



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

**PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y
BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS**

PRESENTA:

Q. F. B. ARLETTE ANDREA CAMACHO DE LA CRUZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

ASESORES:

Dra. MARÍA DEOGRACIAS ORTIZ PÉREZ

Dr. ISRAEL RAZO SOTO

AGOSTO, 2014



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS, INGENIERÍA Y MEDICINA

PROGRAMAS MULTIDISCIPLINARIOS DE POSGRADO EN CIENCIAS
AMBIENTALES

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y
BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

PRESENTA:

Q. F. B. ARLETTE ANDREA CAMACHO DE LA CRUZ

COMITÉ TUTELAR:

DIRECTOR: Dr. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

ASESOR: Dra. MARÍA DEGRACIAS ORTIZ PÉREZ

ASESOR: Dr. ISRAEL RAZO SOTO

SINODALES:

PRESIDENTE: Dr. FERNANDO DÍAZ-BARRIGA MARTÍNEZ

SECRETARIO: Dr. ISRAEL RAZO SOTO

VOCAL: Dr. JOSÉ DE JESÚS MEJÍA SAAVEDRA

CRÉDITOS INSTITUCIONALES

PROYECTO REALIZADO EN:

**COORDINACIÓN PARA LA INNOVACIÓN Y APLICACIÓN DE LA CIENCIA Y LA
TECNOLOGÍA (CIACyT). UASLP**

CON FINANCIAMIENTO DE:

CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA (CONACyT)

A TRAVÉS DEL PROYECTO DENOMINADO:

**E-TOX TELEMEDICINA PARA EL MANEJO COMUNITARIO DE LOS RIESGOS EN
SALUD AMBIENTAL. ATENCIÓN A ZONAS VULNERABLES**

AGRADEZCO A CONACyT EL OTORGAMIENTO DE LA BECA-TESIS

Becario No. 273273

**LA MAESTRÍA EN CIENCIAS AMBIENTALES RECIBE APOYO A TRAVÉS
DEL PROGRAMA NACIONAL DE POSGRADOS DE CALIDAD (PNPC)**

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a Dios, y a mi familia por el apoyo recibido siempre.

Agradezco también a los integrantes de mi comité tutelar, Dr. Fernando Díaz-Barriga Martínez, Dra. María Deogracias Ortiz Pérez y al Dr. Israel Razo Soto por haber dirigido este trabajo, así como al Dr. José de Jesús Mejía Saavedra por su contribución como integrante del jurado.

Gracias también a las personas que participaron en este proyecto y que permitieron la realización del mismo.

Finalmente doy gracias a la Q. F. B. Lilia Elisa Batres Esquivel, a la M. C. Leticia Carrizales Yáñez, a Lourdes, y al resto de los compañeros del laboratorio, del área CIAAS y del posgrado por todo el apoyo brindado.

CONTENIDO

RESUMEN	10
INTRODUCCIÓN	12
BENCENO	13
USOS Y FUENTES DE EXPOSICIÓN	13
TOXICOCINÉTICA Y TOXICODINAMIA.....	13
TOXICIDAD	17
VALORES DE REFERENCIA.....	17
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS	19
USOS Y FUENTES DE EXPOSICIÓN	19
TOXICOCINÉTICA Y TOXICODINAMIA.....	20
TOXICIDAD	21
VALORES DE REFERENCIA.....	22
BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN	24
ANTECEDENTES	25
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS	25
BENCENO	29

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

JUSTIFICACIÓN.....	40
OBJETIVOS.....	41
OBJETIVO GENERAL	41
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	41
METODOLOGÍA.....	41
SITIOS DE ESTUDIO	41
ZONA AGRÍCOLA-COMERCIAL	42
ALPUYECA, XOCHITEPEC, MORELOS.....	42
ZONA INDUSTRIAL	44
FRACCIONAMIENTO INDUSTRIAL SAN LUIS, SAN LUIS POTOSÍ.....	44
ZONAS MINERO-METALÚRGICAS	45
VILLA DE LA PAZ, SAN LUIS POTOSÍ	45
CEDRAL, SAN LUIS POTOSÍ.....	46
TOMA DE MUESTRA	49
ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS.....	49
ÁCIDO <i>TRANS</i> , <i>TRANS</i> -MUCÓNICO	49
TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS	49
MATERIAL Y REACTIVOS	50
EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE).....	50

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS

ANÁLISIS CUANTITATIVO	51
1-HIDROXIPIRENO	52
TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS	52
MATERIAL Y REACTIVOS	52
HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA	53
EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE)	53
EVAPORACIÓN	54
ANÁLISIS CUANTITATIVO	54
VALIDACIÓN DE MÉTODOS	56
ÁCIDO <i>TRANS, TRANS</i> -MUCÓNICO	57
1-HIDROXIPIRENO	59
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	61
RESULTADOS	62
CUESTIONARIO DE EXPOSICIÓN	62
DETERMINACIÓN DE 1-OHP Y <i>T,T</i> -MA EN ORINA	64
DISCUSIÓN	68
HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS	68
BENCENO	71
SUSCEPTIBILIDAD DE LOS NIÑOS	75

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

CONCLUSIONES.....	76
LIMITANTES	77
1-HIDROXIPIRENO	77
ÁCIDO <i>TRANS</i> , <i>TRANS</i> -MUCÓNICO.....	77
RECOMENDACIONES	78
BIBLIOGRAFÍA	79
Anexo 1. Valores de 1-OHP urinario reportados por diferentes autores.....	91
Anexo 2. Valores de <i>t,t</i> -MA urinario reportados por diversos autores.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Biotransformación del benceno.....	16
Figura 2. Localización de Alpuyeca, Xochitepec, Morelos (INEGI, 2010).....	43
Figura 3. Localización del fraccionamiento Industrial San Luis, San Luis Potosí (INEGI, 2010).....	45
Figura 4. Localización de Villa de la Paz, San Luis Potosí (INEGI, 2010).	48
Figura 5. Localización de Cedral, San Luis Potosí (INEGI, 2010).....	48
Figura 6. Curva de calibración para <i>t,t</i> -MA.	58
Figura 7. Curva de calibración para 1-OHP.	60
Figura 8. Hábito de fumar dentro del hogar.	63
Figura 9. Hábito de quemar basura en casa y en la localidad.....	63
Figura 10. Combustible utilizado para cocinar los alimentos.	64
Figura 11. Exposición a HAPs. Niveles de 1-OHP en orina ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina).....	70
Figura 12. Nivel de 1-OHP urinario ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina) reportado como Percentil 50, Percentil 75 y Percentil 95 para población infantil de diferentes zonas.	70
Figura 13. Exposición a benceno. Niveles de <i>t,t</i> -MA en orina ($\mu\text{g/g}$ creatinina).....	76

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. IBE propuestos para exposición ocupacional a benceno por la ACGIH y por la NOM-047-SSA1-2011 (OSHA, 2012; DOF, 2012).....	18
Tabla 2. Valores de referencia propuestos para exposición a HAPs (Jongeneelen, 2001)...	23
Tabla 3. Valores de referencia propuestos para exposición a HAPs (Jongeneelen, 2014)...	23
Tabla 4. Pasos de la SPE para <i>t,t</i> -MA.....	51
Tabla 5. Condiciones de operación del HPLC para el análisis de <i>t,t</i> -MA.....	52
Tabla 6. Pasos de la SPE para 1-OHP.	55
Tabla 7. Condiciones de operación del HPLC para el análisis de 1-OHP.....	56
Tabla 8. Precisión del método para la determinación de <i>t,t</i> -MA.....	59
Tabla 9. Precisión del método para la determinación de 1-OHP.....	61
Tabla 10. Exposición a HAPs. Niveles de 1-OHP urinario ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina).	65
Tabla 11. Exposición a HAPs. Niveles de 1-OHP urinario ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina). No se toman en cuenta los valores < LDC.	65
Tabla 12. Exposición a benceno. Niveles de <i>t,t</i> -MA urinario ($\mu\text{g/g}$ creatinina).	66
Tabla 13. Exposición a benceno. Niveles de <i>t,t</i> -MA urinario ($\mu\text{g/g}$ creatinina). No se toman en cuenta los valores < LDC.	67
Tabla 14. Correlación entre los niveles en orina de 1-OHP y <i>t,t</i> - MA. Valores de r_s y p de la prueba de Spearman.....	67

RESUMEN

La Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que factores ambientales físicos, químicos o biológicos pueden incidir de forma negativa sobre la calidad de vida de las personas. Dentro de los factores químicos se tienen las miles de sustancias tóxicas presentes en el ambiente a las cuales se está expuesto de manera voluntaria o involuntaria. Dichos contaminantes pueden provocar alteraciones en la salud en todos los sectores de la población, sin embargo, los más susceptibles a padecer tales efectos son los niños. Dos contaminantes ambientales clasificados por diversas agencias internacionales como carcinógenos y/o mutagénicos humanos en base a datos científicos son los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y el benceno, por estar así clasificados es importante realizar una evaluación de la exposición en los infantes, motivo del presente estudio. En esta investigación se evaluó la exposición a HAPs y a benceno en niños de 4 a 14 años de edad de una comunidad del Estado de Morelos (Alpuyeca) y de tres sitios del Estado de San Luis Potosí (Industrial San Luis, Villa de la Paz y Cedral). Las concentraciones de 1-hidroxipireno (1-OHP) como biomarcador de exposición a HAPs, y de ácido *trans, trans*-mucónico (*t,t*-MA) como marcador biológico de exposición a benceno, fueron determinadas mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Presión (HPLC). Con la finalidad de apoyar a la detección de las posibles fuentes de exposición a estas sustancias se aplicó un cuestionario de exposición. Las medianas de concentración para 1-OHP y *t,t*-MA respectivamente, fueron: Alpuyeca, 0.11 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina y 312 $\mu\text{g/g}$ creatinina; Industrial San Luis, 0.06 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina y 230 $\mu\text{g/g}$ creatinina; Villa de la Paz, 0.10 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina y 577 $\mu\text{g/g}$ creatinina; y por último, Cedral, 0.16 $\mu\text{mol/mol}$

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

creatinina y 665 $\mu\text{g/g}$ creatinina. Al comparar los resultados obtenidos contra valores de referencia, en general, se observó que los niveles de 1-OHP para todas las áreas se encuentran por abajo, en contraste, los valores de *t,t*-MA están elevados. Los resultados en cuanto a la exposición a benceno deberán tomarse con reserva, dado que el metabolito utilizado para medir la exposición, *t,t*-MA, puede tener otros orígenes, tal como la ingesta de ácido sórbico y/o sorbatos presentes como conservadores en algunos alimentos.

INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS), la salud ambiental está relacionada con todos los factores físicos, químicos y biológicos externos de una persona (OMS, 2013). Además, la OMS calcula que el 24% de la carga de morbilidad mundial y el 23% de todos los fallecimientos pueden atribuirse a factores ambientales; asimismo, en cuanto al sector de la población más afectado debido a los riesgos para la salud relacionados con el medio ambiente, esta Organización señala que los niños presentan un porcentaje desproporcionado de la carga de morbilidad ambiental (OMS, 2006).

Dentro de los factores químicos se encuentran todas las sustancias tóxicas presentes en el ambiente. Una sustancia tóxica se puede definir como aquella que, a cierta dosis, es capaz de producir efectos adversos sobre los organismos vivos (Repetto *et al.*, 2009). Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y el benceno son dos tóxicos clasificados por agencias internacionales como cancerígenos y/o mutagénicos humanos, aunado a lo anterior, se han documentado otros efectos nocivos en salud, por lo que la evaluación de la exposición a dichas sustancias resulta importante, sobre todo en la población infantil, propósito de este trabajo. A continuación se expone un resumen toxicológico de cada uno de estos compuestos.

BENCENO

Líquido inodoro y volátil. Sus vapores son más densos que el aire. El benceno ha sido utilizado como disolvente. Recibe el nombre de benceno el hidrocarburo puro.

USOS Y FUENTES DE EXPOSICIÓN

- Producción de benceno por destilación de la brea de hulla o a partir del petróleo.
- Antes era muy utilizado como disolvente en las industrias y en laboratorios de química y de biología. Actualmente su uso como disolvente está meticulosamente reglamentado.
- El benceno interviene en la composición de los combustibles. El porcentaje por volumen de benceno en gasolina es 1-2%, valor que varía de acuerdo al país, este juega un papel importante en la gasolina sin plomo debido a sus propiedades antidetonantes.
- Limpieza de depósitos de benceno.
- Síntesis de una gran cantidad de productos químicos.
- El benceno está presente en el humo de los cigarrillos (47 ppm), por lo que es la principal fuente de benceno en casa.
- Los volcanes e incendios forestales son fuentes naturales de benceno.

TOXICOCINÉTICA Y TOXICODINAMIA

El benceno penetra en el organismo esencialmente por inhalación. También es posible su absorción cutánea. Una vez absorbido, es en parte eliminado sin modificación

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

por la orina (< 1%) y por el aire espirado (del 10 al 50% según la actividad física y la cantidad de tejido adiposo). El resto es biotransformado.

La primera reacción catalizada por el sistema monooxigenásico (CYP2E1 hepática) es la transformación del benceno en benceno epoxi. Se trata de un metabolito reaccional que se fija directamente en las macromoléculas intracelulares (p. ej., proteínas y ADN) o bien se transforma en otros derivados. El benceno epoxi podría ser uno de los agentes responsables de la mielotoxicidad del benceno; la actividad monooxigenasa que da lugar a la formación de benceno epoxi se ha evidenciado en la médula ósea. El benceno epoxi puede transformarse, sin la intervención de enzimas, en fenol, que a continuación es glucuronoconjugado o sulfoconjugado; estos conjugados se eliminan por la orina. El fenol (libre o conjugado) constituye el principal metabolito urinario del benceno. El epoxi puede reaccionar por la acción de una transferasa con el glutatión para formar S-(1,2-dihidro-2-hidroxifenil)-glutatión. Por la acción ulterior de una glutatiónasa, en presencia de un receptor de glutamina, de una peptidasa y de acetil-CoA-acetiltransferasa, origina el ácido premercaptúrico [S-(1,2-dihidro-2-hidroxifenil)-acetil-L-cisteína], que se elimina por la orina. Cuando la orina está acidificada, el ácido premercaptúrico se transforma en ácido mercaptúrico.

Por la acción de la enzima epoxihidrasa, el epoxi del benceno da lugar a trans-1,2-dihidro-1,2-dihidrobenceno (benceno dihidrodiol), que se transforma rápidamente en catecol bajo la acción de una deshidrogenasa citosólica o en muconaldehído, que también podría fijarse al ADN y ejercer una acción mielotóxica. Esta última sustancia puede dar

lugar a ácido mucónico y CO₂. El fenol puede también ser hidroxilado a hidroquinol y catecol. Estas sustancias se transforman en las correspondientes benzoquinonas. El catecol puede ser hidroxilado a 1,2,4- bencenoetriol, que a su vez puede sufrir oxidación. Las peroxidasas presentes en la médula ósea pueden inducir la formación de bifenoles a partir del fenol. Es probable que el hidroquinol, el catecol y los bifenoles constituyan los principales precursores de los metabolitos tóxicos.

Hoy por hoy parece evidente que los derivados hidroxilados del benceno, entre ellos el fenol, pueden transformarse directamente por la acción de radicales libres (radical OH[•]). Así pues, los principales metabolitos del benceno responsables de su acción mielotóxica son el benceno epoxi, el catecol, el hidroquinol, el 1,2,4-bencenoetriol y la 1,2 y 1,4-benzoquinona. Entre estos, la benzoquinona ha demostrado ser la más potente inhibidora de la síntesis del ADN. También puede inhibir la producción de interleucina 2, el factor de crecimiento de las células T. Su formación en la médula ósea a partir del hidroquinol es estimulada por el fenol, uno de los principales metabolitos del benceno. Es posible que el benceno estimule su propio metabolismo (Lauwerys, 1994). En la Figura 1 se muestra la biotransformación del benceno.

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS

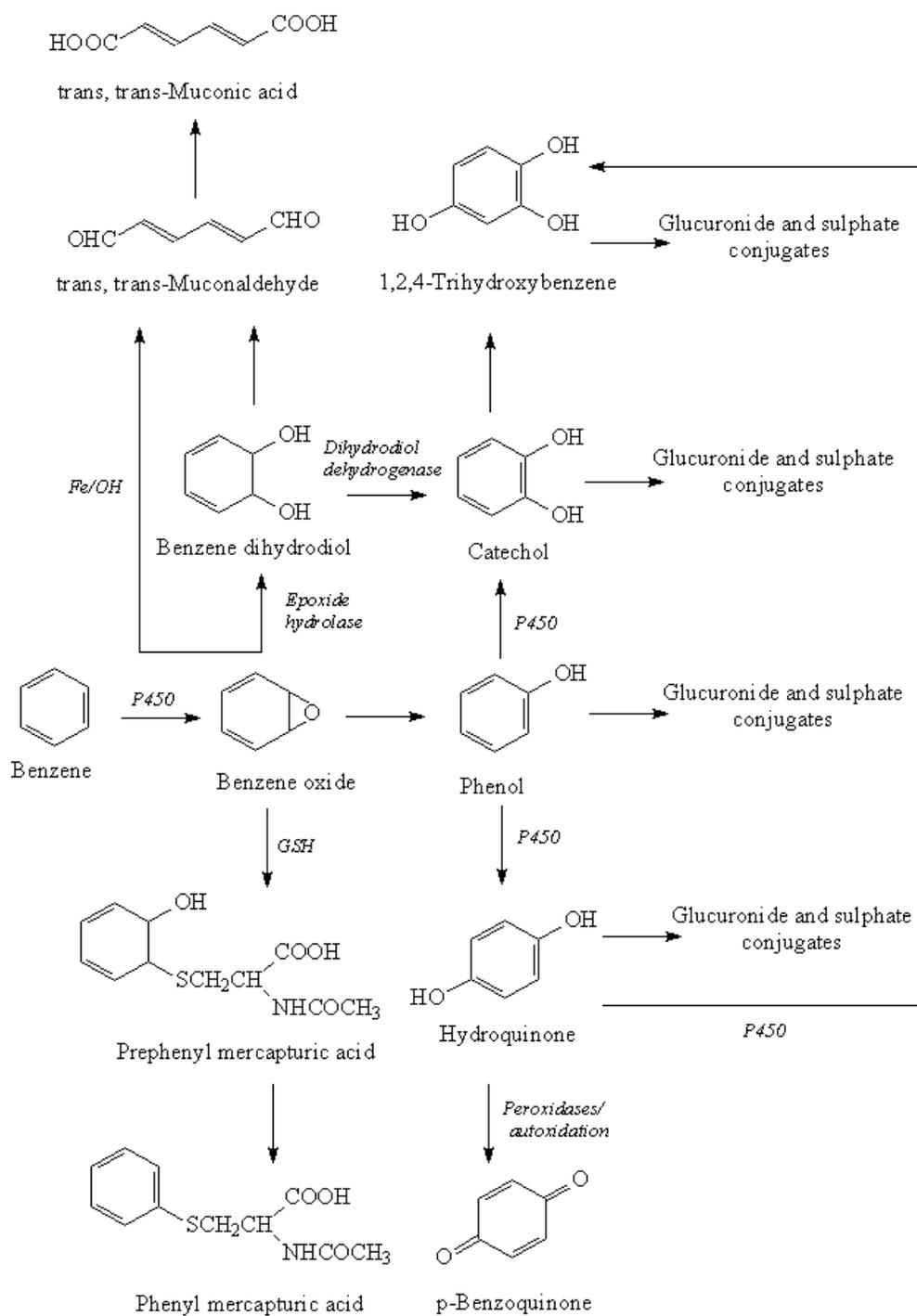


Figura 1. Biotransformación del benceno.

TOXICIDAD

A grandes dosis el benceno, como cualquier disolvente lipofílico, tiene acción depresora sobre el sistema nervioso central. Su toxicidad crónica se debe esencialmente a su acción sobre la médula ósea que parece ser causada, por lo menos en parte, por su transformación en derivados epoxi y fenólicos (Lauwerys, 1994). La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) y la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA, por sus siglas en inglés) han determinado que el benceno es carcinogénico en seres humanos (ATSDR, 2007).

VALORES DE REFERENCIA

La Conferencia Americana de Higienistas Industriales del Gobierno (ACGIH, por sus siglas en inglés), establece índices biológicos de exposición (BEI) para diversas sustancias químicas en el medio laboral. Estos son los valores de referencia para la evaluación de los resultados del monitoreo biológico (concentraciones de sustancias químicas en los medios biológicos, por ejemplo, sangre u orina).

