



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

---

---

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA  
PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN  
CIENCIAS AMBIENTALES

EVALUACIÓN DE RIESGO EN SALUD EN  
POBLACIÓN INFANTIL EXPUESTA A UNA MEZCLA  
DE CONTAMINANTES EN COATZACOALCOS,  
VERACRUZ

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS  
AMBIENTALES PRESENTA:

M. EN C. NADIA AZENET PELALLO MARTÍNEZ

COMITÉ TUTELAR:

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ (DIRECTOR DE TESIS)

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTÍZ PÉREZ (ASESORA)

DR. IVÁN NELINHO PÉREZ MALDONADO (ASESOR)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTADES DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA  
PROGRAMA MULTIDISCIPLINARIO DE POSGRADO EN  
CIENCIAS AMBIENTALES

EVALUACIÓN DE RIESGO EN SALUD EN POBLACIÓN  
INFANTIL EXPUESTA A UNA MEZCLA DE  
CONTAMINANTES EN COATZACOALCOS, VERACRUZ

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS  
AMBIENTALES PRESENTA:

M. EN C. NADIA AZENET PELALLO MARTÍNEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ \_\_\_\_\_

SINODALES:

DRA. MA. CATALINA ALFARO DE LA TORRE \_\_\_\_\_

DR. FERNANDO JARAMILLO JUÁREZ \_\_\_\_\_

DRA. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ \_\_\_\_\_

DR. IVÁN NELINHO PÉREZ MALDONADO \_\_\_\_\_

EL PROYECTO FUE REALIZADO EN:

EL DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA AMBIENTAL  
CENTRO COLABORADOR DE LA OMS-OPS  
FACULTAD DE MEDICINA  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

CON FINANCIAMIENTO DE:

INSTITUTO NACIONAL DE ECOLOGÍA (INE)

A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:

MONITOREO AMBIENTAL, DETERMINANTES DE LA EXPOSICIÓN Y EFECTOS DE CONTAMINANTES  
CRÍTICOS EN HUMANOS Y BIOTA EN COATZACOALCOS, VERACRUZ  
A1-047/2007.

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACYT)

BECA-TESIS  
186575

APOYOS INTEGRALES PARA LA FORMACIÓN DE DOCTORES  
CONVENIO CONACYT-UASLP 63468

BECA MOVILIDAD ESTUDIANTIL SANTANDER UNIVERSIA PERIODO ENE-JUN 2008

EL DOCTORADO EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO A TRAVÉS DEL  
PROGRAMA DE FORTALECIMIENTO AL POSGRADO NACIONAL  
(PIFOP- SEP).

“Para la evaluación de mezclas debe imperar la filosofía de generar ideas y creatividad: preferimos ser provocativos, incluso a riesgo de proponer ideas que parecen escandalosas, a ser tímidos y demasiado prudentes a costa de inhibir la creatividad [...] no obstante, esta área de trabajo es muy estimulante y gratificante. Los que pueden soportar la presión, pueden encontrar que la recompensa supera con mucho las frustraciones.”

Yang (1994) en: *Toxicology of chemical mixtures*

Dedicatoria:

Al lazo que me conecta a la vida, a quien me ha dado las alas para volar y que nunca ha cerrado mis cielos y mis posibilidades, a la mujer que trazó lo que soy...

Mi Madre.

A la persona más dulce en mi vida, la más grande, la más honesta... al amor y la ternura más infinitos...

Mi Abuela.

Al papá, a la hermana pequeña, a mi  
único hermano, a los tíos y tías, a los  
primitos, a los amigos  
(incondicionales, casi casi hermanos) a  
los maestros de escuela y de vida, a los  
buenos y malos recuerdos... a todos  
los que me han acompañado en el  
aprendizaje, olvido, alegría,  
madrugadas, silencios y canciones...  
por todo lo compartido, por el camino  
que hemos recorrido juntos.

Por darle a mi corazón el ritmo y el  
son al que debe latir y vibrar, por ser  
parte de la música de mi vida....

***GRACIAS!!!***

## PREFACIO

Esta Tesis se presenta en el formato tesis por artículo. Consta de un capítulo de síntesis y tres anexos.

### SÍNTESIS DE TESIS

Este capítulo comprende el borrador del artículo: **Evaluación de Genotoxicidad y Efectos Hematológicos en Niños Expuestos a una Mezcla Química Compleja en una Área Petroquímica de México**. Pelallo-Martínez NA, Díaz-Barriga MF; Batres-Esquivel L.

El manuscrito está realizado con el formato de contenido de la revista *Environmental Health Perspectives* (EHP). En este capítulo se presentan los resultados de exposición y efecto, así como una hipótesis sobre la posible interacción entre los contaminantes.

**Pelallo-Martínez NA:** Diseño y concepción del proyecto, análisis experimental de las muestras, análisis estadístico, interpretación de resultados, redacción de manuscrito.

**Díaz-Barriga MF:** Diseño, asesoría y supervisión del proyecto. Asesoría y correcciones del manuscrito final.

**Batres-Esquivel L:** Apoyo en implementación y validación de técnicas de análisis de muestras.

### ANEXO 1

**Actividades productivas y estudios preliminares en Coatzacoalcos Veracruz.** Revisión bibliográfica en la que se presenta la descripción del escenario de estudio.

### ANEXO 2

Artículo: **Revisión de las metodologías sobre Evaluación de Riesgos en Salud para el Estudio de Comunidades Vulnerables en América Latina**. César Ilizaliturri, Donaji González-Mille, Nadia A. Pelallo, Gabriela Domínguez, Jesús Mejía-Saavedra, Iván Pérez-Maldonado, Lilia Batres, Fernando Díaz-Barriga y Guillermo Espinosa-Reyes. *Interciencia* (2009) 34(10):710-717.

En este anexo se presenta el enfoque metodológico en el que se desarrolló el presente trabajo y que propone realizar la evaluación de riesgo integrando los componentes humano y ecológico.

### ANEXO 3

**Validación e implementación de metodologías para cuantificar metabolitos de Benceno, Tolueno y Xilenos.** Protocolo de análisis de muestras.

## CONTENIDO

PREFACIO.....	vi
CONTENIDO.....	vii
INDICE DE FIGURAS.....	viii
INDICE DE TABLAS.....	ix
RESUMEN.....	xi
SINTESIS.....	1
1.- INTRODUCCIÓN.....	1
2.- MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
2.1.- Colecta de las muestras.....	4
2.2.- Cuantificación de t,t-AM, AH y AMH.....	5
2.3.- Cuantificación de 1-OHP.....	6
2.4.- Determinación de cotinina urinaria.....	6
2.5.- Cuantificación de plomo en sangre.....	6
2.6.- Evaluación nutricional.....	6
2.7.- Ensayo cometa.....	6
2.8.- Conteo de células sanguíneas y diferenciación.....	7
2.9.- Factorización de niveles de exposición.....	7
2.9.1.- Categorización de Pb-S.....	7
2.9.2.- Categorización de 1-OHP.....	8
2.9.3.- Categorización t,t-AM.....	8
2.9.4.- Categorización de AH.....	9
2.10.- Análisis Estadístico.....	9
3.- RESULTADOS.....	9
3.1.- Características de la población y estado nutricional.....	9
3.2.- Evaluación de la exposición.....	10
3.3.- Evaluación de Genotoxicidad.....	11
3.4.-Evaluación de la Hematotoxicidad.....	11
4.- DISCUSIÓN.....	12
5.- CONCLUSIONES.....	16
6.- REFERENCIAS.....	18
ANEXOS.....	31

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Edad y distribución de talla y peso para la edad en los niños evaluados por localidad.....	23
Tabla 2. Niveles de plomo en sangre (Pb-S) y los metabolitos urinarios cuantificados en la población de estudio.....	24
Tabla 3. Porcentajes de niños por categoría de exposición para cada contaminante (n=91).....	25
Tabla 4. Comparación de medias del momento y porcentaje de niños con valores superiores al nivel basal para cada una de las localidades evaluadas.....	26
Tabla 5. Prevalencia de anemia en los niños evaluados en cada localidad ....	27
Tabla 6. Coeficientes de correlación Pearson entre el <i>t,t</i> -AM urinario y los parámetros hematológicos indicados en la localidad López Mateos (n=20) ....	28

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de las comunidades muestreadas, complejos industriales y zona portuaria en el área de estudio. ....	29
Figura 2. Metabolismo de Benceno Descrito por Hirabayashi, 2004 y las posibles interacciones del HAPs y Pb que potencian el efecto hematotóxico ...	30

## RESUMEN

La población infantil que habita en Coatzacoalcos y en zonas aledañas está potencialmente expuesta a una mezcla compleja de contaminantes generada por diversas fuentes: actividad industrial química y petroquímica, aplicación de plaguicidas y herbicidas, tráfico marítimo, vehicular y ferroviario, descargas de residuos urbanos e industriales, etc. La exposición a ésta mezcla puede generar diversos efectos en diferentes sistemas biológicos de los individuos. De los compuestos cuantificados en matrices ambientales y biológicas en estudios previos, el benceno y el plomo son compuestos asociados a efectos hematotóxicos y genotóxicos, mientras que el tolueno antagoniza los efectos del benceno y los HAPs son genotóxicos y pueden estar interaccionando con los efectos del benceno. En este estudio se cuantificó la exposición a benceno, tolueno, xilenos, HAPs y plomo en 102 niños que habitan Coatzacoalcos y dos localidades aledañas. Fue evaluado también el efecto genotóxico por ensayo cometa y el efecto hematotóxico a través de biometría hemática. Los resultados obtenidos en este estudio revelan que la exposición en las tres localidades es similar para Pb y benceno; la exposición a tolueno es ligeramente mayor en una localidad, mientras que los niveles de 1-OHP señalan un gradiente en tres niveles. Por otra parte, de acuerdo a las guías de exposición de los biomarcadores empleados tanto el benceno como los HAPs son, de los compuestos evaluados, los contaminantes de mayor preocupación en el área puesto que superan los valores establecidos en población adulta ocupacionalmente expuesta mientras que el plomo no supera los 10 µg/dL. En cuanto a los efectos, nuestros resultados sugieren que la variación en la proporción y composición de la mezcla evaluada puede modificar el resultado tóxico final. Se observa un gradiente en la severidad de la genotoxicidad y la prevalencia de anemia asociado al patrón de exposición de HAPs. En la localidad con niveles más altos de HAPs, se encontró un daño a ADN más severo y correlaciones negativas entre los parámetros hemáticos y los niveles de Pb y benceno.

## **SINTESIS DE TESIS**

### **Evaluación de Genotoxicidad y Efectos Hematológicos en Niños Expuestos a una Mezcla Química Compleja en una Área Petroquímica de México**

#### **1.- INTRODUCCIÓN**

Coatzacoalcos Veracruz, es una ciudad localizada en el istmo mexicano en el sur del Estado de Veracruz. Se ubica a unos 7 kilómetros del parque industrial Pajaritos conformado por el complejo petroquímico de la empresa paraestatal Petróleos Mexicanos (PEMEX) cuyo principal producto es el monómero de cloruro de vinilo (MCV), empleado en la fabricación del polivinilo de carbono (Bozada y Bejarano, 2006). También en la zona industrial se localizan los complejos Morelos al norte y La Cangrejera al este. En ambos se obtienen polímeros derivados del etileno y productos químicos derivados del gas natural. Además, La Cangrejera produce compuestos aromáticos y solventes, entre ellos benceno, xileno y tolueno. En esta área también se localizan empresas de capital privado destinadas a la generación de sosa caústica, solventes, cloro, adhesivos y fertilizantes entre otros productos químicos. Hasta 1997, en el complejo industrial operó la empresa TEMSA encargada de generar tetraetilo de plomo, producto empleado como aditivo para las gasolinas.

Coatzacoalcos es una terminal portuaria nacional e internacional y es una zona con un alto tráfico automovilístico y ferroviario; sumando así al aporte de contaminantes por la industria, el generado por el intenso tráfico terrestre y marítimo. Por otra parte, en el río Coatzacoalcos, en cuyas orillas se encuentra la ciudad, se descargan desechos industriales y urbanos tanto de Coatzacoalcos como de Minatitlán, situada a unos 20 km río arriba y en la que opera la refinería Lázaro Cárdenas. Esta región es una zona endémica de Paludismo por lo cual, el DDT fue empleado extensivamente para el control del vector (Bozada y Bejarano 2006). Asimismo, el uso de plaguicidas y herbicidas clorados está vinculado a la actividad agrícola y ganadera en el municipio (INEGI 2007).

Toda esta emisión actual y/o histórica de contaminantes, es la responsable de la presencia en el ambiente de una mezcla compleja de sustancias químicas, a la cual está

potencialmente expuesta la población de aproximadamente 268 mil habitantes en la Ciudad de Coatzacoalcos, así como los 20 mil habitantes distribuidos en localidades cercanas, significando un riesgo a padecer efectos adversos a la salud.

Una mezcla compleja es definida como una combinación de compuestos parcialmente caracterizada, tanto cualitativa como cuantitativamente, y cuyos componentes pueden encontrarse en concentraciones variables (ATSDR 2004a). Estudios previos han reportado en el área, diversos contaminantes en matrices ambientales y biológicas. La lista incluye: benceno y tolueno en agua (Riojas-Rodriguez 2008); cloroformo, dicloroetano, tricloroetano, tetracloroetano, cloruro de vinilo y tetracloruro de carbono en agua y sedimentos (Stringer et al 2001). Compuestos bromados y dioxinas en huevos de gallina (Blake 2005). Otros contaminantes orgánicos persistentes (COPs) tales como hexaclorobenceno, aldrín, endrín, heptacloro, lindano, y bifenilos policlorados (PCBs) en sedimentos, huevos de gallina (DiGangi y Petrlink 2005) y suelo (Espinosa-Reyes et al 2010). Así como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y metales (As, Pb, Zn, Cd, Mn, Ni, Co, Cu, Cr, V y Hg) en sedimentos y tejidos de fauna acuática (Rosales y Carranza 2005, Vázquez-Botello et al 2004). Se reportan además, emisiones atmosféricas de plomo, mercurio arsénico y benceno como parte de las actividades industriales (SEMARNAT 2009). Los detalles de la zona de estudio se abordan en el Anexo 1.

La población está potencialmente expuesta a esta mezcla compleja por diversas rutas, entre ellas: aire, polvo, alimento, agua, etc. Así pues, los efectos en salud ocasionados pueden ser diversos puesto que se encuentran compuestos que individualmente generan efectos genotóxicos, carcinogénicos, hematotóxicos, neurotóxicos o actúan como disruptores endócrinos, etc. (ATSDR 2009). Además, pueden presentarse interacciones entre las sustancias que componen la mezcla modificando su comportamiento toxicológico y consecuentemente cambiando los efectos en salud del individuo expuesto. Así, comprender los efectos en salud de las mezclas nos enfrenta a muchas más incertidumbres que las que surgen en la evaluación de riesgo a un solo agente tóxico (Sexton 2007, Suk et al 2002).

El escenario es complejo y representa un riesgo para la salud de toda la población que habita en el área. Sin embargo, los niños son más susceptibles por la exposición a los

contaminantes debido a que su sistema enzimático y de detoxificación no está aún del todo desarrollado (IPCS 2006). Incluso, la concentración tóxica puede ser menor si la exposición ocurre en una etapa de vulnerabilidad biológica y los efectos adversos pueden manifestarse mucho tiempo después, incluso en la vida adulta. (EPA 2006).

Cómo se señaló anteriormente, la mezcla de contaminantes en el área de estudio es capaz de generar diversos efectos que pueden afectar el desarrollo saludable de los niños expuestos. La genotoxicidad y la hematotoxicidad evalúan efectos tempranos sin que ello implique necesariamente una condición clínica anormal. Estos efectos pueden ser revertidos si el individuo es retirado de la fuente de exposición, pues son sistemas biológicos dinámicos que se reparan a sí mismos y se reemplazan en cortos periodos de tiempo. Sin embargo, una exposición continua somete a los mecanismos de reparación a un estrés que compromete la continuidad de la homeostasis y finalmente puede desencadenar también un daño irreversible, como sucede en un efecto neurotóxico, cancerígeno, etc. Por lo anterior, es conveniente que una evaluación de riesgo incluya además del análisis de la exposición, la valoración de efectos tempranos que permitan la organización de programas preventivos en materia de salud.

Muchos de los contaminantes previamente reportados en el área, tales como DDT, dioxinas, cloruro de vinilo, HAPs, benceno, entre otros, son agentes genotóxicos. De ese listado, en este estudio se evaluará la exposición al benceno, HAPs y Pb, dado que estos contaminantes, además de tener efectos genotóxicos, son hematotóxicos. El benceno y los HAPs generan aberraciones cromosómicas, mutaciones, forman aductos con ADN, intercambio de cromátides hermanas y forman micronúcleos (ATSDR 2009, Böstrom 2002, Gamboa et al 2008, Ruchiwarat et al 2007). El plomo ocasiona daño al ADN (Bolin et al 2006, Yañez et al 2003) y está asociado con un incremento de micronúcleos en niños (Mielzynska 2006).

En cuanto a la hematotoxicidad, el benceno causa efectos en el sistema hematológico, ya que genera depleción de médula ósea lo que se manifiesta en una disminución de los diferentes grupos celulares (pancitopenia) (ATSDR 2006). La anemia aplásica es el efecto más severo del benceno y puede progresar a leucemia mielógena aguda (Qu et al 2003). Para el Pb está descrita su asociación con anemia (Schwartz et a 1990). Por otra parte, la co-exposición a HAPs pudiera estar generando una potenciación de la

hematotoxicidad del benceno vía activación del receptor arilo hidrocarbano (AhR). Este receptor está involucrado en diversos mecanismos celulares y moleculares que exacerban la hematotoxicidad del benceno (Yoon 2002). Hay estudios que señalan que los HAPs tienen la capacidad de activarlo, particularmente el benzo (a) pireno (Bin 2008, Stevens 2009), el cual ha sido detectado en el área de estudio (Bozada y Bejarano 2006). Mientras que una exposición a tolueno puede antagonizar los efectos del benceno (ATSDR 2004b).

Pese a la evidencia de la presencia en la mezcla de estos compuestos asociados a hematotoxicidad y genotoxicidad, no existe ningún reporte previo de evaluación de la exposición y efecto en la población humana que habita en el área. Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es contribuir con la evaluación de la exposición a HAPs, benceno, xileno, tolueno y Pb. Por lo cual, como efecto biológico, se evaluarán la genotoxicidad y hematotoxicidad en población infantil que habita alrededor del área industrial.

## **2.- MATERIALES Y MÉTODOS**

### **2.1.- Colecta de las muestras**

En el estudio participaron niños entre 6 y 12 años de edad de tres localidades cercanas al complejo petroquímico Pajaritos; estas fueron: Allende, Coatzacoalcos y Mundo Nuevo (Veracruz, México). Las localidades fueron seleccionadas con respecto a su posición al complejo industrial y la dirección de los vientos predominantes (sur-sureste) de manera que se presentara un gradiente de exposición (Figura 1). Los niños participantes nacieron y han vivido toda su vida en la zona. Se aplicó un cuestionario para obtener información sobre su estado de salud y factores de riesgo que pueden influir en los niveles de los biomarcadores de exposición y efecto. Los padres firmaron una carta de consentimiento informado.

Se colectó la primera orina de la mañana en recipientes estériles de polipropileno (PP). La muestra se separó en alícuotas de 15 ml en tubos cónicos de PP. Dos alícuotas fueron acidificadas con HCl 6M y almacenadas a 4 °C, en las cuales se cuantificaron el ácido *trans*, *trans*-mucónico (*t,t*-AM) metabolito del benceno, el ácido hipúrico (AH)

metabolito del tolueno y el ácido metil-hipúrico (AMH) metabolito de xilenos. Cuatro alícuotas fueron almacenadas a -30 °C; dos de éstas fueron procesadas para cuantificar 1-hidroxipireno (1-OHP) como biomarcador de exposición a HAPs. Las dos restantes fueron empleadas para medir los niveles de creatinina por el método colorimétrico de Jaffe (Brown 1982) y cuantificar los niveles de cotinina urinaria para evaluar la exposición al humo de tabaco.

Se colectaron muestras de sangre periférica en tubos con EDTA como anticoagulante. Se almacenaron a 4°C durante su traslado y su almacenamiento. Estas muestras se emplearon para la cuantificación de plomo en sangre (Pb-S), la evaluación de parámetros hematológicos y la realización del ensayo cometa. Éste estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

## **2.2.- Cuantificación de *t,t*-AM, AH y AMH**

Se solicitó a los participantes que no ingirieran alimentos procesados por un mínimo de 24 horas previas a la colecta de las muestras. Esto para evitar la interferencia del ácido sórbico utilizado como conservador y que también es metabolizado a *t,t*-AM (Weaver et al 2000). El *t,t*-AM se determinó por el método descrito por Ducos et al. (1992) con algunas modificaciones. Una alícuota de 1 ml previamente alcalinizada fue eluida a través de cartuchos de intercambio aniónico (SAX 500mg; 6 ml; Strata; phenomenex.). El *t,t*-AM fue eluido con 3 ml 10% (v/v) de ácido acético. 20 µL de la elusión fueron inyectados en un equipo HPLC (HP1100, Agilent Technologies) utilizando un detector UV-Vis (G1314A) y columna C-18 (Zorbax). Bajo estas condiciones de análisis los límites de detección (LD) y de cuantificación (LC) son de 0.03 mg/L y 0.1 mg/L, respectivamente. El control de calidad se empleó el estándar calibrador IRIS Clin Cal Recipe (Munich, Germany) 9969 (5.1 mg/L *t,t*-AM), la recuperación fue de 97.7 %.

