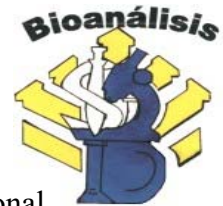




Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Bioanálisis
Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional
Trabajo de Investigación



**PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y MICRÓNÚCLEO EN CELULAS DE
LA MUCOSA ORAL DE TRABAJADORES DE ESTACIONES DE SERVICIO
DEL MUNICIPIO VALENCIA, PERIODO NOVIEMBRE - DICIEMBRE 2014**

Autoras:

Lucia Jiménez

Alexandra Palma

Tutor:

Msc. Merlin Villamizar

Asesor Metodológico:

Msc. Aura Palencia

Naguanagua, marzo 2015

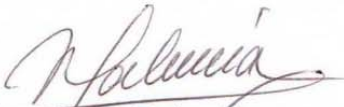


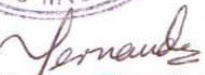
ACTA DE APROBACIÓN

Quienes suscriben, miembros del Jurado designado por la Coordinación de la Asignatura Trabajo de Investigación de la Escuela de Bioanálisis sede Carabobo de la Facultad Ciencias de la Salud, para evaluar el trabajo titulado: **“Parámetros hematológicos y micronúcleos en células de la mucosa oral de trabajadores de estaciones de servicio del municipio Valencia, periodo noviembre - diciembre 2014”**, presentado por las estudiantes: **Alexandra Palma y Lucía Jimenez** titulares de la Cédula de Identidad No. V-20.242.914 y V-19.566.286 respectivamente; bajo la tutoría de la Profesora: **Merlin Villamizar**, C.I:V-13.663.853. Hacemos de su conocimiento que hemos actuado como jurado evaluador del informe escrito, presentación y defensa del citado trabajo. Consideramos que reúne los requisitos de mérito para su **APROBACIÓN**.

En fe de lo cual se levanta esta Acta, en Valencia a los veinticinco días del mes de marzo del año dos mil Quince.




Prof. Aura Palencia
C.I: 11.147.392
Jurado Principal


Prof. Yolima Fernández
C.I: 13.382.234
Jurado Principal


Prof. Maritza Rodríguez
C.I: 4.912.487
Jurado Principal



Universidad de Carabobo
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Bioanálisis



Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional
Trabajo de Investigación

CARTA DE ACEPTACIÓN DEL TUTOR

Yo, Merlin Villamizar, por medio de la presente hago constar que he aceptado la Tutoría del Trabajo de Investigación que lleva por título: **“PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y MICRÓNÚCLEO EN CÉLULAS DE LA MUCOSA ORAL DE TRABAJADORES DE ESTACIONES DE SERVICIO DEL MUNICIPIO VALENCIA, PERÍODO NOVIEMBRE - DICIEMBRE 2014”**. El cual fue desarrollado en el quinto año de la carrera de Bioanálisis como Trabajo Especial de Grado por las bachilleres Lucia Jiménez y Alexandra Palma, titulares de las C.I: 19.566.286, C.I. 20.242.914, respectivamente. Así mismo certifico que he tenido conocimiento del Trabajo desde su inicio hasta su culminación, y considero que reúne los requisitos suficientes para ser sometido a evaluación.

En Valencia, a los 23 días del mes de marzo de 2015.



FIRMA
C.I.V- 13663853

DEDICATORIA

Al creador de todas las cosas, al que me ha dado fortaleza para continuar cuando he estado a punto de desmayar, a quien diariamente me regala la oportunidad de lograr las metas que me propongo, con toda la humildad que puede expresar mi corazón, le dedico este trabajo a Dios.

De igual manera a mi padre y a mi madre, dedico esta investigación, pues han sabido educarme con buenos hábitos, sentimientos, y costumbres que me han ayudado a mantenerme constante en todo lo que emprendo, mostrándome su apoyo incondicional.

A mi familia y amigos en general, por haber estado a mi lado brindándome ánimo durante estos años.

Lucia Jiménez

Primeramente, dedico este trabajo de investigación a Jehová Dios, que a través de su bendición y misericordia me concedió el privilegio de la vida y por medio de su gracia me proporciona sabiduría para alcanzar las metas propuestas, por protegerme durante todo mi camino y darme la fortaleza necesaria para vencer todos los obstáculos.

A mi madre hermosa por ser una mujer excepcional, ejemplar, valiente, esforzada y aguerrida.

Así mismo, a mí amado esposo y a mi príncipe Andrés Elías, quienes son mi motor para seguir luchando.

Y a mis hermanos y familiares por estar siempre a mi lado, dándome aminor, amor y aliento.

Alexandra Palma

AGRADECIMIENTO

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guardado a lo largo de mi carrera.

A mis padres por el apoyo constante y el ánimo impartido durante este periodo estudiantil.

Agradezco a las profesoras Merlin Villamizar, Aura Palencia, Yolima Fernández y Maritza Rodríguez por el apoyo, confianza y tiempo dedicado en pro a la culminación de este trabajo de investigación.

A Alexandra Palma por ser una buena compañera y por haber tenido la paciencia necesaria para motivarme en tiempos de angustia, y por haber empleado con buen ánimo el tiempo suficiente para la realización y culminación de nuestro trabajo.

Lucia Jiménez

Agradecida con Jehová Dios, por haberme guardado y acompañado en todo este camino recorrido, por brindarme una vida grata, llena de bendiciones y muchos momentos felices.

