPA 2012 pg. 8] y 0,08-4% por la Unión Europea [EFSA 2013a])

¹⁰ 1 pound per acre is equivalent to 1.120 kg/ha

La ingesta a través de la comida debería ser mínima, ya que cuando se utiliza 2,4-D como herbicida, generalmente no se aplica sobre la fruta, los vegetales u otros productos de estrecha relación con el consumidor, antes de la cosecha. Sin embargo, los datos de residuos del 2011 de Baden-Württemberg, Northrhine-Westfalia y Saxonia-Anhaltin demuestran que 67 muestras (de un total de 5000¹¹) contenían residuos de 2,4-D y en un mayor porcentaje (48 muestras) en frutas cítricas como naranjas, toronjas y clementinas (datos propios, 2012). Ya que las frutas cítricas son muestreadas con la cáscara, no queda claro si estos residuos se encontraban en la pulpa -y por lo tanto se originan de una aplicación previa- o en la cáscara, lo que sería un signo de exposición por deriva o post-cosecha. El promedio de concentración de 2,4-D de las muestras fue bajo: 0,041 mg/kg.

Las cantidades de ingesta de pesticida por los usuarios y otras personas depende, entre otras cosas de los adyuvantes usados, el método de aplicación, la intensidad del uso y el equipo de protección personal utilizado. La evaluación de riesgo regulatoria asume que el equipo de protección personal es usado adecuadamente y que el equipo de aspersión está adecuadamente calibrado y funciona correctamente. Sin embargo, esta suposición parece estar equivocada, ya que un gran número de estudios alrededor del mundo demuestran lo contrario (véase Matthews, 2004 y el Anexo I en Neumeister y Isenring, 2010). Las personas que aplican los pesticidas generalmente no tienen una educación adecuada, no utilizan el equipo de protección personal, utilizan los equipos que se encuentran en malas condiciones, etc. Una reciente encuesta a los agricultores de arroz de Malasia que utilizaban 2,4-D mostró que solamente un 14% de los 144 agricultores encuestados utilizaban guantes, y que 86% no utilizaban ni zapatos, ni botas (Baharuddin et al., 2011).

Al basarse en Kohli et al. (1974) y Sauerhoff et al. (1977) se asume que una gran parte de 2,4-D no se metaboliza y se une rápidamente a otras sustancias excretadas con la orina. Sin embargo, estudios fármaco-cinéticos en animales de laboratorio (o humanos) usualmente utilizan la exposición oral o incluso intravenosa, lo que no refleja la realidad del campo ocupacional. Un agricultor o un profesional contratado para aplicar los pesticidas, frecuentemente lo hace durante varias horas al día y en algunos casos 5 o más días a la semana. Así la secreción de 2,4-D en una exposición real no es tan rápida como se describe en los estudios citados anteriormente. La excreción de orina parece ser más del doble cuando se aplica 2,4 de 4 a 7 veces en comparación de cuando se aplica de 1 a 2 veces (Grover et al., 1986b).

Knopp y Glass (1991) analizaron muestras de orina de los trabajadores que aplicaban 2,4-D con una bomba de mochila y detectaron considerables cantidades incluso 6 días (144h) después de la aplicación (véase la figura 4). Grover et al. (1986b) mostró que los niveles de orina luego de una sola exposición se redujeron a los niveles de referencia el día 8 -después de su aplicación.

¹¹

Por favor notar que no todas las muestras fueron analizadas para 2,4-D.

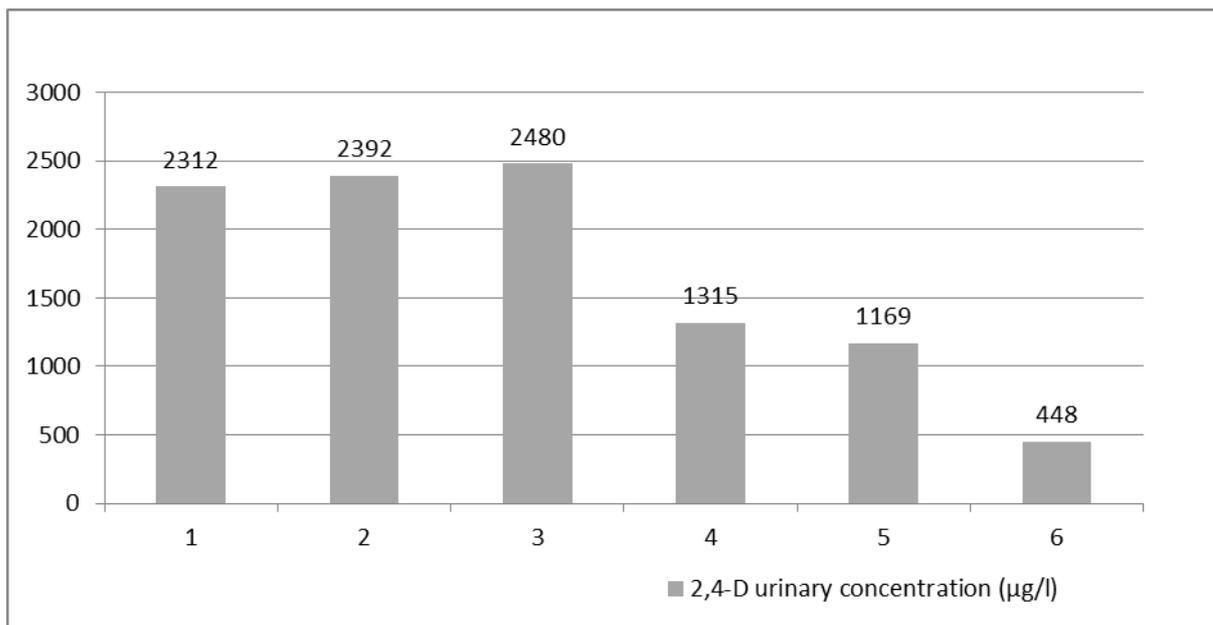


Figura 4: Concentración de la orina en personas que aplican el pesticida de 1 a 6 días luego de una exposición de 8 horas de trabajo (Datos de la Tabla 1 en Knopp y Glass 1991)

Además, Kohli et al. (1974) y Sauerhoff et al. (1977) aplicaron relativamente pequeñas dosis y altas dosis como sucedería en envenenamientos intencionales o no intencionales. Oliveira y Palermo-Neto (1993) por ejemplo detectaron 2,4-D en los cerebros de ratas alimentadas con 10mg/kg (una sola dosis) y sugirieron que 2,4-D es transportado a través de un sistema de transporte para ácidos orgánicos. En el estudio de Arbuckle et al. (1999) se detectó 2,4-D en el semen de la mitad (50%) de agricultores -de un total de 97- que habían utilizado 2,4-D.

Existe un gran número de publicaciones sobre toxicocinética y el destino ambiental de 2,4-D. Muchas de estas publicaciones han sido realizadas por los fabricantes del pesticida, sus ex empleados o han sido auspiciados por ellos.

Tabla 1: Publicaciones de la tóxico-cinética de 2,4-D

Dow: Sauerhoff, M.W., Braun, W.H., Blau, G.E. & Gehring, P.J. (1977): The fate of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) following oral administration to man. Toxicology 8:3-11 Destino del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) luego de la administración oral en humanos.	Humanos, Una sola dosis oral 5mg/kg
BASF: van Ravenzwaay, B., Hardwick, T.D., Needham, D., Pethen, .S., Lappin, ? (2003): Comparative metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) in rat and dog. Xenobiotica 33(8):805-21. Metabolismo comparativo del ácido 2,4 – diclorofenoxiacético (2,4-D) en ratas y perros.	Ratas y perros Dosis única 5 o 50 mg/kg
Dow: Gorzinski, S.J., Kociba, R.J., Campbell, R.A., Smith,	Ratas macho Fischer,

<p>F.A., Nolan, R.J. & Eisenbrandt, D.L. (1987): Acute, pharmacokinetic, and subchronic toxicological studies of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. <i>Fundam Appl Toxicol.</i>, (3): 423-35.</p> <p>Estudios toxicológicos agudos, fármaco-cinéticos y sub-crónicos del ácido 2,4 – diclorofenoxiacético.</p>	<p>dosis orales únicas de 10-150mg/kg (estudio fármaco-cinético)</p>
<p>Former Dow employee: Timchalk, C. (2004): Comparative inter-species pharmacokinetics of phenoxyacetic acid herbicides and related organic acids. Evidence that the dog is not a relevant species for evaluation of human health risk. <i>Toxicology</i>, 200: 1–19.</p> <p>Ex-trabajador de Dow: Timchalk, C. (2004) Farmacocinética comparativa entre-especies, de los herbicidas ácido fenoxiacéticos y otros ácidos orgánicos relacionados. Evidencia de que el perro no es una especie adecuada para la evaluación del riesgo en humanos.</p>	<p>No es un experimento es una revisión.</p>
<p>Kohli, J.D., Khanna, R.N., Gupta, B.N., Dhar, M.M., Tandon, J.S. & Sircar, K.P. (1974): Absorption and Excretion of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid in Man. <i>4 (2): 97-100</i> (doi:10.3109/00498257409049349)</p> <p>Absorción y excreción del ácido 2,4 – diclorofenoxiacético en humanos.</p>	<p>Humanos, oral 5mg/kg</p>

Una publicación de co-autoría de Dow Chemical y parcialmente financiada por esta compañía y otros fabricantes de 2,4-D establece que, basándose en Sauerhoff et al. (1977) y Kohli et al. (1974), *“una exposición continua por más de una semana podría llegar a un estado estacionario, en el que la cantidad excretada diariamente en la orina sería aproximadamente equivalente a la cantidad absorbida cada día.”* (Aylward et al., 2010, pg. 178). Parece que esta es una declaración apresurada, ya que no existen datos de exposición humana para un periodo más largo que una semana y Knopp (1994 pg 154.) reporta que luego de una pausa de exposición más larga: *“el perfil de concentración de orina de 2,4-D en un intervalo semanal (de lunes a viernes) mostró un incremento en la exposición durante la semana.”* (Knopp, 1994, pg.154).