La cuantificación de AH y AMH se desarrolló de acuerdo al método NIOSH 83001 (NIOSH, 2003). La muestra fue centrifugada a 3000 xg y filtrada (membranas Millipore 0.22µm Ø) y se inyectaron 20 µL directamente al equipo anteriormente descrito. Los LD y LC bajo las condiciones desarrolladas, para el AH son, de 2 mg/L y 23 mg/L, respectivamente. Para el AMH son de 10 mg/L y 50 mg/L, respectivamente. Como

control de calidad se empleó el estándar certificado IRIS Clin Cal Recipe (Munich, Germany) 9969 (1.36 g/L AH, 112 mg/L AMH). La recuperación fue de 95.5 %.

### **2.3.- Cuantificación de 1-OHP**

El 1-OHP fue cuantificado siguiendo el método descrito por Jongeneelen et al. (1987) y Kuusimäki et al. (2004) Los análisis se realizaron por un equipo HPLC (HP1100, Agilent Technologies) utilizando un detector de Fluorescencia (G1321A). La pre-columna usada fue Zorbax SB-C18 y la columna empleada fue Zorbax Eclipse XDB-C18. Bajo estas condiciones el LD en orina fue de 1.0 nmol/L y el LC de y 3.6 nmol/L. El control de calidad se empleó el estándar certificado IRIS Clin Cal Recipe (Munich, Germany) 8867 (15.6 nmol/L 1-OHP), la recuperación fue de 98.5%.

### **2.4.- Determinación de cotinina urinaria**

Los niveles de cotinina se determinaron utilizando Accutest, tiras NicAlert (Jant farmacéuticos, Encino, CA). Un resultado NicAlert de Nivel 3 (100-200 ng/mL) o superior indica exposición al humo de tabaco de ya sea de manera activa o pasiva.

### **2.5.- Cuantificación de plomo en sangre**

Los niveles de Pb-S fueron cuantificados por el método descrito por Subramanian (1987). En presencia de modificador de matriz (fosfato de amonio-Triton X- 100 en presencia de ácido nítrico al 0.2%) y las muestras fueron analizadas en un espectrofotómetro de Absorción atómica Perkin-Elmer 3110 con horno de grafito. Al tiempo del estudio nuestro laboratorio participaba en un programa de control de calidad del CDC, la recuperación para las muestras de sangre proporcionadas por éste fue de 96.8%.

### **2.6.- Evaluación nutricional**

Se obtuvieron datos de talla, peso y edad. Empleando el programa Epi Info 6.0, el cual utiliza como referencia los datos recabados por el Centro Nacional de Estadística de Salud de los Estados Unidos (NCHS) (Kuczmarski et al 2000), se calcularon los z score para peso para la edad (ZPE) y talla para la edad (ZTE) como indicadores de

desnutrición crónica y aguda respectivamente. Los valores se clasificaron de acuerdo a criterios de la CDC: un valor de z score de ZPE o de ZTE  $< -2$  clasifica a los niños como desnutridos y un valor de z score  $> 2$  de ZPE indica sobrepeso en los niños (CDC, 2002).

## **2.7.- Ensayo cometa**

El daño al ADN fue determinado en linfocitos de sangre periférica por el ensayo cometa en condiciones alcalinas descrito previamente por Singh et al (1988). Un total de 50 células fueron examinadas por cada laminilla procesada por duplicado con un microscopio de epifluorescencia (Nikon Eclipse E400). Se determinó el momento (OTM por sus siglas en inglés) por análisis de imagen con el software Komet, version 4 (Kinetic Imaging Ltd., Liverpool, UK).

## **2.8.- Conteo de células sanguíneas y diferenciación**

Las muestras de sangre periférica fueron procesadas en las siguientes tres horas posteriores a su colecta en un laboratorio local y fueron analizadas por un equipo ADVIA 120 Bayer Coulter T540. Se cuantificaron células blancas totales (WBC), hemoglobina (Hb), hematocrito (Ht), eritrocitos (RBC) y plaquetas. El diagnóstico de anemia se realizó bajo los siguientes criterios para niños de 5 a 12 años. Para los niveles de Hb el punto de corte fue de 12 g/dL (WHO 2008) y para Ht fue de 35% (Schwartz 1990). Los reportes de biometría hemática fueron revisados por un médico hematólogo competente. La clasificación de la prevalencia de anemia como problema de salud pública se estableció bajo los siguientes criterios de la OMS (WHO 2008): Si la prevalencia de anemia es  $< 4.9\%$ , no existe problema; si el porcentaje va de 5-19.9% el problema es leve; de 20-39.9% la anemia es un problema moderado; se convierte en un problema de salud severo si el porcentaje supera el 40%.

## **2.9- Factorización de niveles de exposición**

Se agruparon los datos de cada biomarcador bajo cuatro categorías. Para cada caso se manejaron los niveles reportados en la bibliografía asociados a efectos, exposición ocupacional en adultos o en población infantil. A continuación se presentan las

categorías para cada biomarcador excepto para AMH, que como se discute en la sección de resultados fue No Detectable (ND)

### *2.9.1.- Categorización de Pb-S*

Se clasificaron los niveles de Pb-S en las siguientes categorías: la primera ( $< 5 \mu\text{g/dL}$ ) clasifica los niveles de Pb-S a los cuales se presentan efectos neurológicos, pero no se reportan alteraciones en los índices bioquímicos en niños (Ahamed 2005, Jin 2006). El segundo nivel (5 a  $<10 \mu\text{g/dL}$ ) agrupa concentraciones por debajo del valor de Pb-S señalado por la CDC ( $10 \mu\text{g/dL}$ ) como guía de intervención. Sin embargo, hay referencias que relacionan este rango de concentración con alteraciones en la actividad de la enzima ALAD y otras enzimas (Ahamed 2005). Para crear la tercer categoría ( $10 \text{ a } <20 \mu\text{g/dL}$ ) manejamos valores arriba del nivel de intervención CDC (CDC, 1991) los cuales están asociados a anemia moderada y severa en niños así como disminución del metabolismo de la vitamina D (Ahamed et al 2008, Schwartz et al 1990). Finalmente, la cuarta categoría ( $\geq 20 \mu\text{g/dL}$ ) agrupa niveles de Pb-S en los que se presenta anemia causada por el Pb en niños (Jain et al 2005).

### *2.9.2.- Categorización de 1-OHP*

Para este indicador, se emplearon puntos de referencia para 1-OHP urinarios de la guía europea para exposición ocupacional propuesta por Jongeneleen (2001). Nuestro primer punto de corte se refiere a las concentraciones en individuos no expuestos y no fumadores ( $<0.24 \mu\text{mol 1-OHP/mol}$ ), el segundo punto de corte va de este valor al nivel reportado para individuos no expuestos pero si fumadores ( $0.24 \text{ a } <0.76 \mu\text{mol /mol creatinina}$ ); el tercer punto va del 0.76 a 1.4 que es un valor asociado a un Nivel de No Efecto (NOAEL) para genotoxicidad. La cuarta categoría se construyó por arriba 1.4  $\mu\text{mol /mol creatinina}$ .

### *2.9.3.- Categorización t,t-AM*

El *t,t*-AM ha sido propuesto como un biomarcador sensible a exposición a niveles bajos de benceno. No obstante, los estudios que evalúan la exposición a benceno cuantificando *t,t*-AM en niños son escasos. De los estudios existentes creamos las siguientes categorías: la primera ( $<100 \mu\text{g/g creatinina}$ ) agrupa concentraciones debajo de las cuantificadas en niños que habitan zonas rurales (Amodio-Cocchieri et al 2001). El segundo corte ( $100 \text{ a } <170 \mu\text{g/g creatinina}$ ) clasifica los niveles menores a los reportados en niños que habitan zonas urbanas (Ruchiwarat et al 2006). Para las

categorías tres y cuatro se empleó el nivel de *t,t*-AM propuesto por la ACGIH (American Conference of Governmental and Industrial Hygienists) como índice de exposición biológica (BEI por sus siglas en inglés) para adultos ocupacionalmente expuestos: 500 µg/g creatinina (ACGIH 2004). La categoría tres va de 170 a <500 µg/g creatinina y la cuarta agrupa los valores por arriba de 500 µg/g creatinina.

#### 2.9.4.- Categorización de AH

Para este indicador, en ausencia de datos en niños se emplearon concentraciones de AH evaluadas en adultos. El primer punto de corte (<0.36 g/g creatinina) clasifica concentraciones menores a los niveles basales reportados en adultos no fumadores (Siqueira y Paiva 2002). El segundo nivel (<0.52 g/g creatinina) refiere a niveles de individuos fumadores no expuestos ocupacionalmente (Roma-Torres *et al* 2006). Para las categorías tres y cuatro, empleamos el valor BEI establecido por ACGIH: 1.6 g/g creatinina (ACGIH 1992). La categoría tres va de 0.52 a <1.6 y la cuarta agrupa valores superiores al BEI.

### 2.10.- Análisis Estadístico

Los datos fueron transformados logarítmicamente, a excepción de los parámetros nutricionales, para conseguir una distribución normal. Se realizaron pruebas ANOVA de los biomarcadores de exposición y de efecto para cada una de las localidades, de las que resultaron significativas se efectuó una prueba post hoc (LSD). Se efectuó el análisis de correlación entre los biomarcadores de exposición y de efecto. Se calcularon correlaciones parciales ajustadas por ZTE y ZPE. Los análisis estadísticos se realizaron empleando el programa STATISTICA versión 6.0 (STATISTICA, 2001).

## 3.- RESULTADOS

### 3.1.- Características de la población y estado nutricional

La Tabla 1 presenta las características de edad y estado nutricional de los niños de las tres localidades, puede advertirse que no hubo diferencia significativa de estos parámetros entre las localidades. Los resultados de éstos, así como el criterio profesional, indican que la población no presenta desnutrición. Por otra parte, la

cuantificación de cotinina urinaria señala que no existe exposición al humo de tabaco puesto que sólo un niño presenta un nivel que indica tabaquismo pasivo. El resto se encuentra en niveles 0 (1-10 ng/mL) y 1 (10-30 ng/mL).

### 3.2.- Evaluación de la exposición

Los resultados de la evaluación de exposición se agrupan por localidad en la Tabla 2. No hubo diferencia significativa entre localidades en las concentraciones de Pb-S, *t,t*-AM y AH, mientras que el AMH no fue detectado en las localidades. No existe un gradiente de exposición a Pb, benceno y tolueno asociado a la ubicación de las comunidades con respecto a las industrias y a la dirección de los vientos (véase Figura 1). Sólo los niveles de AH en Mundo Nuevo son ligeramente mayores con respecto a las otras dos localidades.

Con respecto a la exposición a HAPs, los resultados de los niveles de 1-OHP evidencian tres niveles de exposición: Allende, con las concentraciones más bajas (Media Geométrica (MG): 0.20  $\mu\text{mol/mol}$  creatinina); Mundo Nuevo (MG: 0.41  $\mu\text{mol/mol}$  creatinina) y finalmente en López Mateos donde se encuentran los niveles más altos de 1-OHP (MG: 1.26  $\mu\text{mol/mol}$  creatinina) presentando diferencia significativa con respecto a los otros dos sitios (LSD post hoc test  $p < 0.001$ ).

Al analizar los datos de todos los niños se encuentra una correlación parcial (ajustada por ZTE y ZPE) entre *t,t*-AM y AH ( $r = 0.24$ ;  $p < 0.05$ ) y los niveles de Pb-S con *t,t*-AM ( $r = 0.23$ ;  $p < 0.05$ ). Estas correlaciones indican una fuente y tal vez una ruta común para estos compuestos.

En la Tabla 3 se presentan los porcentajes de los niños agrupados por categoría para cada biomarcador. Los niveles de Pb-S en las tres localidades se encuentran debajo del límite de intervención CDC en un 95% de los niños. Pero una proporción importante se clasifican en la categoría dos, que se relaciona a algunos efectos adversos. Por otra parte, en las tres localidades los niveles de *t,t*-AM son superiores al BEI en más del 30% de los niños y en un 70-80% en concentraciones mayores a lo reportado en adultos, lo cual indica que existe una exposición importante a benceno en toda la zona. Con respecto al AH sólo el 50% tiene niveles basales, lo cual indica exposición a tolueno. En

Mundo Nuevo se presentan los niveles más altos de AH sin superar en ningún caso el BEI, el 40% de los niños se ubica en la categoría 3 que son valores superiores a los niveles reportados en fumadores.

Los niveles de exposición a HAPs son claros al observar la distribución porcentual de los niños con respecto a los niveles pre-establecidos. En Allende, la comunidad con más baja exposición, el 89% de los niños están clasificados en las primeras dos categorías. El siguiente nivel de exposición es en Mundo Nuevo donde se observa un 65% de niños con valores para individuos no expuestos mientras que casi el 24% superan el NOAEL. Finalmente, López Mateos es el escenario de mayor exposición a HAPs, no hay niños que se encuentren en las categorías de 1-OHP urinario de individuos no expuestos ocupacionalmente y 42% de los niveles cuantificados se encontraron por encima del NOAEL.

### **3.3.- Evaluación de Genotoxicidad**

Los datos de la Tabla 4 muestran los resultados obtenidos en la evaluación de daño a ADN. Se observa que casi el cien por ciento de los niños superan el valor basal del momento (OTM: Olive tail moment) reportado por Bajpayee (2002). La localidad de Allende presenta la MG de OTM más baja y es significativamente diferente de las otras dos comunidades (LSD post hoc test;  $p < 0.001$ ), en magnitud le sigue Mundo Nuevo y finalmente López Mateos con la MG más alta de OTM. Esta estratificación del efecto se asocia a los niveles de exposición a HAPs previamente descritos y así lo demuestra la correlación parcial significativa entre OTM y los niveles de 1-OHP ( $r = 0.24$ ;  $p < 0.05$ , ajustada por ZPE y ZTE). Los otros tres compuestos no se correlacionaron significativamente con este efecto.

### **3.4.- Evaluación de Hematotoxicidad**

De la misma manera que el efecto genotóxico, se observa que López Mateos presenta una mayor severidad en cuanto al efecto hematotóxico. Esta tendencia se aprecia bien en la clasificación de la anemia como problema de salud pública, aún cuando no hubo diferencia significativa de los parámetros hematológicos entre las comunidades; la prevalencia de anemia por localidad se presenta en la Tabla 5. A diferencia de la Hb, el

Ht estratifica este efecto de manera más clara. Se aprecia que Mundo Nuevo tiene una menor prevalencia de anemia seguido de Allende, clasificando este padecimiento en ambas localidades como un problema de salud pública leve (5-19.9%). En López Mateos la anemia se clasifica como un problema de salud pública moderado (20-39.9%) (WHO 2005).

De la evaluación de las correlaciones parciales (ajustadas por ZTE y ZPE) entre los parámetros hemáticos y los biomarcadores de exposición de los datos de todos los niños, sólo la correlación entre *t,t*-AM y el Ht fue significativa ( $r = -0.2$ ;  $p < 0.05$ ). Estas correlaciones también fueron evaluadas por localidad resultando sólo significativas en López Mateos; en la Tabla 6 se presentan los coeficientes de correlación entre los niveles de *t,t*-AM y los parámetros hemáticos que resultaron significativos en esta comunidad. Asimismo, en esta misma localidad se observa una correlación negativa entre los niveles de Pb-S y WBC ( $r = -0.69$ ;  $p < 0.05$ ).

Por otra parte, en Mundo Nuevo donde la prevalencia de anemia es más baja la exposición a tolueno es más alta. Sin embargo, esta relación entre exposición-efecto no pudo ser establecida.

#### **4.- DISCUSIÓN**

Coatzacoalcos es una zona altamente impactada por las emisiones de diversas fuentes: actividad industrial química y petroquímica, aplicación de plaguicidas y herbicidas, tráfico marítimo, vehicular y ferroviario, descargas de residuos urbanos e industriales, etc. Esto ha generado una mezcla compleja de contaminantes a la que la población está expuesta y que ocasionan múltiples efectos adversos. En esa mezcla tóxica se encuentran compuestos hematotóxicos y genotóxicos tales como benceno, plomo y HAPs los cuales cuantificamos en las tres comunidades seleccionadas en este estudio. Esta mezcla varía en proporción de algunos contaminantes de acuerdo a la ubicación de las localidades con respecto a las fuentes.

Los resultados de la evaluación de la exposición generan el siguiente escenario: los niveles de exposición en las tres localidades son similares para Pb y benceno; la exposición a tolueno es mayor en Mundo Nuevo; y para los HAPs se aprecia un

gradiente de exposición en tres niveles, en orden creciente: Allende, Mundo Nuevo y López Mateos.

De acuerdo a las correlaciones entre los biomarcadores de exposición, podemos inferir que tanto Pb, benceno y tolueno proceden de la misma fuente la cual es muy probable que se trate de emisiones generadas en la industria. Esto es debido a que se trata de metabolitos de compuestos que son producidos como materia prima por algunas empresas. Por otra parte, la diferencia en la exposición a HAPs apunta a que las fuentes son diferentes para las tres localidades. La fuente constante en toda la zona es el intenso tráfico vehicular y aparentemente se trata de la fuente principal de HAPs para Allende. En cuanto a Mundo Nuevo, su ubicación con respecto a las industrias sugiere que las emisiones generadas por la actividad industrial son otra posible fuente de HAPs. Mientras tanto, en López Mateos la alta exposición a estos compuestos puede tener como explicación la cercanía de la comunidad al complejo Pajaritos y sus incineradores, a la red ferroviaria y a la terminal marítima que genera emisiones por el intenso tráfico marítimo.

Los niveles de Pb-S se encuentran por debajo del límite de intervención CDC, pero por encima de la MG reportada en el NHANES en niños de 6-11 años ( $1.25\mu\text{g}/\text{dL}$ ). Por otra parte, los niveles de *t,t*-AM cuantificados en la zona son niveles semejantes a los reportados en adultos ocupacionalmente expuestos a  $1\text{ mg}/\text{L}$  de benceno en aire en diversas industrias (Waidyanatha et al 2004) lo que explica el alto porcentaje por encima del BEI ( $500\mu\text{g}/\text{mol}$  creatinina) para este biomarcador. En cuanto a los HAPs los niveles detectados en las tres localidades de estudio son superiores a la MG de NHANES para el grupo de niños de 6-11 años ( $\sim 0.12\mu\text{mol}/\text{mol}$  creatinina) y a los reportados en otros estudios (Ruchiwarat 2007). Allende y Mundo Nuevo se encuentran en el rango de concentraciones de 1-OHP reportado por Martínez-Salinas et al (2009) de niños expuestos a tráfico vehicular pesado ( $0.2\mu\text{mol}/\text{mol}$  creatinina) y en ladrilleras ( $0.5\mu\text{mol}/\text{mol}$  creatinina). López Mateos está por encima de esos niveles pero no alcanza lo que reporta ese estudio en niños expuestos a combustión de biomasa ( $2.2\mu\text{mol}/\text{mol}$  creatinina). Si comparamos las concentraciones de los biomarcadores cuantificados con los niveles referidos en la literatura y en las guías ocupacionales podemos decir que el benceno y los HAPs son los contaminantes de mayor preocupación en el área.

Sin embargo es necesario puntualizar que los niños son vulnerables a otros efectos que no hemos evaluado aquí. Por ejemplo, los niveles de Pb detectados en los niños se encuentran en el rango de concentraciones a las cuales existe neurotoxicidad. Por otra parte tanto la exposición a HAPs y benceno excede los límites establecidos para individuos ocupacionalmente expuestos y a los cuales el riesgo de presentar efectos se incrementa principalmente efectos mutagénicos, (Jongeneelen 2001); o en el caso del benceno el riesgo de depleción de ciertas células sanguíneas también aumenta (Lan, 2004). En cuanto a los niveles de exposición a tolueno, no existen reportes de otros efectos adversos a los niveles que nosotros hemos encontrado. No obstante, todos los estudios realizados han sido efectuados en población adulta, por lo tanto el efecto en niños a estos niveles de exposición a HAPs, benceno y tolueno, no es claro.