Le doy infinitas gracias a mi madre Dunia Hernández, quien con mucho esfuerzo y valentía supo superarse y afrontar la vida siendo padre y madre a la vez, por inculcarme valores y hacer de mí una mujer integra, por brindarme la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida y sobre todo por ser mi mayor orgullo y mi ejemplo a seguir.

Gracias a mi esposo Arnoldo Flores, por ser mi ayuda idónea, por ser paciente y llenarme de amor día tras día, por recorrer junto a mí este camino y enseñarme a no

desmayar. Bendecida me siento de que hoy tengamos una hermosa familia, y de que juntos luchemos por nuestros sueños.

A mis hermanos, quienes siempre me han estado junto a mí y me hecho sentir especial y respetada, son mis mejores amigos y mi especial tesoro. A mi tía Mirtha Hernández, quien ha sido como una segunda madre, siempre llenándome de amor y consejos que me ayudaron a ser una mejor persona.

Le agradezco a las profesoras Merlin Villamizar, Maritza Rodríguez y Yolima Fernández, por brindarnos de toda su colaboración y aporte de sus invaluable conocimientos para la realización de este estudio.

Al Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC), por abrirnos sus puertas y ofrecernos los recursos necesarios para la materialización de este trabajo.

Y de forma muy especial la profesora Aura Palencia y a mi compañera Lucía Jiménez, por la paciencia, confianza y apoyo incondicional para el desarrollo y culminación de este trabajo de investigación.

Gracias...

Alexandra Palma

INDICE

	Páginas
Índice de Tablas	viii
Resumen	ix
INTRODUCCION	1
Objetivo General	6
Objetivos Específicos	6
MATERIALES Y MÉTODOS	7
Tipo y diseño de la Investigación	7
Población	7
Muestra	7
Procedimiento Metodológico	8
Instrumento de Recolección	8
Análisis de los Datos	9
RESULTADOS Y DISCUSION	10
CONCLUSIONES	17
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	18

INDICE DE TABLAS

	Descripción	Páginas
Tabla 1.	Frecuencia y rango de edad del grupo expuesto y no expuesto.	10
Tabla 2.	Tiempo de exposición a la gasolina.	11
Tabla 3.	Micronúcleo según grupo de estudio.	12
Tabla 4.	Comparación de los Parámetros hematológicos entre los grupos expuesto y no expuesto en los trabajadores de estaciones de servicio del municipio Valencia.	13
Tabla 5.	Correlación de micronúcleo con los parámetros hematológicos de trabajadores de estaciones de servicio del Municipio Valencia.	14
Tabla 6.	Correlación entre micronúcleo y parámetros hematológicos con la edad y tiempo de exposición en el grupo expuesto	15
Tabla 7.	Micronúcleo y hábito tabáquico en el grupo expuesto.	16

RESUMEN

PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y MICRONÚCLEO EN CELULAS DE LA MUCOSA ORAL DE TRABAJADORES DE ESTACIONES DE SERVICIO DEL MUNICIPIO VALENCIA, PERIODO NOVIEMBRE - DICIEMBRE 2014

Autores: Lucia Jiménez, Alexandra Palma

Tutor: Msc. Merlin Villamizar

Asesor Metodológico: Msc. Aura Palencia

Realizado en: Escuela de Bioanálisis y Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo.

La exposición crónica a la gasolina, la cual posee 1% de benceno, es uno de los riesgos potenciales que genera un problema de salud ocupacional, originando enfermedades carcinogénicas. El uso de biomarcadores de exposición, tal como el ensayo de micronúcleo, es una herramienta fundamental para la evaluación del riesgo asociado con la exposición a agentes genotóxicos. En esta investigación se evaluaron los parámetros hematológicos y el número de micronúcleos en células de la mucosa oral de trabajadores de estaciones de servicio del municipio Valencia, con el fin de identificar la relación entre ellos y los factores epidemiológicos. Para lograrlo, se realizó un estudio descriptivo – correlacional, con diseño de campo, no experimental y de corte transversal, conformado por 13 individuos no expuestos y 36 trabajadores de las estaciones de servicio; a los cuales se tomaron muestras de sangre periférica y un raspado de las células epiteliales de la parte interna de las mejillas, siendo estas coloreadas con tinción de Giemsa. La comparación entre los micronúcleos y parámetros hematológicos del grupo expuesto, resultó sin importancia clínica, sin embargo, estadísticamente fue significativa la correlación entre micronúcleos y glóbulos blancos ($p=0,044$ y $r=0,338$), indicando una posible asociación entre la genotoxicidad y alteraciones en el recuento leucocitario. De igual manera, al asociar el tiempo de exposición con los micronúcleos, hubo una relación estadísticamente significativa, lo que sugiere que hay una asociación entre el tiempo de exposición y el número de micronúcleos en las células del epitelio de la mucosa oral de la muestra estudiada.

Palabras clave: Gasolina, Benceno, genotoxicidad, micronúcleo, mucosa oral, parámetros hematológicos.

INTRODUCCION

La gasolina es una mezcla compleja de hidrocarburos inflamables y volátiles derivados del petróleo crudo, en la cual están presentes constituyentes tóxicos tales como benceno (C_6H_6), tolueno ($C_6H_5CH_3$), etilbenceno (C_8H_{10}) y xilenos isoméricos ($C_6H_4(CH_3)_2$)¹, siendo el 3,7% en volumen el contenido total de hidrocarburos aromáticos, de lo cual el 1% corresponde al benceno².