Los BEI representan los niveles de determinantes que son más propensos a ser observados en las muestras recogidas de los trabajadores sanos que han estado expuestos a productos químicos en la misma medida que los trabajadores con exposición por inhalación del valor umbral límite (Threshold Limit Value, TLV, hace referencia a concentraciones en el aire de las sustancias químicas y representa las condiciones en las cuales se cree que casi todos los trabajadores pueden estar expuestos repetidamente, día tras día, durante toda una vida de trabajo, sin efectos adversos).

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

En la Tabla 1 se muestran los BEI establecidos para exposición laboral a benceno por la ACGIH (OSHA, 2012). Hablando a nivel nacional, existe la Norma Oficial Mexicana NOM-047-SSA1-2011, Salud ambiental-Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas, dichos valores se presentan en la Tabla 1 (DOF, 2012). Ahora bien, para poblaciones no ocupacionalmente expuestas a benceno la media o mediana de concentración de *t,t*-MA urinario se encuentra en un rango de 30 µg/g creatinina a 300 µg/g creatinina (Arnold *et al.*, 2013).

Sustancia química [Número CAS] Determinante y/o Parámetros Biológicos	Momento del Muestreo	IBE	Observaciones
BENCENO [71-43-2] Ácido S-fenilmercaptúrico en orina	Al final del turno de trabajo	25 µg/g creatinina	Nivel Basal (B)
Ácido <i>trans, trans</i> -mucónico en orina	Al final del turno de trabajo	500 µg/g creatinina	Nivel Basal (B)

Tabla 1. IBE propuestos para exposición ocupacional a benceno por la ACGIH y por la NOM-047-SSA1-2011 (OSHA, 2012; DOF, 2012).

HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

Compuestos orgánicos, constituidos por dos o más anillos aromáticos fusionados, formados por átomos de carbono e hidrógeno.

USOS Y FUENTES DE EXPOSICIÓN

Los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) provienen de procesos industriales o de fuentes naturales, son un grupo de sustancias químicas que se forman durante la combustión incompleta del carbón, petróleo, gasolina, madera, basura y otras sustancias orgánicas, como el tabaco y la carne al carbón. Los HAPs se encuentran generalmente como una mezcla de dos o más de estos compuestos, tal como el hollín. Algunos de los HAPs son manufacturados. Estos HAPs puros son sólidos incoloros, blancos o amarillo-verde pálido. Los HAPs están en alquitrán, petróleo crudo, creosota y alquitrán para techado, aunque unos pocos se usan en medicamentos o para fabricar tinturas y pesticidas. Se encuentran en el ambiente en el aire, agua y suelo. Existen más de 100 diferentes HAPs y los efectos en salud no son exactamente iguales, a continuación se enlistan los 17 más conocidos (ATSDR, 1995):

- acenafteno
- acenaftileno
- antraceno
- benzo[a]antraceno
- benzo[a]pireno
- benzo[e]pireno

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

- benzo[b]fluoranteno
- benzo[g,h,i]perileno
- benzo[j]fluoranteno
- benzo[k]fluoranteno
- criseno
- dibenzo[a,h]antraceno
- fluoranteno
- fluoreno
- fenantreno
- indeno[1,2,3-c,d]pireno
- pireno

TOXICOCINÉTICA Y TOXICODINAMIA

Los HAPs ingresan al organismo mediante vía inhalatoria, al respirar aire contaminado en plantas industriales, quemando basura, respirando humo de cigarrillo, de emisiones del tubo de escape de automóviles o del proveniente de la combustión de productos agrícolas, otras vías son la dérmica y la oral, esta última a través del consumo de agua, leche u otros alimentos contaminados con HAPs como pueden ser carnes preparadas en la parrilla, embutidos, cereales, hortalizas, frutas, entre otros (ATSDR, 1995).

La absorción de los HAPs se ve afectada por las características fisicoquímicas del vehículo de administración. Se sabe que los HAPs pueden atravesar la placenta (Herbstman

et al., 2012). El metabolismo de los HAPs ocurre en todos los tejidos y consta de múltiples rutas, se ha estudiado extensamente *in vitro* e *in vivo*.

Los productos del metabolismo incluyen intermediarios epóxido, dihidrodioles, fenoles, quinonas y sus diversas combinaciones. Los fenoles, quinonas y dihidrodioles pueden conjugarse con glucurónidos y ésteres de sulfato. Las quinonas también forman glutatión conjugados. Dichos metabolitos son excretados en la orina.

El mecanismo de acción de muchos HAPs consiste en uniones covalentes entre el ADN y otras macromoléculas celulares con los metabolitos de los HAPs, al producto de esta unión se le llama aducto (ATSDR, 1995). Además de que algunos HAPs son carcinogénicos y mutagénicos en humanos, también se reconocen como potentes inmunosupresores (Klaassen, 2008).

TOXICIDAD

Los HAPs producen efectos a nivel del sistema inmunológico (Klaassen, 2008). La EPA ha clasificado a benzo[a]antraceno, benzo[b]pireno, benzo[b]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno, criseno, dibenzo[a,h]antraceno e indeno[1,2,3-c,d]pireno como probables carcinógenos humanos (grupo B2). La IARC menciona que benzo[a]pireno es carcinógeno humano (Grupo 1), dibenzo[a,h]antraceno probable carcinógeno humano (Grupo 2A), mientras que benzo[a]antraceno, benzo[b]fluoranteno, benzo[j]fluoranteno, benzo[k]fluoranteno e indeno[1,2,3-c,d]pireno son posibles carcinógenos humanos (Grupo 2B) (Martí-Cid *et al.*, 2008). Asimismo se sabe que los HAPs son posibles disruptores endocrinos (Mastandrea *et al.*, 2005).

VALORES DE REFERENCIA

En el contexto internacional existe una guía Benchmark Guideline for Urinary 1-Hidroxyppyrene as Biomarker of Occupational Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (Jongeneelen, 2001), la cual consta de tres niveles, nivel uno: adultos no fumadores, no ocupacionalmente expuestos y adultos fumadores, no ocupacionalmente expuestos, nivel dos: efecto adverso (genotóxico) no observado (NOGEL, por sus siglas en inglés) y nivel tres: exposición laboral en dos tipos de industria, valores derivados de varios estudios, estos se observan en la Tabla 2.

La ACGIH sugiere como valor de referencia 0.5 μmol de 1-hidroxipireno/mol creatinina, definido como el percentil 99 de la población sin exposición ocupacional o sin exposición ambiental significativa a HAPs, fumadores y no fumadores están incluidos (ACGIH, 2010). Tomando en cuenta el dato anterior Frans J. Jongeneelen después de revisar algunas publicaciones, presenta valores de referencia para exposición a HAPs actualizados, nivel base debido a exposición ambiental= 0-0.5 μmol 1-OHP/mol creatinina, nivel de efecto genotóxico no observado (NOGEL, por sus siglas en inglés)= 1.0 μmol 1-OHP/mol creatinina y nivel mínimo de efecto genotóxico observado (LOGEL, por sus siglas en inglés)= 1.9 μmol 1-OHP/mol creatinina (Tabla 3) (Jongeneelen, 2014; Siwińska *et al.*, 2004).

También se cuenta con valores presentados en el Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals derivados de la Encuesta Nacional de Salud y

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Nutrición (NHANES, por sus siglas en inglés) para la población de Estados Unidos (CDC, 2013).

Tipo de exposición	μmol 1-OHP/ mol creatinina
Adultos no fumadores, no ocupacionalmente expuestos	0.24
Adultos fumadores, no ocupacionalmente expuestos	0.76
Nivel de efecto adverso (genotóxico) no observado	1.4
Límite de exposición laboral en fábricas de coque	2.3
Límite de exposición laboral en fábricas de aluminio	4.9

Tabla 2. Valores de referencia propuestos para exposición a HAPs (Jongeneelen, 2001).

Nivel	μmol 1-OHP/ mol creatinina
Nivel debido a exposición ambiental	0 – 0.5
Nivel de efecto genotóxico no observado	1.0
Nivel mínimo de efecto genotóxico observado	1.9

Tabla 3. Valores de referencia propuestos para exposición a HAPs (Jongeneelen, 2014).

BIOMARCADORES DE EXPOSICIÓN

Un biomarcador de exposición o marcador biológico de exposición es aquella sustancia (o su metabolito) que traspasa las barreras del cuerpo humano y que puede ser utilizada para evaluar el nivel de exposición. El pireno es un hidrocarburo aromático policíclico, sufre un simple metabolismo y se produce el 1-Hidroxipireno (1-OHP). 1-Hidroxipireno y su glucurónido son excretados en la orina. El pireno está siempre presente en las mezclas de HAPs, por lo que 1-OHP no es solo indicador biológico de exposición a pireno, es un indicador biológico indirecto de la exposición a todos los HAPs (Jongeneelen, 2001).

Además está ampliamente reportado que este metabolito es el biomarcador usado con mayor frecuencia al tratarse de exposición a HAPs, dado que el pireno es un compuesto muy estable termodinámicamente y por lo tanto el más abundante en las mezclas de HAPs (Safe Work Australia, 2013).

Cabe mencionar que el pireno es considerado también como un buen marcador biológico para exposición a HAPs porque existe una fuerte correlación entre la concentración total de HAPs y la de 1-OHP urinario (Kawanami *et al.*, 2014).

Benceno y sus metabolitos, así como aductos de benceno pueden ser usados como biomarcadores de exposición (benceno en sangre, orina y aire espirado, ácido S-fenilmercaptúrico (SPMA) en orina, ácido *trans, trans*-mucónico (*t,t*-MA) en orina, fenol en orina, catecol e hidroquinona en orina y aductos de ADN y de proteínas en sangre).

En el caso de coexposición a tolueno, los niveles de *t,t*-MA son suprimidos (Arnold *et al.*, 2013).

En el presente estudio se usó 1-OHP y *t,t*-MA como biomarcadores de exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos y a benceno respectivamente.

ANTECEDENTES

HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

La evaluación de la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos y benceno en población infantil es relevante ya que este sector es el más vulnerable a los tóxicos. Numerosas investigaciones epidemiológicas y moleculares han demostrado que en la etapa fetal, bebés y niños pequeños se es más susceptible que los adultos a los efectos dañinos de una gran variedad de contaminantes ambientales, incluyendo los HAPs (Perera *et al.*, 2012).