En cuanto a la genotoxicidad, en las tres localidades el valor promedio de momento fue de dos a tres veces mayor que el nivel basal que refiere Bajpayee (2002). Nuestros datos evidencian una relación entre la exposición a HAPs y el OTM ( $r=0.24$ ,  $p<0.05$ ). Esta relación entre los niveles de 1-OHP y genotoxicidad fue previamente descrita por Leal (2009) en niños con niveles promedio de 1-OHP de 0.2 expuestos a emisiones de tráfico vehicular y 0.5  $\mu\text{mol/mol}$  creatinina en ladrilleras, la media de OTM fue de 1.1 y 3.9, respectivamente. Sin embargo a pesar de que nuestros datos están ajustados por el estado nutricional de los niños, esta relación no explica el efecto genotóxico observado que es más severo en comparación con el estudio de Leal. Este resultado podría deberse a la exposición simultánea a otros compuestos genotóxicos; por ejemplo, en la zona de estudio encontramos también una exposición alta a benceno. Esta co-exposición representa un riesgo genotóxico mayor, dada la posibilidad de una interacción entre el benceno y los HAPs puesto que ambos compuestos son metabolizados por CYP450 y generan metabolitos que son especies reactivas capaces de producir estrés oxidativo, formación de aductos y mutagenicidad (Shimada 2006, Snyder 2000). Sin embargo, nuestros resultados de exposición a benceno no nos permiten demostrar esta interacción debido a que a diferencia de los niveles de 1-OHP, el *t,t*-AM no presenta un gradiente de exposición; más bien, un 70-80% de los niños presentan niveles altos. Por otra parte, muy probablemente este efecto sea también generado por otros genotóxicos presentes en la zona y que no han sido cuantificados en el presente trabajo tales como DDT,

dioxinas, cloruro de vinilo, etc. Por lo tanto, es un dato que merece ser estudiado con mayor profundidad.

En la evaluación del efecto hematotóxico, no existe una diferencia significativa en las medias de los parámetros hematológicos entre las tres localidades. Sin embargo, si encontramos una diferencia de la prevalencia de la anemia como problema de salud pública. Aunque la exposición a benceno y Pb es similar en las tres localidades la prevalencia de anemia es mayor en López Mateos; este aumento, si se evalúa con el hematocrito, se incrementa tres veces con respecto a Allende y hasta más de 5 veces con respecto a Mundo Nuevo (Tabla 5). Esta condición clínica no está relacionada a condiciones nutricionales pues la población no presenta problemas de desnutrición de acuerdo a los parámetros CDC y al criterio profesional.

Es sólo en López Mateos que encontramos correlaciones inversas significativas entre los niveles de *t,t*-AM y WBC, RBC, Ht y Hb (tabla 6). Estas correlaciones son mayores a las reportadas previamente por Qu et al (2002) en trabajadores expuestos a concentraciones bajas de benceno en aire (2.26 mg/L) en el cual reporta asociaciones significativas entre los niveles de *t,t*-AM y RBC ( $r=-0.26$ ) y WBC ( $r=-0.14$ ). Pero tanto el estudio de Qu y otros estudios no aportan evidencia de efectos clínicos asociados a exposición a benceno a bajas concentraciones, de manera crónica en individuos ocupacionalmente expuestos (Collins 1991, Lan 2004). Es por eso que en nuestro estudio resalta esta asociación entre el decremento de parámetros hemáticos y la exposición a benceno así como el incremento en la prevalencia de anemia en este sitio.

Esta condición clínica puede ser explicada desde una posible interacción entre el benceno, la exposición a Pb y a la co-exposición a niveles altos de HAPs; López Mateos es la localidad con mayor exposición a estos compuestos y es posible que esa diferencia en la exposición genere un comportamiento diferente de la mezcla generando una mayor sensibilidad a los efectos del benceno a diferencia de las otras dos localidades. Esta posibilidad es plausible pues uno de los mecanismos de toxicidad de algunos HAPs, como el benzo (a) pireno, es la alta afinidad por el AhR (Böstrom et al 2002, Stevens et al, 2008). El AhR es un factor de transcripción ligando-activado que actúa en unión con el receptor translocador (ARNT). Una serie de estudios indican que el AhR tiene un papel importante en la hematotoxicidad del benceno. Se señalan como posibilidades: 1)

Que la actividad alterada de ese receptor genere una disminución o un aumento de las enzimas CYP450 y otras enzimas, responsables de la activación de los metabolitos tóxicos del benceno aumentando así su efecto hematotóxico (Hirabayashi et al 2004, Yoon et al 2002) y 2) Una sobre regulación de los genes involucrados en el crecimiento y diferenciación de células hematopoyéticas que favorecería la promoción de las condiciones en las cuales las células madre se someten a una diferenciación y proliferación anormal generando una respuesta que puede ser aditiva o sinérgica con el benceno (Hirabayashi, 2008, Gasiewicz 2009).

Otro dato interesante es la correlación negativa entre Pb-S y WBC en esta localidad, aún y cuando no existen reportes de hematotoxicidad del Pb a niveles < 10 µg/dL. Mielzynska (2005) asocia el incremento de micronúcleos en niños en niños expuestos a PAHs y Pb. Sin embargo, no hay reportes que indiquen el papel a nivel molecular o celular que asocie al Pb con el mecanismo de toxicidad del benceno y/o los HAPs. Por lo que consideramos que es importante evaluar la participación del Pb al efecto hematotóxico final.

En la Figura 2 se describe una posible hipótesis en un diagrama postulado por Hirabayashi, 2004. Este gráfico señala el metabolismo del benceno y los posibles mecanismos de acción que inducen leucemia y/o alteraciones en el sistema hematopoyético y en el cual añadimos las posibles interacciones de los HAPs y por otra parte, al Pb generando ROS contribuyendo al estrés oxidativo.

Por otra parte Mundo Nuevo, la localidad con una exposición ligeramente mayor a tolueno, presenta una tendencia a disminuir la prevalencia de anemia; sin embargo, las limitaciones metodológicas de nuestro estudio no permitieron establecer estadísticamente estas diferencias que aparentemente podrían asociarse a un efecto antagonista del tolueno sobre el mecanismo del benceno (ATSDR 2004b).

## **5.- CONCLUSIONES**

Nuestros resultados de exposición y efecto señalan que tanto el incremento de la genotoxicidad y la anemia asociada a la exposición a benceno, así como la depleción de grupos celulares a niveles bajos de Pb es favorecida con una co-exposición a niveles

altos de HAPs. Es importante señalar que si bien no puede establecerse la fracción atribuible de causalidad para cada componente, la exposición a la mezcla genera susceptibilidad en los individuos para presentar enfermedad por alguna exposición aguda a estos u otros tóxicos o bien, a la generación de un efecto a largo plazo por el continuo estrés del organismo de mantener la homeostasis. De tal manera que lo más indicado será dar seguimiento en la evaluación hematológica de estos niños pues es probable que algunos de ellos desarrollen estados clínicos más severos incluidos la leucemia y otro tipo de cánceres. Lo más factible sería realizar monitoreos de las emisiones de las industrias para generar medidas para disminuir o eliminar la emisión de compuestos tóxicos y por ende, aminorar los impactos a la salud.

Finalmente, este estudio demuestra que es importante abordar el escenario de la salud ambiental con una mente abierta a las posibilidades de interacciones considerando las exposiciones simultáneas aun si la exposición ocurriera a concentraciones consideradas seguras, con la finalidad de proponer soluciones reales y disminuir o eliminar en lo posible los efectos adversos.

## 6.- REFERENCIAS

ACGIH (American Conference of Governmental Industrial Hygienists) 2005. Threshold limit values for chemical substances and physical agents and biological exposure indices. Cincinnati, OH

Ahamed M, Verma S, Kumar A, Siddiqui MKJ. 2005. Environmental exposure to lead and its correlation with biochemical indices in children. *Sci Total Environ* 346:48-55

Ahamed M, Fareed M, Kumar A, Siddiqui WA, Siddiqui MKJ. 2008. Oxidative stress and neurological disorders in relation to blood lead levels in children. *Redox Report* 13: 3

Amodio-Cocchieri R, Del Prete U, Cirillo T, Agozzino E, Scarano G. 2001. Evaluation of benzene exposure in children living in Campania (Italy) by urinary trans,trans-muconic acid assay. *J Toxicol Environ Health A*. 63:79-87.

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry). 2004a. Guidance Manual for the Assessment of Joint Toxic Action of Chemical Mixtures

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry). 2004b. Interaction profile for: benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX)

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry) 2009. Toxicological profiles. Disponible en: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/index.asp> (Fecha de último acceso: 03 febrero 2010)

Bajpayee M, Dhawan A, Parmar D, Pandey AK, Mathur N, Seth PK. 2002. Gender related differences in basal DNA damage in lymphocytes of a healthy Indian population using the alkaline comet assay. *Mut Res* 520:83–91.

Blake A. 2005. The next generation of POP's: PBDE's and Lindane. International POP's Elimination Network (IPEN). Washington D.C. USA. 15 p.

Bin P, Leng S, Cheng J, Dai Y, Huang C, Pan Z, et al. 2008. Association of aryl hydrocarbon receptor gene polymorphisms and urinary 1-hydroxypyrene in polycyclic aromatic hydrocarbon-exposed workers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 17:1702-8.

Bolin CM, Basha R, Cox D, Zawia NH, Maloney B, Lahiri DK, et al. 2006. Exposure to lead and the developmental origin of oxidative DNA damage in the aging brain. *FASEB J*. 20:788-90

Boström CE, Gerde P, Hanberg A, Jernström B, Johansson C, Kyrklund T, Rannug A, Törnqvist M, Victorin K, Westerholm R. 2002. Cancer risk assessment, indicators, and guidelines for polycyclic aromatic hydrocarbons in the ambient air. *Environ Health Perspect*. 110:451-88.

Bozada, LM y Bejarano F. 2006. Los contaminantes orgánicos persistentes en el istmo mexicano. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México. RAPAM. México, D.F. 79 p.

Brown B. 1982. Creatinine measurement module operating and service instructions. Brea (CA): Beckman Instruments. 54 p.

CDC (Centers for Disease Control). 1991. Preventing lead poisoning in Young children.

CDC (Centers for Disease Control). 2002. CDC growth charts for the United States: Methods and development. National Center for Health Statistics. Eds. Kuczmarski RJ, Ogden CL, Guo SS, et al. *Vital Health Stat* 11(246)

Collins JJ, Conner P, Friedlander BR, Easterday PA, Nair RS, Braun J. 1991. A study of the hematologic effects of chronic low-level exposure to benzene. *J Occup Med.* 33:619-26.

DiGangi J y Petrlink J. 2005. The egg report. International POP's Elimination Network (IPEN). Washington D.C. USA. 52p.

Ducos P, Gaudin R, Bel J, Maire C, Francin, J M, Robert A, et al. 1992. Trans,trans-Muconic acid, a reliable biological indicator for the detection of individual benzene exposure down to the mg/L level. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 64:309–313

EPA (Environmental Protection Agency). 2006. A Framework for Assessing Health Risks of Environmental Exposures to Children. EPA/600/R-05/093F. National Center for Environmental Assessment U.S. Washington, DC, EEUU. Disponible en: [www.epa.gov/ncea](http://www.epa.gov/ncea).

Epi Info. 2008. Version 6.0. CDC (Centers for Disease Control and Prevention).

Espinosa-Reyes G, Ilizaliturri CA, González-Mille DJ, Costilla R, Díaz-Barriga F, Cuevas MC, et al. 2010. DNA damage in earthworms (*Eisenia* spp.) as an indicator of environmental stress in the industrial zone of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *J Environ Sci Heal A* 45:49-55. DOI: 10.1080/10934520903388731

Gamboa RT, Gamboa AR, Bravo AH, Ostrosky WP. 2008. Genotoxicity in child populations exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the air from Tabasco, Mexico. *Int J Environ Res Public Health* 5:349-55.

Gasiewicz TA, Singh KP, Casado FL. 2009. The aryl hydrocarbon receptor has an important role in the regulation of hematopoiesis: Implications for benzene-induced hematopoietic toxicity. *Chem. Biol. Interact.* doi:10.1016/j.cbi.2009.10.019

Hirabayashi Y, Yoon BI, Li GX, Kanno J, Inoue T. 2004. Mechanism of benzene-induced hematotoxicity and leukemogenicity: current review with implication of microarray analyses. *Toxicol Pathol* 32:12-6.

Hirabayashi Y, Yoon BI, Li GX, Fujii-Kuriyama Y, Kaneko T, Kanno J, et al. 2008. Benzene-induced hematopoietic toxicity transmitted by AhR in wild-type mouse and

nullified by repopulation with AhR-deficient bone marrow cells: time after benzene treatment and recovery. *Chemosphere* 73:S290-4.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía) 2007. Anuario estadístico Veracruz de Ignacio de la Llave: ganadería. Disponible en: [http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/ae07/info/ver/c30\\_12.xls](http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/ae07/info/ver/c30_12.xls) (Fecha de último acceso: 12 enero 2010)

IPCS (International Programme on Chemical Safety). 2006. Principles for Evaluating Health Risk in Children Associated with Exposure to Chemicals. Ginebra, Suiza. 237 pp.

Jain NB, Laden F, Guller U, Shankar A, Kazani S, Garshick E. 2005. Relation between Blood Lead Levels and Childhood Anemia in India. *Am J Epidemiol* 161:968-73

Jin Y, Liao Y, Lu C, et al. 2006. Health effects in children aged 3-6 years induced by environmental lead exposure. *Ecotoxicol Environ Saf* 63:313-17

Jongeneelen FJ, Anzion RB, Henderson PT. 1987. Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J Chromatogr* 413:227-32

Jongeneelen FJ. 2001. Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ann Occup Hyg* 45:3-13

Kuusimaki L, Peltonen Y, Mutanen P, Peltonen K, Savela K. 2004. Urinary hydroxy-metabolites of naphthalene, phenanthrene and pyrene as markers of exposure to diesel exhaust. *Int Arch Occup Environ Health* 77:23-30

Lan Q, Zhang L, Li G, Vermeulen R, Weinberg RS, Dosemeci M, et al. 2004. Hematotoxicity in Workers Exposed to Low Levels of Benzene. *Science* 306:1774-6.

Leal Pérez ME. 2009. Síntomas respiratorios y genotoxicidad en niños que viven en comunidades expuestas a contaminantes atmosféricos. Tesis. San Luis Potosí, S.L.P. Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

Martínez-Salinas RI, Elena Leal M, Batres-Esquivel LE, Domínguez-Cortinas G, Calderón J, Díaz-Barriga F, et al. 2009. Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. *Int Arch Occup Environ Health*. DOI: 10.1007/s00420-009-0482-x

Mielżyńska D, Siwińska E, Kapka L, Szyfter K, Knudsen LE, Merlo DF. 2006. The influence of environmental exposure to complex mixtures including PAHs and lead on genotoxic effects in children living in Upper Silesia, Poland. *Mutagenesis*. 21:295-304.

NHANES IV. 2009. Fourth national report on human exposure to environmental chemicals. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta

- NIOSH. (National Institute for Occupational Safety and Health). 2003. CDC. Hippuric and methyl hippuric acids in urine. Method 8301. (3) Manual of Analytical Methods.
- Qu Q, Shore R, Li G, Jin X, Chen LC, Cohen B, et al. 2002. Hematological changes among Chinese workers with a broad range of benzene exposures. *Am J Ind Med.* 42:275-85
- Riojas-Rodriguez H, Baltazar-Reyes MC, Meneses F. 2008. Volatile organic compound presence in environmental samples near a petrochemical complex in Mexico. *Abst Epidemiol* 19:1 S219
- Roma-Torres J, Teixeira JP, Silva S, Laffon B, Cunha LM, Méndez J, et al. 2006. Evaluation of genotoxicity in a group of workers from a petroleum refinery aromatics plant. *Mutat Res* 604:19-27.
- Rosales L, Carranza E. 2005. Estudio geoquímico de metales en el estuario del río Coatzacoalcos. p. 389-406. Botello AV, Rendón-Von Osten J, Gold-Bouchot G y Agraz-Hernández C (Eds). *Golfo de México Contaminación e Impacto ambiental: Diagnostico y Tendencias*. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Autónoma de México, Instituto de Ecología. 696 p.
- Ruchirawat M, Navasumrit P, Settachan D, Autrup H, Ann NY. 2006. Environmental impacts on children's health in Southeast Asia: genotoxic compounds in urban air. *Acad Sci.* 1076:678-90.
- Ruchirawat M, Settachan D, Navasumrit P, Tuntawiroon J, Autrup H. 2007. Assessment of potential cancer risk in children exposed to urban air pollution in Bangkok, Thailand. *Toxicol Lett.* 168:200-9.
- SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2009. Cuarto Informe Obligatorio del Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes 2007. Disponible en: <http://app1.semarnat.gob.mx/retc/index.html>
- Sexton K, Hattis D. 2007. Assessing Cumulative Health Risks from Exposure to Environmental Mixtures-Three Fundamental Questions. *Environ Health Perspect* 115:5
- Shimada T. 2006. Xenobiotic-metabolizing enzymes involved in activation and detoxification of carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons *Drug Metab Pharmacokinet.* 21:257-76.
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Schneider EL. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res* 175:184-91.
- Siqueira ME, Paiva MJ. 2002. Hippuric acid in urine: reference values. *Rev Saúde Pública* 36:6
- Sjögren M, Ehrenberg L, Rannug U. 1996. Relevance of different biological assays in assessing initiating and promoting properties of polycyclic aromatic hydrocarbons with respect to carcinogenic potency. *Mutat Res* 358:97-112.

Snyder R. 2000. Overview of the toxicology of benzene. *J Toxicol Environ Health A*. 61:339-46.

STATISTICA. 2001. StatSoft. Version 6.0. Tulsa (OK): StatSoft

Stevens EA, Mezrich JD, Bradfield CA. 2009. The aryl hydrocarbon receptor: a perspective on potential roles in the immune system. *Immunology*.127:299-311.

Stringer R, Labunska I, Bridgen K. 2001. Organochlorine and heavy metals contaminants in the environment around the Complejo Petroquímicos Paharitos, Coatzacoalcos, México. Nota técnica Greenpeace. University of Exeter. UK. 60 p.

Subramanian KS. 1987. Determination of lead in blood: Comparison of two GFAAS methods. *Atomic Spectrosc* 8:7-14.

Suk WA, Olden K, Yang RS. 2002. Chemical Mixtures Research: Significance and Future Perspectives. *Environ Health Perspect*. 110:891-2

Schwartz J, Landrigan PJ, Baker EL Jr, Orenstein WA, von Lindern IH. 1990. Lead-induced anemia: dose-response relationships and evidence for a threshold. *Am J Public Health* 80:165-8.

Vázquez-Botello A, Villanueva-Fragoso S, Rosales-Hoz L. 2004. Distribución y contaminación por metales en el Golfo de México. pp. 682-712. En: *Diagnostico ambiental del Golfo de México*. Compiladores: Caso MI, Pisanty E, Ezcurra E. SEMARNAT-INE (Ed)

Waidyanatha S, Rothman N, Li G, Smith MT, Yin S, Rappaport SM (2004) Rapid determination of six urinary benzene metabolites in occupationally exposed and unexposed subjects. *Anal Biochem* 327:184-99.

Weaver VM, Buckley T, Groopman JD. 2000. Lack of Specificity of trans,trans-Muconic Acid as a Benzene Biomarker after Ingestion of Sorbic Acid-preserved Foods, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 9:749-55.

WHO (World Health Organization). 2008. Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005 WHO Global Database on Anaemia. Eds. Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli and Mary Cogswell. Geneva, Switzerland.

Yáñez L, García-Nieto E, Rojas E, Carrizales L, Mejía J, Calderón J, Razo I, Díaz-Barriga F. 2003. DNA damage in blood cells from children exposed to arsenic and lead in a mining area. *Environ Res*. 93:231-40.

Yoon BI, Hirabayashi Y, Kawasaki Y, Kodama Y, Kaneko T, Kanno J, et al. 2002. Aryl hydrocarbon receptor mediates benzene-induced hematotoxicity. *Toxicol Sci*. 70:150-6.

Tabla 1. Edad y distribución de talla y peso para la edad en los niños evaluados por localidad.