Aunque parece que existe un cierto ‘equilibrio’, cuando una exposición similar se mantiene (véase la segunda semana en la figura 50), no pudo alcanzarse un ‘pico’ estable de concentración, porque durante los fines de semana siempre disminuía la carga de pesticida en el cuerpo.

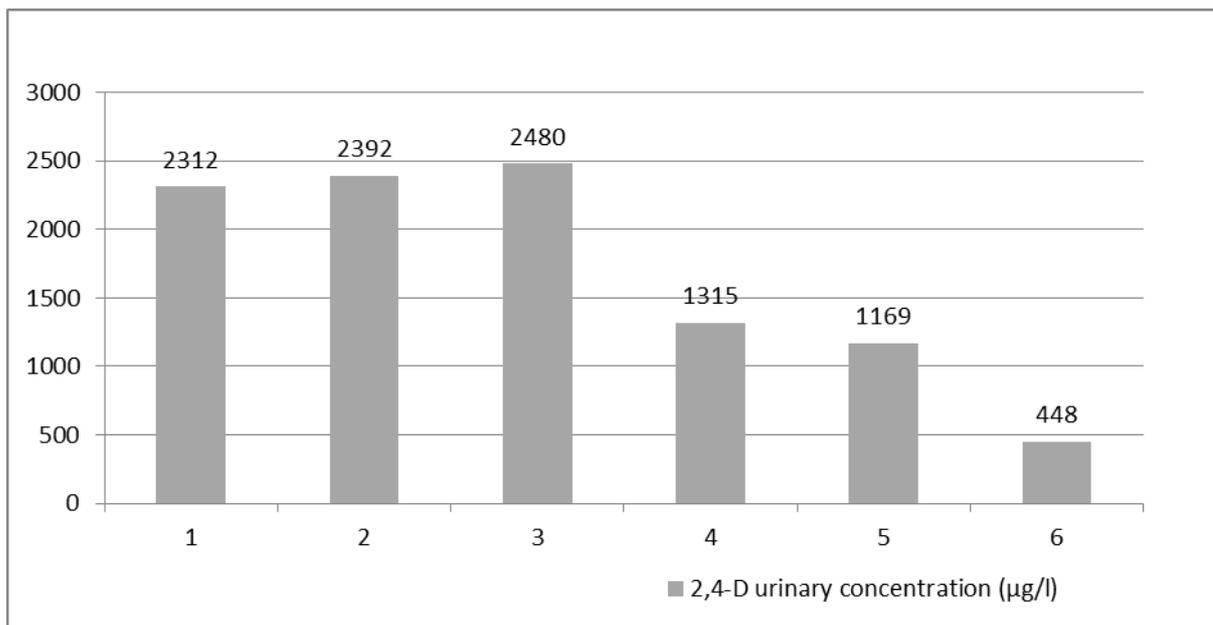


Figura 5: concentración promedio de 2,4-D en la orina diaria (log µg/l) durante dos semanas (trabajadores productores de 2,4-D) Datos obtenidos de Knopp 1994

Se subestima la absorción dérmica de 2,4-D, sus sales y ésteres

A pesar de que esta sustancia tiene una historia de mercadeo de 70 años, se sabe muy poco sobre la absorción dérmica de 2,4-D, sus sales y ésteres. Aunque existen algunas publicaciones sobre estudios con humanos voluntarios, los resultados no son concluyentes.

La revisión de Ross et al. (2005) auspiciada por la industria sobre la absorción dérmica de 2,4-D es exagerada, engañosa y parcialmente falsa. Manifiesta: *“la absorción percutánea humana del ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) está muy bien descrita. Han sido publicados cinco estudios utilizando sujetos humanos y los resultados de estos estudios muestran una notable reproducibilidad para un período de tres décadas, múltiples laboratorios, fórmulas y métodos”*.

Existen algunos errores en esta declaración:

1. la absorción percutánea de los humanos expuestos a 2,4-D no está bien descrita. Ninguno de los dos experimentos con el ácido 2,4 fue conducido con agua como medio de transporte; en lugar de ello se utilizó acetona y etanol. La guía de la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos claramente requiere *“las diluciones deben realizarse generalmente con agua, para producir una solución o suspensión (...) los solventes orgánicos o los agentes especiales solubilizantes/suspensión no deben ser usados”* (US EPA 1998) en los análisis para la absorción por la piel. Solamente en tres experimentos (Moody et al. 1990, Moody et al. 1992 y Harris y Solomon 1992) se utilizó agua como vehículo, pero se analizó únicamente una sal (2,4-DMA) y el porcentaje de 2,4-D DMA absorbido varió entre $1,76 \pm 0,6\%$ SD y $58 \pm 23\%$ SD (véase Tabla 1 y Figura 6).

La mayoría de estos experimentos subestiman la absorción dérmica porque, la excreción urinaria fue igual a la absorción; y en algunos casos el periodo de tiempo luego de la exposición fue demasiado corta por lo que no llegó a un 100%.

Ninguno de los ésteres ampliamente vendidos (véase Figura 1) como 2,4-D EHE ha sido analizado. En su informe de revisión sobre 2,4-D, la Comisión Europea resalta que “*sin embargo algunos parámetros pueden requerir la generación o presentación de estudios adicionales (...). Este puede ser el caso de:*

- *Estudio in vivo de absorción dérmica en ratas con el éster 2,4-D.*
- *Estudio in vitro de absorción dérmica en la piel de ratas y humanos con el éster 2,4-D (EC 2001).*

En su presentación para la renovación de la autorización de 2,4-D en la Unión Europea, los fabricantes no presentaron esta información, solamente presentaron los resultados de los estudios de absorción dérmica con el ácido 2,4-D (*in vitro*) y 2,4-D DMA (*in vivo*) (EFSA 2013b).

2. Existen **seis** estudios en humanos. Los encargados de la revisión omiten los datos en humanos de Moody et. Al. (1990) que presentan datos de absorción altos: $58 \pm 23\%$ SD,
3. Los estudios de Ross et al. (2005) mencionan **dos** fórmulas (ácido 2,4-D y 2,4-DMA sin embargo se comercializan por lo menos 12 sales y ésteres más (véase figura 6).

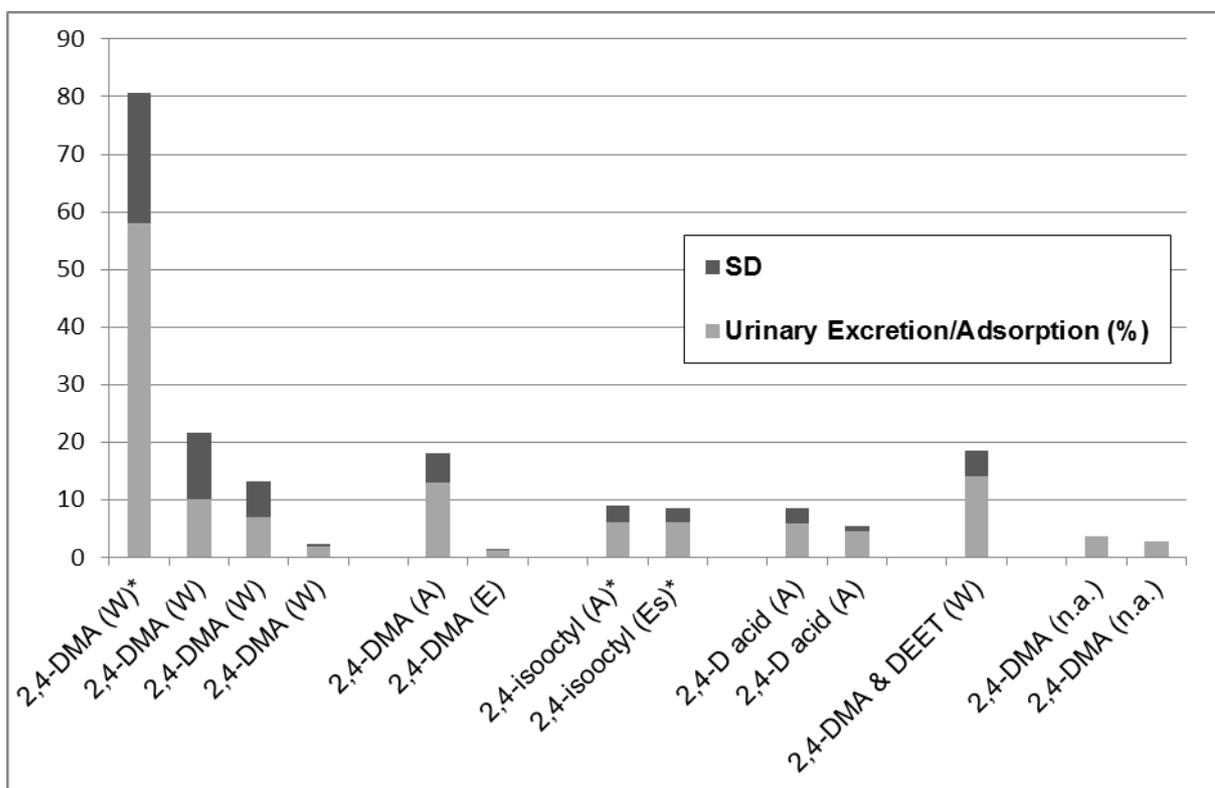


Figura 6: absorción dérmica del ácido 2,4-D, 2,4-DMA y 2,4-D isooctil por humanos voluntarios. Vehículo en paréntesis (W= agua, A=acetona, E=etanol, ES=Estereon)

LV 96, n.a.= información no disponible). * indica que los resultados fueron omitidos por Ross et al. 2005.