El benceno es un líquido incoloro de olor dulce, muy volátil y altamente inflamable. Además de su uso en combustibles, se emplea en la fabricación de plásticos, nylon, cauchos, lubricantes, tinturas y plaguicidas³, siendo el humo de tabaco, las estaciones de servicio, los gases del tubo de escape de automóviles y las emisiones industriales, las principales fuentes de exposición en la población⁴.

La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) clasifica al benceno, como un agente del grupo I, en los cuales se enlistan todas las sustancias que son potencialmente carcinogénicas para el ser humano⁵. Estudios han evidenciado diversas patologías en personal ocupacionalmente expuesto a la gasolina, especialmente en los dispensadores de gasolina de estaciones de servicio, tales como edema pulmonar, afecciones del sistema nervioso central, disminución de las capacidades motoras, daños crónicos en los riñones, entre otras⁶.

Así mismo, investigaciones revelan efectos citotóxicos en la medula ósea por exposición al benceno, los cuales pueden interrumpir la hematopoyesis y originar anemia, o inclusive disminución del sistema inmunitario lo cual favorece el desarrollo

de cáncer, y si la exposición es prolongada se puede producir una leucemia mieloide aguda y leucemia linfocítica crónica^{4,7,8}.

Los parámetros hematológicos se ven afectados con una reducción de la tasa de plaquetas, seguido de leucocitos y finalmente de los hematíes circulantes, revelando en los análisis clínicos niveles hematológicos sanguíneos anormales (pancitopenia que incluye trombocitopenia, leucopenia y anemia)⁹.

En este sentido, investigaciones realizadas por García y col. (2012), evaluaron las tres series celulares sanguíneas e identificaron alteraciones hematológicas tales como leucopenia, linfocitopenia y trombocitopenia en un grupo de 97 trabajadores ocupacionalmente expuestos a la mezcla de benceno-tolueno-xileno (BTX) de una empresa de pinturas de México. Para el estudio fueron incluidos aquellos trabajadores con antigüedad laboral no menor a cuatro meses continuos, con edades comprendidas entre 19 a 54 años y sin discriminación por sexo ni puesto de trabajo, a los cuales se le realizó una biometría hemática convencional y les fue estimada la exposición a través de la dosis diaria potencial acumulada para vapores de BTX; obteniendo como resultados que del total de los trabajadores el 19,6% mostró macrocitosis, 18,6% linfocitopenia, 10,3% hipocromía, 7,2% trombocitopenia y 5,2% leucopenia. Concluyendo que los casos positivos tuvieron en promedio mayor edad, antecedente de consumo de tabaco y antigüedad laboral que los casos negativos, además de ello, todos los componentes citohemáticos analizados mostraron cambios que podrían estar asociados con la exposición a BTX¹⁰.

Por otra parte, se han hallado alteraciones citogenéticas específicas y cambios en la metilación del ADN por exposición al benceno¹¹. Estas alteraciones se pueden

detectar a través de la biomonitorización citogenética, la cual consiste en la identificación de biomarcadores de genotoxicidad que pueden definir un estado de prepatogénesis y dar pautas para la prevención de dichas enfermedades. Dentro de los biomarcadores genotóxicos utilizados ampliamente, está el de recuento de micronúcleos (MN)¹² sobre diferentes tipos celulares, entre ellos las células de la mucosa bucal¹³. Los MN son cuerpos que contienen cromátidas y representan fragmentos o cromosomas enteros que no fueron incorporados al núcleo durante la mitosis¹⁴, estos aparecen por la presencia de agentes clastogénicos (causan alteraciones cromosómicas de tipo estructural) y aneugénicos (originan aberraciones cromosómicas de tipo numérico causadas por pérdida del centrómero o afectación del mismo), el material genético no incluido en los núcleos de las células hijas queda en el citoplasma y una porción de éstos se rodean de membrana nuclear y aparecen en la interfase como pequeños núcleos¹⁵.

La técnica del recuento de MN sobre las células de la mucosa oral, se considera ideal para detectar anomalías nucleares, debido a que las células de la capa basal del tejido epitelial, es el punto de contacto con muchos agentes potencialmente carcinogénicos. Además de esto, la técnica no necesita de cultivos celulares, por lo que es una alternativa eficaz y económica, otro beneficio es que las células son de fácil acceso y es posible coleccionarlas mediante técnicas mínimamente invasivas, rápidas y relativamente indoloras, lo que la convierte en una oportunidad para la realización de estudios epidemiológicos en poblaciones de alto riesgo^{16, 17}. En este contexto, se observa la importancia de la biomonitorización citogenética y la evaluación del perfil hematológico en el personal que labora como dispensador de gasolina en las estaciones de servicio del país, ya que se puede estar frente a un serio riesgo ocupacional.