Localidades	Allende	Lopez Mateos	Mundo Nuevo
Edad	8.0 (6-12)	7.4 (6-10)	7.9 (6-10)
Media ZTE	0.15	0.23	0.16
% Baja Talla (ZTE<2)	8.9	4.8	0
Media ZPE	0.16	-0.08	-0.02
% Bajo Peso ( ZPE<2)	2.2	0	2.7

ZTE: Talla para la edad; ZPE: Peso para la edad; media (mínimo-máximo)

Tabla 2. Niveles de plomo en sangre (Pb-S) y los metabolitos urinarios cuantificados en la población de estudio

Localidades	Allende	López Mateos	Mundo Nuevo
Pb-S ( $\mu\text{g/dL}$ )	4.5 (2.5-10.1) <i>n</i> =45	4.6 (2.9-9.6) <i>n</i> =20	5.2 (2.5-10.4) <i>n</i> =37
1-OHP ( $\mu\text{mol/mol}$ creatinina)	0.20 (0.04-2.08) <i>n</i> =44	1.26 (0.78 - 3.05)* <i>n</i> =16	0.41 (0.07 - 4.04) <i>n</i> =34
<i>t,t</i> -AM ( $\mu\text{g/g}$ creatinina)	388 (44 -1784) <i>n</i> =46	369 (62 -1414) <i>n</i> =21	363 (63 - 5521) <i>n</i> =38
AH (g/g creatinina)	0.34 (0.03-1.98) <i>n</i> =46	0.38 (0.06 - 2.12) <i>n</i> =21	0.46 (0.09- 1.5) <i>n</i> =38

Plomo en Sangre (Pb-S), 1-hydroxipireno (1-OHP), Ácido Mucónico (*t,t*-AM) y Ácido Hipúrico (AH)

Media Geométrica (mínimo-máximo) *n*

\*Significativamente diferente del resto de las localidades evaluada con prueba post hoc LSD ( $p<0.001$ )

Tabla 3. Porcentajes de niños por categoría de exposición para cada contaminante (n=91)

	Allende n=41				López Mateos n=15				Mundo Nuevo n=37			
Categorías	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pb-S	65.1	30.5	4.4	0	66.7	33.3	0	0	44.8	49.9	2.6	0
1-OHP	67.4	21.7	2.2	4.7	0	0	57.2	42.8	31.6	39.4	5.2	23.8
<i>t,t</i> -AM	4.4	4.4	58.6	34.8	9.5	0	57.2	33.3	10.5	11.5	43.8	34.2
AH	43.5	30.4	19.6	6.5	42.9	33.3	12	4.8	28.9	31.6	39.5	0

Pb-S: Pb en Sangre, 1-OHP:1-hidroxipireno (HAPs), *t,t*-AM: *t,t*-Ácido Mucónico (Benceno), AH: Ácido Hipúrico (Tolueno);  
Categorías descritas en Materiales y Métodos

Tabla 4. Comparación de medias del momento y porcentaje de niños con valores superiores al nivel basal para cada una de las localidades evaluadas

Localidad	Allende	López Mateos	Mundo Nuevo
Momento	8.3 (3.1-16.8)* n=44	11.7 (7.4-15.9) n=16	10.6 (5.6-22.9) n=37
% >4 <sup>#</sup>	95.5	100	100

Media Geométrica (mínimo-máximo) n; \*Significativamente diferente del resto de las localidades ( $p < 0.001$ ) LSD post hoc test

<sup>#</sup> Momento= 4: Valor de momento establecido como basal por Bajpayee (2002)

Tabla 5. Prevalencia de anemia en los niños evaluados en cada localidad

---

Localidades	Allende (n=45)	Lopez Mateos (n=20)	Mundo Nuevo (n=36)
Hb	18.2%	20.0%	10.8%
Ht	11.4%	30.0%	5.4%

---

Hb: Hemoglobina; Ht: Hematocrito

Criterios para el diagnóstico de anemia en niños de 6-12 años: Ht < 35%

(Schwartz, 1990) y Hb < 12.0 mg/L (WHO, 2008)

Tabla 6. Coeficientes de correlación Pearson entre el *t,t*-AM urinario y los parámetros hematológicos indicados en la localidad López Mateos (n=20)

	No ajustado	Ajustado <sup>a</sup>
Hb	-0.62**	-0.60**
Hto	-0.65*	-0.64**
WBC	-0.38	-0.51*
RBC	-0.47*	-0.42*

\*( $p < 0.05$ ) \*\*( $p < 0.01$ )

<sup>a</sup>Ajustado por talla para la edad (ZTE) y peso para la edad (ZPE)

Figura 1. Ubicación de las comunidades muestreadas, complejos industriales y zona portuaria en el área de estudio.

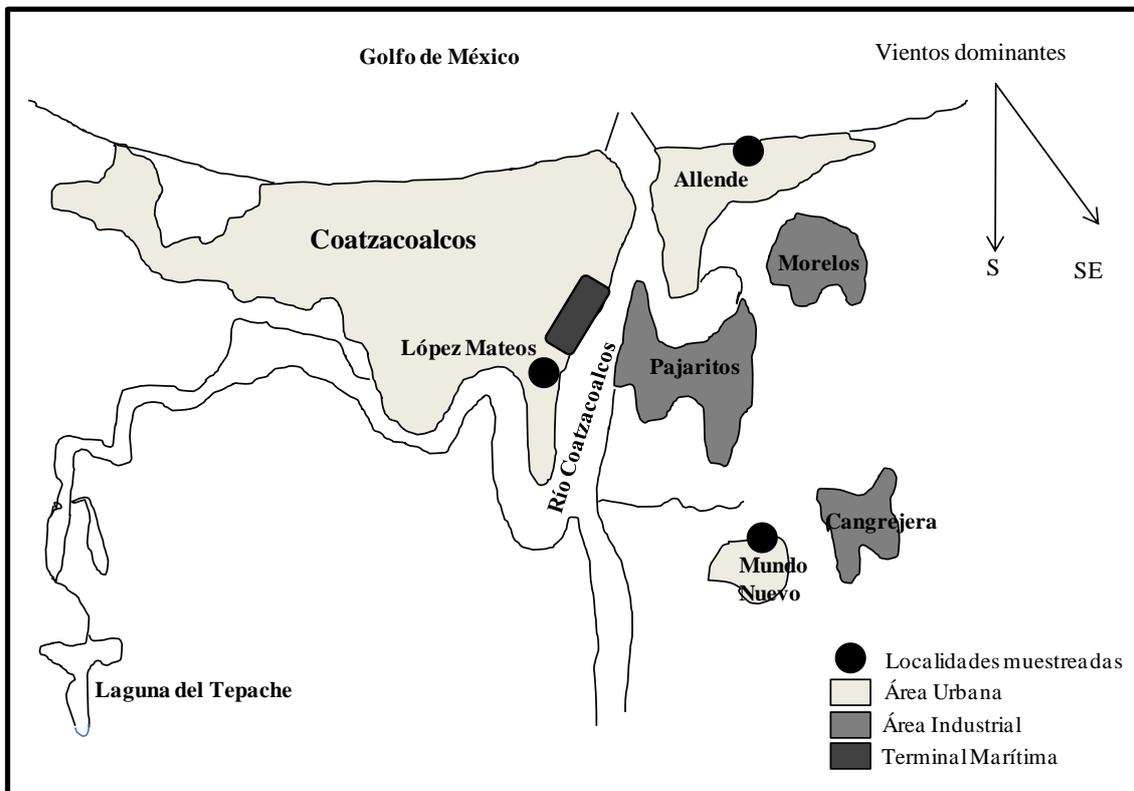
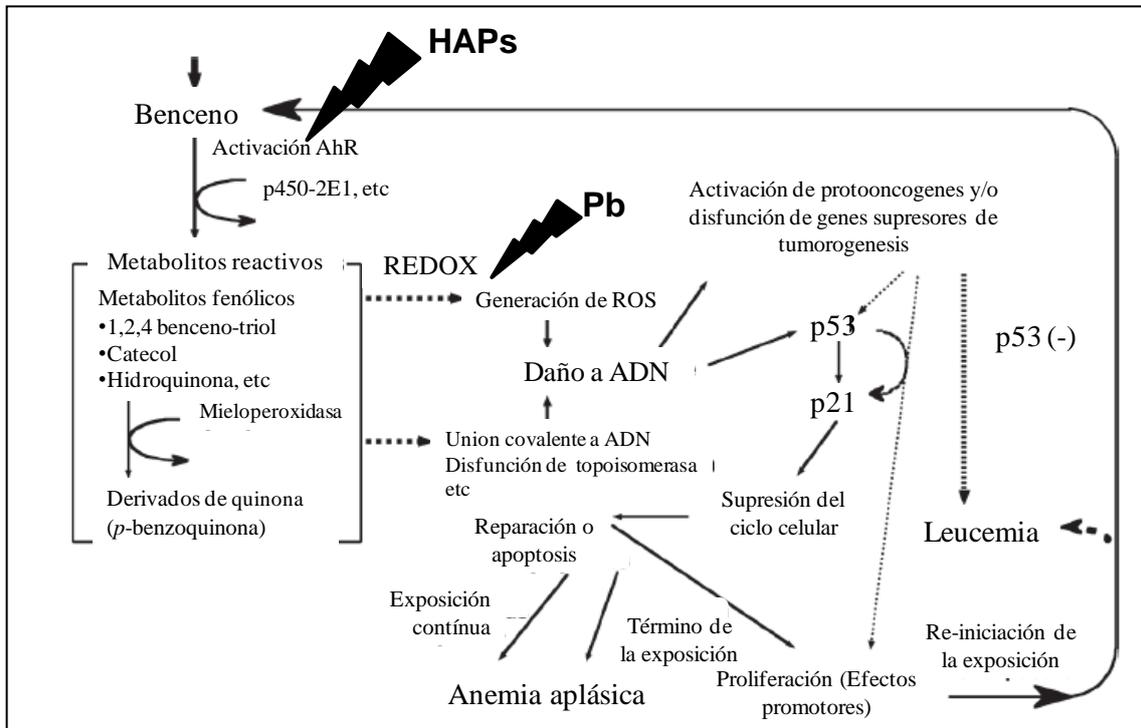


Figura 2. Metabolismo de Benceno Descrito por Hirabayashi, 2004 y las posibles interacciones del HAPs y Pb que potencian el efecto hematotóxico



## **ANEXOS**

## ANEXO 1

Actividades productivas y estudios preliminares en Coatzacoalcos  
Veracruz.

## **DESCRIPCIÓN DE LA ZONA DE ESTUDIO Y ESTUDIOS PRELIMINARES**

El desarrollo de la industria petrolera en México se ha generado en los últimos 70 años. En los años cuarenta esta industria inició su crecimiento al pasar de 51 millones de barriles producidos en 1940 a 86 millones en 1950 y la exportación en este último año sobrepasó los 12 millones de barriles (PEMEX, 2009). En cuanto a la industria petroquímica en 1951 se construyeron las refinerías de Poza Rica, de Salamanca, de Ciudad Madero, la nueva refinería de Minatitlán y se amplió la de Azcapotzalco. También, en ese mismo año, empezó el funcionamiento de una planta petroquímica básica en Poza Rica. Pemex Petroquímica cuenta con 60 diferentes plantas productoras en el país. Sin embargo, el 85% de sus productos son elaborados en la zona de Coatzacoalcos, distribuidos en los parques industriales de Cosoleacaque, Cangrejera, Morelos y Pajaritos. Además, alrededor del desarrollo de la industria del petróleo se asientan importantes complejos industriales de empresas privadas, lo cual incrementa el aporte de contaminantes al ambiente por la actividad productiva en esta región. Por otra parte, todo este desarrollo industrial propicia un crecimiento urbano que genera un alto impacto ambiental por la emisión de desechos urbanos, tráfico vehicular y marítimo aunado a otras condiciones y actividades que generan una mezcla compleja de contaminantes en el área de estudio.

### **Información demográfica**

El municipio de Coatzacoalcos, Veracruz está conformado por 157 comunidades con una población total de 280 363 habitantes. Los complejos petroquímicos se localizan a unos 7 kilómetros de la ciudad de Coatzacoalcos (234 174 habitantes). De acuerdo a la CONAPO (2000) el municipio de Coatzacoalcos tiene un grado de marginación muy bajo (-1.41). El 55.3% de la población percibe hasta dos salarios mínimos, el 98.3% de la población cuenta con servicio de drenaje y el 90.5% con agua entubada. Aproximadamente el 30% de la población total del municipio corresponde a habitantes de 0-14 años (INEGI, 2005).

## **Actividades productivas en la zona de estudio**

### *Industria química y petroquímica*

En el municipio se han establecido diversas industrias entre las cuales se encuentran 39 microempresas, dentro de estas hay 21 que fabrican productos con calidad de exportación. Destacan la industria petroquímica secundaria, fabricación de químicos y polietileno. Se encuentra además Pemex Petroquímica que es la encargada de la elaboración, almacenamiento, distribución y comercialización de todos los productos petroquímicos secundarios. En Coatzacoalcos operan tres complejos petroquímicos de la empresa paraestatal Petróleos Mexicanos: Pajaritos, La Cangrejera y Morelos; la zona de producción y procesamiento de productos derivados del petróleo cuenta, además de estos complejos (PEMEX, 2009), con cerca de 25 industrias que en los procesos productivos utilizan petroquímica básica. La mayoría de los procesos químicos de estas industrias participan en la cadena productiva que tiene como producto final el Monómero de Cloruro de Vinilo (MVC). Que es el principal producto que se generan en el complejo Pajaritos. Éste es la materia prima principal para generar el cloruro de polivinilo (PVC) que se utiliza en la fabricación de diferentes tipos de plásticos. En relación con la petroquímica básica, Pemex produce por lo menos los siguientes productos: benceno, xilenos, tolueno, hexano, heptano, pentanos, naftas, etano, propano, butano, azufre, solvente L, solvente K y solvente de absorción; así como los derivados que sean susceptibles de servir como materias primas industriales básicas (PEMEX, 2009).

Por otra parte, las empresas privadas generan diversos productos entre los que se encuentran: cloro, hidróxido de sodio, sal de mesa, etileno, óxido de etileno, ácido clorhídrico, propano, refrigerantes, 1,2-dicloroetano, cloruro de vinilo, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, tetraetilo de plomo, trifosfato de sodio, tolueno, di-isotiocianato (Stringer et al 2001). Algunos de estos productos están relacionados con procesos químicos en la cadena productiva que tiene como producto final el MVC. En la Tabla 1 se presenta un listado de las empresas operantes en el área así como sus productos principales.

**Tabla 1. Empresas ubicadas en la zona de Coatzacoalcos.**

<b>Empresa</b>	<b>Giro industrial</b>	<b>Productos</b>	<b>Status</b>
PEMEX Complejo Cangrejera		Aromáticos y solventes.	
Complejo Morelos	Petroquímica	Productos derivados del gas natural, y derivados del Etileno	En operación
Complejo Pajaritos		Monómero de cloruro de vinilo	
CELANESE Mexicana	Petroquímica	Acetilos, solventes, acrilatos, aminas y especialidades	En operación
FERTIMEX	Fertilizantes	Urea, Sulfato de amonio, nitrato de amonio y productos fosfatados	Dejó de operar en el 2000
TEMSA (Tetraetilo de México)	Química	Tetraetilo de Pb y Br	Dejó de operar en 1997
IQUISA	Química	Sosa Cáustica, Hipoclorito de Sodio, Cloro	En operación
Cloro de Tehuantepec	Química	Sosa Cáustica, Hipoclorito de Sodio, Cloro	En operación
Industrias Resistol	Química	Adhesivos	En operación

Fuentes: Bozada y Bejarano, 2006; CELANESE Mexicana, 2009; IQUISA, 2010; Mexichem, 2010, PEMEX, 2009

En el proceso de producción de MVC y PVC hay una emisión importante de sustancias tóxicas que se generan en las diferentes fases del proceso (Bozada y Bejarano, 2006).

El inventario de emisiones y transferencia de contaminantes de la Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT, 2009) compila las cantidades anuales vertidas hacia agua y aire por el total de actividades industriales en Coatzacoalcos. En la Tabla 2 se presentan los datos publicados para el año 2007. Cabe destacar que las emisiones se componen principalmente de metales pesados, compuestos orgánicos volátiles y gases de efecto invernadero. Comparando el total de la emisión de benceno

en Estados Unidos por la producción de plástico y caucho, esta fue de 0.0375 toneladas métricas en 2008 (EPA 2009), tres veces menos que en Coatzacoalcos.

**Tabla 2 Inventario de emisiones para la región de Coatzacoalcos**

Compuesto	Agua (toneladas métricas)	Aire (toneladas métricas)
Plomo	2.29	$2.7 \times 10^{-4}$
Mercurio	0.03	4.54
Cromo	$1.17 \times 10^{-3}$	0.843
Niquel	1.94	0.001
Cadmio	$6 \times 10^{-3}$	0.893
Arsénico	$1.1 \times 10^{-4}$	
Acroleina	0.012	
Cianuro	0.0465	
Formaldehido		0.046
Acetaldehido		0.098
1,2-diclorobenceno	$6.6 \times 10^{-4}$	
Benceno		0.119
Fenol	$5.2 \times 10^{-4}$	

Fuente: Cuarto Informe Obligatorio del Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes 2007 (SEMARNAT, 2009)

Aunado a los compuestos generados en la producción de las materias primas, algunos ya con características tóxicas (p.ej. benceno, tolueno, monocloruro de vinilo, etc), se generan diferentes productos tóxicos secundarios. Algunos de ellos incluidos en la “docena sucia” denominados Contaminantes Orgánicos Persistentes producidos de manera no intencional (U-POP’s, por sus siglas en inglés) tales como los bifenilos policlorados (PCB's, por sus siglas en inglés), el hexaclorobenceno (HCB), los policlorados p-benzodioxinas (PCDD's) y dibenzofuranos (PCDF's) los cuales por las características fisicoquímicas tienen una amplia distribución en diferentes compartimentos ambientales (DiGangi y Petrlink, 2005, Mackay D. y Webster E., 2006). La incineración de residuos organoclorados es una fuente conocida de dioxinas y

furanos. En los años de funcionamiento del Complejo Petroquímico Pajaritos, se han instalado, desmantelado y adquirido en distintos momentos y de manera sucesiva, tres incineradores para tratar los residuos peligrosos generados en el complejo e incluso recibir desechos acumulados y originados en otras plantas industriales (Bozada y Bejarano, 2006).

### *Agricultura y Ganadería*

El municipio cuenta con actividad agrícola y ganadera importante: una superficie total de 13,400 770 ha de las cuales se siembran 7,022 722 ha. y cuenta con 23,151 cabezas de ganado bovino, además de la cría de ganado porcino, ovino y equino (INEGI 2007). En ambas actividades se utilizan ampliamente diversos plaguicidas organoclorados.

### *Actividad Portuaria*

El Puerto de Coatzacoalcos se crea por decreto Federal el 8 de octubre de 1825. Se localiza sobre la margen izquierda del Río Coatzacoalcos, a 3.7 km de donde desemboca en el Golfo de México. El recinto portuario comprende un total de 122.32 ha con 60 ha disponibles para desarrollo ofertadas a inversionistas para puedan instalar a través de los procedimientos establecidos en la Ley de Puertos. Durante el 2007, por ejemplo, un total de 2.64 ha se destinaron para la instalación de compañías en el puerto (API, 2009).

El Puerto de Coatzacoalcos, cuenta con la mejor infraestructura ferroviaria del sistema portuario nacional. Tiene una extensión de 24.5 km de vías férreas, con 2 patios de transferencia, con capacidad para almacenar hasta 632 unidades de ferrocarril (API, 2009). Además la ciudad es atravesada de norte a sur por diversas carreteras generando una importante afluencia vehicular.

### *Control de vectores*

Por otra parte, además de la actividad industrial, ha existido una importante contribución de otro tipo de compuestos a la región, tales como el DDT y otros plaguicidas para el control de vectores de enfermedades humanas, principalmente paludismo.

## **Estudios previos en la zona**

### *Presencia de Contaminantes en matrices ambientales y biológicas.*

En la zona de estudio se han reportado diversos contaminantes como: Compuestos Orgánicos Persistentes (COP's), Bifenilos policlorados (PCB's), Hidrocarburos Aromáticos policíclicos (HAP's), Compuestos Bromados, Dioxinas y Metales, en diferentes medios ambientales y matrices biológicas.

Stringer et al (2001) realizó un estudio para la asociación ambientalista Greenpeace, que comprendió un monitoreo de agua, efluentes y sedimentos alrededor del Complejo Petroquímico Pajaritos. En las muestras colectadas se determinaron metales y compuestos orgánicos. Los resultados demostraron que hay concentraciones altas de 1,2-dicloroetano, superiores a las recomendadas por las regulaciones federales de E.U. para las industrias productoras de plástico. Además reporta la presencia de cloroformo, tetracloruro de carbono, cloruro de vinilo, zinc, cromo y mercurio en concentraciones que rebasan algunas de las regulaciones federales de E.U.

También se han cuantificado benceno y tolueno en agua del río Coatzacoalcos (Riojas-Rodriguez et al 2008). Los valores de benceno van de 0.021-1.08 mg/L y de tolueno entre 0.007-0.4 mg/L. Es importante señalar que estos compuestos son productos generados como materia prima en el centro productor Cangrejera (PEMEX 2009).

En otro estudio realizado por DiGangi y Petrlin (2005) para el IPEN (International POPs Elimination Network) se cuantificaron COP's en huevos de gallina colectados en la cercanía del complejo petroquímico Pajaritos, en el poblado "Paso a Desnivel" a una distancia aproximada de 1.5 a 2.0 Km del complejo. Los niveles de dioxinas determinados en los huevos muestreados, fueron 6 veces superiores a los límites establecidos por la Unión Europea y casi 19 veces superior que los niveles basales (0.2 - 1.2 pg WHO-TEQ/g lípidos) determinados en el mismo estudio para huevos de zonas no expuestas. Las concentraciones de los huevos analizados fueron 1.5 mayores a los límites estadounidenses para PCBs. Otro estudio reporta la presencia de compuestos bromados y lindano en estas mismas muestras (Blake 2005). La Tabla 3 resume algunos de los estudios que han sido realizados en la zona en matrices ambientales y biológicas.