Tabla 2: Experimentos con exposición dérmica en humanos y sus incertezas

Tratamiento	n	Vehículo	Sitio	Dosis	Unidad	Excreción urinaria / Adsorción (%)	SD	Duración (h)	Fuente	Incertezas
2,4-DMA (W)*	6	agua	Frente (humana)	4	µg/cm ²	58	23	168	Moody et al. 1990	
2,4-DMA (W)	4	agua	palma (humana)	1,7	µg/cm ²	10	12	120	Moody et al. 1992	La excreción urinaria en 120 horas no es igual a la adsorción dérmica
2,4-DMA (W)	4	agua	Antebrazo (humano)	1,7	µg/cm ²	7	6,2	120	Moody et al. 1992	La excreción urinaria en 120 horas no es igual a la adsorción dérmica
2,4-DMA (W)	5	agua	Revés de la mano (humana)	1111	µg/cm ²	1,76	0,6	144	Harris y Solomon 1992	
2,4-DMA (A)	4	acetona	Antebrazo (humano)	1,7	µg/cm ²	13	5	120	Moody et al. 1992	La excreción urinaria en 120 horas no es igual a la adsorción dérmica
2,4-DMA (E)	6	etanol	Antebrazo (humano)	39,67	µg/cm ²	1,1	0,3	144	Wester et al. 1998	La excreción urinaria extrapolada a la adsorción utilizando un mono Rhesus como referencia
2,4-isoocetyl (A)*	4	acetona	Frente (humana)	4	µg/cm ²	6	3	168	Moody et al. 1990	
2,4-isoocetyl (Es)*	4	Esteron LV 96	Frente (humana)	4	µg/cm ²	6	2,6	168	Moody et al. 1990	
2,4-D acid (A)	6	acetona	Frente (humana)	4	µg/cm ²	5,8	2,8	120	Feldman y Maibach 1974	La excreción no fue completa luego de 120 horas
2,4-D acid (A)	5	acetona	Revés de la mano (humana)	1111	µg/cm ²	4,46	0,8	144	Harris y Solomon 1992	
2,4-DMA & DEET (W)	4	agua	Palma (humana)	1,7	µg/cm ²	14	4,5	120	Moody et al. 1992	La excreción urinaria en 120 horas no es igual a la adsorción dérmica
2,4-DMA (n.a.)	6	n.a.	Antebrazo (humano)	4	µg/cm ²	3,6		120	Maibach y Feldman 1974 as cited Ross et al. 2005	La excreción no fue completa luego de 120 horas
2,4-DMA (n.a.)	6	n.a.	Antebrazo (humano)	4	µg/cm ²	2,8		120	Maibach y Feldman 1974 as cited Ross et al. 2006	La excreción no fue completa luego de 120 horas

En general, el diseño de los estudios de adsorción es cuestionable. Los usuarios de los pesticidas los aplican varias horas por día durante varios días a la semana. Su piel está expuesta repetitivamente.

5. Exposición sobre los umbrales toxicológicos

En el 2010, una publicación de coautoría y parcialmente auspiciada por un fabricante de 2,4-D concluyó: *“los datos biomonitoreados (...) indican que las actuales exposiciones a 2,4-D se encuentran bajo los valores guía de exposición.”* (Aylward et al., 2010, pg. 1)

Los autores tomaron datos de la excreción urinaria de 2,4-D de diferentes grupos de personas, expuestas y no expuestas, y trataron de establecer una relación con la exposición e indirectamente con los umbrales toxicológicos, al comparar las concentraciones con los así llamados equivalentes de biovigilancia. Los equivalentes de biovigilancia son una invención de Summit Toxicology, una firma consultora en toxicología, evaluación de riesgos y farmacéutica¹². Los equivalentes de biovigilancia se definen como los niveles de biovigilancia de algunos químicos específicos en la sangre, la orina, otros medios biológicos humanos o tejidos que son consistentes con los valores guía de exposición. La ingesta de 2,4-D es casi completamente excretada por la orina dependiendo de la ruta de exposición (oral, dérmica, vía inhalación), la cantidad absorbida y la fórmula. Por ello, el uso de las concentraciones de orina para medir la exposición no es totalmente absurdo. Sin embargo para realizar una evaluación adecuada, se deben utilizar los datos de la excreción urinaria **total** luego de la exposición y ajustarlos para las pérdidas no-urinarias.

Durante la aplicación de 2,4-D, el cuerpo adsorbe un cierto porcentaje de la cantidad aplicada. Dicha adsorción termina luego de la exposición, y el cuerpo tiene una carga de 100%, para luego ser desechada secuencialmente fuera del cuerpo. La excreción de 2,4-D ocurre luego de al menos seis días de ser aplicado (véase la figura 40) y parece que llega a un pico en la segunda ocasión al cuarto día de haber sido aplicado (véase además Grover 1986b Fig.1 pg.76). Entonces, no tiene sentido tomar muestras de concentración de orina un día luego de la exposición y utilizar estos datos para evaluarla; pero es exactamente lo que Aylward et al. (2010) ha hecho. Knopp y Glass (1982) indican que las muestras de orina tomadas 24 horas después de la aplicación, pueden extrapolarse para calcular el total de 2,4-D absorbido, pero esto podría ser erróneo.

En la figura 70 se muestra que un conductor A y un aplicador de herbicida A presentan una concentración de orina similar 24 horas después de la aplicación, pero la carga total en el cuerpo del aplicador de herbicida es más del doble que el del conductor. Aylward et al. (2010) utiliza los datos de cuatro estudios que contienen información sobre la concentración urinaria, para evaluar el riesgo ocupacional potencial (véase Figura 2 en Aylward et al 2010). Sin embargo, ninguno de los estudios midió el total de excreción de 2,4-D:

¹² <http://www.summittoxicology.com/>

1. Curwin et al. (2005) p. 501 describió su muestreo: '*La primera visita se realizó luego de la aplicación del pesticida (de 1 a 5 días) (...) Se colectaron dos muestras de orina de los participantes en cada visita, una en la tarde del día de la visita, y una a la mañana siguiente.*' (Curwin et al. 2005 pg. 501). Esto significa que la exposición real ocurrió en un rango de 1 a 5 días. Como se muestra en 0 (arriba) la excreción de orina puede reducirse en un 50% entre el día 1 y el día 5 después de la aplicación.
2. En la investigación auspiciada por los fabricantes de 2,4-D (Alexander et al. 2007) se colectaron las muestras de orina únicamente 72 horas después de la exposición, y Aylward et al. (2010) usó únicamente los datos de la concentración urinaria del primer día después de la aplicación, a pesar de que la excreción obviamente continuaba y fue aún más alta el segundo día (Alexander et al. 2007)
3. Thomas et al. (2009) colectó muestras de orina el día anterior a la aplicación y hasta cuatro días después de la misma. Aylward et al. (2010) utilizaron únicamente los datos de la concentración urinaria del primer día posterior a la aplicación, a pesar de que la excreción continuo.
4. Arbuckle et al. (2002) tomo una muestra únicamente una vez, 24 horas después de la aplicación y por lo tanto no pudo medir la excreción total.

Para poder evaluar si se ha superado el umbral toxicológico, debería contarse con los siguientes datos: datos de la exposición (tiempo y duración de la aplicación, cantidades usadas, los ingredientes activos / formula aplicada) farmacocinética (adsorción del cuerpo, duración en el cuerpo, metabolización/excreción, los umbrales toxicológicos válidos y el peso de la persona expuesta.

A pesar de la larga historia del uso de 2,4-D, no muchas publicaciones proveen ese tipo de información. Draer y Street (1982) investigaron la exposición de cuatro trabajadores (dos conductores y dos aplicadores de pesticida) que dispersaban 2,4-D DMA desde un camión utilizando rociadores con toberas. El equipo de aplicación A realizó solo una aplicación, mientras el equipo B continuó usando 2,4-D DMA todos los días del experimento. Las concentraciones de orina solo fueron medidas 72 horas luego de la aplicación, sin embargo como se observa en 0 la concentración total en el cuerpo fue de al menos 4.300 µg/l en el conductor A y 10.000 µg/l en el aplicador A.