Globalmente, aproximadamente 3 millones de personas (52% de la población) depende del uso de biomasa, tal como, madera, carbón y residuos de cultivos como su principal recurso de energía doméstica (Rehfuss *et al.*, 2006). Se ha encontrado que la exposición a aire contaminado en interiores debido a los biocombustibles es una de las causas de enfermedades respiratorias en ciudades de países en desarrollo (Li *et al.*, 2011). En estos lugares donde está muy marcado el utilizar combustibles sólidos, la quema de biomasa en fogones a cielo abierto o dentro de las habitaciones con escasa ventilación contribuye con la

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

presencia de altos niveles de productos dañinos formados durante la combustión incompleta de dichos combustibles (Naeher *et al.*, 2007).

Dentro de los contaminantes tóxicos formados están partículas finas (PM_{2.5}), monóxido de carbono (CO), óxidos de nitrógeno, formaldehído e hidrocarburos aromáticos policíclicos, por ejemplo, benzo[a]pireno un conocido cancerígeno. Mujeres y niños son los que pueden padecer los efectos, ya que se encuentran más tiempo en la cocina o en casa, en especial los niños porque pasan tiempo cerca de sus madres y ellos inhalan mayor volumen de aire por unidad de masa corporal que un adulto. Adicionalmente los sistemas respiratorio e inmune de los pequeños todavía se encuentran en desarrollo, lo que se traduce en mayor susceptibilidad para presentar efectos adversos. Aunado a tales efectos, los resultados de una investigación sugieren que la exposición de mujeres embarazadas a emisiones de HAPs derivadas de diferentes industrias en combinación con exposición prenatal a humo de tabaco ambiental podría afectar adversamente la función cognitiva de niños de cinco años de edad (Perera *et al.*, 2012).

Algunos autores señalan que la contaminación más severa por uso de biomasa como combustible, ocurre en la cocina, en el invierno (Ding *et al.*, 2012). Conjuntamente a la quema de biomasa, otras fuentes principales de contaminación por HAPs en interiores y exteriores son el humo de cigarro y las emisiones urbanas especialmente del tráfico (Whitehead *et al.*, 2013).

De acuerdo con la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (NHANES, por sus siglas en inglés) para la población de Estados Unidos, para un grupo de edad de 6-11 años, cuyo

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

tamaño de muestra correspondió a 387 niños, la mediana (intervalo de confianza, 95%) para 1-OHP urinario corregido por creatinina fue de 171 (145-197) ng/g creatinina, o 0.0890 (0.0754-0.1025) $\mu\text{mol/mol}$ creatinina (CDC, 2013).

La publicación de un estudio piloto con niños en edad escolar (6-14 años) residentes de tres municipios del área metropolitana de la Ciudad de México con altos niveles de emisiones provenientes del tráfico vehicular, revela que la exposición a ciertos HAPs presenta una asociación negativa con la función pulmonar y el pH del condensado de aire exhalado, el cual es un indicador de inflamación de las vías respiratorias, dentro de los metabolitos monohidroxilados de los HAPs que se midieron en orina, está el 1-OHP reportando una mediana (IC, 95%) igual a 0.0603 (0.0488-0.0786) $\mu\text{mol/mol}$ creatinina (Barraza-Villarreal *et al.*, 2014).

La contaminación del aire como ya se dijo está asociada con enfermedades respiratorias, actualmente también está relacionada con padecimientos cardiovasculares, se sugiere que estos efectos en salud podrían deberse principalmente a mecanismos de estrés oxidativo, dicha asociación se observó en una indagación con escolares pobladores de Ala Shan y Beijing, China y Seoul y Jeju, Corea. Las medias de mínimos cuadrados (least-square means) (IC, 95%) obtenidas de la medición de muestras de cinco días fueron las siguientes para cada sitio en $\mu\text{mol/mol}$ creatinina: Ala Shan 1.2390 (1.1557-1.3276), Beijing 0.6195 (0.5362-0.7080), Seoul 0.3488 (0.2655-0.4321) y Jeju 0.2915 (0.2082-0.3748) (Bae *et al.*, 2010).

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

Adicional a la exposición por aire contaminado, está la ingesta de alimentos contaminados con HAPs, otra importante ruta de exposición conocida, la cual va de la mano con el estilo de vida (Fiala *et al.*, 2001). Está reportado que el 99% de la exposición total diaria a pireno proviene de la dieta (Van Rooij *et al.*, 1994).

El Estado de Chiapas en México es una de las entidades con mayor problemática en temas de salud, cuenta con municipios donde la población rural supera el 70% y vive en comunidades con altos o muy altos índices de marginación. En niños de cinco comunidades rurales que son escenarios potenciales de exposición a mezclas de contaminantes por el uso de plaguicidas agrícolas y ganaderos, uso de leña, quema de basura, entre otros, se midió 1-OHP urinario, la MG (IC, 95%) para cada lugar fue, Nuevo Nicapa, Pichucalco 0.65 (0.2-1.0); San Miguel 2^a. Sección, Reforma 0.19 (0.09-0.3); San Martín Chamizal, Palenque 0.58 (0.4-0.7); San Francisco León, Ocosingo 1.23 (0.7-1.7) y Frontera Corozal, Ocosingo 0.74 (0.5-0.9) (Martínez, 2011).

Los resultados de una evaluación de exposición infantil a HAPs realizada en Polonia respaldan que el ingreso de HAPs al organismo debido al aire contaminado en interiores afecta fuertemente el nivel en orina de 1-OHP, identificando como fuente más importante en casa el uso de carbón para calentarse y/o cocinar. Ellos encontraron en los pequeños, expuestos por utilizar carbón para calentarse y/o cocinar en el hogar, una media de mínimos cuadrados de 1-OHP urinario igual a 0.565 ± 0.056 (EE) $\mu\text{mol/mol}$ creatinina y en niños que habitan donde hacen esas actividades pero con electricidad o gas como combustible, un valor de 0.404 ± 0.050 (EE) $\mu\text{mol/mol}$ creatinina, observando una

diferencia significativa ($p= 0.033$). También notaron que en niños expuestos a HAPs por el humo de la quema de carbón y de cigarrillos existen niveles de 1-OHP urinario significativamente más altos (mediana= $0.45 \mu\text{mol/mol}$ creatinina) comparados con un grupo de niños no expuestos (mediana= $0.25 \mu\text{mol/mol}$ creatinina), $p= 0.001$, dejando ver una vez más el impacto del humo de tabaco ambiental como fuente de HAPs (Sivińska *et al.*, 1999).

BENCENO

Se han hecho múltiples evaluaciones de exposición a HAPs que incluyen también a otra sustancia tóxica, el benceno, esto es porque los HAPs y el benceno están entre los principales compuestos carcinógenos presentes en aire contaminado de áreas urbanas por las emisiones de los automóviles. En la mayoría de las ciudades de Asia los niveles de HAPs y benceno son relativamente más altos comparados con ciudades de Europa y de Estados Unidos, por consecuencia la población presenta niveles elevados de estos contaminantes.

Una de esas ciudades es Bangkok, Tailandia, donde biomarcadores de exposición y de efecto biológico temprano fueron usados para estudiar los efectos potenciales en salud causados por exposición a HAPs y benceno en aire contaminado, esto en niños de escuelas del interior de la Ciudad Bangkok y niños de escuelas de áreas rurales. Se encontró que los niños del área urbana (media= $4.13 \pm \text{EE}= 0.21 \text{ ng/m}^3$) están expuestos a un total de HAPs a niveles 3.5 veces más altos que los del área rural ($1.18 \pm 0.09 \text{ ng/m}^3$) ($p < 0.001$). Asimismo 1-OHP en orina fue significativamente más alto en niños de la Ciudad Bangkok,

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

0.18 ± 0.01 , mediana= 0.15 (mínimo= 0.04 – máximo= 0.55) $\mu\text{mol/mol}$ creatinina, en tanto para el sitio rural 0.10 ± 0.01 , 0.09 (0.02-0.47) $\mu\text{mol/mol}$ creatinina, mientras que aductos ADN-HAPs en linfocitos fueron 5 veces mayores en la Ciudad (0.45 ± 0.03 aductos/ 10^8 nucleótidos) que en el sitio rural (0.09 ± 0.00 aductos/ 10^8 nucleótidos). El benceno se halló aproximadamente 2 veces más alto en el área urbana ($17.55 \pm 1.29 \mu\text{g/m}^3$) comparado con el área rural ($8.10 \pm 0.73 \mu\text{g/m}^3$), esto de acuerdo también con los niveles de biomarcadores de dosis interna de benceno, benceno en sangre y *t,t*-MA en orina. Los valores de *t,t*-MA urinario reportados son 70 ± 10 , 60 (20-360) para el área urbana y 40 ± 40 , 30 (10-110) $\mu\text{g/g}$ creatinina en el área rural ($p < 0.01$).

Como se mencionó con anterioridad, el riesgo potencial en salud por exposición a sustancias genotóxicas fue evaluado mediante niveles de daño en ADN y capacidad de reparación del ADN. Cadenas rotas de ADN fueron significativamente más altas y la capacidad de reparación del ADN significativamente disminuida en los pequeños de Bangkok. Se detectaron polimorfismos genéticos en enzimas glutatión-S-transferasas (GSTs) y citocromo P-450 (CYP450) involucradas en el metabolismo de HAPs y benceno, pero estos polimorfismos no revelan efectos significativos sobre los biomarcadores de exposición. Dichos resultados les permiten decir que los niños que viven en un área urbana son más susceptibles a desarrollar ciertas enfermedades porque el riesgo en salud incrementa debido a una mayor exposición a sustancias genotóxicas en aire contaminado, en comparación con niños que habitan áreas suburbanas o rurales con significativamente menos tráfico (Ruchirawat *et al.*, 2007).

Otros autores también reportan concentraciones superiores de HAPs en interiores y exteriores de áreas contaminadas con respecto a no contaminadas, contaminación relacionada con el tráfico vehicular (Fiala *et al.*, 2001; Vyskocil *et al.*, 2000 y Kyrtopoulos *et al.*, 2001).

En escolares de distintos lugares también se ha medido 1-OHP urinario por mencionar algunos, un área con gran tráfico en Montreal, Canadá donde el valor fue de 0.20 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina (Vyskocil *et al.*, 2000), en niños residentes de una zona cercana a un área industrial fuente de HAPs en Ucrania, 0.69 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina (Mucha *et al.*, 2006), de un sitio no contaminado en La República Checa, 0.06 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina (Fiala *et al.*, 2001) y en niños residentes de un área urbana (0.11 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina) y rural (0.09 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina) en Dinamarca (Hansen *et al.*, 2005).