**Tabla 3. Agentes tóxicos cuantificados en diferentes matrices muestreadas en el sitio de estudio**

<b>Agente toxico</b>	<b>Matriz</b>	<b>Referencia</b>
<b>Metales</b> As, Pb, Zn, Cd, Mn, Ni, Co, Cu, Cr, V y Hg	Agua Suelo Sedimentos Tejido (Fauna acuática)	Stringer et al 2001 Bozada y Namihura, 2005 Rosales y Carranza 2005 Vázquez-Botello y Páez 1986 Vázquez-Botello et al 2004 UASLP-INE 2007
<b>Hidrocarburos</b> Hidrocarburos totales del petróleo (HTP's) Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos HAP's (totales)	Agua Sedimentos Tejido (Fauna acuática)	Vázquez-Botello y Páez 1986 Celis et al 1987
<b>Compuestos Orgánicos Volátiles (COV'S)</b> Cloroformo, dicloroetano, tricloroetano, tetracloroetano, cloruro de vinilo y tetracloruro de carbono, benceno, tolueno	Agua Sedimentos	Stringer et al 2001 Riojas-Rodriguez et al 2008
<b>Compuestos Orgánicos Persistentes (COP's)</b> Hexaclorobenceno, aldrín, endrín, heptacloro, lindano y PCB's	Sedimentos Huevos de gallina Suelo	Vázquez -Botello y Páez 1986 DiGangi y Petrlink 2005 Espinosa-Reyes et al 2010 Blake 2005
<b>Dioxinas</b> PCDD/F, 2,3,7,8 TCDD	Huevos de gallina	DiGangi y Petrlink, 2005

#### *Exposición en población humana*

En un estudio del Instituto Nacional de Salud Pública en doce muestras de plasma de mujeres embarazadas se reporta que existe exposición a PCBs, DDT, DDE y lindano las concentraciones cuantificadas estaban por encima de los reportados por NHANES. (INSP, datos sin publicar).

#### *Evaluación integrada de riesgo en Coahuila*

Nuestro grupo de trabajo en colaboración con el Instituto Nacional de Ecología (INE) desarrolló un estudio (INE-UASLP, 2007) aplicando la propuesta metodológica de

evaluación integrada de riesgos en la población infantil y en la biota de Coatzacoalcos. Los contaminantes evaluados fueron algunos metales y compuestos orgánicos. Se determinaron concentraciones de estos compuestos en suelo y sedimentos. En cuanto a metales, ningún metal sobrepasó la NOM-147-SEMARNAT/SSA-2004. Para el caso de las concentraciones de COP en suelo únicamente lindano y HCB rebasaron los límites establecidos por la guía canadiense de calidad ambiental (Canadian Environmental Quality Guidelines [CEQG]). En sedimento, un mayor número de compuestos: HCB, lindano, DDT, DDE, mirex y PCB totales rebasaron los niveles de protección al ambiente establecidos por estas mismas Guías.

En lo que se refiere a la biota, los biomarcadores de exposición en peces, anfibios, iguanas, sapos y cocodrilos evidenciaron la exposición a lindano, DDT, DDE, mirex, aldrín y varios congéneres de PCB. Se evaluó el efecto genotóxico por ensayo cometa en lombrices (Espinosa-Reyes, 2010), anfibios y en distintas especies de peces (Gonzalez-Mille et al, en revisión). Estos son los primeros reportes de efectos asociados a los niveles de contaminantes en Coatzacoalcos.

## **REFERENCIAS:**

API (Administración Portuaria Integral de Coatzacoalcos) 2009. Última actualización: Domingo 23 de Agosto de 2009. Disponible en: <http://www.apicoatza.com/PresPuerto.pdf>. Fecha de última consulta: 15 febrero 2010.

Blake A. 2005. The next generation of POP's: PBDE's and Lindane. International POP's Elimination Network (IPEN). Washington D.C. USA. 15 p.

Bozada Robles L y Namihura Santillan P. 2005. El derrame de petróleo de 22 de diciembre de 2004 en la cuenca baja del río Coatzacoalcos: estudio de caso. 681-696 pp. Botello AV, Rendón-Von Osten J, Gold-Bouchot G y Agraz-Hernández C (Eds). Golfo de México Contaminación e Impacto ambiental: Diagnostico y Tendencias. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Autónoma de México, Instituto de Ecología. 696 p.

Bozada LM y Bejarano F. 2006. Los contaminantes orgánicos persistentes en el istmo mexicano. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México (RAPAM) México, D.F. 79 p.

CDC (Centers for Disease Control). 1991. Preventing lead poisoning in Young children.

CELANESE. 2009. Información disponible en el portal de CELANESE Mexicana en: <http://www.celanese.com.mx/> Fecha de última consulta: 10 febrero 2010.

Celis L, Botello AV, Mendelewicz M, Díaz G. 1987. Actividades del proyecto CARIPOL en la zona costera de México: 1. Hidrocarburos disueltos. *Caribb. J. Sci* 23:11-18.

CONAPO (Consejo Nacional de Población). 2000. Cuadro resumen, población total, indicadores socioeconómicos, índice y grado de marginación por localidades de la entidad federativa.

DiGangi J y Petrlink J. 2005. The egg report. International POP's Elimination Network (IPEN). Washington D.C. USA. 52p.

EPA (Environmental Protection Agency). 2009. Toxics Release Inventory Program. 2008 TRI National Analysis. Disponible en: <http://www.epa.gov/tri/>. Fecha de última consulta: 24 febrero 2010.

Espinosa-Reyes G, Ilizaliturri CA, González-Mille DJ, Costilla R, Díaz-Barriga F, Cuevas MC, et al. 2010. DNA damage in earthworms (*Eisenia* spp.) as an indicator of environmental stress in the industrial zone of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *J Environ Sci Heal A* 45:49-55. DOI: 10.1080/10934520903388731

González-Mille DJ, Ilizaliturri-Hernández CA, Espinosa-Reyes G, Costilla-Salazar R, Díaz-Barriga F, Ize-Lema, Mejía-Saavedra JJ. Exposure to persistent organic pollutants (PPs) and genotoxic effects in fish of different trophic levels of Coatzacoalcos, Veracruz, Mexico. *Ecotoxicology*, en revisión

IQUISA. 2010. Información disponible en el portal de Industria Química del Istmo, S.A. de C.V. online: <http://www.iquisa.com.mx/> Fecha de última consulta: 10 febrero 2010.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática) 2005. Principales resultados por localidad 2005 (ITER), Veracruz de Ignacio de la Llave. Disponible en: <http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/conteo2005/localidad/iter/default.asp>. Fecha de última consulta: 12 enero 2010.

INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). 2007. Anuario estadístico Veracruz de Ignacio de la Llave: ganadería. Disponible en: [http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/ae07/info/ver/c30\\_12.xls](http://www.inegi.gob.mx/est/contenidos/espanol/sistemas/ae07/info/ver/c30_12.xls) Fecha de última consulta: 12 enero 2010.

INE-UASLP. 2007. Monitoreo ambiental, determinantes de la exposición y efectos de contaminantes críticos en humanos y biota en Coatzacoalcos, Veracruz. Disponible en: <http://www.ine.gob.mx/sqre-estudios>. Fecha de última consulta: 13 diciembre 2009.

Mackay D y Webster E. 2006. Environmental Persistence of Chemicals. *Environ Sci Pollut Res* 13:43 – 49.

Mexichem 2010. Portal de Mexichem, Productos. Disponible en: [http://www.mexichem.com/web\\_mexichem/negocio.php?page=construccion.php](http://www.mexichem.com/web_mexichem/negocio.php?page=construccion.php). Fecha de última consulta: 19 febrero 2010.

PEMEX. 2009. Información disponible en el portal de PEMEX en: <http://www.ptq.pemex.com/Paginas/default.aspx>. Fecha de última consulta: 21 enero 2010

Riojas-Rodriguez H, Baltazar-Reyes MC, Meneses F. 2008. Volatile organic compound presence in environmental samples near a petrochemical complex in Mexico. Abstracts. *Epidemiology* 19:S219.

Rosales L y Carranza E. 2005. Estudio geoquímico de metales en el estuario del río Coatzacoalcos. p. 389-406. Botello AV, Rendón-Von Osten J, Gold-Bouchot G y Agraz-Hernández C, (Eds). *Golfo de México Contaminación e Impacto ambiental: Diagnostico y Tendencias*. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Autónoma de México, Instituto de Ecología. 696 p.

SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2009. Cuarto Informe Obligatorio del Registro de Emisiones y Transferencia de Contaminantes 2007. Disponible en: <http://app1.semarnat.gob.mx/retc/index.html>. Fecha de última consulta: 15 febrero 2010.

Sexton K y Hattis D. 2007. Assessing Cumulative Health Risks from Exposure to Environmental Mixtures-Three Fundamental Questions. *Environ Health Perspect* 115:5

Stringer R, Labunska I, Bridgen K. 2001. Organochlorine and heavy metals contaminants in the environment around the Complejo Petroquímicos Paharitos, Coatzacoalcos, México. Nota técnica Greenpeace. University of Exeter. Unit Kingdom. 60 p.

Suk WA, Olden K, Yang RS. 2002. Chemical Mixtures Research: Significance and Future Perspectives. *Environ Health Perspect*. 110:891-2

Vázquez-Botello A y Páez F. 1986. *La contaminación: el problema crucial*. Vol. 1. Centro de ecodesarrollo. México. 140 p.

Vázquez-Botello AS, Villanueva-Fragoso L, Rosales-Hoz. 2004. Distribución y contaminación por metales en el Golfo de México. 682-712 p. En: *Diagnostico ambiental del Golfo de México*. Compiladores: Caso M I, Pisanty E, Ezcurra E. Editado por: SEMARNAT-INE.

Yang RSH, ed. *Toxicology of Chemical Mixtures*. San Diego, CA:Academic Press, 1994.

## ANEXO 2

# Revisión de las metodologías sobre Evaluación de Riesgos en Salud para el Estudio de Comunidades Vulnerables en América Latina

rtículo publicado en el año 2009 en la revista Interciencia 34(10):710-717

---

# REVISIÓN DE LAS METODOLOGÍAS SOBRE EVALUACIÓN DE RIESGOS EN SALUD PARA EL ESTUDIO DE COMUNIDADES VULNERABLES EN AMÉRICA LATINA

CÉSAR A. ILIZALITURRI, DONAJI GONZÁLEZ-MILLE, NADIA A. PELALLO, GABRIELA DOMÍNGUEZ, JESÚS MEJÍA-SAAVEDRA, ARTURO TORRES DOSAL, IVÁN PÉREZ-MALDONADO, LILIA BATRES, FERNANDO DÍAZ-BARRIGA y GUILLERMO ESPINOSA-REYES

---

## RESUMEN

Los métodos para evaluar el riesgo en salud se basan, en general, en el monitoreo ambiental y en la estimación de la exposición a través de modelos matemáticos. La incertidumbre de tal estrategia es grande. En consecuencia, para incrementar la certidumbre sobre la evaluación de la exposición a los contaminantes, se ha propuesto el empleo de biomarcadores. No obstante, la complejidad de los nuevos escenarios de riesgo obliga a evaluar no solamente a las poblaciones humanas sino también al resto de la biota. Asimismo, factores ambientales, sociales y de salud,

al afectar la vulnerabilidad, también deben ser considerados para la caracterización del riesgo. Estos factores de vulnerabilidad pueden evaluarse a través de indicadores. Al final, con los análisis ambientales, el uso de biomarcadores y el manejo de indicadores ambientales, sociales y de salud, puede evaluarse el riesgo de manera integrada (humanos y biota). En esta revisión se presentan las diversas estrategias empleadas por este grupo de trabajo para evaluar el riesgo en sitios contaminados, comunidades marginadas y en áreas afectadas por el cambio global climático.

**E**n el campo de la salud ambiental, el término riesgo significa la probabilidad de que un efecto no deseado ocurra como resultado de la exposición a diferentes agentes causales (tóxicos, xenobióticos, contaminantes, etc.). Sin embargo, hay que considerar que la ocurrencia de un efecto adverso depende no solo de la dosis interna que se alcance de un determinado tóxico tras la exposición, sino también de otros factores como la variabilidad interindividual asociada a factores

biológicos (genética, edad, sexo, raza, toxicocinética, etc.) y de estilos de vida individuales, entre otros.

En este contexto, el proceso de evaluación del riesgo se transforma en materia de salud pública y adquiere relevancia. No obstante ello, la evaluación del riesgo no siempre se materializa, ya que lograrla implica contar con información de tres factores: i) la fuente del agente causal (p.e., la fuente de contaminación); ii) el medio por el cual este agente entra en contacto con la población recep-

tora; y iii) la población receptora. Para que exista un riesgo, la población debe entrar en contacto con el tóxico, es decir, debe haber exposición. Sin embargo, para que ocurra un efecto biológico que puede o no terminar en un daño a la salud, normalmente el contacto no es suficiente, sino que se requiere de la entrada del tóxico al organismo del ser vivo expuesto.

En los sitios contaminados es común que la problemática ambiental involucre múltiples factores estresantes y varios medios impactados. Por lo

---

**PALABRAS CLAVE / Evaluación de riesgos / Evaluación integrada / Impacto en salud /**

Recibido: 03/10/2008. Modificado: 06/10/2009. Aceptado: 07/10/2009.

**César Arturo Ilizaliturri Hernández.** Maestro en Ciencias Ambientales. Investigador, Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), México.

**Donaji Josefina González Mille.** Maestra en Ciencias Ambientales. Investigadora, UASLP, México.

**Nadia Azenet Pelallo Martínez.** Maestra en Ciencias Ambientales. Investigadora, UASLP, México.

**Gabriela Domínguez.** Doctora en Ciencias Ambientales. Investigadora, UASLP, México.

**Jesús Mejía Saavedra.** Doctor en Investigación Biomédica Básica. Profesor Investigador, UASLP, México.

**Arturo Torres Dosal.** Doctor en Ciencias Ambientales. Profesor Investigador, El Colegio de la Frontera Sur, Villahermosa, (ECOSUR), México.

**Iván N. Pérez-Maldonado.** Doctor en Investigación Biomédica Básica. Profesor Investigador, UASLP, México.

**Lilia E Batres Esquivel.** Licenciada en Químico-fármaco-biología. Profesora Investigadora, UASLP, México.

**Fernando Díaz-Barriga Martínez.** Doctor en Biología Celular. Profesor Investigador, UASLP, México.

**Guillermo Espinosa Reyes.** Doctor en Ciencias Ambientales. Investigador, UASLP, México. Dirección: Avenida Venustiano Carranza No. 2405, Col Lomas los Filtros, San Luis Potosí 78210, SLP, México. e-mail: espinosareyes@gmail.com

---

2006; IPCS, 2006; Gilbert y Miller, 2008). De manera tal que las poblaciones receptoras que merecen mayor atención

ante la pobreza, la educación insuficiente, la falta de empleos adecuados bien remunerados, y ante otras muchas carencias

et al., 2001); utilizando modelado se logró definir las rutas de exposición (Carrizales et al., 2006). A partir de estos estudios,

la empresa responsable actuó y ahora los niveles de Pb en sangre y As en orina en los niños son menores a los de hace 20 años (Carrizales *et al.*, 2006). Este tipo de trabajo se implementó en otras zonas metalúrgicas, y en una de ellas se evaluó el riesgo retrospectivo utilizando modelado y valores de Pb en sangre (Díaz-Barriga *et al.*, 1997a); en otra zona las investigaciones fueron la base de la restauración de un pasivo ambiental (Hicks *et al.*, 2006).

La contaminación natural de acuíferos por flúor es un problema de varios países en América Latina. Destacan, sin embargo, los casos de Argentina y México. Solamente en México más de seis millones de individuos viven en áreas donde el agua potable tiene valores altos de este elemento (Díaz-Barriga *et al.*, 1997c). Señalar que el F puede representar un riesgo no es fácil, ya que este elemento ha sido utilizado ampliamente para la protección contra la caries; en consecuencia, definir su toxicidad ha implicado realizar estudios de efectos en la salud. Nuestro grupo en una ciudad afectada por este elemento, demostró la exposición infantil a través de la cuantificación del F en orina (Grimaldo *et al.*, 1995), el daño por fluorosis dental (Grimaldo *et al.*, 1995), fluorosis esquelética (Calderón *et al.*, 1995), daño reproductivo (Ortiz-Pérez *et al.*, 2003) y alteraciones neuropsicológicas (Rocha-Amador *et al.*, 2007). En forma paralela se demostró la contaminación, identificando las principales rutas de exposición, así como la estimación del riesgo por consumo de F en agua, bebidas, sal, etc. (Díaz-Barriga *et al.*, 1997b; Grimaldo *et al.*, 1997).

Como resultado de los datos obtenidos, ahora las embotelladoras de esa ciudad cuentan con sistemas de potabilización (como ósmosis inversa); también se propusieron reformas a la normativa para flúor en agua potable, cambio que aparecerá para su revisión en la próxima modificación de las normas mexicanas para agua potable. Pero quizá la mejor prueba de que los biomarcadores funcionan es un estudio de exposición efectuado entre trabajadores de un confinamiento para residuos industriales (Díaz-Barriga *et al.*, 1993b; Gonsebatt *et al.*, 1995). La caracterización ambiental era imposible, dado que en el sitio a estudiar había miles de toneladas de residuos industriales de procedencia y contenido desconocidos. Se optó por evaluar la genotoxicidad en los trabajadores expuestos y los resultados fueron alentadores, ya que los trabajadores de mayor antigüedad y potencialmente más expuestos presentaron los mayores efectos. Ahora bien, el uso indiscriminado de biomarcadores puede traer falsos resultados si no se consideran

parámetros toxicocinéticos; por ejemplo, en niños se mostró que la exposición a deltametrina solo puede medirse antes de los tres días posteriores al contacto con este insecticida piretroide (Ortiz-Pérez *et al.*, 2005).

En conclusión, la modificación metodológica de la evaluación de riesgos en salud utilizando biomarcadores de exposición y de efecto disminuye las incertidumbres, permite generar instrumentos de gestión que llevan al diseño de medidas para la reducción de los riesgos, así como para redefinir y orientar de forma más efectiva estudios epidemiológicos subsiguientes, permitiendo establecer mejores hipótesis de relación causal entre la exposición a un determinado tóxico y el efecto en la salud. No obstante, esta metodología debe tomar en cuenta las principales limitaciones en el uso de biomarcadores, como pueden ser los costos (acorde a la complejidad del escenario de exposición y a la elección de los biomarcadores), la necesidad de equipamiento y capacidad técnica, y su aplicabilidad en función de su toxicocinética y toxicodinamia (p.e., respuesta del biomarcador contra la duración e intensidad del la exposición).

#### Evaluación de Riesgos Sanitarios

El abordaje de la evaluación de los riesgos sanitarios que enfrentan las poblaciones humanas conduce no solo a la evaluación de la exposición a sustancias tóxicas y/o nocivas y a sus respectivos efectos sobre su salud, sino también a la identificación y análisis de otros factores ambientales adversos relacionados con la falta de agua potable y de servicios de saneamiento básicos, la falta de infraestructura, así como a la falta de educación y hábitos de higiene en poblaciones que, además, viven bajo condiciones de alta marginación y pobreza. Estas comunidades son, entonces, altamente vulnerables no solo por las múltiples exposiciones ambientales, sino por el ambiente social que les rodea (Lee, 2002).

El análisis de temas de salud pública bajo esta perspectiva conduce al problema de enfrentarse a múltiples factores (sociales, ambientales, culturales, de salud) cuya interrelación acentúa los riesgos que se manifiestan a través de enfermedades como diarreas, infecciones respiratorias, enfermedades infecto-contagiosas y transmisibles, así como intoxicaciones por exposición a plaguicidas y alimentos contaminados. De aquí que, desde una perspectiva internacional, en los países pobres, un niño muere cada 15seg por enfermedades diarreicas (Morris, 2004), 200 millones de niños en el mundo no al-

canzan su desarrollo potencial (OMS, 2008), más de cinco millones de infantes de 0-14 años mueren cada año por enfermedades relacionadas con condiciones ambientales adversas, principalmente en países en desarrollo, lo que significa en promedio 13000 muertes infantiles por día (UNICEF/OMS, 2002).

Asimismo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que en todo el mundo el 24% de la carga de morbilidad (años de vida sana perdidos) y ~23% de todas las defunciones (mortalidad prematura) se encuentran relacionadas con factores ambientales, pero en los niños de 0-14 años, el porcentaje de muertes atribuibles al medio ambiente es de hasta un 36% (Prüss-Üstün y Corvalán, 2006). Entre las enfermedades con mayor carga absoluta atribuible a factores ambientales modificables figuran la diarrea, las infecciones de las vías respiratorias inferiores y el paludismo. La carga de morbilidad por diarrea está asociada en ~94% con factores de riesgo ambientales tales como el consumo de agua no potable, el saneamiento y la higiene insuficientes (Cifuentes *et al.*, 2002; Morris, 2004; Prüss-Üstün y Corvalán, 2006). Por su parte, las infecciones de las vías respiratorias inferiores se asocian a la contaminación del aire en locales cerrados, relacionada en gran medida con la utilización de combustible sólido en los hogares y posiblemente con la exposición pasiva al humo del tabaco, así como con la contaminación del aire exterior (Riojas *et al.*, 2001; Smith, 2003; Balakrishnan *et al.*, 2004; Schei *et al.*, 2004; Prüss-Üstün y Corvalán 2006; Deherani *et al.*, 2008). En países desarrollados, ~20% de las infecciones respiratorias son atribuibles a causas ambientales, y en los países en desarrollo ese porcentaje llega hasta un 42% (Prüss-Üstün y Corvalán, 2006). Finalmente, la prevalencia de paludismo atribuible a factores ambientales modificables es de un 42%, y está asociado a las políticas y prácticas de aprovechamiento de tierras, deforestación, ordenación de los recursos hídricos, ubicación de los asentamientos, y modificación del diseño de las viviendas (Prüss-Üstün y Corvalán, 2006).

