



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANALISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO PROFESIONAL
ASIGNATURA TRABAJO DE INVESTIGACIÓN**



**1-HIDROXIPIRENO Y TIOÉTERES URINARIOS COMO BIOMARCADORES
DE EXPOSICIÓN A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS, EN
TRABAJADORES DE ESTABLECIMIENTOS DE COMIDA ASADA A LA
PARRILLA EN EL MUNICIPIO NAGUANAGUA, ESTADO CARABOBO, 2010**

Autores:

Molina, Wilmer Ramón

Jesús, Jhon Dalton

Guzmán, Manuel Alejandro

Tutor:

Dra. Sofía V. Piñero

Cotutor:

Lic. Gabriela Romero

Asesor Metodológico:

Lic. Graciela Nicita

BÁRBULA, OCTUBRE 2010

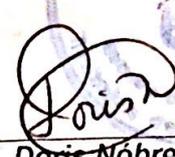


ACTA DE EVALUACIÓN

Quienes suscriben, miembros del Jurado designado por la Coordinación de la Asignatura Trabajo de Investigación, para evaluar el trabajo titulado: **"1-Hidroxi pireno y tioéteres urinarios como biomarcadores de exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos en trabajadores de establecimientos de comida asada a la parrilla en el Municipio Naguanagua, Estado Carabobo 2010"**, presentado por los estudiantes: **Molina Wilmer, Jesús Jhon y Guzmán Manuel**, titulares de las cédulas de identidad No. V- 18.226.836, V-20.825.070 y V-18.470.785, respectivamente, tutorado por las profesoras **Sofía Piñero y Gabriela Romero**, titular de la Cédula de Identidad No. V- 4.459.451 y V- 9.860.726, 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 veinte y siete días del mes de octubre del año dos mil diez.


Prof. Graciela Nicita
C.I: 7.122.071
Jurado Principal


Prof. Doris Nóbrega
C.I: 12.604.470
Jurado Principal


Prof. Alves Sarmiento
C.I: 7.058.750
Jurado Principal

Certificación del Tutor

Nosotras, Sofia Victoria Piñero de Fuentes, C.I. 4.459.451 y Gabriela V. Romero B. C.I. 9.860.726, por medio de la presente certificamos que hemos tenido conocimiento del trabajo de investigación que lleva por título: "1-hidroxipireno y Tioéteres urinarios en trabajadores expuestos a Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en establecimientos de comida asada a la parrilla en el municipio Naguanagua, Estado Carabobo 2010", desde su inicio hasta su culminación. El mismo fue realizado por los bachilleres: Wilmer Ramón Molina, Jhon Dalton Jesús y Manuel Alejandro Guzmán. Consideramos que el presente estudio reúne los requisitos suficientes para ser sometido a evaluación.



Firma del Tutor (a)



Firma del Co-Tutor (a)

El presente trabajo está subvencionado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH-UC), oficio n° CDCH-AM-0427 del 2010.

Agradecimientos

- ✓ A Dios y la Virgen.
- ✓ A nuestros padres.
- ✓ A nuestros familiares y amigos.
- ✓ A los establecimientos de comida asada a la parrilla.
- ✓ A la Unidad de Toxicología Molecular de la Universidad de Carabobo.
- ✓ A la Escuela de Bioanálisis de la Universidad de Carabobo.
- ✓ Al CIMBUC y Biomolp de la Universidad de Carabobo.
- ✓ A nuestros tutores, profesores y auxiliares.

ÍNDICE GENERAL

| | Pág. |
|----------------------------------|------|
| Agradecimientos..... | iv |
| Índice general..... | v |
| Índice de tablas..... | vi |
| Resumen..... | vii |
| Introducción | 1 |
| Objetivos | 6 |
| Metodología..... | 7 |
| Resultados y Discusión | 12 |
| Conclusiones | 15 |
| Referencias Bibliográficas | 17 |

ÍNDICE DE TABLAS

| Tabla N° | Título | Pág. |
|----------|--|------|
| 1 | Características de la muestra en estudio..... | 12 |
| 2 | Valores de Tioéteres y 1-OH-pireno en los grupos investigados..... | 13 |

1-HIDROXIPIRENO Y TIOÉTERES URINARIOS COMO BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS, EN TRABAJADORES DE ESTABLECIMIENTOS DE COMIDA ASADA A LA PARRILLA EN EL MUNICIPIO NAGUANAGUA, ESTADO CARABOBO, 2010.

Autores: Manuel A. Guzmán, Jhon D. Jesús, Wilmer R. Molina

Tutoras: Prof. Sofía Piñero de F. Prof. Gabriela Romero B

Asesora: Prof. Graciela Nicita

Realizado en: La Unidad de Toxicología Molecular de la Universidad de Carabobo.

Subvencionado por: El Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo (CDCH-UC), oficio n° CDCH-AM-0427 del 2010.