En relación a los estudios para la búsqueda de MN en la mucosa oral, Ayarde y col. (2008), valoraron el efecto genotóxico de 200 estudiantes universitarios de la Facultad de Medicina de la Universidad Mayor de San Andrés en la ciudad de La Paz y la ciudad de El Alto, expuestos al consumo de tabaco y sus componentes¹⁸. El objetivo del estudio fue evaluar la frecuencia de MN en células epiteliales de la mucosa bucal, para determinar el daño genotóxico como una indicación de ruptura cromosómica o interferencia en la mitosis debido al hábito tabáquico¹⁸

En Venezuela existen 1800 estaciones de servicio, donde laboran más de 20.000 trabajadores¹⁹, y actualmente no se tienen reportes de casos de patologías por exposición a la gasolina y a otros derivados del petróleo sino hasta el primer trimestre del año 2005²⁰, lo que demuestra un subregistro de estas afecciones clínicas, citogenéticas y hematológicas en los trabajadores expuestos a solventes, esto puede deberse a que la realización de cultivos celulares, y el estudio de los metabolitos urinarios del benceno, como lo dicta la Norma Covenin 2253 (2001), entre ellos el fenol, el ácido trans, trans-mucónico y el ácido S-fenil-mercapturico, requieren de técnicas, equipos y reactivos de difícil acceso, por lo que actualmente no se están determinando para monitorear la exposición laboral en el país, lo que evita el proceso para obtener un diagnóstico de la situación y definir futuras líneas de acción preventiva^{21,22}.

Pese a esto, se espera que con la observación de esta población, generalmente masculina que labora en estaciones de servicio los cuales están expuestos a niveles de benceno que puede ser altamente tóxico; se realice una detección temprana de los efectos causados por dicha exposición, ya que según los estudios antes mencionados,

los responsables de manipular la gasolina están bajo riesgo de daño citogenético y hematológico significativo que se ve reforzado por factores epidemiológicos²³.

Por tal motivo en la presente investigación se planteó conocer los parámetros hematológicos y el número de MN en las células de la mucosa bucal en los trabajadores de estaciones de servicio del Municipio Valencia, durante el periodo Noviembre- Diciembre 2014.

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar los parámetros hematológicos y el número de micronúcleos de la mucosa oral por exposición a la gasolina en trabajadores de estaciones de servicio del municipio Valencia, periodo Noviembre - Diciembre 2014.

Objetivos Específicos

- Caracterizar la muestra en estudio según factores epidemiológicos como edad, hábito tabáquico y tiempo de exposición.
- Cuantificar el número de micronúcleos presentes en las células del epitelio de la mucosa bucal, en el grupo expuesto y grupo no expuesto.
- Determinar el nivel de hemoglobina, glóbulos blancos y plaquetas en el grupo expuesto y grupo no expuesto.
- Comparar hemoglobina, glóbulos blancos, plaquetas y micronúcleo entre grupo expuesto y grupo no expuesto.
- Correlacionar el número de micronúcleos con el nivel de hemoglobina, glóbulos blancos y plaquetas en el grupo expuesto y grupo no expuesto.
- Correlacionar los parámetros hematológicos y el número de micronúcleos con el tiempo de exposición y edad en el grupo expuesto.
- Asociar el número de micronúcleos con el hábito tabáquico en el grupo expuesto.

MATERIALES Y MÉTODOS

El nivel del presente estudio correspondió a una investigación descriptiva – correlacional, con diseño de campo, no experimental y de corte transversal²⁴. La muestra estuvo conformada por 36 trabajadores de estaciones de servicio del municipio Valencia, que manifestaron su decisión de participar voluntariamente en la investigación a través de un previo consentimiento informado, y que cumplieran los criterios de inclusión y exclusión.

Los criterios de inclusión para el grupo expuesto (GE) fueron, ser dispensador de gasolina, antigüedad en el puesto de trabajo igual o mayor a seis meses, edades comprendidas entre 20 y 60 años, por otra parte se excluyó al personal bajo tratamiento con medicamentos quimioterapéuticos, con exposición a radiaciones y los que tenían antecedentes familiares con cáncer. El grupo no expuesto o grupo control (GC) estuvo conformado por 13 personas de sexo masculino, entre ellos habitantes del Municipio Valencia con edades comprendidas entre 20 y 60 años, que no tenían antecedentes de exposición crónica a la gasolina.

Previo al estudio, se le informó a los participantes los beneficios y posibles riesgos del mismo, a través del consentimiento informado escrito siguiendo los principios bioéticos para las investigaciones médicas en seres humanos, establecido por el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia y Tecnología (MPPCT)²⁵.

La recolección de los datos se realizó mediante un cuestionario mixto escrito, con preguntas donde la muestra en estudio proporcionó la información epidemiológica (edad, tiempo de antigüedad laboral, horas de trabajo, antecedentes de familiares con cáncer, medicamentos que se administra, entre otros).

La prueba de MN se utilizó como biomarcador para revelar la eventualidad del daño genotóxico por exposición a los vapores de la gasolina que contiene benceno, el cual es un potencial cancerígeno.

Ensayo de micronúcleos en células Bucales (ensayo BMCyt)²⁶

Las muestras de células bucales se obtuvieron frotando suavemente el interior de las mejillas (lado derecho e izquierdo) con un citocepillo, que se sumergió en 5 ml de solución salina fría (0,9% (v/v) de NaCl acuoso) en un tubo cónico y fueron transportados bajo refrigeración al laboratorio, donde la solución salina se centrifugó a 1500 rpm durante 8 min , y las células bucales sedimentadas se lavaron dos veces más con solución salina y una vez más con fijador de Carnoy (metanol y ácido acético glacial 3: 1 marca merck) en las mismas condiciones de centrifugación²⁶.