El agua contaminada y el uso de biomasa al interior de las viviendas son dos prioridades ambientales que urge atender (Balakrishnan *et al.*, 2004; Prüss-Üstün y Corvalán, 2006; Deherani *et al.*, 2008). Las enfermedades diarreicas asociadas a la falta de acceso al agua potable y a un saneamiento insuficiente ocasionan ~1,7 millones de defunciones cada año. En tanto, el uso doméstico de combustibles de biomasa y carbón por más de la mitad de la población mundial causa 1,5 millones de muertes al año

debido a enfermedades respiratorias relacionadas con la contaminación.

Según lo anterior, surgen los siguientes cuestionamientos: ¿Cómo evaluar riesgos sanitarios? ¿Cómo evaluar riesgos que tienen que ver con la contaminación, con la marginación, con la pobreza y con tantos otros factores de desigualdad social? Obviamente no cabe seguir un método tradicional, y tampoco es posible emplear las metodologías de evaluación de salud que se han planteado en países desarrollados tales como Australia (Beer y Ziolkowski, 1995) o los de la Unión Europea (Ferguson *et al.*, 1998). En nuestro caso es preferible seguir la evaluación a través del uso de indicadores, valorando indicadores sociales, ambientales y de salud, seleccionándolos a partir de un análisis detallado de indicadores ya existentes y ampliamente utilizados (Eyles y Furgal, 2000; CONAPO, 2000; OMS, 2000; OPS-OMS 2000, 2001; SSA-PRASA, 2001; DGSA, 2002; PNUMA-OPS, 2003).

En un ejercicio real, nuestro grupo de trabajo llevó a cabo, en primer término, la obtención de información de algunos indicadores de importancia local, identificando sus posibles relaciones. Por ejemplo, nivel de marginación, acceso a servicios médicos, uso de fogones y leña en interiores, daño respiratorio y/o genotóxico, y enfermedad pulmonar crónica obstructiva. Así, recientemente se aplicó la metodología en una comunidad indígena de la región Huasteca (Torres-Dosal *et al.*, 2008), donde todos los habitantes empleaban leña para la preparación de sus alimentos en fogatas interiores. El uso de leña genera contaminación en interiores a través del humo (partículas suspendidas, monóxido de carbono, etc.) y a través del hollín (hidrocarburos aromáticos policíclicos tales como PAH, formaldehído, etc.). Al aplicar la metodología fueron detectadas las fuentes contaminantes y además, se pudo controlar la principal fuente por medio de estufas con chimenea (esquema normal de múltiples programas en comunidades indígenas). Se mejoraron las condiciones de la vivienda limpiando el hollín en techos y pavimentando los pisos de tierra. Al evaluar la exposición (PAH y CO) y los efectos biológicos (síntomas respiratorios y genotoxicidad) antes y después de la intervención, se mostró que el programa resultó efectivo y el gobierno estatal lo ha venido instrumentando en varias comunidades.

En este primer abordaje, se logró atacar un problema de salud, considerando algunos determinantes sociales tales como marginación y pobreza, reflejados en pisos de tierra y uso de leña como biocombustible en las viviendas, así como determinantes ambientales tales

como la contaminación del aire interior (CO y PAH). Lo anterior redundó en la mejora de aspectos de tipo ambiental, social y de salud de una manera más articulada. Cabe aclarar que esta aproximación metodológica, no busca las relaciones causales de tipo lineal entre uno u otro factor de riesgo, sino más bien persigue la identificación de factores adversos que de manera sinérgica condicionan la salud y calidad de vida de la población.

No obstante, profundizando aspectos de la salud comunitaria, se llevó a cabo otro estudio que tuvo como objetivo central identificar y comparar los principales problemas de salud asociados a la injusticia ambiental en tres sitios del área metropolitana de San Luis Potosí. Se realizó una evaluación integral de salud a nivel comunitario, mediante la aplicación de 36 diferentes indicadores (sociales, ambientales, salud) en población infantil que habita en Milpillas (comunidad pepenadora suburbana con alto nivel de marginación), en Tercera Chica (comunidad ladrillera urbana con muy alto nivel de marginación) y en Zona Centro (comunidad urbana con baja marginación y con tráfico vehicular).

Los indicadores fueron organizados y clasificados según su naturaleza en cuatro grupos: morbilidad, determinantes directos de salud, determinantes sociales, y determinantes ambientales, y se aplicaron criterios de calidad, considerando factores de riesgo reales y/o potenciales (Domínguez, 2009).

A partir de un análisis epidemiológico (prevalencias-RMP, riesgo atribuible proporcional-RAP y vulnerabilidad total-VT) y del empleo de técnicas de estadística multivariada de tipo exploratorio, se construyeron escenarios multidimensionales de riesgo en salud, y se identificaron factores determinantes y condicionantes de salud y vulnerabilidad en esas comunidades.

Dichos escenarios no solo mostraron evidencia de la compleja problemática de salud que enfrentan estas comunidades, principalmente en las de mayor marginación y pobreza (Milpillas y Tercera Chica), sino que mediante la ponderación, jerarquización y priorización de los factores de riesgo identificados bajo esta perspectiva holística, se generaron diagnósticos integrales de salud y vulnerabilidad comunitaria expresados cuantitativamente mediante la generación de un "Índice de Salud Comunitaria" que proporciona información para la toma de decisiones y diseño e implementación de programas de intervención acordes con las necesidades reales de cada comunidad (Domínguez, 2009).

## Evaluación Integrada de Riesgos

Una buena salud ambiental supone una buena calidad de vida bajo un enfoque ecosistémico; esto es, que el ser humano debe ser tomado en cuenta como un participante más de todo un ecosistema. En consecuencia, los factores ambientales que pueden afectar a la población no se reducen a las sustancias químicas, físicas o biológicas que directamente pueden afectar a la salud, sino también a aquellos factores que al afectar al ecosistema, afectan la calidad de vida. Entre otros cabe mencionar al cambio climático, la ruptura y adelgazamiento de la capa de ozono, la desertificación, y la deforestación.

Por razones prácticas, las metodologías de evaluación de riesgo para salud humana y para biota (riesgo ecológico) se han desarrollado de manera independiente; sin embargo, se reconoce cada vez más la necesidad de establecer mejores niveles de protección tanto para el ser humano como para los otros componentes del ambiente. Por ello surge la necesidad de diseñar una metodología de evaluación integrada de riesgo que contemple tanto a la población humana como a otros receptores ecológicos en un solo proceso. En materia ambiental las decisiones no pueden ser completamente adecuadas si únicamente se considera de forma parcial la protección a los humanos o a otras especies de fauna y flora. En muchos casos la contaminación ambiental afecta más a los receptores no humanos, debido a una mayor exposición o dado que estos individuos resultan ser los más sensibles a los efectos negativos (Suter, 1993; Aylward *et al.*, 1996). La falta de integración frecuentemente conduce a que tanto los evaluadores de riesgo humano como de riesgo ecológico generen evidencias que podrían parecer contradictorias acerca de la naturaleza de los riesgos asociados a un sitio contaminado.

Resulta entonces clara la necesidad de establecer una metodología de evaluación integrada de riesgo, cuyos objetivos: i) mejorar la calidad y la eficiencia del proceso de evaluación por medio del intercambio de información entre la salud humana y los estudios ecotoxicológicos, y ii) proveer mejores argumentos para el proceso de toma de decisiones ambientales. El esquema que sigue nuestra propuesta integrada no pretende conjuntar las metodologías ya existentes de la Evaluación del Riesgo en Salud (Díaz-Barriga, 1999; EPA, 2004) y de la Evaluación del Riesgo Ecológico (Suter, 1993; EPA, 1994a, b, 1998, 1999) debido a que, de seguir ese camino, se tendría una metodología larga, complicada y costosa. Por el

contrario, para el diseño del método integral solamente se han tomado los puntos clave de ambas; es decir, este esfuerzo integrado debe ser considerado como una propuesta diferente y no como un sustituto de las metodologías ya existentes. Asimismo, este nuevo diseño se ha gestado tomando en cuenta las limitaciones principalmente económicas, de información y personal capacitado generalmente prevalentes en los países en desarrollo.

En el esquema de la Figura 1 se muestran las diferentes etapas que componen la metodología. En la primera etapa se genera un modelo de sitio, tomando en cuenta las condiciones del área y los tóxicos presentes. Se establecen las rutas y se definen las poblaciones receptoras. Para los humanos la definición como población receptora es más sencilla, ya que se basa en los puntos de exposición a los contaminantes, pero para la biota, dado el gran número de especies susceptibles al riesgo, la determinación de las especies críticas es un punto clave. Tomamos como criterios de selección: facilidad de captura, tipo de contaminante, rutas y vías potenciales de exposición, biología conocida de las especies, posición en la red trófica, estatus de conservación y carisma.

En la siguiente etapa se evalúa la exposición en los diferentes receptores a través de: i) un monitoreo ambiental, con el fin de determinar concentraciones de los contaminantes presentes en el sitio (una vez seleccionadas las especies, es importante establecer el grado de contaminación en su hábitat) y ii) biomarcadores de exposición. Ambos casos son de utilidad para el establecimiento de un gradiente de concentración y/o para la elección de sitios de referencia. Para el caso de la biota, en muchos de los casos no es posible encontrar valores de referencia, y por lo tanto se deben generar mediante modelos toxicológicos.

Posteriormente se evalúan los efectos en las poblaciones en riesgo, para lo cual se utilizan biomarcadores de efecto (genotóxicos, disruptores endócrinos, etc). Para la evaluación de los efectos en niveles de organización biológica superiores en el escenario ecológico (individuo, población y comunidad) se toman en cuenta características generales de los individuos, parámetros poblacionales e índices bióticos para la comunidad.

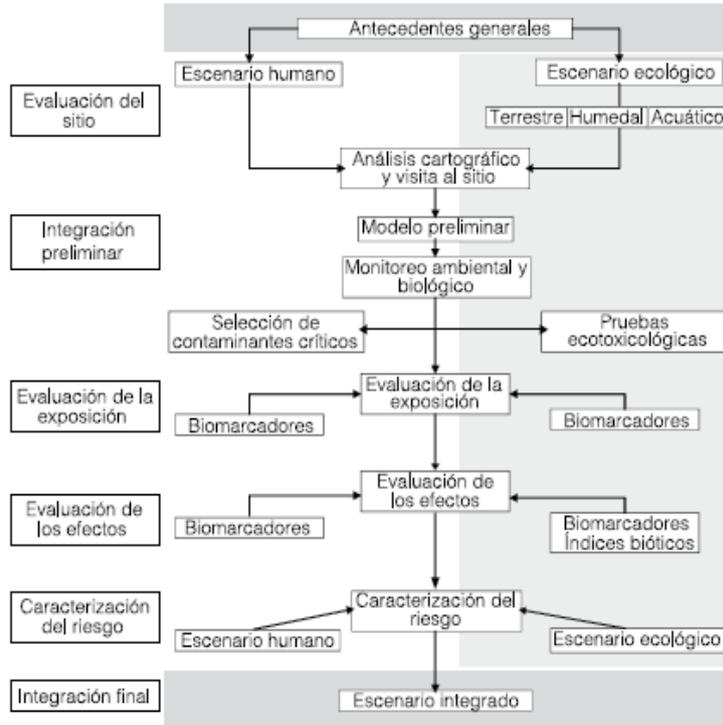


Figura 1. Diseño para la evaluación integrada de riesgos.

Enseguida se realiza la caracterización del riesgo en los diferentes escenarios. Es aquí donde se propone la caracterización integrada del riesgo que permite la asignación conjunta de las magnitudes de los efectos adversos en el sitio de estudio.

Esta metodología fue aplicada en el sitio minero de Villa de la Paz, en el Estado de San Luis Potosí, el cual ha sido explotado por más de 200 años (Razo *et al.*, 2004). El material que se extrae del subsuelo, rico en sulfuros polimetálicos, ha provocado que se haya depositado un gran volumen de residuos mineros tipo terreros y jales en los alrededores del poblado, ricos en As y Pb, siendo éstos los principales contaminantes del área (Razo *et al.*, 2004). Los estudios realizados en el área (Jasso *et al.*, 2007) indicaron que la contaminación (As) presente estaba relacionada con el daño al ADN encontrado tanto en niños habitantes del lugar, como en roedores (*Dipodomys merriami* y *Chaetodipus nelsoni*) cuyo hábitat se encuentra en las zonas de mayor concentración de metales. Además se demostró: i) una relación entre la exposición y el efecto genotóxico en ambos grupos (niños y roedores), y ii) que los efectos, tanto en humanos como en roedores, eran muy superiores a los encontrados en las poblaciones de baja exposición utilizadas como referencia.

La evaluación integrada de riesgo realizada en Villa de la Paz presenta las siguientes ventajas: 1) Coherencia en los resultados. Esto permite tener

bases sólidas para apoyar en la toma de decisiones. Cuando se obtienen resultados inconsistentes derivados de evaluaciones realizadas de manera independiente, su interpretación resulta muy compleja. Los resultados obtenidos demuestran que existe el mismo efecto adverso en dos receptores ecológicos distintos (humanos y roedores). 2) Interdependencia. Una de las razones por las cuales se relaciona el riesgo ecológico con la salud humana se debe a que todas las actividades del ser humano dependen de los recursos bióticos. Por lo tanto, si la biota se encuentra afectada y/o en riesgo de estarlo, la salud de la población también puede verse perjudicada. 3) Organismos centinela. Debido a sus hábitos de conducta los roedores se encuentran más expuestos que los humanos y por ello es posible

evaluar otros efectos adversos en la biota antes que éstos se presenten en el ser humano. Con los resultados obtenidos se puede afirmar que existe riesgo en salud humana y un potencial riesgo ecológico; sin embargo, en el proceso de integración es deseable el estudio de diversas especies en diferentes sistemas, preferentemente pertenecientes a distintos niveles tróficos. Aún es necesaria la implementación de la evaluación ecológica con mayor profundidad.

### Evaluación de Riesgos en Sitios Afectados por Cambio Climático

La exposición infantil en los sitios contaminados o en las comunidades marginadas son tópicos que numerosos grupos han venido trabajando en distintas regiones del mundo. Pero ahora la salud ambiental enfrenta nuevos retos. Uno de ellos, quizá el de mayor riesgo, es el originado por el calentamiento del planeta. Una descripción del concepto de cambio global climático esta fuera de los objetivos de este trabajo, pero baste señalar que el incremento en la temperatura promedio del planeta ha sido asociado a diversos fenómenos, algunos de los cuales tienen que ver con la salud de todos los seres vivos (IPCC, 2007).

Entre los fenómenos asociados a la salud que más llaman la atención en el contexto del presente trabajo están cuatro: i) el aumento en la frecuencia de los desastres naturales (incendios forestales, huracanes, inundaciones, etc);

ii) la aparición de nuevas plagas (langosta); iii) la extensión o recrudescimiento de la presencia de vectores (malaria, dengue, etc); y, por supuesto, iv) el incremento en la temperatura promedio.

Estos fenómenos implican una amplia gama de nuevos escenarios de exposición, tales como la inhalación del humo proveniente de incendios forestales, el contacto con sedimentos contaminado procedente de las inundaciones, el uso de nuevos plaguicidas (fipronil) o de nuevas mezclas de plaguicidas ya en el comercio (mezclas de piretroides con organofosforados), y el incremento en la volatilidad, sobre todo de los compuestos semivolátiles. Al respecto, es de llamar la atención que en el sureste de México, donde no se aplica DDT desde el 2000, se ha venido observando un constante aumento de este insecticida en el aire (Alegria *et al.*, 2006) y en la sangre de la población (Pérez-Maldonado *et al.*, 2006). Una posible explicación del fenómeno es que las inundaciones han permitido remover el suelo y el incremento en la temperatura facilita la volatilización del insecticida.

Los escenarios generados por el cambio global climático son los más complejos, dado que abarcan áreas de por sí ya contaminadas y/o ya marginadas, pero donde, además, ahora se presentan nuevos riesgos y donde necesariamente deben estudiarse de manera simultánea los efectos en humanos y en biota. Por lo tanto, para evaluar estos sitios, se han conjuntado las metodologías de evaluación integrada del riesgo en salud y la metodología de evaluación de riesgos sanitarios, con lo cual se ha creado una nueva que ha sido denominada como metodología para evaluar de manera integrada la salud ambiental en niveles de emergencia (Metodología SANE).

Un nivel de emergencia asociado al cambio climático puede referirse a inundaciones, incendios, aplicación masiva de insecticidas por la aparición de una plaga, o cualquier otro evento que por períodos limitados de tiempo afectan de manera importante a comunidades rurales, áreas naturales protegidas, reservas de la biósfera, regiones indígenas, etc. Es decir, zonas de vulnerabilidad reconocida. La metodología adaptada al cambio climático básicamente consta de dos fases:

1. *Descripción del escenario de riesgo.* El objetivo de esta fase es diseñar un plan de estudio para evaluar los riesgos que hubieren sido identificados en la comunidad, a partir de datos oficiales y de información comunitaria. Es obvio que se requiere la visita al sitio y la identificación de rutas de exposición. No obs-

tante, el primer paso es lograr la participación de la comunidad, para con ella obtener un listado inicial de preocupaciones, en materia de salud, ambiente, sociedad y ecología. Este listado, junto con la información de fuentes diversas, permite generar una propuesta inicial de trabajo.

2. *Caracterización integrada del riesgo.* Teniendo como protocolo el plan desarrollado en la sección anterior, el evaluador procederá a obtener información cuantitativa que servirá como base de la decisión para establecer programas que lleven a la reducción de los riesgos identificados. En esta etapa se trabaja en los aspectos de i) vulnerabilidad social (educación, servicios médicos, condiciones socioeconómicas, etc.); ii) vulnerabilidad comunitaria (condiciones de los espacios infantiles y tóxicos prioritarios), monitoreo ambiental de contaminantes químicos y microorganismos en rutas de exposición; iii) salud en aspectos clínicos (toxicología clínica), de salud mental (psicología comunitaria, punto fundamental para la evaluación después de un desastre) y monitoreo (biomarcadores de exposición y de efecto); y iv) ecología, donde se valorarán aspectos de exposición y evaluación toxicológica en especies críticas.

Con toda la información puede definirse el nivel de riesgo. Para esto pueden utilizarse las herramientas y fórmulas de las metodologías tradicionales de evaluación de riesgo (dosis de exposición, cocientes de riesgo, etc.), pero en igual importancia deben plantearse los esquemas de escenarios de riesgo, enfatizando la integración de los indicadores (de salud, ambiente, sociedad y ecología) con los marcadores (ambientales y biológicos) y el peso de la evidencia científica. Dos factores son críticos: i) la identificación y priorización de las rutas de exposición, y ii) la priorización de los padecimientos relacionados con los riesgos identificados, punto para el cual el cálculo de los años perdidos por la carga de enfermedad sería una herramienta decisiva. Como toda metodología de riesgo, ésta concluye con un documento que por su información puede utilizarse como instrumento de gestión.

En conclusión, nuevos retos como el cambio climático están provocando novedosos escenarios de exposición a factores estresantes (químicos, físicos y biológicos) y, así, las metodologías de evaluación de riesgo deberán adaptarse para estudiar vulnerabilidad comunitaria, salud humana y efectos ecológicos, tanto en eventos de urgencia ambiental como en situaciones de más largo plazo. La integración de biomarcadores

con el uso de indicadores es un camino para lograr la flexibilidad requerida en este tipo de estudios.

## América Latina

Evaluar el riesgo en salud en sitios contaminados, comunidades marginadas, ecosistemas en peligro o durante eventos de emergencia ambiental, implica realizar una actividad cuyo objetivo es la protección de la salud pública. Esto es relevante para una región como la de América Latina donde aún coexisten dentro de un mismo país una amplia gama de realidades culturales con diversos niveles de desarrollo económico y diferente grado de aplicación de programas en materia de salud ambiental.

Tomando en cuenta los múltiples escenarios que requieren de la evaluación de riesgos, una prioridad latinoamericana debería ser la formación de cuadros académicos con la capacidad de integrar conceptos de distintas disciplinas. Nuevos problemas añadidos a los habituales requieren de una nueva organización, para que así las problemáticas ambientales sean manejadas de forma coordinada no solo por las autoridades ambientales sino también y en conjunto con aquellas, por las autoridades de salud. Los escenarios son complejos y la multidisciplinaridad es la herramienta para evaluarlos.