Aunque el *t,t*-MA es usado como biomarcador de exposición a benceno, cabe mencionar que el hecho de encontrar *t,t*-MA en la orina se debe también al consumo de ácido sórbico, un preservativo común en los alimentos procesados. Es por eso que a pesar de que es muy utilizado para este fin, no es recomendable ya que el contenido individual de *t,t*-MA en orina no es un buen índice de exposición a benceno, por las grandes variaciones en el nivel individual basal de *t,t*-MA (ATSDR, 2007).

Aunado a lo anterior es imprescindible no dejar de lado la interacción del benceno con otros contaminantes porque la exposición es a cientos de compuestos tóxicos y esto ocurre de manera voluntaria e involuntaria, ahora se sabe que algunos xenobióticos interaccionan con el benceno, por ejemplo, la coexposición a tolueno, disminuye la toxicidad del

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

benceno, esto es porque el tolueno es un inhibidor competitivo de la oxidación del benceno por CYP2E1 (OEHHA, 2014). No se ha determinado un valor específico para benceno en aire, dado que el benceno está clasificado como carcinógeno en humanos, por lo que no puede existir un nivel de exposición que pueda ser recomendado, sin embargo, como referencia los valores de benceno en aire asociados con el riesgo de desarrollar leucemia de 10^{-4} , 10^{-5} y 10^{-6} son 17, 1.7 y $0.17 \mu\text{g}/\text{m}^3$ respectivamente (WHO, 2010). El nivel medio de benceno en aire ambiente está reportado en un rango de $0.6\text{-}0.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en sitios rurales y de $0.3\text{-}3.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en sitios urbanos (Arnold *et al.*, 2013).

La evaluación de la exposición a benceno para la población general resulta difícil debido a que los estilos de vida son extremadamente variables, las condiciones climáticas del ambiente pueden impactar la exposición, y los entornos de vida son muy diversos. En escenarios no ocupacionales la principal ruta de exposición es la inhalación, con una menor contribución de las rutas dérmica y oral. En el ambiente exterior las concentraciones de benceno en aire dependen de la localización geográfica (ej. rural vs. urbano) (Wallace, 1996). Existen datos que indican que la concentración media de benceno en agua para beber es de $0.27 \mu\text{g}/\text{L}$ (percentil 95= $0.5 \mu\text{g}/\text{L}$ y máximo= $355 \mu\text{g}/\text{L}$) (ATSDR, 2007). Estudios recientes en el área de San Francisco (Harley *et al.*, 2006), Ciudad de México y Puebla, México (Tovalín-Ahumada & Whitehead, 2007) y en Florencia, Italia (Fondelli *et al.*, 2008) indicaron concentraciones en el aire ambiente alrededor de $0.2\text{-}2 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (San Francisco), $7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Puebla), $44 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Ciudad de México) y $2.3\text{-}7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Florencia). Las

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

concentraciones en aire para varios escenarios ocupacionales se encuentran en un rango de $1 \mu\text{g}/\text{m}^3$ a más de $1000 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Arnold *et al.*, 2013).

En un estudio realizado en un grupo de trabajadores de estación de gasolina en Bangkok, Tailandia, en el cual se evaluó la correlación entre nivel urinario de *t,t*-MA y algunos parámetros hematológicos, se encontró como nivel medio de *t,t*-MA 1450 ± 2420 (970-3870) $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina. Como conclusión, mencionan que la exposición a benceno reflejada en el nivel de *t,t*-MA puede causar depresión de la médula ósea manifestada en valores bajos para hemoglobina, hematocrito y eosinófilos ($p < 0.05$) (Tunsaringkarn *et al.*, 2013).

En población infantil de tres localidades de Coatzacoalcos y zonas aledañas (Allende, López Mateos y Mundo Nuevo), localidades en las que los infantes están potencialmente expuestos 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., se encontraron los siguientes valores de media geométrica (mínimo-máximo) para 1-OHP urinario: Allende 0.20 (0.04-2.08), López Mateos 1.26 (0.78-3.05) y Mundo Nuevo 0.41 (0.07-4.04) $\mu\text{mol}/\text{mol}$ creatinina. Para evaluar exposición a benceno determinaron los niveles de *t,t*-MA urinario y reportaron los siguientes resultados de media geométrica (mínimo-máximo) para cada sitio: Allende 388 (44-1784), López Mateos 369 (62-1414) y Mundo Nuevo 363 (63-5521) $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina. La autora indica que de acuerdo a las guías de exposición de los biomarcadores empleados tanto el benceno como los HAPs son los

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

compuestos de mayor preocupación en el área puesto que superan los valores establecidos en población adulta ocupacionalmente expuesta. Asimismo se observó prevalencia de anemia asociada al patrón de exposición de HAPs, y en la localidad con niveles más altos de HAPs, se encontró un daño al ADN más severo y correlaciones negativas entre los parámetros hemáticos y los niveles de benceno (Pelallo, 2010).

La exposición ocupacional a elevadas concentraciones de benceno es una causa conocida de leucemia en adultos. Concentraciones de benceno provenientes del motor de los vehículos pueden ser altas en calles muy traficadas. Algunos estudios han reportado fuertes asociaciones entre la cercanía a calles altamente traficadas ($> 0 = 20000$ vehículos por día) y la ocurrencia de algún tipo de cáncer en infantes y leucemia infantil. Estas asociaciones pueden deberse a la exposición crónica a benceno u otros componentes cancerígenos presentes en las emisiones de los autos por la proximidad a calles traficadas o algún otro factor (Pearson *et al.*, 2000; Pyatt & Hays, 2010).

Existen pocos estudios disponibles sobre el uso de biomarcadores para evaluar exposición a benceno durante la infancia (Protano *et al.*, 2012; Kouniali *et al.*, 2003). En uno de ellos se comparó el nivel de exposición personal a benceno y nivel de metabolitos urinarios de benceno (*t,t*-MA e hidroquinona) en un grupo de niños de 2 a 3 años de edad con respecto a los de sus padres (no fumadores) de la Ciudad de Ruan en Francia. Los niveles de exposición personal fueron $14.4 \pm 7.7 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $11.09 \pm 6.15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en padres y niños respectivamente. Los valores de *t,t*-MA encontrados (media \pm DE) fueron 730 (1240) $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina y 850 (1400) $\mu\text{g}/\text{g}$ creatinina para padres e hijos. Los valores de

media de *t,t*-MA en $\mu\text{g/g}$ creatinina resultaron 1.16 veces superiores en el grupo de los niños con respecto al de los padres ($p= 0.008$). No se encontraron correlaciones significativas entre los niveles de metabolitos y benceno. Se indica que los valores de metabolitos de benceno se ven influenciados por el consumo de alimentos que tienen en su contenido conservadores base ácido sórbico, así como, el tipo de metabolismo (rápido o lento) y el ajuste por creatinina. De igual forma se señala que los niños al excretar más *t,t*-MA e hidroquinona que los adultos, podrían estar en mayor riesgo de padecer leucemia, debido al metabolismo relativamente rápido, ya que metabolitos del benceno como la hidroquinona están asociados con efectos nocivos, esto independiente de la exposición a benceno (Kouniali *et al.*, 2003).

En un estudio piloto de casos y controles de niños con leucemia residentes de siete provincias de Italia (Turín, Milán, Florencia, Roma, Catania, Palermo y Cagliari) y evaluación de exposición a benceno se encontraron los siguientes valores en orina de *t,t*-MA en $\mu\text{g/g}$ creatinina, mediana (mínimo-máximo) para cada estación del año: primavera 82 (17-349), verano 83 (13.33-1680), otoño 102.48 (30.21-893.04) e invierno 86 (26-591). Mencionan que la exposición personal está fuertemente influenciada por las concentraciones de benceno en exteriores, fue mayor en estaciones frías que en calientes, y no se vio afectada por el sexo, edad o el área de residencia. La exposición personal a benceno y la excreción urinaria de SPMA, pero no de *t,t*-MA mostró una buena correlación (Lagorio *et al.*, 2013).

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

En contraste, en una investigación, niveles de *t,t*-MA en orina de muestras recolectadas por la tarde y niveles de 1-OHP de muestras recogidas la siguiente mañana, mostraron una correlación significativa con los valores de exposición personal a benceno e hidrocarburos aromáticos policíclicos, respectivamente, por ello los autores apoyan el hecho de que ambos metabolitos sean usados como biomarcadores de exposición, a pesar de la inespecificidad del *t,t*-MA reportada en la literatura, además de que la muestra se obtiene por un método no invasivo (Ruchirawat *et al.*, 2007).

En infantes de 5-11 años de edad habitantes de Italia, se determinaron las concentraciones de SPMA, *t,t*-MA y benceno sin modificar (UB) urinario para evaluar exposición ambiental a bajas concentraciones de benceno y analizar el rol del ambiente donde viven (sitio urbano vs. rural) sobre la exposición a dicho contaminante. Los resultados para *t,t*-MA urinario, mediana (mínimo-máximo) fueron para cada área los siguientes: urbana, 114.95 (24.84-846.50) µg/g creatinina y rural 65.04 (13.76-672.83) µg/g creatinina, observándose una diferencia significativa ($p < 0.001$). Las concentraciones de SPMA, *t,t*-MA y UB en orina estuvieron 1.5 veces por arriba en niños del área urbana comparado con los del área rural. Mediante un análisis univariado se observó que UB urinario es el único biomarcador de los tres que se determinaron capaz de discriminar la exposición pasiva a humo de tabaco en niños del área rural y urbana, esto se confirma con la fuerte correlación entre los niveles de UB y cotinina urinaria en los niños expuestos pasivamente a humo de cigarro (identificados a través de los resultados de cuestionarios aplicados) y por un análisis multivariado. Un modelo de regresión lineal sobre SPMA

urinario deja ver que sus niveles están relacionados con el lugar de residencia ($p < 0.001$), la exposición pasiva a humo de tabaco ($p = 0.048$) y el sexo ($p = 0.027$). En este estudio UB en orina es el mejor biomarcador de exposición infantil a benceno y puede usarse como un buen biomarcador de un carcinógeno derivado de la exposición de fumadores pasivos, especialmente relacionado a benceno, cuando la muestra es recolectada al final de día. Se remarca por lo tanto la importancia del humo de tabaco como fuente de exposición a benceno. Los niveles altos de SPMA y *t,t*-MA vistos pueden deberse a otras fuentes de benceno diferentes al humo de tabaco, como la presencia de polimorfismos genéticos, el índice de masa corporal o fuentes de *t,t*-MA diferentes a benceno (Protano *et al.*, 2010).