Resumen

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) son compuestos orgánicos presentes como contaminantes en el medio ambiente, con capacidad para inducir la formación de cáncer en los organismos expuestos. Los HAPs son metabolizados a intermediarios con propiedades electrofílicas, capaces de unirse a macromoléculas (ADN, ARN, Hb), pudiendo generar alteraciones carcinogénicas y mutagénicas. De la conjugación del glutatión con los HAPs se obtienen Tioéteres, metabolitos finales excretados en la orina y por otro lado el 1-hidroxipireno, metabolito específico del pireno, representante abundante en las mezclas de HAPs. El objetivo principal de esta investigación fue determinar los niveles de 1- hidroxipireno y Tioéteres urinarios como biomarcadores de exposición a HAPs en trabajadores que laboran en establecimientos de comida asada a la parrilla en Naguanagua, Carabobo, 2010. La investigación fue de tipo descriptiva- correlacional, de campo y de corte transversal. La muestra fue dividida en dos grupos: Grupo 1(n=16), Grupo 2 (n=14). Para los Tioéteres, se utilizó la reacción de Ellman con medición por espectrofotometría de absorción a 412 nm; en cuanto al 1-hidroxipireno, se determinó por HPLC- FD. El valor promedio de tioéteres para el Grupo 1 fue de 9,8 mmol SH / mol creatinina (0,98 – 48,92) y el de 1-hidroxipireno de 0,36 μ mol / mol creatinina (0,022-1,53) y para el Grupo 2; 34,39 (2,71 -253,98) y 0,44 (0,0-1,53) respectivamente. Se confirman características que hacen del 1-hidroxipireno un biomarcador útil para la exposición a HAPs, así como la utilidad de los Tioéteres en la evaluación no específica de la exposición a compuestos electrofílicos.

Palabras clave: Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos, 1-hidroxipireno, Tioéteres, biomarcadores.

INTRODUCCIÓN

Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) son compuestos orgánicos formados por dos o más anillos aromáticos condensados, los cuales pueden estar en forma recta, angulada o racimada. Estos compuestos han estado presentes como contaminantes desde los inicios de la vida del hombre, ya que son compuestos naturales presentes en el medio ambiente, como también producto de diferentes procesos industriales y de combustión (1). La principal característica que presentan estos compuestos sobre la salud, es su capacidad para inducir la formación de cáncer en los organismos expuestos. Ciertos HAPs tienen una fuerte actividad carcinogénica, particularmente el benzo-antraceno en animales y benzo (a) pireno en humanos (2).

Los HAPs se originan de la combustión incompleta de materia orgánica, (como por ejemplo en desperdicios orgánicos, madera), se encuentran también en el humo del tabaco y en los alimentos que se ahúmen o se asen a la brasa (3). Los HAPs pueden hallarse casi en todas partes, en el aire, la tierra y el agua (de acuerdo con esto son llamados compuestos ubicuos), procedentes de fuentes naturales o antropogénicas. La contribución de las fuentes naturales, como los incendios forestales y los volcanes, es mínima comparada con las emisiones causadas por el ser humano (1). Los principales mecanismos de exposición son los de inhalación, ingestión y vía dérmica, pero las formas de exposición a los HAPs en el ámbito laboral son esencialmente las vías inhalatoria y dérmica, mientras que la vía digestiva, viene dada por la ingesta de aguas contaminadas y de alimentos asados o ahumados, esta última es una importante vía de exposición en la población en general (4).

Por otro lado, una vez dentro del organismo independientemente de la vía de entrada, los HAPs son metabolizados en intermediarios con propiedades electrofílicas (alquilantes) como por ejemplo los iones epóxidos, los cuales son

capaces de unirse a macromoléculas como proteínas, ácidos nucleídos (ADN, ARN) mediante una serie de reacciones con los grupos nucleofílicos como OH, NH₂ y SH, lo que trae como consecuencia una modificación de las mismas, pudiendo generar alteraciones carcinogénicas y mutagénicas, radicando allí, la relevancia del estudio de los HAPs (5). La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (I.A.R.C), ha considerado con base en estudios epidemiológicos, que algunos HAPs son carcinogénicos para el ser humano, dando origen a diferentes tipos de cáncer principalmente pulmonar y cutáneo (6, 7).

Estos metabolitos electrofílicos se conjugan con el glutatión por la presencia en su estructura de un grupo SH (grupo sulfhídrido con propiedad nucleofílicas), evitando así la unión covalente con macromoléculas celulares, considerándose esta reacción como un mecanismo de desintoxicación conjuntamente con la acción catalítica de la glutatión-S-transferasa (7).

Los HAPs y sus derivados están asociados al aumento en la incidencia de diversos tipos de cáncer en el hombre. Dadas las diferentes fuentes de estos compuestos y el hecho de que algunos grupos poblacionales que residen o trabajan en ambientes directamente influenciados por estas fuentes, estarán sometidos a un riesgo mayor; se hace necesario el monitoreo biológico de exposición a estos compuestos, el cual se puede realizar mediante la determinación de la concentración de sus metabolitos en fluidos biológicos (6).