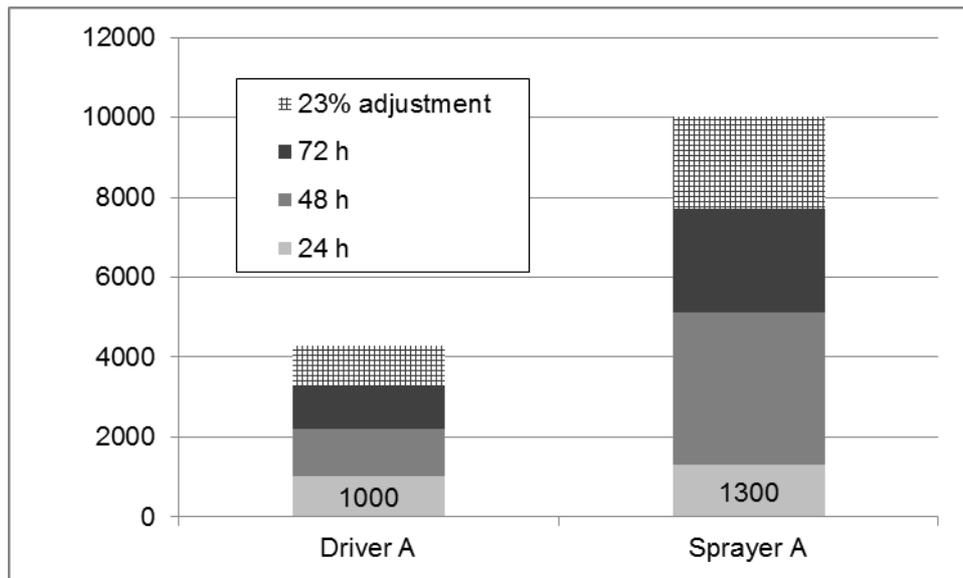


Figura 7: excreción urinaria ($\mu\text{g/l}$) de 2,4-D, tres días luego de una sola operación de aplicación de 2,4-D DMA en las plantaciones forestales (gráfico de elaboración propia basado en Draper y Street 1982 más un ajuste del 23% para las pérdidas no urinarias de acuerdo con Harris y Salomon 1992)

Estos ejemplos exceden con creces el equivalente de biovigilancia de Aylward et al. (2010). Draper y Street (1982) también calcularon la exposición total de acuerdo al peso. Para el aplicador A la exposición fue de $160\mu\text{g/kg}$ del peso, lo que se encuentra por sobre el Nivel de Exposición Aceptable por Operador que es de $150\mu\text{g/kg}$. Sin embargo el cálculo de Draper y Street (1982) es una subestimación ya que no se midió la excreción total (ibid).

Garry et al. (2001) y Figgs et al. (2000) reportaron una concentración urinaria de más de $1700\mu\text{g 2,4-D/L}$ en una sola medida diaria y Zhang et al. (2011) reportaron altas concentraciones por día de aplicación. Ninguno de estos tres equipos de investigación colectaron datos luego de la aplicación, pero las mediciones puntuales muestran una exposición muy alta. Draper y Street (1982), Garry et al. (2001), Figgs et al. (2000) y Zhang et al. (2011) investigaron a un muy pequeño grupo de aplicadores de 2,4-D y entre ellos siempre existieron algunos trabajadores que presentaban extremadamente altas concentraciones en la orina y aparentemente una alta exposición.

Estos ‘valores atípicos’ no deben descartarse porque si se extrapolan, miles de usuarios de 2,4-D podrían verse afectados.

El informe de evaluación de renovación de la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA 2013^a) llega a conclusiones similares. Cuando se analiza una adsorción dérmica baja -de hasta un 4%- , la exposición potencial de los trabajadores que no usan protección personal está por sobre el Nivel de Exposición Admisible para el Operario (NEAO), aunque se utilice un equipo de fumigación montado en tractor (para más información véase EFSA 2013b). Si se utiliza un equipo de protección personal básico, la exposición potencial llega a un 27% del NEAO. Sin embargo, esta es una gran subestimación porque la absorción dérmica parece ser mucho mayor. El uso de pulverizadores de mochila o las bombas de fumigación manuales no están considerados. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria debería considerar estos grupos con

altas exposiciones en sus evaluaciones de riesgo. Además, el uso de equipo de protección personal forma parte de un escenario ideal.

6. Dioxina y 2,4-D

La producción y el uso de 2,4-D y otros pesticidas clorinados han sido asociados con considerables contaminaciones ambientales por dioxinas y furanos. El uso del Agente Naranja en la guerra de Vietnam hizo que 2,4-D sea tristemente célebre, especialmente debido a un subproducto altamente tóxico, el TCDD: *'Millones de galones de Agente Naranja (una mezcla 50:50 de (...) 2,4,5- T y (...) 2,4-D) usada como un defoliante en la Guerra de Vietnam desde 1962 a 1970 contenía de 2 a 30 ppm de TCDD'* (NTP 2001). TCDD (existe suficiente evidencia para asegurar que 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxina es un carcinógeno humano debido a los estudios de carcinogenicidad en humanos, tanto epidemiológicos como en el mecanismo de carcinogenicidad (ibid).

Es además un disruptor endocrino potente con efectos significativos en la reproducción (Heiden et al., 2006).

El conocimiento público, especialmente luego del accidente de Seveso¹³ en 1976, obligó a actuar a los gobiernos de los países Occidentales y de esta manera, la producción y los productos mejoraron técnicamente. En los países del bloque del Este el problema continuó durante varios años más. El informe de Knopp (1994) sobre una planta de 2,4-D en Bitterfeld en el área de la ex República Democrática Alemana manifiesta: *'2,4-D producido en la planta química bajo investigación en el estudio actual mostró principalmente que difenileter policlorinado es un subproducto del proceso. Además, se encontraron tetraclorodibenzodioxinas (1,3,6,8-TCDD; 1,3,7,9-TCDD) en concentraciones de 10 ppb así como tetra y pentaclorodibenzofuranos en concentraciones relativamente altas: 400 ppb(...)'*.

Entre 1978 y 1997 las autoridades de Alemania Occidental frecuentemente analizaban los pesticidas que potencialmente podían contener dioxinas y/o furanos. El último descubrimiento de dioxinas y furanos fue en 1992 luego de ello, los límites de las detecciones de 0,01 mg/kg resp. 0,005 mg/kg no han sido sobrepasados.

En los últimos años, debido a una mejora en los métodos analíticos, el límite de detección puede haberse reducido drásticamente. En el 2011, se solicitó a los titulares de las autorizaciones de 2,4-D, Dichlorprop-P, MCPA, Mecoprop-P y Prochloraz que analicen, con métodos actualizados, los ingredientes activos en búsqueda de dioxinas. Los resultados mostraron el cumplimiento con los umbrales máximos incluidos en la regulación que prohíbe ciertos químicos (BVL 2013)¹⁴.

Estos umbrales se muestran en la tabla 2.

Interesantemente, mientras que en Alemania están prohibidas las dioxinas y furanos que sobrepasen los umbrales para la mayoría de químicos, dicha prohibición explícitamente excluye los pesticidas.¹⁵ En la Unión Europea, el nivel de contaminaciones de dioxinas y furanos en los pesticidas tampoco se prohíben *per se*. Los titulares de la autorización están obligados a informar sobre las impurezas relevantes, y los umbrales se establecen

¹³ http://en.wikipedia.org/wiki/Seveso_disaster

¹⁴ Answer of the Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) on request of the author 5.2.2013.

¹⁵ <http://www.gesetze-im-internet.de/chemverbotsv/BJNR172010993.html> (Abschnitt 4)

caso por caso. Actualmente, solo un pesticida (Prochloraz) contiene dioxinas y furanos como impurezas relevantes– el umbral se establece en 0,01 mg/kg (WHO-PCDD/T TEQ¹⁶) (EC 2011).

Basándose en los datos presentados por los fabricantes de 2,4-D, la revisión de la UE concluyó en el 2001, que las impurezas de fabricación de dioxinas y furanos que constituyen una preocupación toxicológica, se mantienen a niveles no detectables (EC 2001).

Tabla 3: Umbrales Alemanes para las impurezas de dioxinas y furanos en diferentes químicos

Umbral para	Dioxina/ Furano	Umbral
Suma de	2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzo-p-dioxina 2,3,7,8-Tetraclorodibenzofurano 2,3,4,7,8-Pentaclorodibenzofurano	1 ppb (1µg/kg)
Suma de	2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzo-p-dioxina 2,3,7,8-Tetraclorodibenzofurano 2,3,4,7,8-Pentaclorodibenzofurano 1,2,3,4,7,8-Hexaclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8,9-Hexaclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,6,7,8-Hexaclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzofurano 1,2,3,4,7,8-Hexaclorodibenzofurano 1,2,3,7,8,9-Hexaclorodibenzofurano 1,2,3,6,7,8-Hexaclorodibenzofurano 2,3,4,6,7,8-Hexaclorodibenzofurano	5 ppb (5µg/kg)
Suma de	2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzo-p-dioxina 2,3,7,8-Tetraclorodibenzofurano 2,3,4,7,8-Pentaclorodibenzofurano 1,2,3,4,7,8-Hexaclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8,9-Hexaclorodibenzo-p-dioxina	100ppb (100µg/kg)

¹⁶ World Health Organization toxic equivalent (WHO- TEQ) more info: http://www.bfr.bund.de/en/questions_and_answers_on_dioxins_and_pcbs_in_food-69876.html#topic_131091

Umbral para	Dioxina/ Furano	Umbral
	1,2,3,6,7,8-Hexaclordibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentaclorodibenzofurano 1,2,3,4,7,8-Hexaclorodibenzofurano 1,2,3,7,8,9-Hexaclorodibenzofurano 1,2,3,6,7,8-Hexaclorodibenzofurano 2,3,4,6,7,8-Hexaclorodibenzofurano 1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,4,6,7,8,9-Octaclorodibenzo-p-dioxina 1,2,3,4,6,7,8-Heptaclorodibenzofurano 1,2,3,4,7,8,9-Heptaclorodibenzofurano	
Suma de	2,3,7,8-Tetrabromodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentabromodibenzo-p-dioxina 2,3,7,8-Tetrabromodibenzofurano 2,3,4,7,8-Pentabromodibenzofurano	1 ppb (1 µg/kg)
Suma de	2,3,7,8-Tetrabromodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentabromodibenzo-p-dioxina 2,3,7,8-Tetrabromodibenzofurano 2,3,4,7,8-Pentabromodibenzofurano 1,2,3,4,7,8-Hexabromodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8,9-Hexabromodibenzo-p-dioxina 1,2,3,6,7,8-Hexabromodibenzo-p-dioxina 1,2,3,7,8-Pentabromodibenzofurano	5 ppb (5 µg/kg)

Una investigación en Japón de dos formulas de 2,4-D con fechas de expiración 1996 y 1998 respectivamente, mostraron que los niveles de dioxinas e impurezas de dioxinas se encontraban a bajos niveles (ej. 0,0021 µg TCDD (2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina /kg ingrediente activo) o en el límite de detección, respectivamente (Masunaga et al., 2001).

