

# Impacto en el humano de aditivos hormonales empleados en bovinos productores de carne

Fernando Larrea,\* Mayel Chirinos\*

\* Departamento de Biología de la Reproducción. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

## **Impact on human health of hormonal additives used in animal production**

### **ABSTRACT**

*The establishment of the impact of environmental compounds or additives with hormone-like activity on human health still requires further investigation, as well as a reexamination of biologic models and experimental methodology employed so far. In 1988, the FAO/WHO Expert Committee on Food Additives Joint with the Federal Drug Administration (FDA) considered that sexual hormone residues usually present in meat do not represent a risk for human consumption. Nevertheless, this resolution seems to be uncertain since the scientific elements employed for this statement may not be adequate. In this review the principal objections to the evidence used to establish the innocuousness of growth promoter hormones are considered.*

**Key words.** Hormones. Animal production. Human health.

### **INTRODUCCIÓN**

La identificación de compuestos ambientales con actividad hormonal (xenohormonas), así como el impacto de los mismos sobre el desarrollo y "salud" humana, representan en la actualidad importantes áreas de investigación y desarrollo en toxicología reproductiva. Existe un número importante de compuestos con actividad anabólica, en especial aquellos con propiedades biológicas similares al estradiol, la progesterona y la testosterona, mismos que son ampliamente utilizados en los sistemas de producción animal, particularmente en el ganado bovino de engorda y porcino, como promotores del crecimiento a

### **RESUMEN**

El establecimiento del impacto que sobre la salud de los humanos tienen compuestos con actividad hormonal presentes tanto en el ambiente como en los alimentos, requiere del análisis de la información existente, así como de la reevaluación de los modelos biológicos y de la metodología utilizada. El Comité de Expertos sobre aditivos alimentarios de la Organización de Alimentos y Agricultura (FAO) y de la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Administración de Drogas y Medicamentos (FDA) de los Estados Unidos de Norteamérica consideraron en 1988 que los residuos presentes en la carne de animales tratados con hormonas sexuales no representan riesgo alguno para el consumo humano. Sin embargo, esta resolución parece ser incierta, dado lo inadecuado de los elementos científicos utilizados para el establecimiento de la misma. En esta revisión se consideran las principales objeciones a la evidencia utilizada con relación a la ausencia de elementos científicos que permitan establecer como inocua la ingesta de alimentos provenientes de animales tratados, tanto con hormonas como con promotores del crecimiento.

**Palabras clave.** Anabólicos hormonales. Producción animal. Salud humana.

fin de mejorar la ganancia de peso y la eficiencia alimenticia de estas especies pecuarias.<sup>1</sup> El tratamiento del ganado bovino con anabólicos hormonales naturales y sintéticos es un procedimiento que por décadas ha sido utilizado en países del hemisferio occidental, incluyendo los Estados Unidos de Norteamérica y Canadá, con excepción de los países miembros de la Comunidad Europea (CE),<sup>2</sup> por los beneficios económicos que ello representa para la industria pecuaria, ya que le permite obtener más kg de carne en un menor tiempo y costo.

Estudios realizados en diversos países, incluyendo a la CE, han señalado que la carne de animales tratados con hormonas sexuales con las dosis y linea-

mientos establecidos se encuentra libre de residuos que excedan de manera significativa la producción hormonal endógena de los consumidores.<sup>3-7</sup> Por este motivo, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos de Norteamérica (FDA) consideró, en el año 1988, que los residuos presentes en la carne de animales tratados con hormonas sexuales no representaban riesgo alguno y por lo tanto era segura para el consumo humano.<sup>8</sup> Sin embargo, el impacto de los xenoestrógenos en el humano, incluyendo su farmacocinética y efectos a nivel molecular, requieren aún de mayor investigación antes de establecer de manera definitiva su aparente inocuidad en la especie humana.