La suspensión celular se dejó caer en un portaobjetos y se dejó secar a temperatura ambiente. Los portaobjetos se tiñeron con solución de Giemsa marca sygma al 2% durante 10 min, se enjuagaron en agua destilada y se secaron al aire. Se observaron 2.000 células bucales (1.000 de cada uno de los duplicados) con el uso de microscopía óptica de campo brillante con un aumento de 100x, para el contaje de MN mediante esta técnica²⁶.

Parámetros hematológicos

Para la determinación de los parámetros hematológicos, se tomó una muestra sanguínea de la vena basilica o media del antebrazo de cada persona del GE y GC. Se determinaron los análisis hematológicos a través del equipo Cell dyn1800, el cual reproduce la lectura de hemoglobina, glóbulos blancos y plaquetas.

Para el análisis de los resultados se realizó un estudio descriptivo mediante frecuencias simples, uso de medidas de tendencia central (media y desviación estándar). Se empleó la prueba de Kolmogórov-Smirnov (K-S) para establecer la distribución de los datos. Así mismo, para la correlación entre las variables cuantitativas, se aplicó el coeficiente de correlación de Pearson y para establecer la asociación con la variable cualitativa se usó el Chi cuadrado de Pearson. Todos los cálculos se realizaron por medio del programa estadístico SPSS versión 19.0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se estudiaron 49 individuos integrados por trabajadores de las estaciones de servicio y habitantes del Municipio Valencia para la evaluación de los parámetros hematológicos y daño genotóxico en las células de la mucosa oral.

En relación a la edad, se observó mayor número de individuos en el grupo etario de 30-39 años (50%) del GE. Mientras que el rango de edad de 20-29 años (46,2%) tiene mayor número de individuos para el GC (tabla1).

Tabla 1. Frecuencia y rango de edad del GE y GC

Rango de edad (años)	GE		GC	
	f	%	f	%
20-29	5	13,9	6	46,2
30-39	18	50,0	0	0,0
40-49	9	25,0	4	30,8
50-60	4	11,1	3	23,0

Fuente: Datos propios de la investigación.

f: frecuencia.

En la tabla 2, se aprecia el tiempo de exposición de los trabajadores a la gasolina, donde el 70,3% se encuentran en el rango de 1- 10 años de exposición, mientras que el 2,7% corresponde a los que tienen entre 21-30 años de exposición.

Tabla 2. Tiempo de exposición a la gasolina

Tiempo de exposición (años)	f	%
1-10	26	70,3
11-20	8	21,6
21-30	1	2,7
31-40	2	5,4
Total	36	100

Fuente: Datos propios de la investigación.

En cuanto al hábito tabáquico del GE, el 19,4% refiere que fuma y el 80,6% no fuma, mientras que en el GC el 15,4% presenta el hábito y el 84,6% no fuma.

Al caracterizar los factores epidemiológicos tales como edad (tabla 1), tiempo de exposición (tabla 2) y hábito tabáquico del GE y GC, los resultados mostraron que el 86,1% de los trabajadores de las estaciones de servicio del municipio Valencia está conformada por adultos que superan los 30 años de edad. Así mismo, el 70,3% de la muestra estudiada son trabajadores que no superan los 10 años de servicio, y la mayor proporción de no fumadores está representada en ambos grupos, concordando la muestra de la investigación con la estudiada por Romero y Col, quienes evaluaron el 1-Hidroxipireno urinario, parámetros hematológicos y enzimas hepáticas en personas expuestas a alto tráfico vehicular, donde el GE estuvo conformado por 18 trabajadores de Estaciones de Servicio del Estado Carabobo, con edad promedio de $33,9 \pm 6,8$ años, de los cuales el 22% declararon ser fumadores y 78% no fumadores, con antigüedad laboral promedio de 6,53 años; mientras que el GC fueron 8 voluntarios, trabajadores de una institución de educación superior con edad promedio de $40,75 \pm 7,2$ años, siendo el 37,5% fumadores y 62,5% no fumadores²⁷.

En relación a la cuantificación de los MN se obtuvo la mediana, el valor mínimo y máximo en la muestra estudiada (Tabla 3).

Tabla 3. Micronúcleo según grupos de estudio.

Micronúcleo/1000 células	GE	GC
Mediana	0,875	0,885
Mínimo	0	0
Máximo	3	1, 5
p = 0,95		

Fuente: Datos propios de la investigación.

Al comparar los MN entre el GE y GC, no se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p= 0,95$), lo que podría indicar que para detectar un daño genotóxico, se requiere que el GE esté sometido a mayor tiempo de exposición a la gasolina²⁸. Estos resultados concuerdan con los reportados por Cárdenas y col., quienes estudiaron los efectos genotóxicos en trabajadores expuestos a solventes orgánicos, entre ellos el benceno, a través de la identificación de la presencia de MN y otros ensayos, demostrando que no hubo diferencias estadísticas entre el grupo control y los expuestos²⁸.