En otro estudio realizado en niños italianos de 5 a 11 años de edad habitantes de tres áreas con diferente grado de urbanización (muy, bastante y no urbano) se destacó que los niveles de SPMA urinario aumentan conforme aumenta el grado de urbanización, sin embargo, para el caso de *t,t*-MA las concentraciones más altas se encontraron en el grupo bastante urbano (mediana= 116.57 $\mu\text{g/g}$ creatinina), concentraciones medias en el grupo muy urbano (mediana= 102.54 $\mu\text{g/g}$ creatinina) y mínimas concentraciones en el grupo no urbano (mediana= 66.36 $\mu\text{g/g}$ creatinina). Basándose en las muestras recolectadas al final del día, los valores de SPMA y *t,t*-MA en orina están fuertemente relacionados con el grado de urbanización del área de residencia pero no con el humo de tabaco por exposición pasiva. SPMA es un biomarcador urinario más seguro ya que *t,t*-MA es menos específico para exposición a benceno cuando las concentraciones de este en el ambiente son bajas, esto en un escenario de la población en general. Se menciona que valdría la pena observar

si hay cambios en la excreción de los biomarcadores, realizando muestreo por la noche y después de la mañana. Cuando se hace ajuste por creatinina cabe destacar que este puede causar un efecto de confusión por la posible relación del valor de creatinina en orina y otras variables estudiadas en los niños (por ejemplo, sexo, edad, actividad física, etc.) no relacionadas a la concentración de metabolitos pero si a los niveles de creatinina. Para evitar este efecto recomiendan usar creatinina urinaria como una variable adicional independiente en análisis de regresión lineal múltiple, realizados para evaluar el papel independiente de covariables sobre la variabilidad de SPMA y *t,t*-MA urinarios en infantes (Protano *et al.*, 2012).

En el Estado de San Luis Potosí, México se presentan escenarios en los que se pueden encontrar múltiples contaminantes y diversas rutas de exposición para la población, siendo los niños el grupo más afectado, por ello surgió el proyecto “Control de los efectos neurotóxicos de contaminantes ambientales sobre la salud infantil” que tiene como objetivo generar procesos de intervención basados en el conocimiento del riesgo sobre las habilidades neuropsicológicas por la exposición infantil a mezclas de compuestos neurotóxicos en sitios contaminados localizados en regiones marginadas. Doce han sido los sitios seleccionados para llevar a cabo dicho estudio.

El proyecto consta de tres fases, la primera consiste en realizar un monitoreo biológico de las sustancias a evaluar, dentro de esa lista de tóxicos se tiene a los HAPs y al benceno, además de una evaluación cognitiva y otra nutricional; para la segunda etapa se eligen los tres sitios más contaminados y se realiza una evaluación socio-económica más lo hecho en

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

la primera fase, por último en la etapa tres se selecciona un sitio en el que se llevan a cabo todas las evaluaciones anteriores y finalmente se realiza un programa de intervención para ese sitio.

Como parte de la fase uno que es básicamente un escaneo de todos los sitios, ya se han reportado resultados para seis localidades en cuanto a exposición a benceno (*t,t*-MA urinario) y HAPs (1-OHP urinario), sitios urbanos, colonias: Terceras (430 µg/g creatinina y 0.23 µmol/mol creatinina), Morales (259 µg/g creatinina y 0.03 µmol/mol creatinina) y Bellas Lomas (221 µg/g creatinina y 0.06 µmol/mol creatinina), además de las localidades de Rincón de San José en Mexquitic de Carmona (427 µg/g creatinina y 0.09 µmol/mol creatinina), Santa María Picula en Tamazunchale (215 µg/g creatinina y 0.15 µmol/mol creatinina), y por último en Cuatlamayán, en el municipio de Tancanhuitz de Santos (185 µg/g creatinina y 0.14 µmol/mol creatinina).

Los valores de exposición más altos para ambos contaminantes se encontraron en los niños de la zona ladrillera de Terceras. Se hace hincapié en que el valor de la mediana de cada compuesto se encuentra por debajo de los niveles tomados de la normatividad, sin embargo, cabe destacar que se tienen valores para *t,t*-MA y 1-OHP por encima de los indicados como referencia en todos los sitios para *t,t*-MA y en cinco sitios para 1-OHP. Se advirtieron diferencias por las fuentes y por las rutas de exposición en cada sitio, siendo de especial interés las emisiones derivadas de los hornos ladrilleros y de biomasa en los hogares rurales, en lo que respecta a la exposición a HAPs.

En contraste, en la investigación se sugiere que la exposición a benceno se ve influenciada, además de la combustión de madera, por las emisiones vehiculares. A mayor número de fuentes presentes, mayor fue la concentración de los metabolitos urinarios (Zuki, 2012). Como continuación de este escaneo en el presente estudio piloto se llevó a cabo la determinación de *t,t*-MA y 1-OHP urinarios en cuatro sitios, tres ubicados en San Luis Potosí y una comunidad en el Estado de Morelos con la finalidad de reproducir el análisis en otros lugares de la República Mexicana.

JUSTIFICACIÓN

Al tratarse de sustancias asociadas con la aparición de cáncer y efectos tóxicos a nivel de los sistemas nervioso e inmunológico, resulta importante evaluar la exposición infantil. Además tomando en cuenta las principales fuentes de HAPs y benceno en el ambiente como uso de leña para cocinar, quema de basura, procesos industriales, el tubo de escape de automóviles, evaporación de gasolina en estaciones de servicio, así como el humo de tabaco especialmente en el interior de viviendas, es importante generar datos sobre exposición en infantes a estos compuestos que conduzcan a estimar el riesgo de este sector de la población, para una posterior intervención.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos y benceno en población infantil de sitios vulnerables.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Validación de métodos.
2. Evaluar la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos y benceno mediante el uso de 1-Hidroxipireno y Ácido *trans, trans*-mucónico como biomarcadores de exposición urinarios respectivamente.

METODOLOGÍA

SITIOS DE ESTUDIO

Los sitios de estudio son Alpuyecá, Xochitepec, Morelos zona agrícola-comercial, Fraccionamiento Industrial San Luis, San Luis Potosí el cual es una zona industrial, y dos sitios minero-metalúrgicos Villa de la Paz y Cedral en el Estado de San Luis Potosí, dichos lugares han sido seleccionados en el proyecto marco mencionado en antecedentes, tomando en cuenta las características del lugar, principalmente posibles fuentes de exposición a los contaminantes de interés. Cada sitio tiene fuentes de exposición a otros agentes tóxicos que pueden modificar el comportamiento de estos dos contaminantes. Este estudio fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San

Luis Potosí. Las actividades llevadas a cabo en los sitios son: recorrido por el sitio, plática informativa (indicaciones y firma de consentimiento informado), recolecta de muestra y aplicación de cuestionario de exposición.

ZONA AGRÍCOLA-COMERCIAL

ALPUYECA, XOCHITEPEC, MORELOS

Alpuyeca, Xochitepec, Morelos se encuentra en las coordenadas 18° 47' latitud norte y 99° 14' longitud oeste, altitud de 1110 msnm. Colinda al norte con los municipios de Temixco y Emiliano Zapata; al este con los municipios de Emiliano Zapata y Tlaltizapán; al sur con el municipio de Tlaltizapán, Puente de Ixtla y Miacatlán; al oeste con los municipios de Miacatlán y Temixco (Figura 2). Ocupa el 1.9% de la superficie del Estado, cuenta con 73 localidades. La población total de Alpuyeca es de 8330 habitantes (INEGI, 2010).

En la comunidad de Alpuyeca se localiza una planta industrial donde se encuentra un sitio contaminado con PCBs. Colinda al norte con quintas residenciales y el panteón de Alpuyeca; al sur con terrenos baldíos, casas de origen humilde y zonas arboladas; al este con terrenos baldíos y al oeste con quintas residenciales. Dentro de la planta existe un área de 550 m² la cual, en el pasado fue una fosa de disposición final de pequeños capacitores que contienen PCBs. Dichos artefactos son residuos de la merma de la producción de la empresa Electrocap S. A., en la época de 1962 a 1978. A escasos 100 m del sitio hacia el sureste pasa un pequeño arroyo cuyas paredes han sido revestidas de concreto para formar una acequia que desemboca en el río Apatlaco situado aproximadamente a 150 m de

ZONA INDUSTRIAL

FRACCIONAMIENTO INDUSTRIAL SAN LUIS, SAN LUIS POTOSÍ

El fraccionamiento denominado Industrial San Luis se localiza al oriente de la capital del Estado de San Luis Potosí (Figura 3). De acuerdo con los reportes del INEGI el fraccionamiento Industrial San Luis pertenece a la AGEB con clave 1096 que cuenta con 5367 habitantes (INEGI, 2010), en su mayoría de clase socio-económica media.

Dentro del lugar se encuentra una zona designada especialmente para la ubicación de empresas, denominada Zona Industrial, las plantas industriales, alrededor de 435 son de diversos rubros, asimismo en dicha zona también existe un área habitacional. Dada la información anterior la contaminación debida a procesos industriales y tráfico vehicular abundante en este lugar pone en riesgo a la población, especialmente a los niños.

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS



Figura 3. Localización del fraccionamiento Industrial San Luis, San Luis Potosí (INEGI, 2010).

ZONAS MINERO-METALÚRGICAS

VILLA DE LA PAZ, SAN LUIS POTOSÍ

Villa de la Paz, San Luis Potosí se encuentra en las coordenadas 23° 41' latitud norte, 100° 42' longitud oeste, altitud 1800 msnm. Colinda al norte con los municipios de Catorce, Cedral y Matehuala; al este con el municipio de Matehuala; al sur con los municipios de Matehuala, Villa de Guadalupe y Catorce; al oeste con el municipio de Catorce (Figura 4). Ocupa el 0.2% de la superficie del Estado. Cuenta con 16 localidades y una población total de 5350 habitantes (INEGI, 2010).