La identificación y caracterización de agentes con actividad hormonal que pudieran ser considerados como potenciales disruptores endocrinos en el humano representa en la actualidad un área de investigación de suma relevancia. Por tal motivo y en virtud de que la mayoría de los compuestos con la capacidad de alterar la homeostasis hormonal se encuentran representados por aquellos con actividad estrogénica,<sup>9</sup> esta revisión se enfocará en describir los efectos en el humano de los compuestos hormonales con actividad estrogénica que por sus propiedades anabólicas son utilizados como promotores del crecimiento en la engorda de ganado bovino y evaluar si estos tratamientos afectan de manera adversa la salud de los consumidores. Para esta finalidad se revisarán algunos conceptos sobre el mecanismo que utilizan los estrógenos para expresar sus efectos biológicos, y la evaluación del impacto del consumo de estos compuestos sobre la homeostasis hormonal.

### ANABÓLICOS HORMONALES UTILIZADOS EN LA PRODUCCIÓN HORMONAL

En general y con fines prácticos, los anabólicos hormonales se clasifican de la siguiente manera:

1. Por su origen: naturales (estradiol, testosterona, progesterona) y sintéticos (zeranol, acetato de trenbolona).
2. Por su estructura química: esteroideas (estradiol, testosterona, progesterona) y no esteroideas (hexestrol, zeranol).
3. Por su actividad: estrogénica (estradiol, zeranol), androgénica (testosterona, acetato de trenbolona), progestágena (progesterona).

Los anabólicos más comúnmente empleados en el ganado bovino como promotores del crecimiento,

**Cuadro 1.** Anabólicos hormonales y no hormonales empleados en el ganado bovino.

Anabólico	Vía de administración
<b>Hormonal</b>	
• Propionato de testosterona	Implante oreja
• Enantato de testosterona	Inyectable IM
• Acetato de testosterona + valerato de testosterona + undecanoato de testosterona	Inyectable IM
• Estradiol	Implante oreja
• Benzoato de estradiol + progesterona	Implante oreja
• Estradiol + acetato de trenbolona	Implante oreja
• Benzoato de estradiol + acetato de trenbolona	Implante oreja
• Nandrolona laurato	Inyectable IM y SC
• Decanoato de nandrolona	Inyectable IM
• Undecilenato de boldenona	Inyectable IM
<b>No hormonal</b>	
• Zeranol	Implante oreja

Prontuario de Especialidades Veterinarias, Edición 23, 2003-2004, Thomson, México. IM: Intramuscular. SC: Subcutánea

además de otros que se utilizan para el tratamiento de problemas reproductivos, se muestran en el cuadro 1. Algunos de ellos se administran por vía intramuscular, intravenosa o subcutánea y otros en forma de implantes subcutáneos de liberación controlada a través de la oreja del animal. Ninguno se administra en el alimento.

### MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS ESTRÓGENOS

El estradiol, el estrógeno natural más activo, ejerce sus efectos a nivel del órgano blanco vía la regulación de la expresión génica. Este mecanismo involucra la difusión del esteroide al interior de la célula y su reconocimiento por proteínas nucleares denominadas receptores. La unión del estradiol a sus receptores ocasiona cambios conformacionales del receptor caracterizados por la disociación de las proteínas de choque térmico localizadas en el dominio de reconocimiento al DNA, resultando en la activación y posicionamiento nuclear del complejo esteroide-receptor.<sup>10</sup> A nivel nuclear, el complejo esteroide-proteína interactúa con secuencias de nucleótidos específicas (elementos de respuesta hormonal) localizadas en la región promotora de genes estrogénico-dependientes, ocasionando la incorporación de proteínas adicionales (coactivadores y factores de transcripción) y la activación específica de la trans-

cripción génica.<sup>11</sup> La obtención de efectos estrogénicos de un compuesto natural o sintético depende de su afinidad por los receptores estrogénicos y de la disponibilidad en el órgano blanco de factores de transcripción, así como de coactivadores y/o represores de la maquinaria de expresión génica. El resultado final de este mecanismo es la síntesis regulada de proteínas estrogénodependientes, responsables del efecto biológico. La determinación de estos efectos o bien de los productos de expresión génica es utilizada como marcador de actividad hormonal, siendo de ayuda para la evaluación de la potencia estrogénica de diferentes compuestos. Es importante señalar que la actividad biológica de una hormona, en este caso del estradiol o compuestos sintéticos similares, depende de su afinidad por el receptor, la que en la mayoría de los casos se encuentra en el rango de nanomoles por litro ( $10^{-9}$ M) y muy cercana a la concentración en el suero de la hormona natural ( $17\beta$ -estradiol). Por otra parte, la biotransformación de la hormona tanto a nivel periférico como en el órgano blanco puede en ciertos casos resultar en compuestos o metabolitos con efectos hormonales diversos, dada su capacidad de interactuar con diferentes receptores hormonales. Por último, la capacidad de una hormona de interactuar con receptores intracelulares es también dependiente, además de su afinidad, de sus concentraciones circulantes, por lo que la formación del complejo esteroide-receptor es proporcional a la masa del ligando.