Una reciente investigación de un canal de noticias australianas mostró que un producto 2,4 importado contenía altos niveles de dioxina¹⁷ y un estudio reciente (Holt et al., 2010) analizó dos fórmulas de 2,4-D en Australia y concluyó: “En el presente estudio, sin

¹⁷

<http://www.abc.net.au/news/2013-07-22/four-corners-dangerous-dioxins/4833848>

embargo, las fórmulas de 2,4-D (...) fabricadas en el 2006 y 2005, (...) contenían niveles EQT (0.00098-0.17 ng EQT g⁻¹ de ingrediente activo) comparables a aquellos fabricados de 10 a 20 años atrás (...). Estos resultados indican que las medidas de reducción para evitar las impurezas PCDD/F en los pesticidas no son aplicados o no son efectivas en todas las plantas que fabrican pesticidas.”

Los mismos autores también encontraron que bajo la luz solar las trazas de dioxina, que se encuentran en las formulas de los pesticidas, pueden multiplicarse (Holt et al., 2012). Los resultados de Holt et al.(2010, 2012) y de los periodistas causan graves preocupaciones. El investigador analizó solamente dos fórmulas y encontró que los niveles de dioxinas encontrados eran: 0,17 ng EQT g⁻¹ de ingrediente activo, cantidad que se encuentra sobre el límite de detección. La mayoría de otras informaciones recientes, que manifiestan que las fórmulas de 2,4-D se encuentran libres de dioxina, provienen de sus fabricantes, sin embargo no queda claro -si se analizaron o no- las fórmulas de todos los fabricantes. El informe de evaluación de renovación del 2013, de la Agencia Europea de Seguridad Alimentaria, manifiesta que todas las compañías que son parte del grupo de trabajo europeo 2,4-D cumplen con el umbral máximo de 10 ppb ((10µg/kg) EQT (EFSA 2013a). Pero esto no garantiza que sean productos libres de dioxinas. Las dioxinas son altamente tóxicas y persistentes en el ambiente. Si el ácido 2,4-D aun tiene concentraciones cuantificables de dioxina, entonces la toxicología de 2,4-D debe ser reconsiderada.

7. Efectos en el sistema endocrino

En el año 2000, la Unión Europea clasificó al ácido 2,4-D como un potencial disruptor endocrino basándose en los resultados derivados de experimentos *in vitro* (EC 2000). La Unión Europea define a un disruptor endocrino como una “sustancia o mezcla exógena que altera la función del sistema endocrino y consecuentemente tiene efectos nocivos en la salud de un organismo, su progenie o las (sub) poblaciones”.¹⁹ Ésta es la misma definición establecida por la OMS en 1996.

Una investigación del compuesto 2,4-D mostró efectos que parecen cumplir con la definición de la UE de disruptor endocrino. Park et al. (2010) expuso el insecto acuático *Chironomus riparius* a concentraciones bajas de 2,4-D y observó un cambio estadístico significativo en la proporción de nacimientos por sexo: 40% machos y 60% hembras. Además, se observó un alto porcentaje de deformidades de la boca, cuando se exponía a *C. riparius* a 0.1 µg L⁻¹ de 2,4-D, en comparación con el grupo control (ibid). El estudio de Rodríguez et al. (1994) también mostró ciertos efectos debido a la exposición de 2,4-D en el sistema reproductivo de los cangrejos (*Chasmagnathus granulata*), sin embargo en esta investigación no se llevó a cabo una observación sobre los impactos en el organismo o su población.

Varios estudios en humanos y animales han demostrado cambios en los niveles hormonales, luego de la exposición a 2,4-D, pero algunas otras investigaciones (en su mayoría conducidas por Dow) no encontraron cambios similares (véase la tabla 4).

¹⁸ 1 ng/g = 1 ppb = 1 µg/kg (footnote by author)

¹⁹ http://ec.europa.eu/environment/endocrine/definitions/endodis_en.htm

Tabla 4: Investigaciones sobre los cambios de niveles hormonales luego de la exposición a 2,4-D

Fuente	Sujetos	Observaciones
Garry et al. (2001)	Aplicadores de 2,4-D en las plantaciones forestales	Los valores de serum de la hormona luteinizante (LH) se correlacionaron con los niveles urinarios de 2,4D, pero la hormona foliculo estimulante y la testosterona total y libre no (...) aplicadores de herbicida con altos niveles de de 2,4-D en la orina (...) presentaron altos niveles de LH.
US EPA (2010) evaluación de los datos presentados por Dow Chemical Company.	Ratas	No existieron diferencias significantes estadísticamente, relacionadas con el tratamiento, en serum T3, T4 o TSH. A los 600 ppm se mostraron los patrones previstos sobre los cambios en la hormona tiroides: una reducción de T3, reducción de T4 y menores niveles de TSH. Lo que sugiere que la exposición a 2,4-D puede afectar negativamente la función tiroidea en dosis superiores a la saturación renal. Los efectos en la tiroides, notados bajo una saturación renal, no se consideran suficientemente sólidos como para ser negativos. Se dieron efectos similares en la primera generación de crías cuyas madres fueron tratadas con altos niveles de 2,4-D.
Xie et al. (2005)	Peces (trucha arcoiris)	Individuos juveniles de la trucha arcoiris que fueron expuestos a 2,4-D (1.64 mg/l) durante 7 días y tuvieron un incremento de 93 veces en los niveles de plasma vitelogénico (un marcador de estrógeno receptor) comparados con peces control.
Coady et al. (2013) (Dow Chemical Company)	Peces (<i>Pimephales promelas</i>)	<i>Pimephales promelas</i> fueron expuestos a difernetes concentraciones de 2,4-D: 0,245; 3,14; 34,0; y 96,5 mg ae/L durante 21 días. No se encontraron diferencias significativas entre los peces control y los expuestos a 2,4-D en lo referente a la concentración en plasma sanguíneo de vitelogenina
Coady et al. (2013) (Dow Chemical Company)	Renacuajos de <i>Xenopus laevis</i>	No se encontraron efectos significativos histopatológicos en la glándula tiroides. Por lo que 2,4-D se considera como “posiblemente tiroides inactivo” en la Evaluación de la Metamorfosis de Anfibios con un Efecto No Observable de Concentración de 113 mg ae 2,4-D/L.
Rawlings et al. (1998)	Ovejas hembra	Las ovejas recibieron 2,4-D (10 mg/kg ²⁰) 3 veces por semana en su rumen. Luego de 36 días de tratamiento se tomaron muestras de sangre para realizar un análisis hormonal. El serum T4 disminuyó considerablemente, mientras los otros marcadores hormonales como el cortisol, estradiol, insulina y LH (hormona luteinizante) no cambiaron considerablemente en comparación con el grupo control.
Gozinski et al. (1987) (Dow Chemical Company)	Ratas	Ratas Fischer macho y hembra recibieron dosis de 0, 15, 60, 100, o 150 mg/kg/día de ácido 2,4-D purificado o calidad técnica durante 13 semanas. Los niveles más altos de 2,4-D purificado o de clase técnica redujeron los niveles totales de tiroxina en serum de las ratas hembra, sin embargo no tuvo efectos en la morfología de la glándula tiroides.
Charles et al. (1996) (Dow Chemical Company)	Ratas	Se condujeron estudios de toxicidad subcrónica en ratas con tres formas de 2,4-D: ácido 2,4-D; sal 2,4-D dimetilamina (DMA); y 2,4-D 2 etilhexil ester (2-EHE). Las dosis en los estudios subcrónicos (en una base ácida equivalente) fueron de 0, 1, 15, 100, y 300 mg/kg/día. Los resultados más importantes en los tres estudios incluyeron la disminución de los niveles de tiroxina 3 y tiroxina 4.

²⁰ Esta dosis no está en mg/kg por peso corporal, como falsamente es interpretado por la EPA de Estados Unidos.

Los resultados de los experimentos *in vitro* no son concluyentes. Kanyama et al. (2005) muestra cierta actividad de 2,4-D en los receptores de estrógenos humanos (ERR), pero en al menos otros 11 estudios *in vitro* no se muestra una actividad estrógenica (véase Tabla 50). El estudio de Kim et al. (2005) sugiere una acción androgénica (Kin et al., 2005)

Tabla 5: Estudios que demuestran que no existe una actividad estrógenica de 2,4-D *in vitro*

Reference	Bioensayo
Blair et al. (2000)	Células uterinas de ratas hembra sin ovarios.
Petit et al. (1997)	Levadura y hepatocitos de trucha
Hurst & Sheahan (2003)	Levadura
Jung et al. (2004)	Levadura
Kojima et al., 2004	Análisis génicos utilizando células ováricas de hamsters chinos.
Vonier et al. (1996)	Análisis competitivos de enlaces
Soto et al. (1995)	Análisis E-SCREEN utilizando células humanas de cáncer de seno sensibles a los estrógenos.
Jungbauer & Beck (2002)	Levadura
Lin & Garry (2000)	Células humanas de cáncer de seno sensibles a los estrógenos
Nishihara et al. (2000)	Levadura
Orton et al. (2009)	Dos análisis <i>in vitro</i> (levadura y <i>Xenopus oocytes</i> en cultivo)

8. Propiedades CMR y 2,4-D

Antes de la normativa 1107/2009/EC, los pesticidas que estaban asociados con casi cualquier peligro, como carcinogenicidad, mutagenicidad o toxicidad para la reproducción (CMR) podían autorizarse en la Unión Europea mientras que el riesgo calculado sea manejado bajo ciertas medidas/restricciones. La nueva normativa 1107/2009/EC *hipotéticamente* eliminó esa clase de manejo/evaluación de riesgo y pretende la eliminación de pesticidas que son carcinógenos, mutagénicos o tóxicos para la reproducción.