De igual forma se observa en la tabla 4, las medias, desviación estándar, valor mínimo y máximo para cada parámetro hematológico. Al comparar los valores entre ambos grupos, se observó diferencia estadísticamente significativa para los glóbulos blancos ($p= 0,001$) y plaquetas ($p= 0,027$), la hemoglobina no presentó importancia estadística, sin embargo, clínicamente, todos los parámetros evaluados permanecen

dentro de sus valores referenciales. De igual modo, Romero y col., observaron que los niveles hematológicos de los GE y GC de trabajadores de estaciones de servicio en el municipio San Diego y Puerto Cabello del Estado Carabobo, no se ubicaron por encima o por debajo los rangos de referencia²⁷. No obstante, otros autores señalan que las células hematopoyéticas se ven afectadas debido a que son blancos potenciales de estos contaminantes²⁹.

Tabla 4. Comparación de los parámetros hematológicos entre los GE y GC en los trabajadores de estaciones de servicio del municipio Valencia.

	GE				GC				p
	X	DS	Min	Max	X	DS	Min	Max	
Hb g/dl	14,32	0,99	12,4	16,5	14,78	0,79	13,1	15,7	0,11
GB /mm ³	7.777,78	1.711,9	3.500	11.800	5.892,31	928,67	4.800	8.400	0,001*
Plaq. /mm ³	285.722,22	50.222,7	192.000	417.000	245.461,54	6.521,98	150.000	392.000	0,027*

Fuente: Datos propios de la investigación
*p<0,005

Por otra parte, en la tabla 5 se refleja la correlación entre MN y los análisis hematológicos para los grupos estudiados, no se observó significación estadística entre MN y los niveles de hemoglobina y plaquetas, existiendo únicamente una relación positiva (directamente proporcional) entre MN y glóbulos blancos del GE, lo que puede sugerir que exista una asociación de la genotoxicidad con alteraciones del recuento de los leucocitos, pudiendo esto, provocar el desarrollo futuro de enfermedades carcinogénicas. Es importante resaltar que no se encontró en revisiones bibliográficas, investigaciones donde exista una relación estadística entre el número de MN y un conteo de leucocitos que permaneciera dentro de los valores de

referencia. Sin embargo, un estudio realizado por Kristjansdotir y col., quienes estudiaron las afecciones genotóxicas en comparación con los niveles hematológicos de pescadores expuestos a un derrame de petróleo, descubrieron lesiones cromosómicas y alteraciones genéticas, hallazgo correlacionado con alteraciones leucocitarias (leucopenia) en los individuos estudiados³⁰.

Tabla 5. Correlación de MN con los parámetros hematológicos de trabajadores de estaciones de servicio del Municipio Valencia

Parámetros Hematológicos	GE		GC	
		MN		MN
Hb g/dl	r	-0,031	r	0,178
	p	0,859	p	0,561
Gb /mm³	r	0,338	r	0,131
	p	0,044*	p	0,67
Plaq. /mm³	r	-0,175	r	-0,279
	p	0,308	p	0,355

Hb: Hemoglobina; Gb: Glóbulos blancos; Plaq.: Plaquetas. *p<0,005

Fuente: Datos propios de la investigación

En cuanto a las variables de edad, MN y parámetros hematológicos mostradas en la tabla 6, no se encontró una relación estadísticamente significativa entre las mismas. Resultados similares fueron reportados por Bindhya y col., quienes evaluaron la frecuencia de MN en relación a la edad de trabajadores expuestos ocupacionalmente a la gasolina, obteniendo resultados estadísticos sin importancia³¹. Sin embargo, en la presente investigación hubo una relación positiva y estadísticamente significativa ($r= 0,524$ y $p<0,05$) entre MN y el tiempo de exposición, por lo que sugiere que a medida que aumenta el tiempo de exposición aumenta el número de MN en las células del epitelio de la mucosa oral de los

trabajadores en estudio. Estos resultados se asemejan a los descritos por Silveira y col., quienes obtuvieron una relación entre el aumento de MN y el tiempo de exposición frente a solventes como tolueno y benceno, en trabajadores de zapaterías de Río de Janeiro, siendo el benceno responsable del desarrollo de cáncer como la leucemia cuando la exposición es crónica, pudiendo detectarse las afecciones genéticas en etapas prepatogénicas a través del test de MN³².

Tabla 6. Correlación entre MN y parámetros hematológicos con la edad y tiempo de exposición en el GE

		MN	Hb	Gb	Plaq
Edad	r	0,251	-0,227	-0,079	0,146
	p	0,139	0,182	0,647	0,397
Tiempo de exposición	r	0,524	-0,055	0,086	0,162
	p	0,001*	0,751	0,618	0,345

Hb: Hemoglobina; Gb: Glóbulos blancos; Plaq; Plaquetas. $p < 0,005$

r: Coeficiente de correlación de Pearson.

Por último al asociar el hábito tabáquico con la presencia o ausencia de MN (tabla 7), no se consiguió diferencia estadísticamente significativa, resultados que pudieron verse afectados por la baja proporción de la muestra que presentaba el hábito (19,4%); datos que difieren de los resultados hallados en una investigación realizada por Ayarde y col., donde encontraron un aumento en la frecuencia de MN, asociado al consumo de cigarrillos, en estudiantes de la facultad de medicina de la universidad de San Andrés en Bolivia, siendo el benzopireno la causa de la aparición de dicha anomalía en las células de la mucosa oral, por ser éste un componente del cigarrillo, que puede dar lugar a afecciones cancerígenas del sistema respiratorio¹⁸.