De la conjugación del glutatión con los HAPs se obtienen Tioéteres, metabolitos finales excretados en la orina. Se considera la determinación de estos compuestos un ensayo no selectivo, que es inespecífico respecto al compuesto responsable, en este caso los HAPs, influenciado por hábitos tales como consumo de tabaco y la dieta (8,9).

En 1978, Vainio et al., analizaron la orina parcial matutina de 224 empleados, determinando la presencia de tioles luego de la hidrólisis enzimática

de los tioéteres urinarios. Como resultado del estudio se obtuvo que los trabajadores presentaron una alta excreción de tioéteres, y que el cigarrillo y algunos medicamentos aumentan la excreción del metabolito en estudio. Dichos autores llegaron a la conclusión de que la determinación de tioéteres urinarios resulta una herramienta valiosa para evaluar la exposición a mezclas de productos químicos (10).

Por otro lado el 1-hidroxi pireno es un metabolito específico del pireno, representante abundante en las mezclas de HAPs. Son numerosas las investigaciones que se han realizado haciendo uso de este biomarcador como determinante del grado de exposición a HAPs, enfocándose en su mayoría al ámbito ocupacional, algunos estableciendo parámetros para valores de referencia del biomarcador (11,12). También han investigado la utilidad del uso del metabolito, para evaluar la exposición por el hábito tabáquico y consumo de alcohol, así como también por el consumo de carnes y pescados asados o ahumados (13).

Burgaz et al, evaluaron la exposición a HAPs de los trabajadores encargados de pavimentar carreteras, mediante la medida de los niveles de tioéteres y del 1-hidroxi pireno en muestras puntuales de orina de individuos expuestos y controles. Los autores reportaron valores más altos en el grupo expuesto ($7,76 \pm 4,70$ mmol SH/ mol de creatinina y $0,61\mu\text{mol}$ de 1-OH-pireno/mol de creatinina) con respecto a los no expuestos ($4,61 \pm 2,59$ mmol SH/mol de creatinina y $0,28 \pm 0,17\mu\text{mol}$ de 1-OH-pireno/mol de creatinina) (14).

Phillips, en 1999, publicó un estudio acerca de los HAPs en la dieta. En su revisión expone las diferentes formas como los alimentos absorben los HAPs, siendo una de las principales, la forma de cocción en la que los niveles más altos de HAPs han sido reportados en alimentos cocinados en llama directa como las parrillas o barbacoas. Resalta en su investigación el uso de biomarcadores haciendo énfasis en el 1-hidroxi pireno. Concluye que es un indicador aceptable para la exposición a los HAPs y que su excreción urinaria en algunos casos se ve

afectada de forma importante por la ingesta de alimentos contaminados además del hábito tabáquico (15).

Debido a que ciertos hábitos del estilo de vida, como el consumo de alcohol puede incrementar el riesgo de cáncer, particularmente cuando éste hábito está asociado al tabáquico, Zhang et al., investigaron la influencia de estos dos factores en las concentraciones del 1-hidroxi pireno de trabajadores expuestos a HAPs en hornos de coque. Ellos encontraron que el consumo de alcohol fue un predictor significativo en los niveles del metabolito en los trabajadores expuestos. En lo que respecta al hábito tabáquico, los autores refieren que no es un factor importante para explicar las diferencias entre las cantidades excretadas de 1-hidroxi pireno en trabajadores expuestos y controles (16).

También la dieta ha sido un factor a tomar en cuenta en la exposición a los HAPs. Estos compuestos presentes en los alimentos son considerados potencialmente cancerígenos, desde que algunos investigadores observaron elevada incidencia de cáncer de estómago en individuos que consumían apreciables cantidades de productos ahumados (17-19). Por ende la presencia de HAPs en alimentos es una materia que requiere de monitoreo continuo.

Por otro lado Feng et al., evaluaron la utilidad del 1-hidroxi pireno urinario, tioéteres y otros metabolitos derivados de la exposición al humo del cigarrillo como biomarcadores de exposición al cigarrillo; controlaron variables tales como la marca y tipo de cigarrillos, consumo diario, y alimentos ingeridos durante el tiempo que duró el estudio. En este estudio participaron voluntariamente 55 hombres y 55 mujeres, divididos en 4 grupos de fumadores, según la marca o tipo de cigarrillo y un grupo de personas fumadoras dispuestas a dejar el hábito y que no fumaron durante los 8 días que duró el ensayo. El método utilizado para la determinación del 1-hidroxi pireno fue por HPLC/fluorescencia. Aunque los niveles del biomarcador al comienzo del ensayo eran similares para los 5 grupos, observaron que los niveles del mismo, fueron aproximadamente cuatro veces más bajos en el grupo que no fumó durante el ensayo cuando se

comparó con los otros grupos al final del ensayo. Ellos encontraron diferencias entre los géneros y lo explican por diferentes factores: la ingesta de comida del hombre es mayor que la de la mujer; el hombre tiene un metabolismo más acelerado que el sexo femenino y por último diferencias en la inhalación del humo del cigarrillo. Concluyen que el 1-hidroxi pireno urinario puede ser utilizado para diferenciar entre fumadores de diferentes tipos de cigarrillos y de personas que han dejado el hábito tabáquico (20).