En realidad la Comisión Europea junto con algunos Estados Miembro prolongaron la vigencia de las autorizaciones existentes para los pesticidas, pese a que se cumplen los

criterios limitativos (véase Anexo II y III) y los escenarios de exposición muestran que se han excedido los umbrales críticos como por ejemplo de NEAO, incluso bajo un uso “adecuado”.

Sin embargo, para cumplir con el criterio limitativo de la Unión Europea referente a la carcinogenicidad, mutagenicidad o toxicidad para la reproducción; generalmente tiene que presentarse evidencia *in vivo*. Los estudios con células *in vitro* pueden apuntar a ciertas direcciones y explicar ciertos mecanismos, pero generalmente no son suficientes para poder ubicar a un pesticida en una categoría CMR alta (excepto los estudios de mutagenicidad con células humanas germinales). Las investigaciones realizadas con mezclas o productos indican los efectos causados por uno o varios de los ingredientes (o de forma sinérgica o antagonista), pero el efecto particular observado no puede asociarse con el ingrediente activo. Existen varias fórmulas diferentes y muchas de ellas tienen ingredientes inertes desconocidos. Por lo tanto, puede ser que los resultados de un producto en particular no sean considerados como representativos para todos los productos existentes o para el ingrediente activo. Sin embargo, se sabe que ciertos ingredientes inertes son muy tóxicos en si mismos, mientras que otros aumentan la eficacia (toxicidad) del ingrediente activo. Los resultados de las investigaciones con mezclas o fórmulas no son adecuados para poder evaluar las propiedades de un ingrediente activo.

Ninguna de las agencias regulatorias en Europa y Estados Unidos, ni el Centro Internacional de Investigación sobre el Cáncer asigna un potencial carcinogénico a 2,4-D. El CIIC aún lista los herbicidas clorfenoxi como agentes posiblemente carcinogénicos (IARC 2013^a) o que muestran evidencia limitada de carcinogenicidad (IARC 2013b) pero esta clasificación se basa en la monografía de 1987 (Cogliano et al. 2011).

La Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos clasifica a 2,4-D en el “Grupo D-no clasificable como carcinógeno humano” y la UE concluyó: *‘los usos propuestos no tienen efectos dañinos en la salud animal o humana; no existe evidencia de carcinogenicidad.’*

Sin embargo, muchos estudios epidemiológicos muestran una vinculación entre el uso de 2,4-D y algunos tipos específicos de cáncer, especialmente el sarcoma de tejido suave y el linfoma maligno (para una mayor información véase la tabla 2 en von Stackelberg ,2013). Algunos de ellos pueden atribuirse a la contaminación con dioxinas/furanos (véase por ejemplo Hardell 2008). Hardell et al. (1994) y muchos otros reportaron un alto riesgo de cáncer, cuando los sujetos eran expuestos a 2,4-D, pero los estudios epidemiológicos tienen varios puntos débiles y frecuentemente los resultados no son significativos, por ello las autoridades regulatorias no pueden sacar conclusiones.

Algunos estudios muestran que 2,4-D puede ser genotóxico, lo que constituye un signo de que puede ser mutagénico/carcinógeno, pero otros estudios no apoyan esta evidencia. Amer y Aly (2001) mostraron por ejemplo un incremento significativo en el porcentaje de aberraciones cromosómicas en las células de la médula ósea y los espermatozoides en ratones luego de una administración oral de 3,3 mg kg⁻¹ peso corporal de 2,4-D, pero Knapp et al. (2003) no encontraron un aumento significativo en la reorganización de ADN aberrante cuando se administraron en ratones dosis de 3- 100 mg/kg/día.

Ni Mustonen et al. (1986) ni Garry et al. (2001) observaron aberraciones cromosómicas en humanos expuestos al compuesto.

Korte y Jalal (1982) y Holland et al. (2002) encontraron que 2,4-D era genotóxico en sus investigaciones *in vitro*. En el experimento realizado por Holland et al. (2002), las formulas comerciales mostraron un mayor efecto. Los adyuvantes o frecuentemente los ingredientes inertes secretos pueden ser tóxicos o aumentar ciertos efectos. Los resultados de Zeljezic y Garaj-Vrhovac (2004) que también muestran genotoxicidad son difíciles de interpretar porque la composición de la fórmula utilizada es desconocida.

Existe alguna evidencia sobre los efectos tóxicos en la reproducción. Japón implementó el Sistema Mundialmente Harmonizado para la clasificación y etiquetamiento del pesticida 2,4-D y lo colocó en la Categoría 3 ‘presunto tóxico para la reproducción humana’ porque en el estudio de fecundidad de dos generaciones de ratas, la tasa de sobrevivencia de las crías cuyos padres habían recibido dosis en cantidades que generaban efectos negativos, fue reducida; pero no se observó una teratogenicidad en las ratas y conejos.²¹ El uso asociado de 2,4-D y otros herbicidas relacionados por Schreinemachers (2003), en cuatro estados productores de los Estados Unidos, mostraron malformaciones de nacimiento y otros efectos perinatales adversos. Arbuckle et al. (2001) reportó un incremento moderado de riesgo de abortos prematuros por exposiciones, previas a la concepción, a los herbicidas ácido fenoxi acético como el 2,4-D [proporción de probabilidades (OR) = 1.5; 95% intervalo de confianza (CI), 1.1–2.1].

Un nuevo estudio de Mosinger et al. (2013) relacionó la exposición a 2,4-D y otros herbicidas fenoxi a la esterilidad masculina y tiene potencialmente graves repercusiones, porque el efecto no ha podido demostrarse en roedores y por tanto podría ser pasada por alto por las evaluaciones de riesgo comunes. Mosinger et al. (2013) mostró que la formación de esperma sin un receptor funcional específico del gusto (T1R3) y sus proteínas asociadas, está relacionado con un esperma malformado e inmóvil. Los receptores del gusto se expresan extra-oralmente en los testículos y en el esperma, y parece que juegan un rol crucial en el desarrollo y maduración del esperma.

Aunque los investigadores no condujeron el experimento con 2,4, utilizaron la medicación antilípido clofibrato, ya que habían probado en un experimento anterior que 2,4-D efectivamente inhibe los receptores humanos del gusto T1R2n y T1R3 (Maillet et al., 2009). Los autores sugieren que incluso los bajos niveles de los compuestos clorofenoxi pueden reducir el conteo de espermatozoides y afectar negativamente a la fertilidad en los hombres (Mosinger, et al., 2013). La similitud estructural y funcional de clofibratos y 2,4-D ya fue demostrada por Vainio et al. (1983)

Otros efectos

La Unión Europea ha clasificado a 2,4-D y sus sales y ésteres como un sensibilizador respiratorio y de la piel; y establece que su uso puede causar reacciones alérgicas como dermatitis de contacto (EC 2008).

²¹ Ver GHS Classification (ID134) en [http://www.safe.nite.go.jp/english/files/ghs_xls/classification_result_e\(ID101-200\).xls](http://www.safe.nite.go.jp/english/files/ghs_xls/classification_result_e(ID101-200).xls)

Fukuyma et al. (2009), también describe a 2,4-D como un alérgeno respiratorio pero no encontró evidencia de reacciones alérgicas a la piel. Este tipo de clasificación podría constituir un signo de propiedades inmuno-tóxicas. Faustini et al. (1996) apoyó esta hipótesis y concluyó que la exposición a las fórmulas comerciales del ácido 2,4-D pueden generar efectos inmuno-supresivos a corto plazo. Sin embargo, no existe una mayor información sobre los efectos inmuno-tóxicos potenciales.

En agosto del 2013, la Autoridad Australiana de Autorización canceló el uso de algunos ésteres 2,4-D, altamente volátiles, debido a *“la persistencia en la atmósfera, una alta volatilidad y el potencial de recorrer largas distancias en el ambiente, junto con la toxicidad a la vegetación no-objetivo, hace que el riesgo de estos compuestos sea muy difícil de mitigar* (APMVA 2013 p. 59).

Se estimó que, dos de los ésteres (2,4-D EE y 2,4-D BE) pueden evaporarse del sitio de aplicación y viajar hasta 65 km. a través del aire. Sin embargo, en Europa estos ésteres no se encuentran registrados (APMVA 2013).