#### MODELOS BIOLÓGICOS PARA EL ESTUDIO DE LA POTENCIA HORMONAL DE COMPUESTOS XENOBIÓTICOS UTILIZADOS COMO PROMOTORES DEL CRECIMIENTO

El establecimiento de la naturaleza estrogénica de varios agentes xenobióticos se ha realizado a través de la utilización de diferentes modelos experimentales tanto *in vivo* como *in vitro*. La mayoría de estos estudios se han realizado en ratones CD-1 y ratas Sprague-Dawley que, de acuerdo con evidencias actuales, son relativamente resistentes a compuestos con actividad estrogénica.<sup>12</sup> La cepa de ratones CD-1 es aproximadamente 16 veces más resistente a la inhibición del peso testicular, del peso de los órganos sexuales accesorios y de la maduración espermática por estrógenos que la cepa C57BL/6J (6B); además es 126 veces más resistente a la inhibición ejercida por el estradiol de los estadios de elongación de las espermátides durante la espermiogénesis. En el caso de la hembra CD-1, la administración de compuestos estrogénicos como el dietilestilbestrol y el benzoato de estradiol y de algunos fitoestrógenos induce menor actividad uterotrópica

que la observada en otras cepas estudiadas. Por otra parte, la rata Sprague-Dawley, que representa el modelo experimental más utilizado por la Agencia Protectora del Ambiente de los Estados Unidos de Norteamérica (EPA), es también más resistente a los efectos inhibitorios de los estrógenos sobre el tracto reproductor en comparación con otras cepas, así como a la inducción de hiperprolactinemia, hipertrofia uterina y vaginal y de algunos marcadores moleculares de actividad estrogénica. Estas observaciones indican que si realmente los modelos biológicos utilizados en la evaluación toxicológica de xenohormonas con actividad estrogénica no son del todo adecuados, las conclusiones de la FDA sobre la seguridad del consumo de carne de animales tratados con estos compuestos está seguramente subestimada, particularmente en relación con sus efectos sobre la función y desarrollo del sistema reproductivo.

Como alternativa a esta situación, existen en la actualidad varios recursos que pueden ser utilizados para analizar la potencia estrogénica de compuestos químicos promotores del crecimiento.<sup>13,14</sup> Estos recursos están basados en la determinación de los efectos hormonales de los estrógenos a nivel molecular utilizando diferentes enfoques experimentales. El fundamento de estos análisis se basa en la capacidad de los xenobióticos de activar la transcripción génica en sistemas de cultivo celular o bien en la inducción de la síntesis de proteínas hormonodependientes en cultivos de agregados celulares o en preparaciones de células aisladas del endometrio humano. En estos sistemas de análisis, la actividad hormonal está condicionada a la interacción directa con receptores intracelulares para hormonas esteroides y su factibilidad para interactuar con los elementos de respuesta hormonal presentes en la región promotora de plásmidos reporteros.<sup>15,16</sup> Por otra parte, la utilización de agregados celulares en cultivo como los hepatocitos, permiten mantener las características estructurales y propiedades biológicas observadas bajo condiciones *in vivo*, incluyendo la capacidad para metabolizar o biotransformar los compuestos a ser analizados. Tal es el caso de las células Ishikawa, que mimetizan a las células endometriales humanas cuyo metabolismo o actividad biotransformadora de esteroides modula la sensibilidad de las células endometriales a los estrógenos. En estos ejemplos, la sensibilidad a la actividad hormonal comparada con la observada en el ratón CD-1 y la rata Sprague-Dawley es significativamente mayor, resultando en algunos casos en conclusiones contradictorias que requieren por lo tanto de su reevaluación a través del empleo de modelos biológicos más adecuados.