Pan CH et al, evaluaron dosis interna y estrés oxidativo en trabajadores de restaurantes chinos expuestos a HAPs a partir del humo del aceite de cocina. Uno de los biomarcadores utilizados fue el 1-hidroxi pireno, para indicar exposición a esos compuestos. Sus resultados muestran un valor promedio de 1-hidroxi pireno de $6,00 \pm 8,0061 \mu\text{mol} / \text{mol}$ de creatinina en los trabajadores no fumadores del área de cocina; dichos niveles fueron significativamente asociados con el tipo de trabajo en la cocina ($p < 0,05$). Los autores concluyen que los niveles de 1-hidroxi pireno reflejan exposición a HAPs a partir del humo del aceite de cocina (21).

Sobre la base de los factores ya mencionados, el objetivo principal de esta investigación fue determinar la presencia de 1-hidroxi pireno y tioéteres urinarios en trabajadores de negocios que expenden comida asada o a la parrilla en el municipio Naguanagua, para conocer el grado de exposición a compuestos electrofílicos como los HAPs, a fin de recolectar información que permita disminuir el riesgo de exposición a los mismos.

OBJETIVOS

Objetivo General

Determinar los niveles de 1- hidroxipireno y tioéteres urinarios como biomarcadores de exposición a Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en trabajadores que laboran en establecimientos de comida asada a la parrilla del Municipio Naguanagua, Estado Carabobo, 2010.

Objetivos específicos

- Caracterizar la muestra de acuerdo a la edad, sexo, turnos que labora, tiempo que labora, hábito tabáquico, ingestión de bebidas alcohólicas.
- Medir la concentración de 1- hidroxipireno y tioéteres en orina de los trabajadores de la muestra en estudio.
- Establecer la relación entre los niveles de los biomarcadores en estudio con cada una de las variables investigadas en la caracterización de la muestra.

METODOLOGÍA

Diseño y Tipo de Investigación

El diseño utilizado fue no experimental debido a que no se manipularon las variables. La investigación fue de tipo descriptiva-correlacional, de campo y de corte transversal. Considerándose que la descriptiva-correlacional está basada en la caracterización de hechos, fenómenos o grupos, con la finalidad de establecer su estructura o comportamiento, donde existe la relación entre dos o más variables; en la investigación de campo, la recolección de los datos se realiza directamente donde se efectúan los eventos de estudio. Por otra parte, fue de corte transversal, debido a que se realizó en un momento del tiempo únicamente (22).

Población

Estuvo conformada por todos los trabajadores (70) de establecimientos que expenden comida asada a la parrilla ubicados en el Municipio Naguanagua, Estado Carabobo.

Muestra

Se realizó un muestreo no probabilístico, intencional, con trabajadores que consintieron participar en el estudio (treinta) de manera voluntaria y que cumplieron con el criterio establecido de un período no menor de cuatro (4) meses de trabajo en la empresa.

Obtención de datos

Se visitaron los establecimientos de comida asada a la parrilla del Municipio Naguanagua del Estado Carabobo, se solicitó la autorización del patrono para la ejecución del estudio, y se le consultó acerca del número de

trabajadores que laboraban en dicha empresa para la fecha de la investigación y sus horarios de trabajo, con el fin de planificar la toma de muestra.

A cada participante en el estudio, previo consentimiento informado, se le efectuó una entrevista estructurada, para obtener los datos: edad, sexo, hábito tabáquico, otros hábitos del estilo de vida, actividad que ejerce en el establecimiento, horario laboral y antecedentes de enfermedad.

De la visita a la empresa se observaron dos áreas principales distribuidas de la forma siguiente:

- Área de atención al público: constituida por un salón amplio donde se encontraban ubicadas las mesas con sus respectivas sillas y la barra de bebidas.
- Área de cocina: constituida por el espacio destinado para asar a la parrilla, y la cocina propiamente dicha, además de la zona donde se preparan los demás platos del salón.

Basado en la descripción anterior, los investigadores dividieron la muestra en dos grupos, de acuerdo al área en que labora:

- **Grupo 1:** Conformado por los preparadores de bebidas y mesoneros ubicados en el salón.
- **Grupo 2:** Conformado por los asadores y los encargados de la cocina.

Recolección de la muestra

A cada trabajador, se le proporcionó un recolector de orina estéril y la información para la correcta recolección de la muestra (orina parcial), el último día de la semana laboral, al final de su jornada diaria. Las muestras de orina se fraccionaron en tres partes y se mantuvieron a una temperatura de -20 °C hasta el momento de su análisis.