En este escenario, la Organización Panamericana de la Salud ha jugado un importante papel desde hace ya más de 20 años. Ha promovido cursos de capacitación, integrado equipos internacionales de expertos para estudiar sitios contaminados en diferentes naciones, apoyado la publicación de manuales y, en fin, ha estado en la frontera del desarrollo del área en la región. Sin embargo, la OPS deberá mantener su ritmo dado que, como se ha planteado en el presente trabajo, la evaluación de riesgo ha evolucionado y ello ha ocurrido porque cada día los problemas ambientales son de mayor complejidad, afectando más y más no solo a los humanos sino también al resto de los seres vivos. Pero no todo será responsabilidad de la OPS. Al interior de cada país y de cada institución académica deben generarse nuevas reflexiones que lleven a esquemas de trabajo inéditos en el área y por ende, a la integración de nuevos equipos de profesionales.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo contó con el apoyo del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México (CONACYT-SEMARNAT-2004-01-0238) y la colaboración con de la Organización Pana-

mericana de la Salud (Proyecto OPS-GEF-DDT).

## REFERENCIAS

- Alegria H, Bidleman TF, Figueroa MS (2006) Organochlorine pesticides in the ambient air of Chiapas, Mexico. *Env. Pollut.* 140: 483-491.
- ATSDR (2008) *Public Health Assessment Guidance Manual*. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). [www.atsdr.cdc.gov/HAC/PHAMANUAL/index.html#foreword](http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/PHAMANUAL/index.html#foreword)
- Aylward LL, Hays SM, Karch NJ, Paustenbach DJ (1996) Relative Susceptibility of Animals and Humans to the Cancer Hazard Posed by 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin Using Internal Measures of Dose. *Env. Sci. Technol.* 30: 3534-3543.
- Balakrishnan K, Sumi M, Priti K, Padmavathi R, Sankar S, Kannappa SK, Kirk RS (2004) *Indoor Air Pollution Associated with Household Fuel Use in India. An Exposure Assessment and Modeling Exercise in Rural Districts of Andhra Pradesh, India*. The International Bank for Reconstruction and Development/World Bank. 114 pp.
- Beer T, Ziolkowski F (1995) *Environmental Risk Assessment. An Australian Perspective. Commonwealth Australia*. Supervising Scientist. Australia. 125 pp.
- Calderón J, Romieu I, Grimaldo M, Hernández H, Díaz-Barriga F (1995) Endemic fluorosis in San Luis Potosí, México. II. Identification of risk factors associated with occupational exposure to fluoride. *Fluoride*. 28: 203-208.
- Calderón J, Navarro ME, Jiménez-Capdeville ME, Santos-Díaz MA, Golden A, Rodríguez-Leyva I, Borja-Aburto VH, Díaz-Barriga F (2001) Exposure to arsenic and lead and neuropsychological development in Mexican children. *Env. Res.* 85: 69-76.
- Canfield RL, Henderson CR, Cory-Slechta DA, Cox C, Jusko TA, Lanphear BP (2003) Intellectual impairment in children with blood lead concentrations below 10 micrograms per deciliter. *N. Eng. J. Med.* 348: 1517-1526.
- Carrizales L, Razo I, Tellez-Hernández JI, Torres-Nerio R, Torres A, Batres LE, Cubillas AC, Díaz-Barriga F (2006) Exposure to arsenic and lead of children living near a copper-smelter in San Luis Potosi, Mexico: Importance of soil contamination for exposure of children. *Env. Res.* 101: 1-10.
- Cifuentes E, Suárez L, Solano M, Santos R (2002) Diarrheal diseases in children from a water reclamation site in Mexico City. *Env. Health Persp.* 110: 619-624.
- CONAPO (2000) *Índice de Marginación a Nivel de Localidad*. Consejo Nacional de Población. México. [www.conapo.gob.mx/](http://www.conapo.gob.mx/)
- DGSA (2002) *Primer Diagnóstico Nacional de Salud Ambiental y Ocupacional*. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). Dirección General de Salud Ambiental. México. 105 pp.
- Dherani M, Pope D, Mascarenhas M, Smith KR, Weber M, Bruce N (2008) Indoor air pollution from unprocessed solid fuel use and pneumonia risk in children aged under five years: a systematic review and meta-analysis. *Bull. WHO* 86: 390-398.
- Díaz-Barriga F (1996) Los residuos peligrosos en México. Evaluación del riesgo para la salud. *Sal. Públ. Méx.* 38: 280-291.
- Díaz-Barriga F (1999) *Metodología de Identificación y Evaluación de Riesgos para la Salud en Sitios Contaminados*. Centro Panamericano de Ingeniería Sanitaria y Ciencias del Ambiente. OPS/CEPIS/PUB/99.34. WHO. Perú. 96 pp.
- Díaz-Barriga F, Santos MA, Mejía JJ, Batres L, Yáñez L, Carrizales L, Vera E, Del Razo LM, Cebrian ME (1993a) Arsenic and cadmium absorption in children living near a smelter complex in San Luis Potosí, Mexico. *Env. Res.* 62: 242-250.
- Díaz-Barriga F, Santos MA, Yáñez L, Cuéllar JA, Gómez H, García A, Ostrosky-Wegman P, Montero R, Pérez A, Ruiz E (1993b) Biological monitoring of workers at a recently opened hazardous waste disposal site. *J. Exp. Anal. Env. Epidemiol.* 3: 63-71.
- Díaz-Barriga F, Batres L, Calderón J, Lugo A, Galvao L, Lara I, Rizo P, Arroyave ME, McConnell R (1997a) The El Paso smelter twenty years later: residual impact on Mexican children. *Env. Res.* 74: 11-16.
- Díaz-Barriga F, Leyva R, Quistián J, Loyola-Rodríguez JP, Pozos A, Grimaldo M (1997b) Endemic fluorosis in San Luis Potosí, Mexico. IV. Sources of fluoride exposure. *Fluoride* 30: 219-222.
- Díaz-Barriga F, Navarro-Quezada A, Grijalva M, Grimaldo M, Loyola-Rodríguez JP, Ortiz MD (1997c) Endemic fluorosis in México. *Fluoride* 30: 233-239.
- Domínguez G (2009) *Evaluación del Impacto del Fenómeno de Iniquidad Ambiental en la Salud de Poblaciones Infantiles en San Luis Potosí, SLP, México*. Tesis. Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México. 186 pp.
- EPA (1994a) *Field studies for ecological risk assessment*. U.S. Environmental Protection Agency. *ECO Update* 2(3):1-13.
- EPA (1994b) *Selecting and using reference information in superfund ecological risk assessments*. U.S. Environmental Protection Agency. *ECO Update* 2(4):1-6.
- EPA (1998) *Guidelines for Ecological Risk Assessment*. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, EEUU. 112 pp.
- EPA (1999) *Screening Level Ecological Risk Assessment Protocol Appendix E: Toxicity Reference Values U.S. EPA Region 6*. Center for Combustion Science and Engineering. Office of Solid Waste. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, EEUU. 1137 pp.
- EPA (2004) *Risk Assessment Guidance for Superfund. Volume I-Human Health Evaluation Manual*. U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, EEUU. [www.epa.gov/superfund/index.htm](http://www.epa.gov/superfund/index.htm).
- EPA (2006) *A Framework for Assessing Health Risks of Environmental Exposures to Children*. EPA/600/R-05/093F. National Center for Environmental Assessment U.S. Environmental Protection Agency. Washington, DC, EEUU. [www.epa.gov/ncea](http://www.epa.gov/ncea).
- Eyles J, Furgal C (2000) *Indicators in Environmental Health: Identifying and Selecting Common Sets*. Conferencia de Consenso en la Vigilancia de la Salud Ambiental: Acordando Conjuntos Básicos de Indicadores y su Uso Futuro. Québec, 10-12/10/2000. Ottawa, ON, Canadá.
- García-Vargas GG, Rubio-Andrade M, Del Razo LM, Borja-Aburto V, Vera-Aguilar E, Cebrián ME (2001) Lead exposure in children living in a smelter community in region La-guenera, Mexico. *J. Toxicol. Env. Health.* 62: 417-429.
- Gilbert S, Miller E (2008) Scientific Consensus Statement on Environmental Agents Associated with Neurodevelopmental Disorders. *Collaborative on Health and the Environment's Learning and Developmental Disabilities Initiative (CHELDDI)*. July, 2008. [www.iceh.org/pdfs/LDDI/LDDIStatement.pdf](http://www.iceh.org/pdfs/LDDI/LDDIStatement.pdf).
- Gonsebatt ME, Salazar AM, Montero R, Díaz-Barriga F, Yáñez L, Gómez H, Ostrosky-Wegman P (1995) Genotoxic monitoring of workers at a hazardous waste disposal site in Mexico. *Env. Health Persp.* 103: 111-113.
- Grimaldo M, Borja V, Ramírez AL, Ponce M, Rosas M, Díaz-Barriga F (1995) Endemic fluorosis in San Luis Potosí, Mexico. I. Identification of risk factors associated with human exposure to fluoride. *Env. Res.* 68: 25-30.
- Grimaldo M, Turrubiarres F, Milan J, Pozos A, Alfaro C, Díaz-Barriga F (1997) Endemic fluorosis in San Luis Potosí, Mexico. III. Screening for fluoride exposure using a geographic information system. *Fluoride* 30: 33-40.
- Hicks MO, Sanín-Aguirre LH, Díaz-Barriga F, Reza-López SA, Romieu I (2006) Risk assessment in an old lead smelter complex in Chihuahua, Mexico. *Tecnociencia* 1: 26-35.
- IPCC (2007) *Climate Change 2007*. Pachauri RK, Reisinger A (Eds.) *Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Intergovernmental Panel on Climate Change. Ginebra, Suiza. 104 pp.
- IPCS (2006) *Principles for Evaluating Health Risk in Children Associated with Exposure to Chemicals*. International Programme on Chemical Safety. Ginebra, Suiza. 237 pp.
- Jasso-Pineda Y, Espinosa-Reyes G, González-Mille D, Razo-Soto I, Carrizales L, Torres-Dosal A, Mejía-Saavedra J, Monroy M, Irina Ize A, Yarto M, Díaz-Barriga F (2007) An integrated health risk assessment approach to the study of mining sites contaminated with arsenic and lead. *Integr. Env. Assess. Manag.* 3: 344-350.
- Joshaghani HR, Ahmadi AR, Mansourian AR (2007) Effects of occupational exposure in pesticide plant on workers' serum and erythrocyte cholinesterase activity. *Int J Occup Med. Env. Health* 20: 381-385.
- Lee C (2002) Environmental justice: building a unified vision of health and the environment. *Env. Health Persp.* 110: 141-143.
- Morris K (2004) Silent emergency of poor water and sanitation. *Lancet* 363: 954.
- OMS (2000) *Environmental Health Indicators: Development of a Methodology for the WHO European Region*. (Informe Interino, 18/12/2000). Organización Mundial de la Salud. Bilthoven, Países Bajos. 103 pp.
- OMS (2008) *Achieving Health Equity: from root causes to fair outcomes*. Interim Statement. Commission on Social Determinants of Health. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza. 62 pp.
- OPS/OMS (2000) *PAHO/WHO Report of the First Binational Workshop on Environmental Health Indicators*. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud. Ciudad Juárez, México (6-7/06/2000). 36 pp.

- OPS/OMS (2001) *Encuesta Sobre Salud Ambiental (ESA). Infraestructura y Recursos Humanos de los Estados de la Frontera Norte México*. Oficina de Campo, Frontera México-Estados Unidos. El Paso, Texas, 1999-2000. Organización Panamericana de la Salud. El Paso, Texas, EEUU. 75 pp.
- Ortiz-Pérez D, Rodríguez-Martínez M, Martínez F, Borja-Aburto VH, Castelo J, Grimaldo JI, De la Cruz E, Carrizales L, Díaz-Barriga F (2003) Fluoride-induced disruption of reproductive hormones in men. *Env. Res.* 93: 20-30.
- Ortiz-Pérez MD, Torres-Dosal A, Batres LE, López-Guzmán OD, Grimaldo M., Carranza C, Pérez-Maldonado IN, Martínez F, Pérez-Urizar J, Díaz-Barriga F (2005) Environmental Health Assessment of Deltamethrin in a Malarious Area of Mexico: Environmental Persistence, Toxicokinetics and Genotoxicity in Exposed Children. *Env. Health Persp.* 113: 782-786.
- Pérez-Maldonado IN, Díaz-Barriga F, De la Fuente H, González-Amaro R, Calderón J, Yáñez L (2004) DDT induces apoptosis in human mononuclear cells in vitro and is associated with increased apoptosis in exposed children. *Env. Res.* 94: 38-46.
- Pérez-Maldonado IN, Athanasiadou M, Yáñez L, González-Amaro R, Bergman A, Díaz-Barriga F (2006) DDE-induced apoptosis in children exposed to the DDT metabolite. *Sci. Total Env.* 370: 343-351.
- PNUMA-OPS (2004) *Evaluación Integral de Ambiente y Salud en América Latina y el Caribe*. IEAH/GEO Salud. Sep-2003. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente/Organización Panamericana de la Salud/Fundación Oswaldo Cruz. Brasilia, Brasil. 15 pp.
- Prüss-Üstün A, Corvalán C (2006) *Preventing Disease through Healthy Environments. Towards an Estimate of the Environmental Burden of Disease*. World Health Organization. Ginebra, Suiza. 104 pp.
- Razo I, Carrizales L, Castro J, Díaz-Barriga F, Monroy M (2004) Arsenic and heavy metal pollution of soil, water and sediments in a semi-arid climate mining area in Mexico. *Water Air Soil Pollut.* 152: 129-152.
- Riojas-Rodríguez H, Romano-Riquer P, Santos-Burgoa C, Smith KR (2001) Household firewood use and the health of children and women of Indian communities in Chiapas, Mexico. *Int. J. Occup. Env. Health* 7: 44-53.
- Rocha-Amador D, Navarro ME, Carrizales L, Morales R and Calderón J (2007) Decreased intelligence in children and exposure to fluoride and arsenic in drinking water. *Cad. Saúde. Páb.* 23: 579-587.
- Schei MA, Hessen JO, Smith KR, Bruce N, McCracken, López V (2004) Childhood asthma and indoor woodsmoke from cooking in Guatemala. *J. Expos. Anal. Env. Epidemiol.* 14: 110-117.
- Smith KR (2003) Indoor air pollution and acute respiratory infections. *Ind. Pediatr.* 40: 815-819.
- SSA/PRASA (2001) *Programa de Acción en Salud Ambiental*. Plan Nacional de Desarrollo 2000-2006. Secretaría de Salud. México. 210 pp.
- Suter II GW (1993) *Ecological Risk Assessment*. Lewis. Boca Ratón, FL, EEUU. 538 pp.
- Torres Dosal A, Pérez-Maldonado IN, Jasso-Pineda Y, Martínez-Salinas RI, Alegría-Torres JA, Díaz-Barriga F (2008) Indoor air pollution in a Mexican indigenous community: Evaluation of risk reduction program using biomarkers of exposure and effect. *Sci. Total Env.* 390: 362-368.
- UNICEF/OMS (2002) *Children in the New Millennium. Environmental Impact on Health*. United Nations Conference on Environmental Program. www.unep.org/ceh/

## HEALTH RISK ASSESSMENT METHODOLOGIES FOR THE STUDY OF VULNERABLE COMMUNITIES IN LATIN AMERICA

César A. Ilizaliturri, Donaji González-Mille, Nadia A. Pelallo, Gabriela Domínguez, Jesús Mejía-Saavedra, Arturo Torres Dosal, Iván Pérez-Maldonado, Lilia Batres, Fernando Díaz-Barriga and Guillermo Espinosa-Reyes

### SUMMARY

The most commonly used methods for risk assessment are based on environmental analysis and the use of mathematical models for the estimation of exposure. However, the uncertainty of this approach is high, as the models are based on scenarios that may be not the correct ones. In order to decrease the uncertainty, the use of biomarkers has been proposed. Furthermore, considering the complexity of pollution in some sites, these biomarkers can be used both in humans and biota in order to obtain better information for the definition of risks at those sites. In

addition to biomarkers, social, health and environmental indicators have to be applied for risk characterization, as different factors of vulnerability can modify the extent of health risks in some communities. At the end, with environmental monitoring and the use of biomarkers and indicators of vulnerability, health risks in humans and biota (integrated risk assessment) can be assessed in different scenarios. In this paper we present the strategies that our group developed for the study of hazardous waste sites, vulnerable communities and areas impacted by climate change.

## REVISÃO DAS METODOLOGIAS SOBRE AVALIAÇÃO DE RISCOS NA SAÚDE PARA O ESTUDO DE COMUNIDADES VULNERÁVEIS NA AMÉRICA LATINA

César A. Ilizaliturri, Donaji González-Mille, Nadia A. Pelallo, Gabriela Domínguez, Jesús Mejía-Saavedra, Arturo Torres Dosal, Iván Pérez-Maldonado, Lilia Batres, Fernando Díaz-Barriga e Guillermo Espinosa-Reyes

### RESUMO

Os métodos para avaliar o risco na saúde se baseiam, em geral, no monitoramento ambiental e na estimação da exposição através de modelos matemáticos. A incerteza de tal estratégia é grande. Em consequência, para incrementar a certeza sobre a avaliação da exposição aos contaminantes, tem sido proposta a utilização de biomarcadores. No entanto, a complexidade dos novos cenários de risco obriga a avaliar não somente as populações humanas mas também ao resto da biota. Da mesma forma, fatores ambientais, sociais e de saúde, ao afetar a vulnerabili-

dade, também devem ser considerados para a caracterização do risco. Estes fatores de vulnerabilidade podem avaliar-se através de indicadores. Finalmente, com as análises ambientais, o uso de biomarcadores e o manejo de indicadores ambientais, sociais e de saúde, pode-se avaliar o risco de maneira integrada (humanos e biota). Nesta revisão se apresentam as diversas estratégias empregadas por este grupo de trabalho para avaliar o risco em lugares contaminados, comunidades marginalizadas e em áreas afetadas pela mudança global climática.

## ANEXO 3

### Validación e implementación de metodologías para cuantificar metabolitos de Benceno, Tolueno y Xilenos

## METODOLOGÍA PARA CUANTIFICAR ÁCIDO *trans-trans* MUCÓNICO, METABOLITO DEL BENCENO

El ácido *trans-trans* mucónico (*t,t*-AM), es un metabolito menor del benceno en animales y humanos (Figura 1). Sin embargo, es un indicador sensible para evaluar la exposición a bajas dosis de benceno en adultos y en niños (Amodio-Cocciari 2001, ATSDR, 2005; Dosemeci 1996, Lee B. et. al., 1993).

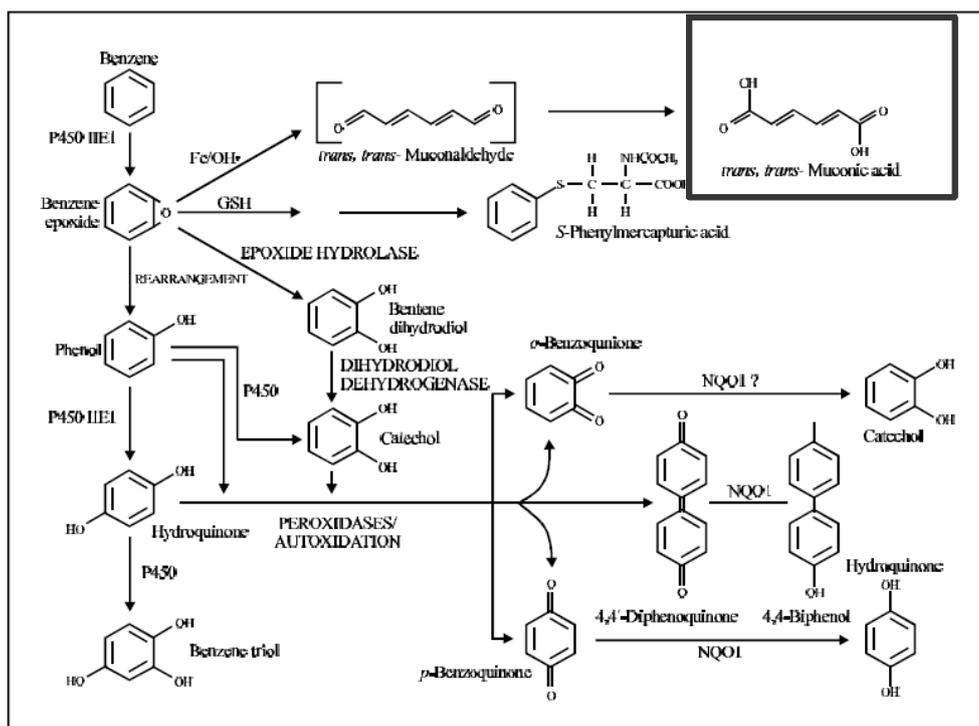


Figura 1. Metabolismo del Benceno en humanos (Ross, 1996 en Carcinogenic Effects of Benzene: an update, EPA, 1998)

El *t,t*-AM se determinó por el método descrito por Ducos et al. (1992) con algunas modificaciones. A continuación se describen: a) El protocolo de la toma de muestra; b) Manejo de la muestra (condiciones de almacenamiento); c) Metodología de extracción de *t,t*-AM con sorbentes de intercambio aniónico y d) Condiciones de análisis en el HPLC.

### Protocolo de la toma de muestra

Se colectó la primera orina de la mañana en botes de polipropileno (PP). Se debe indicar por escrito a los participantes que no deberán ingerir jugos, bebidas embotelladas ni productos enlatados y/o envasados (aderezos, frituras, pastelillos, etc) que contengan

ácido sórbico un mínimo de 24 horas previas a la colecta de la muestra. El ácido sórbico contenido en estos productos puede interferir en las mediciones de ácido *trans, trans* mucónico (Weaver et al, 2000).