## RELACIÓN DEL APORTE HORMONAL EXÓGENO CON LA PRODUCCIÓN HORMONAL ENDÓGENA

La respuesta a la pregunta de si el empleo de anabólicos hormonales y no hormonales en la engorda del ganado resulta en efectos adversos sobre la salud en el humano, requiere de la consideración de varios aspectos:

- Revisión de la información existente para establecer la relación entre el contenido de xenohormonas en los tejidos con las concentraciones de hormonas sexuales endógenas en animales tratados.
- Conocer la relación entre el contenido de xenohormonas en los alimentos con las concentraciones circulantes de hormonas naturales en el humano.
- Establecer la relación entre la dosis de compuestos xenobióticos en los alimentos con la presencia de efectos endocrinos adversos en la salud de los consumidores.

A este respecto, los datos disponibles están en relación con el contenido de los compuestos anabólicos en tejidos comestibles del bovino.<sup>17</sup> En este caso, las determinaciones hormonales se realizaron utilizando al radioinmunoanálisis como método de detección. El contenido tisular de hormonas tanto en los animales tratados como en los controles no tratados se encontraron dentro de los límites de sensibilidad del análisis. Con base en estas observaciones, la conclusión del Comité de Expertos sobre Aditivos en los Alimentos de la Organización Mundial de la Salud fue que el contenido de estradiol, progesterona y testosterona en los tejidos comestibles de animales tratados fue mayor que el observado en los controles; sin embargo, su contenido tisular fue significativamente menor que el observado en especies de referencia representadas por vaquillas gestantes y toros maduros.<sup>8</sup>

Otro aspecto que debe tomarse en consideración con respecto al impacto de los esteroides sobre la salud, es la relación que existe entre la dosis administrada del compuesto y la producción endógena de esteroides. En relación con el uso de esteroides naturales en producción animal, la FDA ha establecido que la ausencia de efectos secundarios depende del grado de impacto de los compuestos exógenos sobre la tasa diaria de producción hormonal. Ésta no debe ser mayor al 1% de la observada en el segmento de la población con menor producción hormonal, que corresponde a niños prepuberales para el caso

del estradiol y la progesterona y niñas prepuberales para el caso de la testosterona.<sup>18</sup> La estimación de la tasa diaria de producción hormonal (PH) se obtiene del producto de dos variables: la tasa de depuración metabólica (MCR) y las concentraciones circulantes de la hormona en cuestión. De acuerdo con el Comité de Expertos sobre Aditivos en los Alimentos de la Organización Mundial de la Salud, la PH para estradiol y progesterona en niños es de 6.5 y 150 µg/día, respectivamente, y para testosterona en niñas de 32 µg/día.<sup>19</sup> Sin embargo, debido a las implicaciones éticas que conllevan los procedimientos para la estimación de MCR en niños y niñas prepuberales, la tasa real de producción de estradiol, progesterona y testosterona en esta población, no corresponde a los valores establecidos, ya que ésta es obtenida de sujetos adultos. La utilización de los valores de MCR en adultos para la estimación de la PH en niños, sin corregir para las diferencias en superficie corporal, puede conducir a errores de sobreestimación de la PH. La MCR (volumen de suero que puede ser depurado de una hormona durante 24 horas) depende, además de la superficie corporal, de otros factores; tal es el caso de proteínas del suero con afinidad a las hormonas esteroides (SHBG) y de la actividad de enzimas biotransformadoras de esteroides, particularmente aquellas de origen hepático. De esta manera, la MCR se encuentra inversamente relacionada con la fracción de la hormona unida a proteínas del suero, lo que significa que únicamente la fracción libre de la hormona es depurada metabólicamente.<sup>6</sup> Individuos en edad prepuberal cursan con concentraciones circulantes significativamente mayores de SHBG y por lo tanto, con valores de MCR significativamente menores que los observados en sujetos adultos de uno y otro sexo.