Determinación de Tioéteres

Las muestras fueron analizadas en la Unidad de Toxicología Molecular de la Universidad de Carabobo. Para la determinación de Tioéteres urinarios, se utilizó el procedimiento descrito por Henderson et al., que consistió en la hidrólisis alcalina seguida de la reacción de Ellman, y la medición de los tioéteres por espectrofotometría de absorción a 412 nm (7).

Se corrigió la variación interindividual a través de la relación con la creatinina, que fue determinada por el método de Jaffé modificado, en donde la creatinina reacciona con el ácido pícrico en solución alcalina, para formar un tautómero de picrato de creatinina. La intensidad de la reacción es proporcional a la concentración de creatinina en las muestras, la cual es medida espectrofotométricamente a 510 nm (23). Todos los resultados se expresaron en mmol SH /mol Creatinina.

Se centrifugaron las muestras de orina por 15 minutos a 3000 rpm, posteriormente se midieron 5 ml del sobrenadante y se transfirieron en un tubo de 20ml y se ajustó a pH 2.0 con HCl 4N. Luego, se agregó acetato de etilo y se agitaron por 10 minutos, se removió la capa de acetato de etilo y se transfirió a un balón de fondo redondo. La extracción se realizó tres veces.

Luego de evaporar el acetato de etilo, se retomó el residuo con 2 mL agua destilada y se agitó por 3 minutos. Se colocó 1 ml de la solución acuosa en vial ámbar y se agregó 0.5 ml de solución de NaOH 4N, se burbujeó por 10 segundos con nitrógeno gaseoso y se colocaron los viales en baño de María a 100° C, por 50 minutos. Al enfriarse, se adicionó una solución de HCl 4N.

Para la calibración del método se prepararon soluciones patrón de trabajo, en pool de orina de personas no fumadoras no expuestas que se contaminaron con concentraciones conocidas de 5, 5' dithiobis (ácido 2 -nitrobenzoico) CAS

D218200-5G. La curva fue lineal en el rango estudiado ($r^2 = 0,9175$), y la concentración del metabolito en las muestras fue calculada a través de la relación con la pendiente. La absorbancia fue leída a 412 nm en el Spectronic Genesys 2, utilizando un blanco muestra (7). Para los valores referenciales de tioéteres, Rivero et al, proponen 3,8 -6,05 mmol SH/ mol creatinina (24).

Determinación del 1-hidroxipireno

El procedimiento analítico utilizado para la determinación del 1-hidroxipireno urinario, fué el descrito por Montes et al, utilizado en el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (25).

Se midió un volumen de muestra de 2 mL de orina y se le añadió 2ml del tampón ácido acético/acetato, luego se agregaron 5 μ L de la enzima B-glucoronidasa/arilsulfatasa. Posteriormente se incubó en el baño de agitación orbital a 37 °C durante 3 h.

La limpieza de los extractos se efectuó mediante extracción en fase sólida, empleando cartuchos de extracción C-18. El cartucho se acondicionó con 5 ml de acetonitrilo, 10 ml de agua. Luego se adicionó la muestra y se limpió el cartucho con 10 ml de agua: acetonitrilo (90:10). Después se eluyó con 5 ml de acetonitrilo.

El disolvente se eliminó en el rotaevaporador a una temperatura del baño de 50 °C, llevándolo a sequedad. El residuo se redisolvió con 1 ml de acetonitrilo y seguidamente, la disolución obtenida se filtró a través de un filtro de 0,45 μ m para su posterior inyección en el cromatógrafo de alta eficiencia con detector de fluorescencia Pelkin Elmer serie 200.

Para la calibración del método se prepararon soluciones patrón de trabajo, en pool de orina de personas no fumadoras no expuestas y se contaminaron con concentraciones conocidas del patrón de 1-hidroxipireno, marca Aldrich 98%,

CAS 5315-79-7, en el rango de 2,88 – 30,0 nmol/l. La curva fue lineal en el rango estudiado ($r^2 = 0,9827$), y la concentración del metabolito en las muestras fue calculada a través de la relación con la pendiente.

Son considerados como valores de referencia los propuestos por Jongeneelen (26), 0,24 y 0,76 $\mu\text{mol/mol}$ de creatinina (no fumadores y fumadores, no expuestos ocupacionalmente), determinados por HPLC-FD.

Condiciones de la corrida cromatográfica:

Caudal: $1,0 \text{ mL min}^{-1}$

Temperatura: 25°C .

Sistema de solvente: acetonitrilo y agua (70:30).

Longitudes de onda: Ex 242 nm Em 388 nm.

Volumen de inyección: $20 \mu\text{L}$.

Programa: Isocrático.