### ***Manejo y almacenamiento de la muestra***

La muestra se preserva a 4°C durante su traslado al laboratorio. Se deberá acidificar con ácido clorhídrico (HCl) 6 M añadiendo 100 µl por cada 10 ml de muestra colectada.

Una vez en el laboratorio se centrifuga a 3000 rpm durante 15 minutos y deberá ser separada en alícuotas de  $\pm 3$  ml en tubos de 5 ml. Estas serán preservadas a 4°C hasta su análisis.

### ***Metodología de extracción de t,t-AM: Extracción con sorbentes de intercambio aniónico***

Para separar el analito de la muestra de orina se realiza una extracción empleando columnas de intercambio aniónico.

### **Fundamento**

Este procedimiento tiene como fundamento que las partículas  $N^+$  (CH<sub>3</sub>) (SAX) contenidas en las columnas empleadas son un intercambiador aniónico usado para la adsorción de ácidos. Las condiciones óptimas para la extracción requieren que el sorbente (intercambiador iónico) y el analito deben tener cargas opuestas, además de que la concentración del analito deberá ser baja. El pH de la muestra deberá favorecer la forma ionizada del analito (dos unidades arriba del pKa) Lo cual favorece la completa adsorción del analito. Para la elusión, deberá emplearse un solvente que neutralice el ácido y compita con el analito en los sitios de intercambio. La selectividad en una columna de intercambio aniónico está relacionada a los siguientes factores:

- **pH**

El pH debe ser bajado en el caso de analitos de comportamiento básico y aumentado para los ácidos en solución acuosa. El pH óptimo para la ionización está dado en función del pKa. Para un compuesto ácido, el pH se deberá ajustar dos unidades arriba del pKa. De esta manera se consigue el 99% de ionización. Cada unidad de pH cambia en % de las moléculas cargadas a no cargadas por un factor de 10. Para

la elusión de un ácido en una columna SAX el pH deberá ajustarse dos unidades de pH abajo del pKa del ácido, para pasar a la forma no ionizada.

- **Counter ion**

Para intercambiadores SAX:

- Los iones:  $\text{OH}^-$ ,  $\text{F}^-$ ,  $\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^-$  son fácilmente desplazables.
- Los iones:  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HCO}_3^-$  son moderadamente desplazables

- **Fuerza iónica**

La fuerza iónica mide la concentración total de especies iónicas en la matriz. Una fuerza iónica baja favorece la retención, mientras que una fuerza iónica alta facilita la elusión

- **Solventes orgánicos**

En algunos casos la solubilidad de la forma neutra del ácido o de la base es más baja en agua comparada con la forma iónica. Por lo cual es útil utilizar un solvente orgánico miscible en agua para hacer más efectiva la elusión del compuesto.

### Metodología de extracción

El *t,t*-AM (Figura 2) tiene un pKa de 4.7. Para la extracción se emplearon columnas SAX 500 mg; 6 mL; Strata; phenomenex.

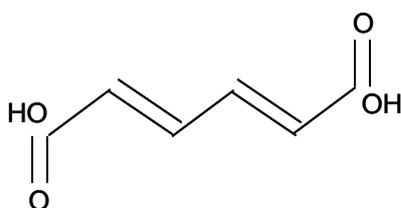


Figura 2. Ácido *trans-trans* mucónico

### Soluciones

- Metanol, grado HPLC
- Agua desionizada
- Ácido Acético
- Ácido acético/ metanol al 20%
- Solución buffer trisma 0.1 M pH= 8.5
- Solución buffer trisma 0.05M pH= 8.5

### *Acondicionamiento de las columnas*

- Las columnas se colocan en la cámara de vacío. Se les agrega 4 mL de metanol. Se deja el solvente en contacto con las columnas durante 10 minutos. Aplicar vacío
- Añadir 3 mL de agua desionizada, dejar pasar el volumen con un ligero vacío
- Pasar un volumen de 2 mL de buffer trisma 0.05 M

Es importante que durante todo el procedimiento de acondicionamiento el material de la columna se mantenga húmedo.

### *Extracción del analito*

- A 1 mL de orina, se añaden 2 mL de buffer trisma 0.2M
- Agitar
- La muestra se hace pasar por las columnas previamente acondicionadas como se señaló anteriormente, sin emplear vacío.
- Se hacen pasar 2 mL de agua desionizada.
- Pasar 3 ml de ácido acético al 1%
- Aplicar vacío durante 15 min hasta secar las columnas
- Eluir con 3 mL de ácido acético/metanol al 20%. La elusión se realiza en dos partes, aplicando 1.5 mL cada vez. La primera elusión se realiza sin aplicar vacío. En la segunda se utiliza un vacío suave de aprox 0.5 mL/min
- Aplicar vacío durante 20 minutos.
- Filtrar el eluato en jeringa con un filtro de 0.45 $\mu$ m Ø

De este eluato se inyectaran 20  $\mu$ L en el HPLC bajos las condiciones a continuación descritas.

### *Condiciones de análisis en el HPLC*

En la siguiente Tabla se describen las condiciones del equipo bajo las cuales se realiza la cuantificación del *t,t*-AM. Se utilizó un Cromatógrafo Agilent serie 1100 equipado con una bomba cuaternaria.

**Tabla 1. Condiciones cromatográficas para la cuantificación del *t,t*-AM**

Detector	UV-Vis (259 nm)
Columna	C-18 (Zorbax)
Fase móvil	Metanol/Acido acético al 1% (20:80)
Flujo	1 mL/min
Temperatura Columna	30°C

Equipo: Agilent serie 1100. Bomba cuaternaria

***Validación del método***

Se realizaron curvas de calibración en solvente y en matriz, para estas últimas se aplicó el método de extracción anteriormente descrito. Las curvas de calibración se prepararon y analizaron por triplicado bajo las condiciones de equipo descritas anteriormente. Los parámetros de linealidad: pendiente (b); intercepto (a); coeficiente de correlación (r); el rango lineal así como los límites de detección (LDD) y Límites de cuantificación (LDC) se presentan en la Tabla 2 para las curvas en solvente y en matriz .

**Tabla 2. Parámetros de linealidad, LDD y LDC calculados en curvas de calibración en solvente y en orina fortificada**

	Solvente	Orina
Pendiente	252.44	235.40
Intercepto	2.42	16.70
Coeficiente de correlación	0.9999	0.9999
Rango lineal (mg/L)	0.1-5.0	0.1-5.0
LDD (mg/L)	0.03	0.03
LDC (mg/L)	0.09	0.11

Los resultados corresponden al valor promedio de mediciones realizadas por triplicado. Solvente: agua- metanol; LDD (Límite de detección); LDC (Límite de cuantificación)

En las siguientes Figuras se presentan las curvas de calibración construidas con valores promedio de mediciones realizadas por triplicado; en solvente para validar el sistema (Figura 3) y en orina para validar el método (Figura 4).

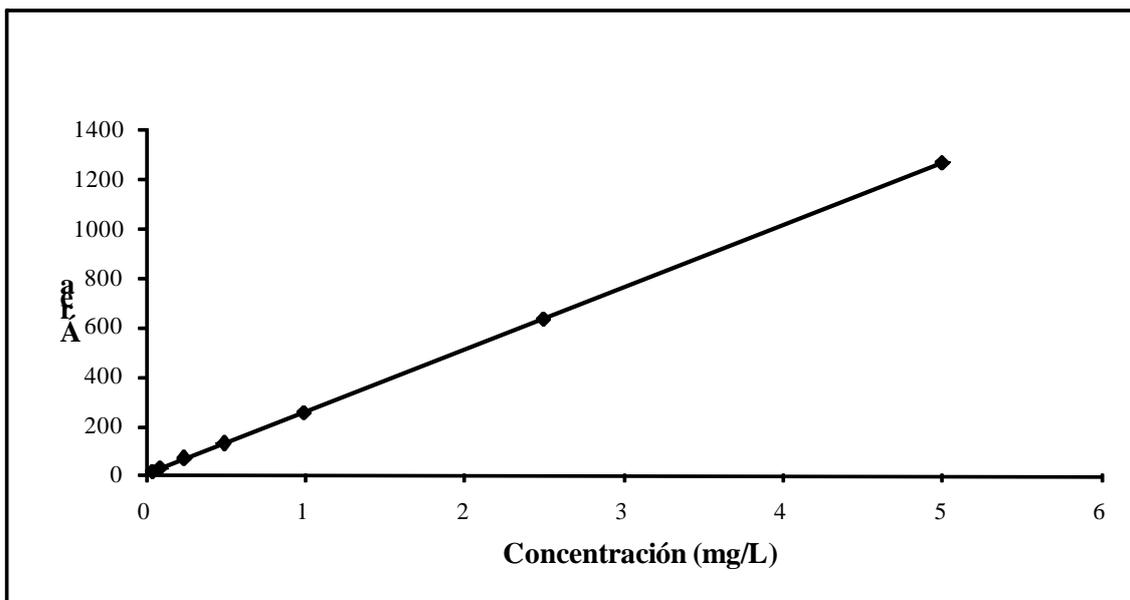


Figura 3. Gráfica de ácido trans, trans mucónico en metanol-agua. Los puntos corresponden al promedio de una curva preparada por triplicado

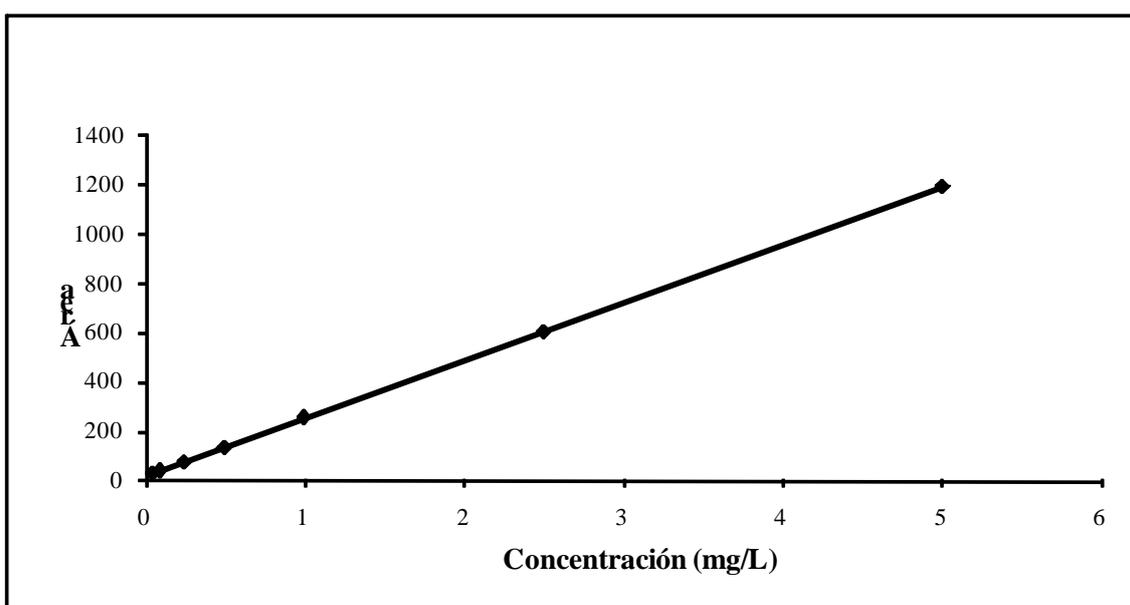


Figura 4. Gráfica de ácido trans, trans mucónico en orina fortificada. Los puntos corresponden al promedio de una curva preparada por triplicado

#### ***Recuperación del método.***

Para validar la recuperación del método se empleó el estándar calibrador IRIS Clin Cal Recipe (Munich, Germany) 9969 (5.1 mg/L *t,t*-AM ). Posterior a la reconstitución, se

trabajó bajo las mismas condiciones de las muestras de orina la recuperación fue de 97.5% (95.7-98.5%).

## VALIDACIÓN DE LA CUANTIFICACIÓN DE METABOLITOS DE TOLUENO Y XILENO

Para evaluar la exposición a tolueno y el xileno, se desarrolló el método NIOSH 83001 (NIOSH, 2003), en el cual en un solo procedimiento se cuantifican los metabolitos de tolueno y xileno. La colecta de la muestra y las condiciones de almacenamiento para las muestras de orina son iguales que las previamente descritas para la determinación de *t,t*-AM.

El biomarcador de exposición a tolueno es el Ácido Hipúrico (AH) el cual es un metabolito (Figura 5).

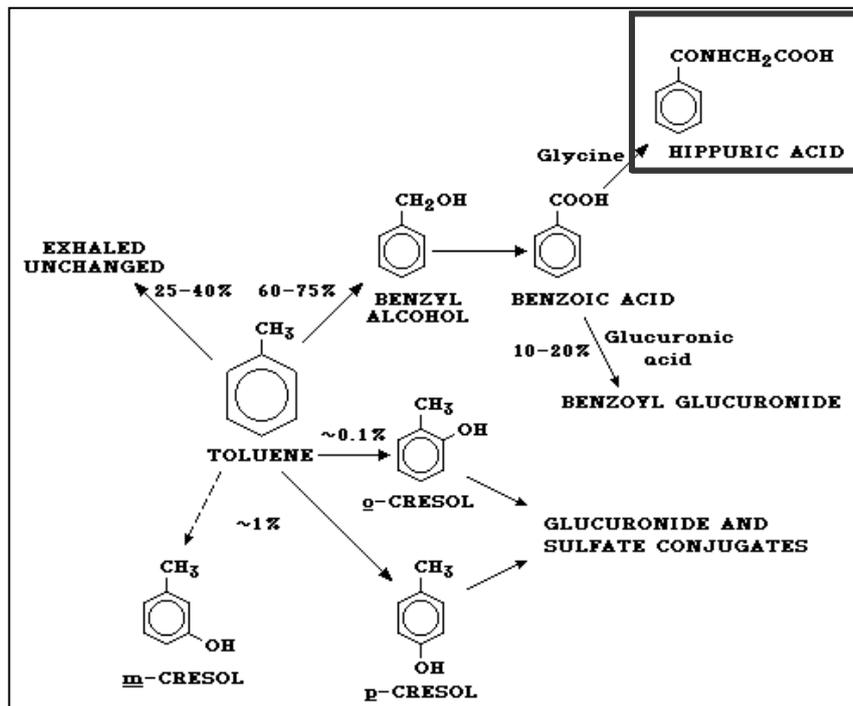


Figura 5. Metabolismo de Tolueno en Humanos. Tomado de: IPCS (1986).

Para la evaluación de exposición a xilenos desarrolló el método para cuantificar Ácido metil-Hipúrico (AMH). La figura 6 describe el metabolismo de xileno en humanos.

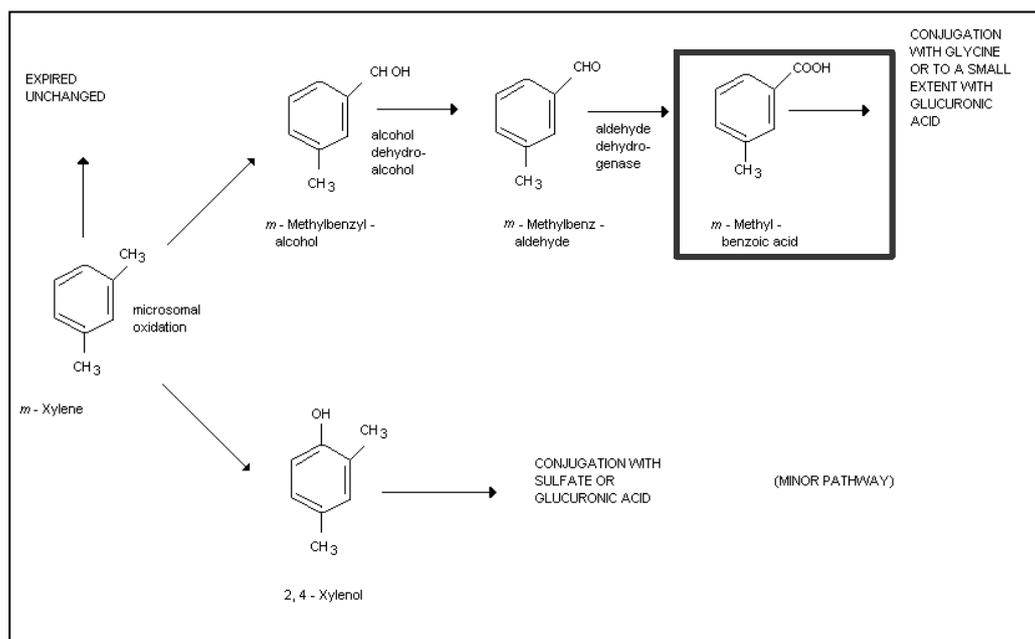


Figura 6. Metabolismo de Xilenos en humanos. Tomado de: IPCS (1997).

### *Procesamiento de las muestras*

La muestra es centrifugada a 3000 xg y posteriormente se filtra empleando membranas Millipore 0.22µm Ø. Un volumen de 20 µL se inyecta directamente al equipo.

### *Condiciones de análisis en el HPLC*

La Tabla 3 presenta las condiciones de análisis establecidas para el análisis de AH y AMH.

**Tabla 3. Condiciones cromatográficas de análisis para metabolitos de tolueno y xilenos**

Detector	UV-Vis (254 nm)
Columna	C-18 (Sorbax)
Temp. Celda	40°C
Fase móvil:	Metanol/Acido acético al 2.5%
Gradiente lineal	De mayor polaridad a menor polaridad
Flujo	1 ml/min
Equipo: Agilent serie 1100. Bomba cuaternaria	

### ***Validación del método***

Se realizaron curvas de calibración para cada compuesto en solvente y en matriz, para estas últimas se aplicó el método de extracción anteriormente descrito. Las curvas de calibración se prepararon y analizaron por triplicado. Los parámetros de linealidad: pendiente (b); intercepto (a); coeficiente de correlación (r); el rango lineal así como los límites de detección (LDD) y Límites de cuantificación (LDC) se presentan en la Tabla 4 para las curvas de calibración en solvente y en matriz biológica de cada uno de los metabolitos.

**Tabla 4. Parámetros de linealidad, LDD y LDC para cada metabolito evaluado en curva de calibración en solvente**

	Solvente		Orina	
	AH	AHM	AH	AHM
Pendiente	10.37	4.19	10.36	4.18
Intercepto	690.3	-230.7	4056.1	-230.7
Coefficiente de correlación	0.999	0.998	0.999	0.998
LDD (mg/L)	0.9	10	2	10
LDC (mg/L)	17	61	23	91
Rango lineal (mg/L)	15-1000	15-3000	100-1000	100-2000

Los resultados corresponden al valor promedio de mediciones realizadas por triplicado  
Solvente: agua-metanol; LDD (Límite de detección); LDC (Límite de cuantificación)

### ***Recuperación del método***

Para validar la recuperación del método se empleó un estándar calibrador: IRIS Clin Cal Recipe (Munich, Germany) 9969 (1.36 g/L AH, 112 mg/L AMH). Es una muestra liofilizada, posterior a la reconstitución de esta con agua desionizada se sometió al proceso descrito anteriormente y la recuperación fue de 95.5 %.

## REFERENCIAS

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Diseases Registry). 2005. Toxicological Profile of Benzene.

Amodio-Cocchieri R, Del Prete U, Cirillo T, Agozzino E, Scarano G. 2001. Evaluation of benzene exposure in children living in Campania (Italy) by urinary trans,trans-muconic acid assay. *J Toxicol Environ Health A*. 63:79-87.

Dosemeci M, Yin SN, Linet M, Wacholder S, Rothman N, Li GL, et al. 1996. Indirect validation of benzene exposure assessment by association with benzene poisoning. *Environ Health Perspect*. 104:1343-7.

Ducos P, Gaudin R, Bel J, Maire C, Francin, J M, Robert A, et al. 1992. Trans,trans-Muconic acid, a reliable biological indicator for the detection of individual benzene exposure down to the mg/L level. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 64:309–313

IPCS (International Programme on Chemical Safety) 1986. Toluene. *Environmental Health Criteria* 52. Publ: WHO, ISBN 92.

IPCS (International Programme on Chemical Safety) 1997. Xylenes. *Environmental Health Criteria* 190. Publ: WHO, ISBN 92.

Lee BL, New AL, Kok PW, Ong HY, Shi CY, Ong CN. 1993. Urinary trans,trans-muconic acid determined by liquid chromatography: application in biological monitoring of benzene exposure. *Clinical Chemistry* 39: 1788-1792.

NIOSH. (National Institute for Occupational Safety and Health). 2003. CDC. Hippuric and methyl hippuric acids in urine. Method 8301. (3) *Manual of Analytical Methods*.

Ross, 1996 en *Carcinogenic Effects of Benzene: an update*, EPA (Environmental Protection Agency) 1998.

Weaver VM, Buckley T, Groopman JD. 2000. Lack of Specificity of trans,trans-Muconic Acid as a Benzene Biomarker after Ingestion of Sorbic Acid-preserved Foods, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 9:749-55.