El otro factor indispensable para la estimación de la PH es la determinación de las concentraciones circulantes de la hormona esteroide en cuestión. A este respecto, las concentraciones circulantes de estradiol, progesterona y testosterona en sujetos prepuberales se encuentran dentro de los límites de detectabilidad de los métodos de cuantificación hormonal. Por lo tanto, los valores de referencia con relación a las concentraciones de hormonas esteroides en suero en este segmento de la población deben considerarse como inciertos. Con la utilización de nueva metodología, con mayor sensibilidad y especificidad para la cuantificación hormonal, estudios recientes en sujetos prepuberales han permitido demostrar diferencias en las estimaciones hormonales con las obtenidas con los métodos tradicionales. Para el caso del varón en estadios prepuberales, las concentracio-

nes de estrógenos circulantes resultaron ser alrededor de 100 veces menores a las tradicionalmente consideradas como de referencia en este sector específico de la población.<sup>20</sup> De esta manera, la estimación de la PH para estradiol en sujetos prepuberales del sexo masculino utilizada por el Comité de Expertos sobre Aditivos en los Alimentos de la Organización Mundial de la Salud y subsecuentemente por la FDA puede ser de 100 a 200 veces mayor que la PH modificada, de acuerdo con las estimaciones reales de la MCR y las concentraciones hormonales circulantes para este segmento de la población.

Tomando en consideración las modificaciones arriba señaladas, la PH de estradiol en varones prepuberales sería de 0.04 µg/día en lugar de los 6.5 µg/día adoptados por la Organización Mundial de la Salud. Por lo tanto, y de acuerdo con las recomendaciones de la FDA sobre los límites de exposición de cantidades aceptables de hormonas esteroides en los alimentos, el aumento máximo de 1% en la PH diaria correspondería a 0.4 ng de estradiol por día. A este respecto, con la ingesta diaria de 100 g de carne de res tratada con estradiol a las dosis convencionales se aportaría una cantidad aproximada de 0.6-10 ng/día, valor cercano a la estimación real de la PH de estradiol en varones prepuberales. Estas observaciones indican la necesidad de reevaluar los límites de seguridad y las fronteras para establecer riesgos derivados de la ingesta de hormonas esteroides presentes en tejidos de animales tratados, especialmente en sujetos cuya susceptibilidad al efecto hormonal podría ser mayor como es el caso de la población infantil.

### EFFECTOS BIOLÓGICOS Y REPERCUSIONES EN LA SALUD

Tomando como ejemplo a los estrógenos, sus efectos biológicos a nivel tisular dependen de las características estructurales de la hormona, la presencia de subtipos de receptores y de factores reguladores de la transcripción, así como del metabolismo y biotransformación de la hormona a nivel del órgano blanco, además de las dosis administradas del compuesto con actividad hormonal. Los efectos de los estrógenos son a nivel morfológico y bioquímico. El desarrollo mamario, la cornificación del epitelio vaginal, así como cambios en la expresión génica o la activación de las señales de transducción intracelular son algunos ejemplos de ellos. Los cambios bioquímicos y moleculares, que preceden a los cambios morfológicos, son más sutiles y más complejos de ser estudiados y posiblemente ya representan el foco de

atención de investigadores en esta área de la salud reproductiva.

En la población, sobre todo en sujetos prepuberales, los signos clínicos esperados como resultado de la exposición crónica a compuestos con actividad estrogénica, serían principalmente a nivel de la esfera reproductiva donde sería previsible observar una ligera pero significativa disminución en la edad de inicio de la pubertad (telarquía y sangrados endometriales prematuros), así como de la talla final alcanzada. Por otra parte, se esperaría un aumento en la incidencia de enfermedades relacionadas, como es el caso del cáncer de endometrio.

### CONCLUSIONES

Por el momento no es posible establecer o excluir con certeza asociaciones significativas entre el consumo de alimentos provenientes de animales tratados con promotores hormonales del crecimiento y alteraciones de la función reproductiva. En consecuencia, es necesaria y obligatoria la conducción de estudios orientados a la actualización de los valores de referencia hormonal, incluyendo concentraciones circulantes, depuración metabólica y producción hormonal, en especial de los sectores más vulnerables como la población infantil.