Análisis estadísticos

Para la caracterización de la muestra se utilizaron medidas de tendencia central. Se aplicaron pruebas no paramétricas, debido a que los datos de la muestra seleccionada no siguen una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov $p < 0,05$). La asociación y correlación entre variables se estableció a través de los coeficientes de correlación de Spearman y la U de Mann-Whitney para establecer diferencias de los promedios entre los grupos. Los datos se analizaron a través del programa SPSS 18.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las características demográficas, así como antigüedad laboral y hábitos psicosociales de la muestra en estudio se resumen en la tabla N°1.

Tabla 1. Características de la muestra en estudio

| Trabajadores | Edad | Sexo | | Antigüedad | Hábito tabáquico | | Consumo de alcohol | |
|-----------------|--------|------|---|------------|------------------|----|--------------------|----|
| | (Años) | M | F | (años) | Si | No | Si | No |
| Grupo 1 n=16 | 37,13 | 16 | 0 | 3,25 | 6 | 10 | 13 | 3 |
| Grupo 2 n=14 | 34 | 10 | 4 | 4,36 | 9 | 5 | 13 | 1 |

Cabe destacar que en el Grupo 1, el 100% de los sujetos son del sexo masculino y en el Grupo 2, el 71,4%, y que la mayoría declaró consumir alcohol frecuentemente. En cuanto al hábito tabáquico el 37,5% y 64,3% de los grupos 1 y 2 respectivamente, declaró fumar cigarrillos actualmente.

Los valores promedio de Tioéteres y de 1-hidroxipireno de toda la muestra estudiada fueron 21,29 mmol / mol creatinina y 0,40 μ mol / mol creatinina, respectivamente. Al aplicar un coeficiente de correlación entre los valores de los dos biomarcadores se obtuvo relación estadísticamente significativa ($p=0,021$).

El valor promedio de tioéteres para el grupo 1 fue de 9,8 mmol SH/ mol creatinina (0,98 – 48,92) y el de 1-OH-pireno de 0,36 μ mol / mol creatinina (0,022-1,53) y para el grupo 2, 34,39 (2,71 -253,98) y 0,44 (0,0-1,53 respectivamente. Al aplicar la prueba U de Mann Whitney en cada uno de los grupos no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre la media de los rangos ($p>0,05$). Los valores de los biomarcadores estudiados en ambos grupos según hábito tabáquico y consumo de alcohol se describen en la tabla N° 2.

Tabla 2. Valores de tioéteres y 1-OH-pireno en los grupos investigados.

| GRUPOS | | Tioéteres (mmol SH/mol creatinina) | 1OHP (μ mol /mol creatinina) |
|----------------|----|---------------------------------------|--------------------------------------|
| Grupo 1 | | | |
| Hábito | Si | 15,17 (0,98 – 48,92) | 0,35 (0,022-0,60) |
| tabáquico | No | 6,61 (1,09-16,62) | 0,28 (0,03-1,53) |
| Consumo de | Si | 11,50 (0,98-48,92) | 0,41 (0,0022-1,53) |
| alcohol | No | 2,57 (1,30-3,62) | 0,065 (0,044-0,44) |
| Grupo 2 | | | |
| Hábito | Si | 36,65 (2,71-253,98) | 0,33 (0,0- 1,066) |
| tabáquico | No | 30,32 (4,42-120,20) | 0,40 (0,166-1,53) |
| Consumo de | Si | 36,54 (271-253,98) | 0,385 (0,0-1,53) |
| alcohol | No | - | - |

Es importante resaltar que los valores promedio de cada uno de los biomarcadores son más elevados en los trabajadores que fuman así como también en los que consumen alcohol, no obstante, estas diferencias no tienen significación estadística (U de Mann-Whitney). Estos resultados coinciden con los obtenidos por Vainio et al, quienes encontraron elevada la excreción de tioéteres en individuos con hábito tabáquico (10), igual resultado fue obtenido por Feng et al. Estos autores refieren que el 1-hidroxipireno urinario puede ser utilizado para diferenciar entre fumadores y personas que han dejado el hábito tabáquico (20).

Además, coinciden los hallazgos con Burgaz et al, quienes obtuvieron un valor promedio de tioéteres de $7,76 \pm 4,70$ mmol SH/ mol de creatinina en el grupo expuesto a HAPs. En el presente estudio se encontró un valor mayor (9,8 mmol / mol creatinina) correspondiente al Grupo 1 y un valor de 34,39 mmol / mol creatinina, en los asadores, quienes conformaron el Grupo 2. En igual forma el valor de 1-hidroxipireno en los dos grupos (tabla N° 2), fue más alto que el obtenido por Burgaz et al. ($0,28 \pm 0,17 \mu$ mol de 1-OH-pireno/mol de creatinina) (14).

De igual modo, Pan et al, consiguieron un valor promedio de 1-hidroxipireno de $6,00 \pm 8,00 \mu$ mol /mol de creatinina en los trabajadores del área de cocina expuestos al humo de aceite de cocina. Este valor es superior al

obtenido tanto para quienes trabajan en el área de cocina (asadores) como los que laboran en el área de servicio (mesoneros) (21).