Tabla 7. MN y hábito tabáquico en el grupo expuesto

		Hábito tabáquico					
		Fuma	%	No fuma	%	Total	%
		f		f			
MN	Presencia	5	71,4	19	65,5	24	66,6
	Ausencia	2	28,6	10	34,5	12	33,4
	Total	7	100	29	100	36	100
		p= 0,766					

Aun cuando las variables estudiadas del GE no sobrepasan los valores de referencia, lo que pudiera estar influenciado estadísticamente por el tamaño de la muestra, se observan diferencias de los parámetros hematológicos en comparación al GC, que apuntan a un riesgo potencial para desarrollar enfermedades oncogénicas²⁷, por lo cual concordamos con el estudio realizado por de Romero y col., quienes sugieren incrementar la población en estudio así como la implementación de biomonitoreo como parte de la prevención en ambientes laborales en los que se pueda presentar coexposición por mezclas de compuestos²⁷. Es importante resaltar que la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR por sus siglas en inglés) indica cierta predisposición heredada a la aparición del cáncer, sin embargo, genéticamente cada individuo se expresa de forma particular, ya que ésta expresión puede estar influenciada por la existencia de antecedentes familiares con enfermedades cancerígenas, lo cual puede hacer que se aumente la susceptibilidad al desarrollo de anomalías genéticas ocasionadas por exposición crónica a agentes genotóxicos como la gasolina³³.

CONCLUSIÓN

La comparación entre los MN y parámetros hematológicos del GE y GC, resulto sin importancia clínica ya que los resultados se hallaron entre los valores de referencia, sin embargo, estadísticamente fue significativo para esta investigación la correlación entre los MN y glóbulos blancos indicando que posiblemente exista una asociación entre la genotoxicidad y alteraciones del recuento leucocitario.

Al asociar el tiempo de exposición con los MN, hubo una relación positiva y estadísticamente significativa, que sugiere que a medida que aumenta el tiempo de exposición aumenta el número de MN en las células del epitelio de la mucosa oral de los trabajadores de las estaciones de servicio.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Silva FL, Ribeiro J, Machado J. Determinação de benzeno, tolueno, etilbenzeno e xilenos em gasolina comercializada nos postos do estado do Piauí. *Quim. Nova*. 2009; 32(1): 56-60
2. Arango JH. Calidad de los combustibles en Colombia. Bogotá, Colombia. *Rev. Ing.* 2009; 29: 100-108
3. Zhu L. El benceno del aire de los coches 2012. *moleQla*[Revista on-line]. 2012 [acceso 24 marzo 2013]; 6: 30-32. Disponible en:
<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3959582>
4. Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. Principales fuentes de exposición al benceno. Marzo del 2010 [acceso 29 marzo 2013]. Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs3.html.
5. Clasificaciones de la IARC. Monografías en la evaluación de riesgos carcinogénicos para los seres humanos [Monografías on-line]. 2013 [acceso 3 abril 2013]. Disponible en:
http://www.cicomra.org.ar/cicomra2/archivos/notas/Clasificaciones%20del%20IARC_.pdf
6. Panida N, SiriatCh, Pornpat, Manaswee A, Narumon L, Varaporn P, et al. Environmental and occupational exposure to benzene in Thailand. *Chem-Biol Interact.* 2005; 153-154: 75-83
7. Toxicological Profile for Benzene U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Service Agency for Toxic Substances and Disease Registry. [acceso 29 marzo 2013]. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp3.pdf>

- 8.** Abdul K, Maritta S J, Eero P, Jouni JK. Research Exposure to benzene at work and the risk of leukemia: a systematic review and meta-analysis. *EnvironHealth*. 2010; 9:31
- 9.** Ordoñez L. Identificación de alteraciones hematológicas por exposición a benceno, en los despachadores de dos estaciones de servicio de gasolina en Quito, durante el período enero – mayo de 2013. [Tesis doctoral]. Quito
- 10.** García L, Vélez N, Aguilar G, Guerreo S, Sanchez V, Muñoz S, et al. Alteraciones hematológicas en trabajadores expuestos ocupacionalmente a mezcla de Benceno-Tolueno-Xileno (BTX) en una Fábrica de pinturas. *Rev Perú Med Exp*. 2012; 29(2):181-87.
- 11.** Ji Z, Zhang L, Peng V, Ren X, McHale CM, Smith M T. A comparison of the cytogenetic alterations and global DNA hypomethylation induced by the benzene metabolite, hydroquinone, with those induced by melphalan and etoposide. *Leukemia*. 2010;24: 986–991
- 12.** Pastor S. Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de micronúcleos. [Tesis doctoral]. 2002; 1: 5-7
- 13.** Zalacain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A. El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *AnSistSanitNavar*. 2005; 28(2):227-36.
- 14.** Villalobos H, Ramírez G. Pruebas de Toxicidad genética. In: *Principios de toxicología genética*. 2004
- 15.** Brizuela J, Jiménez Y. Niveles urinarios de fenol y ácido hipúrico en trabajadores de una empresa de pintura automotriz. *Salud de los Trabajadores* [revista en internet]. 2010 [acceso 25 de junio 2013]; 18 (2). Disponible en:

http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S131501382010000200003&script=sci_arttext

16. Lobo T, Bolaños A. Micronúcleos: biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. Venezuela. Rev. Salus. 2014; 18 (2): 18-26

17. Torres O, Ventura A, Zamora A, Gómez BC, Ramos ML, Morga G. Evaluation of cisplatin + 5-FU, carboplatin + 5-FU, and ifosfamide + epirubicine regimens using the micronuclei test and nuclear abnormalities in the buccal mucosa. Mutat. Res. 2004; 565(1):91-101.