### REFERENCIAS

1. Arneith W. Hormones in animal production –a health risk for the consumer? *Z Gesamte Inn Med* 1992; 47: 45-7.
2. Stephany RW. Hormones in meat: different approaches in the EU and in the USA. *APMIS Suppl* 2001; S357-63; discussion S63-4.
3. Angsusingha K, Kenny FM, Nankin HR, Taylor FH. Unconjugated estrone, estradiol and FSH and LH in prepubertal and pubertal males and females. *J Clin Endocrinol Metab* 1974; 39: 63-8.
4. Rose FJ. Carcinogenicity studies in animals relevant to the use of anabolic agents in animal production. *Environ Qual Saf Suppl* 1976; 5: 227-37.
5. McCormick GM, Moon RC. Effect of increasing doses of estrogen and progesterone on mammary carcinogenesis in the rat. *Eur J Cancer* 1973; 9: 483-6.
6. Lipsett MB. Factors influencing the rate of metabolism of steroid hormones in man. *Ann N Y Acad Sci* 1971; 179: 442-9.
7. Liehr JG, Stancel GM, Chorch LP, Bousfield GR, Ulubelen AA. Hormonal carcinogenesis: separation of estrogenicity from carcinogenicity. *Chem Biol Interact* 1986; 59: 173-84.
8. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Residues of some veterinary drugs in animals and foods. *FAO Food Nutr Pap* 1988; 41: 1-49.
9. Le Guevel R, Pakdel F. Assessment of oestrogenic potency of chemicals used as growth promoter by in-vitro methods. *Hum Reprod* 2001; 16: 1030-6.
10. Tsai MJ, O'Malley BW. Molecular mechanisms of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Annu Rev Biochem* 1994; 63: 451-86.

11. Horwitz KB, Jackson TA, Bain DL, Richer JK, Takimoto GS, Tung L. Nuclear receptor coactivators and corepressors. *Mol Endocrinol* 1996; 10: 1167-77.
12. Spearow JL, Barkley M. Reassessment of models used to test xenobiotics for oestrogenic potency is overdue. *Hum Reprod* 2001; 16: 1027-9.
13. Petit F, Le Goff P, Cravedi JP, Valotaire Y, Pakdel F. Two complementary bioassays for screening the estrogenic potency of xenobiotics: recombinant yeast for trout estrogen receptor and trout hepatocyte cultures. *J Mol Endocrinol* 1997; 19: 321-35.
14. Littlefield BA, Gursipide E, Markiewicz L, McKinley B, Hochberg RB. A simple and sensitive microtiter plate estrogen bioassay based on stimulation of alkaline phosphatase in Ishikawa cells: estrogenic action of delta 5 adrenal steroids. *Endocrinology* 1990; 127: 2757-62.
15. Larrea F, Garcia-Becerra R, Lemus AE, Garcia GA, Perez-Palacios G, Jackson KJ, et al. A-ring reduced metabolites of 19-nor synthetic progestins as subtype selective agonists for ER alpha. *Endocrinology* 2001; 142: 3791-9.
16. Jaimez R, Cooney A, Jackson K, Lemus AE, Lemini C, Cardenas M, Garcia R, Silva G, Larrea F. In vivo estrogen bioactivities and in vitro estrogen receptor binding and transcriptional activities of anticoagulant synthetic 17beta-aminoestrogens. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2000; 73: 59-66.
17. Scientific Committee on Veterinary Measures Relating to Public Health (SCVPH). Assessment of potential risks to human health from hormone residues in bovine meat and meat products. European Commission, 1999. ([http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out21\\_en.html](http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scv/out21_en.html))
18. US Food and Drug Administration. Guideline 3, part 2: Guideline for toxicological testing. 1999; 1-5.
19. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. WHO Technical Report Series 763, World Health Organization, Geneva 1988.
20. Klein KO, Baron J, Colli MJ, McDonnell DP, Cutler GB, Jr. Estrogen levels in childhood determined by an ultrasensitive recombinant cell bioassay. *J Clin Invest* 1994; 94: 2475-80.

*Reimpresos:*

**Dra. Mayel Chirinos**

Departamento de Biología de la Reproducción  
 Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición  
 Salvador Zubirán  
 Vasco de Quiroga No. 15, Tlalpan  
 14000, México, D.F.  
 Tel.: 5573-1160.  
 Correo electrónico: mayelchi@quetzal.innsz.mx

*Recibido el 5 de julio de 2006.  
 Aceptado el 6 de diciembre de 2006.*