Es importante destacar que el alcohol tiene un efecto estimulante en la actividad del sistema enzimático p-450, lo cual puede ocasionar un aumento en la concentración de los metabolitos de los HAP considerados pro-cancerígenos, ya que el citocromo p-450, además del papel detoxificador también puede ser mediador de la activación de precarcinógenos. En este orden de ideas, los valores de 1-hidroxipireno en los trabajadores quienes consumen alcohol, tanto del Grupo 1 como del Grupo 2, fueron más altos que aquellos que no consumen (tabla 2). Estos resultados son similares a los hallados por Zhang et al. (16).

Finalmente, al tomar en cuenta el número de horas laboradas, los valores de los biomarcadores en el Grupo 2, quienes laboran turnos de 8 horas diarias, fueron más altos que los trabajadores del Grupo 1, quienes laboran 14 horas diarias ($34,39 \pm 70,06$ mmol SH/mol de creatinina y $0,43$ μ mol de 1-OH-pireno/mol de Creatinina y $9,83 \pm 12,93$ mmol SH/mol de creatinina y $0,360 \pm 0,371$ μ mol de 1-OH-pireno/ mol de creatinina respectivamente). Estos resultados pueden indicar mayor exposición a HAPs en los trabajadores del Grupo 2. Adicionalmente éstos refieren sufrir de cefaleas, alergias respiratorias, dermatitis e irritación ocular, con más frecuencia que los el otro grupo, todos estos síntomas podrían estar asociados a la exposición a HAPs.

Los niveles de 1-hidroxipireno determinados en la presente investigación pueden equipararse también con los obtenidos por Perico et al.(27), y Kawamoto et al. (28), quienes han realizado estudios en personas no ocupacionalmente expuestas, encontrando valores de 1- hidroxipireno dentro del primer nivel de exposición referido por Jongeneelen (26), y que están relacionados con la ingesta de HAPs a través de la dieta y el hábito tabáquico.

CONCLUSIONES

En la presente investigación se confirman características que hacen del 1-hidroxi pireno un biomarcador útil para la exposición a HAPs, así como la utilidad de los Tioéteres en la evaluación no específica de la exposición a compuestos electrofílicos.

El valor promedio de 1-hidroxi pireno determinado en los trabajadores es de 0,40 $\mu\text{mol} / \text{mol}$ creatinina, y se encuentra dentro del primer nivel de los valores de referencia propuestos por varios autores para la exposición ocupacional. El valor promedio de Tioéteres urinarios determinado en la muestra estudiada (21,29 mmol SH / mol creatinina) es más elevado que el propuesto por diversos investigadores y refleja exposición a compuestos electrofílicos, que pueden provenir del hábito tabáquico

Los valores de 1-hidroxi pireno y tioéteres hallados en esta investigación para los grupos estudiados varían de acuerdo al área laboral en la que se desenvuelve el individuo.

La concentración urinaria de los biomarcadores estudiados es afectada por hábitos como fumar y la ingesta de alcohol, factores que deben ser tomado en cuenta para la interpretación de los resultados.

Es importante transmitir estos resultados a los establecimientos en estudio, a fin de que propongan y ejecuten acciones para disminuir la exposición de los trabajadores a HAPs, producto de la cocción con carbón.

Es recomendable realizar un monitoreo biológico en personas no expuestas laboralmente y que vivan en la comunidad, cerca de la zona en la que se encuentran los establecimientos, para medir el alcance de las emisiones de los