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

En la década de 1870 se comenzó a explotar la primera mina de la Paz, por lo que la actividad minera se fue acrecentando. En Villa de la Paz el grado de marginación es bajo, las actividades económicas principales son la agricultura de temporal, ganadería extensiva, minería, industria, comercio y turismo. La economía regional gira en torno a la empresa minera Beneficiadora la Paz y Anexas S.A. de C.V. que se localiza dentro del poblado de Villa de la Paz; es la mayor productora de concentrados de cobre y oro del Estado de San Luis Potosí.

En la Beneficiadora se ejecutan las etapas de fragmentación del mineral y la concentración por flotación selectiva de los minerales de valor económico. Dentro de sus instalaciones los residuos son acumulados en presas de jales y en sus terrenos existen además depósitos históricos. En el poblado de Villa de la Paz y sus alrededores existen depósitos históricos de jales y estériles de mina (terreros) que están expuestos a la acción del viento y las lluvias, los residuos mineros son dispersados a los suelos circundantes y arroyos de la zona. En el poblado El Carmen existe una instalación abandonada de fundición de plomo, y al norte de Matehuala tres plantas de fundición, una de las cuales contiene un gran depósito de escorias (Chávez *et al.*, 2011).

CEDRAL, SAN LUIS POTOSÍ

El municipio de Cedral, en el Estado de San Luis Potosí, se ubica en las siguientes coordenadas 23° 49' latitud norte, 100° 43' longitud oeste, altitud de 1700 msnm. Colinda al norte con el municipio de Vanegas y el Estado de Nuevo León; al este con el Estado de

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

Nuevo León y el municipio de Matehuala; al sur con los municipios de Matehuala, Villa de la Paz y Catorce; al oeste con los municipios de Catorce y Vanegas (Figura 5). Ocupa el 1.9% de la superficie del Estado. Cuenta con 126 localidades y una población total de 18485 habitantes (INEGI, 2010).

Este sitio formó parte de un sistema industrial minero-metalúrgico que ha funcionado desde 1615 y hasta la actualidad en un área denominada “región minera de la Sierra de Catorce” que corresponde a los municipios de Vanegas, Cedral, Catorce, Villa de la Paz y Matehuala. En la comunidad se ubicaron haciendas de beneficio que procesaban el mineral que procedía de las minas de Real de Catorce, utilizando el método de patio (amalgamación con mercurio). Como desechos de este método, se generaron los jales de Jesús María y el Caballo, localizados dentro de la zona urbana de Cedral. Estudios preliminares mostraron un alto contenido de plomo en los jales mineros (Flores *et al.*, 2012).

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS

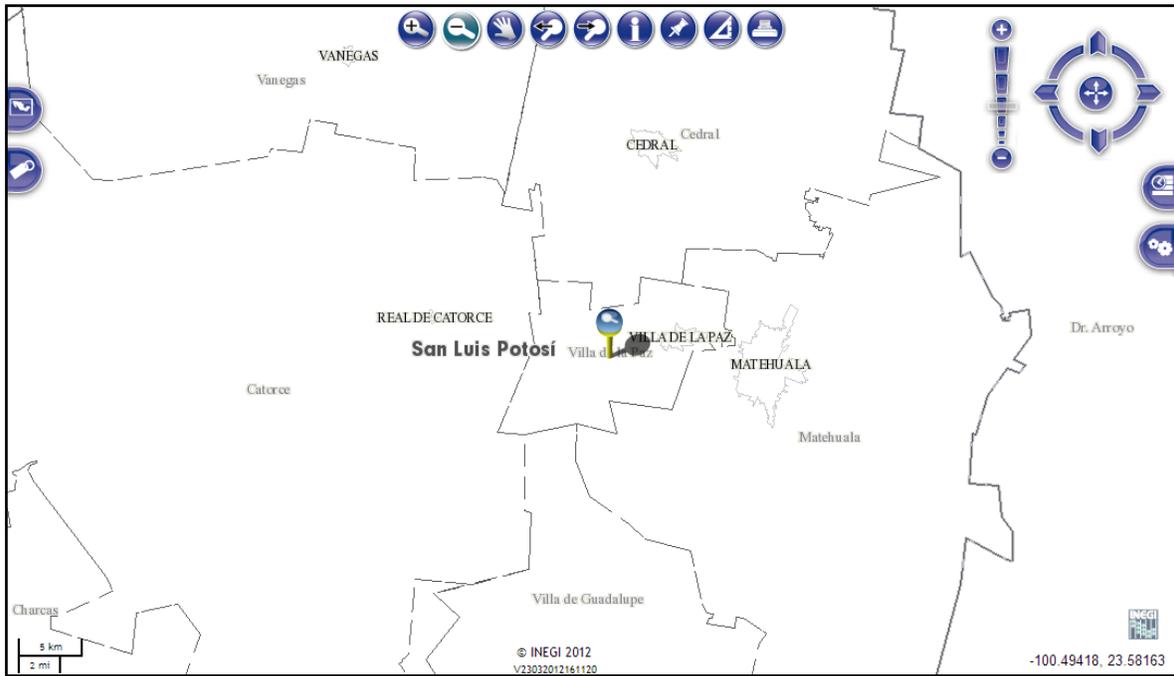


Figura 4. Localización de Villa de la Paz, San Luis Potosí (INEGI, 2010).

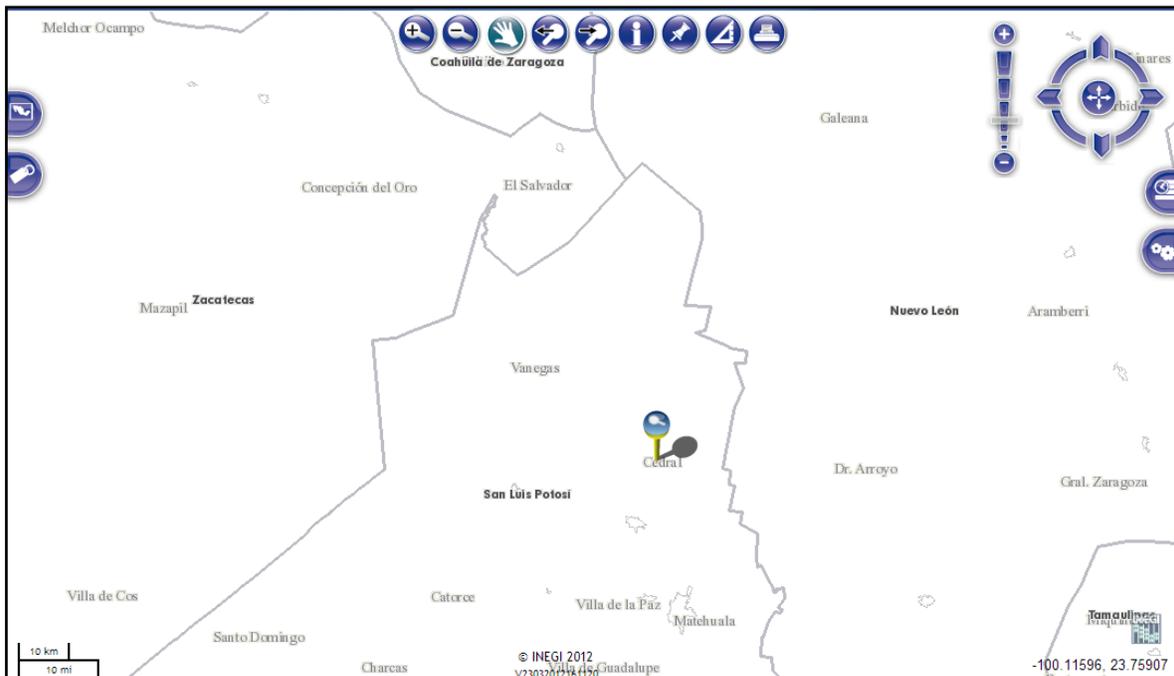


Figura 5. Localización de Cedral, San Luis Potosí (INEGI, 2010).

TOMA DE MUESTRA

En cada sitio se obtuvieron muestras de la primera orina de la mañana de niños cuya edad está entre los 4 y 14 años. En el laboratorio las muestras fueron filtradas, posteriormente se tomaron alícuotas de 1 mL para medir *t,t*-MA y de 10 mL para medir 1-OHP, dichas alícuotas se almacenaron a -20°C hasta su procesamiento.

ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

Se utilizó una alícuota de 2 mL de orina sin filtrar para la medición de creatinina por el método colorimétrico, que se realizó en el Laboratorio de Química Renal de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí. Para llevar a cabo las curvas de calibración en matriz, se realizó un pool de orina blanco.

ÁCIDO *TRANS*, *TRANS*-MUCÓNICO

La determinación de *t,t*-MA se llevó a cabo mediante el método descrito por Ducos *et al.* (Ducos *et al.*, 1992), modificado, previamente validado.

TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Antes de comenzar el análisis, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, luego se adicionaron 2 mL de buffer trizma base 0.01 M pH 8.5.

MATERIAL Y REACTIVOS

- Membranas Durapore, tamaño de poro: 0.22 y 0.45 μm , marca Millipore
- Filtros para jeringa Millex de 33 mm, PVDF, tamaño de poro: 0.45 μm , marca Millipore
- Columnas de extracción en fase sólida Strata SAX (55 μm , 70 Å) 500 mg/6 mL, marca Phenomenex
- Tubos cónicos de polipropileno Corning, de 15 y 50 mL de capacidad
- Buffer Trizma Base 0.01 M pH 8.5
- Solución de Ácido Acético 1%
- Solución Metanol:Ácido Acético:Agua (20:20:60)
- Agua ultrapura tipo I
- Metanol grado HPLC
- Estándar Ácido *trans, trans*-mucónico
- ClinChek® Control
- ClinCal®-Urine Calibrator

EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE)

Para la extracción en fase sólida se utilizaron columnas de intercambio aniónico SAX (Strong Anion-Exchange). Los pasos llevados a cabo para extraer el analito se describen en la Tabla 4.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Pasos SPE	Reactivo	Volumen (mL)
Activación	Metanol	4
Acondicionamiento 1	Agua ultrapura tipo I	3
Acondicionamiento 2	Buffer Trizma 0.01 M pH 8.5: Agua desionizada (1:1)	2
Paso de la muestra	Alícuota 1 mL + 2 mL Buffer Trizma 0.01 M pH 8.5	3
Lavado 1	Agua ultrapura tipo I	3
Lavado 2	Ácido Acético 1%	2
Elución	Ácido Acético:Metanol:Agua (20:20:60)	1.5 + 1.5

Nota: el acondicionamiento y el lavado se lleva a cabo utilizando vacío regulado (no dejar secar las columnas), después del último lavado se deja el vacío durante 10 min para favorecer el secado de las columnas, y se procede con la elución, en cada adición de eluyente se esperan 10 min antes de recibir el eluato, se finaliza aplicando vacío por 10 min.