REFERENCIAS

- Amer SM & Aly FA (2001): Genotoxic effect of 2,4-dichlorophenoxy acetic acid and its metabolite 2,4-dichlorophenol in mouse. *Mutat Res.* 494(1-2):1-12
- Arbuckle TE , Zhiqiu Lin Z & Mery LS (2001): An Exploratory Analysis of the Effect of Pesticide Exposure on the Risk of Spontaneous Abortion in an Ontario Farm Population. *Environmental Health Perspectives* 109 (8): 851-857.
- Arbuckle TE, Burnett R, Cole D, Teschke K, Dosemeci M, Bancej C &, Zhang J (2002.): Predictors of herbicide exposure in farm applicators. *Int Arch Occup Environ Health* 75:406-414.
- Arbuckle TE, Schrader SM, Cole D, Hall JC, Bancej CM, Turner LA, Claman P (1999): 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid residues in semen of Ontario farmers. *Reprod Toxicol* (6):421-9.
- APVMA (2013): Annex to the APVMA's Preliminary Review Findings (Environment) Part 1: 2,4-D Esters Volume 1: Review Summary APRIL 2006. May 2013. Australian Pesticides & Veterinary Medicines Authority (APVMA).
- Aylward LL, Morgan MK, Arbuckle TE, Barr DB, Burns CJ Alexander BH & Hays SM (2010): Biomonitoring data for 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the United States and Canada: interpretation in a public health risk assessment context using Biomonitoring Equivalents. *Environ Health Perspect* 118:177-181.
- Baharuddin MR, Sahid IB, Noor MA, Sulaiman N & Othman F (2011): Pesticide risk assessment: A study on inhalation and dermal exposure to 2,4-D and paraquat among Malaysian paddy farmers. *J Environ Sci Health B.* 46(7): 600-7
- Bernards ML, Crespo RJ, Kruger GR, Gaussoin R & Tranel PJ (2012): A Waterhemp (*Amaranthus tuberculatus*) Population Resistant to 2,4-D. *Weed Science* 60 (3): 379 DOI: 10.1614/WS-D-11-00170.
- Blair RM, Fang H, Branham WS, Hass BS, Dial SL, Moland CL, Tong W, Shi L, Perkins R, Sheehan DM (2000): The estrogen receptor relative binding affinities of 188 natural and xenochemicals: Structural diversity of ligands. *Toxicological Science* (54):138-153. FREE Full Text

Burns CJ & Swaen GM (2012): Review of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) biomonitoring and epidemiology. *Crit Rev Toxicol.* 2012 Oct;42(9):768-86. doi: 10.3109/10408444.2012.710576

Charles JM, Cunny HC, Wilson RD & Bus JS (1996): Comparative subchronic studies on 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, amine, and ester in rats. *Fundam Appl Toxicol.* 33(2):161-5.

Charles JM, Hanley TR, Wilson RD, van Ravenzwaay B & Bus JS (2001): Developmental Toxicity Studies in Rats and Rabbits on 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid and Its Forms. *Toxicological Science* 60(1): 121-131 doi:10.1093/toxsci/60.1.121

Coady K, Marino T, Thomas J, Sosinski L, Neal B & Hammond L (2013): An evaluation of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the Amphibian Metamorphosis Assay and the Fish Short-Term Reproduction Assay. *Ecotoxicol Environ Saf.* 90:143-50. doi: 10.1016/j.ecoenv.2012.12.025.

Commission Implementing Regulation (EU) No 1143/2011 of 10 November 2011 approving the active substance prochloraz, in accordance with Regulation (EC) No 1107/2009 of the European Parliament and of the Council concerning the placing of plant protection products on the market, and amending the Annex to Commission Implementing Regulation (EU) No 540/2011 and Commission Decision 2008/934/EC Text with EEA relevance. *OJ L* 293, 11.11.2011, p. 26–30.

Curwin BD, Hein MJ, Sanderson WT, Barr DB, Heederik D, Reynolds SJ, Ward EM & Michael C Alavanja MC (2005): Urinary and hand wipe pesticide levels among farmers and nonfarmers in Iowa. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* 15, 500–508. doi:10.1038/sj.jea.7500428.

Diels J, Cunha M, Manaia C, Sabugosa-Madeira B & Silva M (2011): Association of financial or professional conflict of interest to research outcomes on health risks or nutritional assessment studies of genetically modified products. *Food Policy* 36(2) 197-203.

Dina M Schreinemachers DM (2003): Birth malformations and other adverse perinatal outcomes in four U.S. Wheat-producing states. *Environ Health Perspect.* 111(9): 1259–1264.

Dow AgroScience (2011b): Petition for Determination of Nonregulated Status for Herbicide Tolerant DAS-40278-9 Corn. OECD Unique Identifier: DAS-40278-9. USDA Petition for Nonregulated Status of DAS-40278-9 Corn. Dow AgroSciences LLC.

Draper WN & Street JC (1982): Applicator exposure to 2,4-D, dicamba, and a dicamba isomer. *J Environ Sci Health.* B17(4):321–339.

EC (2000): Towards the establishment of a priority list of substances for further evaluation of their role in endocrine disruption - preparation of a candidate list of substances as a basis for priority setting, European Commission, Delft

EC (2001): Review report for the active substance 2,4-D. Finalised in the Standing Committee on Plant Health at its meeting on 2 October 2001 in view of the inclusion of 2,4-D in Annex I of Directive 91/414/EEC. EUROPEAN COMMISSION HEALTH & CONSUMER PROTECTION DIRECTORATE-GENERAL Directorate. E - Food Safety: plant health, animal health and welfare, international questions E1 - Plant health. 2,4-D.7599/VI/97-final.

EC (2008): REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on classification, labelling and packaging of substances and mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No 1907/2006. *Official Journal of the European Union* L 353.

EFSA (2013a): Renewal assessment report following the inclusion of the active substance in Annex I of Council Directive 91/414/EEC. Renewal assessment report 2,4-D. Volume I. European Food Safety Authority (EFSA)

EFSA (2013b): Renewal assessment report following the inclusion of the active substance in Annex I of Council Directive 91/414/EEC. Renewal assessment report 2,4-D. Volume 3. Annex B.6 Toxicology & Metabolism. European Food Safety Authority (EFSA)

Egan JF, Bruce D, Maxwell BD, Mortensen DA, Ryan MR & Smith RG (2011): 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D)-resistant crops and the potential for evolution of 2,4-D-resistant weeds. *PNAS* 108(11): E37.

Faustini A, Settini L, Pacifici R, Fano V, Zuccaro P, Forastiere F (1996): Immunological changes among farmers exposed to phenoxy herbicides: preliminary observations. *Occup Environ Med.* 53(9): 583–585.

Figgs LW, Holland NT, Rothmann N, Zahm SH, Tarone RE, Hill R, Vogt RF, Smith MT, Boysen CD, Holmes FF, VanDyck K & Blair A (2000): Increased lymphocyte replicative index following 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicide exposure. *Cancer Causes Control.* 11(4):373-80.

Fukuyama T, Tajima Y, Ueda H, Hayashi K, Shutoh Y, Harada T & Kosaka T (2009): Allergic reaction induced by dermal and/or respiratory exposure to low-dose phenoxyacetic acid, organophosphorus, and carbamate pesticides. *Toxicology* 261(3):152-61. doi: 10.1016/j.tox.2009.05.014.

Garry VF, Tarone RE, Kirsch IR, Abdallah JM, Lombardi DP, Long LK, Burroughs BL, Barr DB & Kesner JS (2001): Biomarker correlations of urinary 2,4-D levels in foresters: genomic instability and endocrine disruption. *Environ Health Perspect* 109:495–500.

Cogliano VJ, Baan R, Straif K, Grosse Y, Lauby-Secretan B, El Ghissassi F, Bouvard V, Benbrahim-Tallaa L, Guha N, Freeman C, Galichet L & Wild CP (2011): Preventable exposures associated with human cancers. *J Natl Cancer Inst.* 103(24):1827-39. doi: 10.1093/jnci/djr483.

Grover R, Franklin CA, Muir NI, Cessna A & Riedel D (1986b): Dermal exposure and urinary metabolite excretion in farmers repeatedly exposed to 2,4-D amine. *Toxicol Lett.* 33(1-3):73-83.

Grover R, Franklin CA, Muir NI, Cessna AJ & Riedel D (1986): Dermal exposure and urinary metabolite excretion in farmers repeatedly exposed to 2,4-D amine. *Toxicol. Lett.* 33, 73–83.

Hardell L (2008): Pesticides, soft-tissue sarcoma and non-Hodgkin lymphoma - historical aspects on the precautionary principle in cancer prevention. *Acta Oncologica* 47: 347-354

Harris SA & Solomon KR (1992): Percutaneous penetration of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid and 2,4-D dimethylamine salt in human volunteers. *J Toxicol Environ Health.* 36:233–240.

Heiden TK, Carvan MJ 3rd & Hutz RJ (2006): Inhibition of follicular development, vitellogenesis, and serum 17beta-estradiol concentrations in zebrafish following chronic, sublethal dietary exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Science* 90(2):490-9

Holland NT, Duramad P, Rothman N, Figgs LW, Blair A, Hubbard A, Smith MT. Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro and in vivo. *Mutat Res.* 2002 Nov 26;521(1-2):165-78

Holt E, Weber R, Stevenson G & Gaus C (2010): Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) impurities in pesticides: a neglected source of

contemporary relevance. *Environmenta Science & Technology* 44(14):5409-15. doi: 10.1021/es903915k.

Holt E, Weber R, Stevenson G & Gaus C (2012) Formation of dioxins during exposure of pesticide formulations to sunlight. *Chemosphere* 88(3):364-70. doi: 10.1016/j.chemosphere.2012.03.058.