mismos y de ser necesario, recomendar la toma de acciones necesarias para no afectar la calidad de vida en la población vecina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mastandrea C, Chichizola C, Ludueña B, Sánchez H, Álvarez H, Gutiérrez A. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Act Bioquím Clín Latinoam* 2005; 39 (1): 27-36.
2. Zamora N, Baquero W, Tarquino D. Determinación de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en las localidades de puente Aranda y Fontibon y su relación con las fuentes de emisión. Universidad de la Salle Facultad de Ingeniería ambiental y Sanitaria, Bogotá; 2008.
3. Maina G, Manzari M, Palmas A, Passini V, Larese F. Risk assessment of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons by means of urinary 1-hydroxypyrene. *Toxicol Ind. Health* 2007; 23: 55-59.
4. Martínez Ballesteros O, Álvarez de los Heros F. Exposición a tóxicos de uso industrial y ambiente laboral. *ORL-DIPS México*, 2005; 32 (2): 62-71.
5. Chetianukornkul T, Toriba A, Kizu R, Hayakawa K. Urinary 2-Hidroxifluorene and 1-Hidroxipireno levels in smokers and nonsmokers in Japan and Thailand. *Polycyclic Aromat Compd* 2004; 24 (4-5): 467-474.
6. Mercado Calderón F. Evaluación del 1- hidroxipireno como biomarcador de la exposición industrial a los hidrocarburos aromáticos policíclicos. Instituto Nacional de Salud Pública, Cuernavaca Noviembre-Diciembre, México 1993; 35 (6): 607-613.
7. Henderson PT, Van Doorn R, Leijdekkers C.M & Bos Lyon RP. Excretion of thioethers in Urine after exposure to Electrophilic Chemicals. *IARC Sci Publ* 1984: 173-187.
8. Giolito I, Suriani A, Penedo M, García C. Niveles de 1-Hidroxipireno urinario en exposición ocupacional a Hidrocarburos Poli aromáticos. *Acta Toxicol Argent* Diciembre 2003; 11 (2): 103.
9. Huici Montagud A. Genotóxicos: control biológico. Centro Nacional de Condiciones de Trabajo. 2002; NTP 192: 2-4.
10. Vainio H, Savolainen H, Kilpikari I. Urinary thioether of employees of a chemical plant. *British J. Ind Med*, 1978; 35: 232-234.
11. Announcement by the German Federal Environmental Agency “1-hydroxypyrene in urine as an indicator of internal exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) - reference value for 1-hydroxypyrene in urine” Opinion of the Human Biomonitoring Commission of the German Federal Environmental Agency, Bundesgesundheitsbl – Gesundheitsforsch – Gesundheitsschutz Alemania, 2005; 48 (10): 1194-1206.
12. Seidel A, Spickenheuer A, Straif K, Rihs H-P, Marczyński B, Scherenberg M et al. New biomarkers of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *J Toxicol Environ health*, 2008; 71: 734-745.

13. Unwin J, Cocker J, Scobbie E, Chambers H. An Assessment of Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the UK. *Ann Occup Hyg* 2006; 50 (4) 395 – 403.
14. Burgaz S, Borm P and Jongeneelen F. Evaluation of urinary excretion of 1-hydroxypyrene and thioethers in workers exposed to bitumen fumes. *Occup Environ Health*, 1992; 63: 397-401
15. Phillips D. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the diet. *Mutat Res* 1999; 443: 139-147.
16. Zhang J, Ichiba M, Hara K, Zhang S, Hanaoka T, Pan G et al. Urinary 1-hydroxypyrene in coke oven workers relative to exposure, alcohol, consumption, and metabolic enzymes. *Occup Environ Med*, 2001; 58(11): 716-721
17. Rubio C, Álvarez R y Hardisson A. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en productos de la pesca. *Toxicol*, 2006; 23 (1): 1-6.
18. Ramesh A, Walker SA, Hood DB, Guillen MD, Schneider K , Weyand EH. Bioavailability and risk assessment of orally ingested polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int J Toxicol*, 2004; 23(5): 301-333
19. Wenzl T, Simon R, Kleiner J, Anklam E. Analytical methods for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in food and the environment needed for new food legislation in the European Union. *Tr Anal Chem*, 2006; 25 (7): 716-725.
20. Feng S, Roethig H, Liang Q et al. Evaluation of urinary 1-hydroxypyrene, S-phenylmercapturic acid, trans, trans-muconic acid, 3-methyladenine, 3-ethyladenine, 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine and thioethers as biomarkers of exposure to cigarette smoke. *Biomarkers*. January- February, 2006; 11 (1): 28-52.
21. Pan C-H, Chan C-C, Huang Y-L and Wu K-Y. Urinary 1- hydroxypyrene and malondialdehyde in males workers in Chinese restaurants. *Occup Environ Med*, 2008; 65: 734-735.
22. Arias F. El Proyecto de Investigación Guía para su Elaboración. 3 era edición. Caracas: Editorial Episteme, 1999.
23. Biogamma Laboratorios. Creatinina Directa. Método Colorimétrico. 2008.
24. Rivero E, Piñero S, De Sousa L, González S, Bello M, Marrero S, Leal A, Lugo A. Correlación entre la concentración de tioéteres en la orina y exposición al oxido de etileno, en trabajadores de área de esterilización de un centro público asistencial. *Inf Med*, 2005; 7 (10): 475-408.
25. Montes N, Urbietta MT, Eguiarte I. Determinación de 1-Hidroxipireno en Orina- Método de Hidrólisis enzimática con detección fluorimétrica/ Cromatografía Líquida de Alta Resolución. Congreso Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo. Valencia 20-23 de noviembre de 2001
26. Jongeneelen F. Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Anns occup hyg*, 2001; 45(1) 3-13.

27. Perico A, Gottardi M, et al. Assessment of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in police in Florence, Italy, through personal air sampling and biological monitoring of the urinary metabolite 1 hydroxypyrene. *Arch environ health*, 2001; 56(6):506-512.
28. Kawamoto T, Yang M, Kim Y-D, et al. Effects of lifestyle on urinary 1-hydroxypyrene concentration. *J Occup Health*, 2007; 49:183-189.