18. Ayarde B, Cuti M, Ascarrunz M E, Tirado N. Efecto genotóxico del consumo de tabaco en estudiantes de la Facultad de Medicina de la UMSA que habitan en la altura. BIOFARBO [revista en la Internet]. 2008 [acceso 04 de noviembre 2014]; 16(1):67-71. Disponible en: http://www.revistasbolivianas.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S181353632008000100012&lng=e

19. Guia.com.ve guía en Venezuela. [Página principal en internet]. Número de estaciones de servicio en Venezuela y cantidad de personas que laboran en estaciones de servicios en Venezuela. 2010 [acceso 19 abril 2013]. Disponible en: <http://www.guia.com.ve/noti/65556/venezuela-exporta-mas-petroleo-a-eeuu>

20. Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad Laborales. [Internet]. Registro de enfermedades ocupacionales con diagnóstico de patologías por riesgos químicos. 2005. [acceso 19 abril 2013]. Disponible en: http://www.inpsasel.gob.ve/moo_doc/registro_trimestre2_2005.pdf

21. Trevisan P, Nascimento da Silva J, Pawelec da Silva A., Machado R., Paskulin G., Valladão F., et al. Evaluación de los efectos genotóxicos de

benceno y sus derivados en los trabajadores de estaciones de servicio. *Env. monit assess*[revista en internet]. 2013 [acceso 25 de junio 2013]; 11 (1). Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s10661-013-3529-0>

22. Norma Venezolana COVENIN 2253. “Concentraciones Ambientales Permisibles de Sustancias Químicas en Lugares de Trabajo e Índices Biológicos de Exposición” 3ra revisión. Venezuela. 2001

23. Biblioteca Digital Aristedes Rojas Acceso libre al Conocimiento. Francia M Cermeño T. Biomarcadores de exposición a benceno, tolueno y xileno en trabajadores de una planta de mejoramiento de petróleo crudo del estado Anzoátegui. [base de datos en Internet]. 2009. [actualizada en diciembre 2011; acceso 26 de enero 2014]. Disponible en: [http://www.bibliodar.mppeu.gob.ve/?q=repo/Universidad%20Nacional%20Experimental%20de%20Guayana%20\(UNEG\)](http://www.bibliodar.mppeu.gob.ve/?q=repo/Universidad%20Nacional%20Experimental%20de%20Guayana%20(UNEG))

24. Arias F. La Investigación Científica. El Proyecto de Investigación. 6ta edición. Editorial Episteme; 2004. p. 19-31.

25. Ministerio del Poder Popular para la Ciencia, Tecnología e Industrias Intermedias. (2011). Código de Ética para la Vida. Disponible en: <http://www.coordinv.ciens.ucv.ve/investigacion/coordinv/index/CONCIENCIA/codigoe.pdf>

26. Benedetti D, Nunes E, Sarmiento M, Porto C, Dos Santos C, Ferraz J, da Silva J. Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. *Mutat. Res.* 2013; 752: 28– 33.

- 27.** Romero G, Palencia A, Vargas M, Gutiérrez D, Montoya A. 1-Hidroxipireno urinario, parámetros hematológicos y enzimas hepáticas en personas expuestas a alto tráfico vehicular. SVBE. 2013; 16(2): 70-75.
- 28.** Cárdenas B O, Varona U M, Patiño R, Groot R H, Sicard S D, Tórres C M, et al. Exposición a Solventes Orgánicos y Efectos Genotóxicos en Trabajadores de Fábricas de Pinturas en Bogotá. Rev. Sal. pub. 2007; 9 (2):275-288.
- 29.** van Grevenynghe J, Bernard M, Langouet S, Le Berre C, Fest T, Fardel O. Human CD-34 positive hematopoietic stem cells constitute targets for carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. J Pharmacol Exp Ther. 2005; 314(2):693-702.
- 30.** Krisjándsóttir H. Estudio citogenético de seguimiento de pescadores expuestos al fuel vertido por el petrolero Prestige. [Tesis doctoral] Barcelona. 2012.
- 31.** Bindhya S, Balachandar V, Sudha S, Devi S M, Varsha P, Kandasamy K, et al. Evaluación del riesgo citogenético ocupacional, entre trabajadores de la estación de gasolina Ciudad de Coimbatore, India del Sur. Boletín de Contaminación y Toxicología Ambiental [revista en internet]. 2010 [acceso 25 de junio 2013]; 85 (2). Disponible en: <http://link.springer.com/article/10.1007/s00128-010-0068-z>
- 32.** Silveira C N, Bassan J S., De Jesús da Cunha C, Ramírez F R., Siqueira B P., De Lima G G., Da Graça M M, et al. Monitoreo de genotoxicidad en trabajadores del calzado a través de la prueba de micronúcleos, Pelotas, Rio Grande do Sul. Cienc. Saude coletiva [revista en internet] 2009 [acceso 9 de marzo 2015]; 14(6): 2251-2260. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-81232009000600034>.

33. Servicio de Salud Pública Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. ¿Qué es el cáncer?. [Acceso 20 de marzo de 2015] Disponible en: http://www.atsdr.cdc.gov/es/general/cancer/es_cancer_fs.pdf