Hurst MR & Sheahan DA (2003): The potential for oestrogenic effects of pesticides in headwater streams in the UK. *Sci. Total Environ.* 301:87-96

IARC (2013a): Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–108. International Agency for Research on Cancer (IARC), World Health Organization (WHO). Last updated July 16th 2013.. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/ClassificationsAlphaOrder.pdf>

IARC (2013b): List of Classifications by cancer sites with sufficient or in humans Volumes 1 to 108. International Agency for Research on Cancer (IARC), World Health Organization (WHO). Last updated July 18th 2013.. <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/Table4.pdf>

Jung J, Ishida K & Nishihara T (2004): Anti-estrogenic activity of fifty chemicals evaluated by in vitro assays. *Life Sci.* 74:3065-3074.

Kanayama T, Kobayashi N, Mamiya S, Nakanishi T, Nishikawa J (2005): Organotin compounds promote adipocyte differentiation as agonists of the peroxisome proliferator-activated receptor γ /retinoid X receptor pathway. *Mol Pharmacol* 67(3):766-774.

Kim HJ, Park YI & Dong MS (2005): Effects of 2,4-D and DCP on the DHT-induced androgenic action in human prostate cancer cells. *Toxicol Sci* 88 (1):52–9. <http://toxsci.oxfordjournals.org/content/88/1/52.long> Free full text.

Knapp GW, Setzer RW & Fuscoe JC (2003): Quantitation of aberrant interlocus T-cell receptor rearrangements in mouse thymocytes and the effect of the herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Environ Mol Mutagen.* 42(1):37-43.

Knopp D & Glass S (1991): Biological monitoring of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid-exposed workers in agriculture and forestry. *Int Arch Occup Environ Health.* 63(5): 329-33. <http://link.springer.com/article/10.1007/BF00381583>

Knopp D (1994): Assessment of exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in the chemical industry: results of a five year biological monitoring. *Occupational and Environmental Medicine* 51:152-159.

Kojima H, Katsura E, Takeuchi S, Niiyama K & Kobayashi K (2004): Screening for estrogen and androgen receptor activities in 200 pesticides by in vitro reporter gene assays using Chinese hamster ovary cells. *Environ. Health Perspect.* 112:524-531.

Korte C & Jalal SM (1982): 2,4-D induced clastogenicity and elevated rates of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes. *J Hered.* 73(3):224-6.

Lin & Garry VF (2000): In vitro studies of cellular and molecular developmental toxicity of adjuvants, herbicides, and fungicides commonly used in Red River Valley, Minnesota. *J. Toxicol. Environ. Health A* 60:423-439

Masunaga S, Takasuga T & Nakanishi J (2001): Dioxin and dioxin-like PCB impurities in some Japanese agrochemical formulations. *Chemosphere* 44(4):873-85.

Maillet EL, Margolskee RF, & Mosinger B (2009): Phenoxy Herbicides and Fibrates Potently Inhibit the Human Chemosensory Receptor Subunit T1R3. *J. Med. Chem.* 52, 6931–6935 6931. DOI: 10.1021/jm900823s

Matthews GA (2008): Attitudes and behaviours regarding use of crop protection products—A survey of more than 8500 smallholders in 26 countries. *Crop Protection* (27):834–846.

Moody RP, Franklin CA, Ritter L & Maibach HI (1990): Dermal absorption of the phenoxy herbicides 2,4-D, 2,4-D amine, 2,4-D isooctyl, and 2,4,5-T in rabbits, rats, rhesus monkeys, and humans: a cross-species comparison. *J Toxicol Environ Health*. 29(3):237-45.

Moody RP, Wester RC, Melendres JL, Maibach HI (1990): Dermal absorption of the phenoxy herbicide 2,4-D dimethylamine in humans: effect of DEET and anatomic site. *J Toxicol Environ Health*. 36(3):241-50.

Mosinger B, Redding KM, Parker MR, Yevshayeva V, Yee KK, Dyomina K, Li Y & Margolskee RF (2013): Genetic loss or pharmacological blockade of testes-expressed taste genes causes male sterility. *Proc Natl Acad Sci (PNAS) U S A*. doi/10.1073/pnas.1302827110

Mustonen R, Kangas J, Vuojolahti P & Linnainmaa K (1986): Effects of phenoxyacetic acids on the induction of chromosome aberrations in vitro and in vivo. *Mutagenesis* 1(4):241-5.

Neumeister L & Isenring R (2011): Paraquat. Unacceptable health risks for users. 3rd Edition. Berne Declaration, Pesticide Action Network UK, PAN Asia and the Pacific.

Nishihara T, Nishikawa J, Kanayama T, Dakeyama T, Saito K, Imagawa M, Takatori S, Kitagawa Y, Hori S & Utsumi H (2000): Estrogenic activities of 517 chemicals by yeast two-hybrid assay. *J. Health Sci*. 46:282

NTP (2011): Report on Carcinogens, Twelfth Edition p. 397. National Toxicology Program (NTP). U.S. Department of Health and Human Services. <http://ntp.niehs.nih.gov/ntp/roc/twelfth/roc12.pdf>

Oliveira GH & Palermo-Neto J (1993): Effects of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) on open-field behaviour and neurochemical parameters of rats. *Pharmacol Toxicol*. 73(2):79-85.

Orton F, Lutz I, Kloas W & Routledge EJ (2009): Endocrine disrupting effects of herbicides and pentachlorophenol: in vitro and in vivo evidence. *Environ Sci Technol*. 43(6):2144-50.

Petit F, Le Goff P, Cravedi J-P, Valotaire Y & Pakdel F (1997): Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics; recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. *J. Mol. Endocrinol*. 19:321-335. FREE Full Text

Rawlings NC, Cook SJ & Waldbillig D (1998): Effects of the pesticides carbofuran, chlorpyrifos, dimethoate, lindane, triallate, trifluralin, 2,4-D, and pentachlorophenol on the metabolic endocrine and reproductive endocrine system in ewes. *J Toxicol Environ Health A*. 54(1):21-36.

Rodriguez EM, Schuldt M & Romano L (1994): Chronic histopathological effects of parathion and 2,4-D on female gonads of *Chasmagnathus granulata* (Decapoda, Brachyura). *Food & Chemical Toxicology* 32(9):811-818.

Ross JH, Driver JH, Harris SA & Maibach HI (2005): Dermal absorption of 2,4-D: a review of species differences. *Regul Toxicol Pharmacol*. 41(1):82-91.

Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N & Serrano FO (1995): The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: An update on estrogenic environmental pollutants. *Environ. Health Perspect. Suppl*. 103(S7):113-122.

Thomas KW, Dosemeci M, Hoppin JA, Sheldon LS, Croghan CW, Gordon SM, Jones ML, Reynolds SJ, Raymer JH, Akland GG, Lynch CF, Knott CE, Sandler DP, Blair AE & Alavanja MC (2009): Urinary biomarker, dermal, and air measurement results for 2,4-D and chlorpyrifos farm applicators in the Agricultural Health Study. *J Exp Sci Environ Epidemiol*; doi:10.1038/jes.2009.6 [Online 25 February 2009].

USDA (2012): Dow AgroSciences Petition (09-349-01p) for Determination of Nonregulated Status of Event DAS-68416-4. OECD Unique Identifier: DAS-68416-4. Draft Environmental Assessment. United States Department of Agriculture (USDA).

USDA (2011): Dow AgroSciences Petition (09-233-01p) for Determination of Nonregulated Status of Herbicide-Tolerant DAS-40278-9 Corn, *Zea mays*, Event DAS-40278-9 OECD Unique Identifier: DAS-40278-9.. Draft Environmental Assessment. United States Department of Agriculture (USDA).

US EPA (1998): Health Effects Test Guidelines. OPPTS 870.7600 Dermal Penetration. United States Environmental Protection Agency (US EPA). Prevention, Pesticides and Toxic Substances (7101) EPA 712-C-98-350
http://www.epa.gov/ocspp/pubs/frs/publications/Test_Guidelines/series870.htm

US EPA (2010): MEMORANDUM. SUBJECT: 2, 4-D: Review of Extended 1-Generation Reproduction Study and Dose-Range-Finding and Pharmacokinetic Titration Studies. MRID No.: 47972101, 47417901, 47417902. Date: November 30, 2010

von Stackelberg K (2013): A Systematic Review of Carcinogenic Outcomes and Potential Mechanisms from Exposure to 2,4-D and MCPA in the Environment *J Toxicol.* 2013:371610. doi: 10.1155/2013/371610.

Vainio H, Linnainmaa K, Kähönen M, Nickels J, Hietanen E, Marniemi J & Peltonen P (1983): Hypolipidemia and peroxisome proliferation induced by phenoxyacetic acid herbicides in rats. *Biochem Pharmacol.* 32(18):2775-9.

Vonier PM, Andrew CD, Mclachlan JA, Guillette LJ Jr, Arnold SF. Interaction of environmental chemicals with the estrogen and progesterone receptors from the oviduct of the American alligator. *Environ. Health Perspect.* 1996;104:1318-1322. Free

Wright TR, Shan G, Walsh TA, Lira JM, Cui C, Song P, Zhuang M, Arnold NL, Lin G, Yau K, Russell SM, Cicchillo RM, Peterson MA, Simpson DM, Zhou N, Ponsamuel J & Zhang Z (2010): Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *PNAS* 107 (47): 20240–20245.

Zeljezic D, Garaj-Vrhovac V. Chromosomal aberrations, micronuclei and nuclear buds induced in human lymphocytes by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid pesticide formulation. *Toxicology.* 2004 Jul 15;200(1):39-47

Zhang X, Acevedo S, Chao Y, Chen Z, Dinoff T, Driver J, Ross J, Williams R, Krieger R (2001): Concurrent 2,4-D and triclopyr biomonitoring of backpack applicators, mixer/loader and field supervisor in forestry. *J Environ Sci Health B.* 2011;46(4):281-93. doi: 10.1080/03601234.2011.559424.