Tabla 4. Pasos de la SPE para *t,t*-MA.

ANÁLISIS CUANTITATIVO

El análisis cuantitativo se llevó a cabo mediante Cromatografía de Líquidos de Alta Presión (HPLC), equipo Agilent serie 1100, columna Agilent ZORBAX SB-C18, StableBond Analytical 4.6 mm ID x 150 mm, (5 µm), detector UV. Las condiciones de operación del equipo se mencionan en la Tabla 5. Después de realizar la extracción en fase sólida, se tomó una alícuota de 1 mL aproximadamente, se filtró con membrana de 0.45 µm en viales de vidrio y se llevó al equipo.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Temperatura	30°C
Presión	82-92 bar
Fase móvil	Ácido Acético 1%:Metanol (80:20)
Longitud de onda	259 nm
Tiempo de análisis	9 min
Volumen de inyección	20 µL
Tiempo de retención	4.3-4.7 min

Tabla 5. Condiciones de operación del HPLC para el análisis de *t,t*-MA.

1-HIDROXIPIRENO

Para la determinación del 1-OHP se utilizó el método descrito por Jongeneelen y colaboradores (Jongeneelen *et al.*, 1987) con algunas modificaciones derivadas del método del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, previamente validado.

TRATAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Las muestras conservadas a -20°C se descongelaron un día antes del análisis, a temperatura ambiente, para continuar con la hidrólisis enzimática.

MATERIAL Y REACTIVOS

- Columnas para extracción en fase sólida Strata C18-U (55 µm, 70 Å) 1000 mg/6 mL, marca Phenomenex
- Enzima β-Glucuronidasa H-2, de *Helix pomatia*, de ≥ 85000 unidades/mL, Sigma-Aldrich
- Ácido L-ascórbico 99%

- Buffer Acetatos 0.2 M pH 5.0
- Solución de Metanol 30%
- Solución de Acetonitrilo 30%
- Agua ultrapura tipo I
- Acetonitrilo grado HPLC
- Metanol grado HPLC
- Estándar 1-Hidroxipireno
- ClinChek® Control
- ClinCal®-Urine Calibrator

HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA

Con el objeto de obtener el analito 1-OHP de la orina, fue necesaria una reacción con la enzima β -Glucuronidasa. A las muestras descongeladas se les añadió igual volumen del buffer de acetatos 0.2 M pH 5.0 para controlar el pH al cual ocurre la reacción de hidrólisis del glucurónido. Después, se adicionaron 30 μ L de la enzima, para enseguida llevar los tubos a incubación durante 12 a 14 horas a 37°C, con agitación constante (100 rpm). Cumplido el tiempo de incubación, se centrifugaron los tubos durante 5 min a 2500 rpm. Luego se agregó metanol a las muestras (50 μ L).

EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA (SPE)

Para la extracción en fase sólida se usaron las columnas Strata C18-U (55 μ m, 70 Å) 1000 mg/6 mL. En la Tabla 6 se presentan los pasos de la extracción.

EVAPORACIÓN

Una vez terminada la extracción en fase sólida los tubos se llevaron a evaporación con Nitrógeno a 38°C, hasta sequedad. Después, se re-suspendió el contenido de los tubos en Acetonitrilo y se aforó en matraces de 1 mL.

ANÁLISIS CUANTITATIVO

El análisis se llevó a cabo también por Cromatografía de Líquidos de Alta Presión (HPLC) con el equipo Agilent serie 1100, con detector de fluorescencia. Se utilizó una columna Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 Analytical 4.6 mm ID x 250 mm, (5 µm). Se filtró el contenido del matraz de 1 mL con filtro de disco Millipore de 0.45 µm, y se recibió en viales ámbar de vidrio silanizado. Por último se inyectó en el equipo HPLC. Las condiciones de operación del equipo se describen en la Tabla 7.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Pasos SPE	Reactivo	Volumen (mL)
Activación	Metanol	5 + 5
Acondicionamiento	Buffer Acetatos 0.2 M pH 5.0:Agua (1:1)	5 + 5
Paso de la muestra	Alícuota 10 mL + Buffer Acetatos 0.2 M pH 5.0 10 mL + Metanol 50 µL	20
Lavado 1	Agua ultrapura tipo I	5 + 5
Lavado 2	Solución Metanol 30%	5
Lavado 3	Solución Acetonitrilo 30%	5
Elución	Acetonitrilo grado HPLC	3.5 + 3.5

Nota: el acondicionamiento y el lavado se lleva a cabo utilizando vacío regulado (no dejar secar las columnas), después del último lavado se deja el vacío durante 10 min, luego se llevan a centrifugar a 2500 rpm por 5 min para favorecer el secado de las columnas, y se procede con la elución, en cada adición de eluyente se esperan 10 min antes de recibir el eluato, se finaliza aplicando vacío por 10 min.

Tabla 6. Pasos de la SPE para 1-OHP.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Temperatura	40°C
Presión	78-94 bar
Fase móvil	Metanol:Agua (88:12)
Longitud de onda	Em= 242 nm Ex= 390 nm
Volumen de inyección	20 µL
Tiempo de análisis	9 min
Tiempo de retención	4.7-4.9 min

Tabla 7. Condiciones de operación del HPLC para el análisis de 1-OHP.

VALIDACIÓN DE MÉTODOS

Después de que se ha desarrollado y optimizado un método en el laboratorio es necesario validar este protocolo, de esta manera se obtendrán las características del desempeño del mismo y con ellas finalmente se determinará si el método analítico cumple el objetivo para el cual fue previsto. Al validar, se establecen mediante estudios de laboratorio las pruebas que se documentan y mediante resultados estadísticos, aseguran que el método establecido se efectuará de acuerdo a las especificaciones de calidad propuestas. Así la validación evidencia el alcance de la medición y el desempeño del método. Los parámetros de la validación son los siguientes:

- Linealidad
- Repetibilidad

- Reproducibilidad intralaboratorio o precisión intermedia
- Exactitud
- Recuperación
- Límite de detección (LDD)
- Límite de cuantificación (LDC)

ÁCIDO *TRANS*, *TRANS*-MUCÓNICO

El primer parámetro que se evaluó fue la linealidad, se prepararon seis curvas de calibración en orina dentro del intervalo lineal de 0.05-5.0 mg/L, el gráfico resultante se presenta en la Figura 6. El coeficiente de determinación (r^2) obtenido es de 0.9999. La precisión fue evaluada como repetibilidad y reproducibilidad intralaboratorio.

Para el caso de repetibilidad se procesaron tres puntos de la curva de calibración (0.1, 0.5 y 2.5 mg/L) por duplicado en el mismo día, y para la reproducibilidad intralaboratorio se modificó el día de análisis, y se trabajó una curva de calibración durante seis días diferentes, obteniéndose los resultados que se muestran en la Tabla 8. También se procesó un ClinCal-Urine Calibrator (REF 9969, LOT 637, concentración= 5.1 mg/L), resultando como concentración promedio de cuatro mediciones realizadas en diferentes días 4.8844 mg/L.

El límite de detección, como el límite de cuantificación se calculó mediante el método de la desviación estándar de la pendiente que se basa en la curva de calibración. El límite de detección calculado es de 0.02 mg/L y el límite de cuantificación obtenido de 0.05 mg/L.

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS

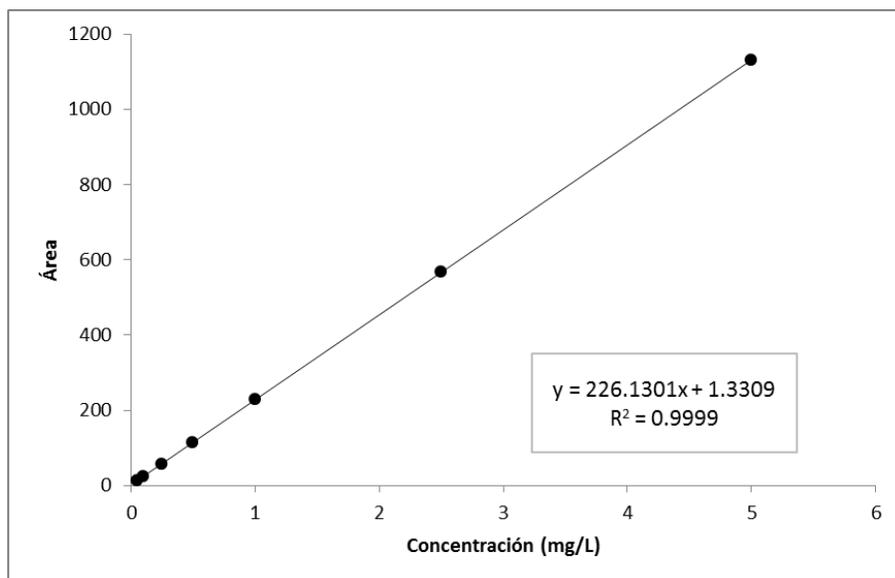


Figura 6. Curva de calibración para *t,t*-MA.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Precisión		
Concentración (mg/L)	Repetibilidad	Reproducibilidad Intralaboratorio
	%CV	% CV
0.05	---	10.42
0.10	7.58	5.62
0.25	---	6.46
0.50	1.22	2.89
1.00	---	2.34
2.50	1.13	2.19
5.00	---	4.10
Promedio	3.31	4.86

Tabla 8. Precisión del método para la determinación de *t,t*-MA.

1-HIDROXIPIRENO

El primer parámetro que se evaluó fue la linealidad, se prepararon once curvas de calibración en orina dentro del intervalo lineal de 7.2-60.0 nmol/L, el gráfico resultante se presenta en la Figura 7. El coeficiente de determinación (r^2) obtenido es de 0.9980. La precisión fue evaluada como repetibilidad y reproducibilidad intralaboratorio.

Para evaluar la repetibilidad se procesaron tres curvas de calibración en un mismo día, para el caso de la reproducibilidad intralaboratorio se modificó el día de análisis, se

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

trabajó una curva de calibración durante once días diferentes, obteniéndose los resultados que se muestran en la Tabla 9. Se incluyó en el procesamiento un ClinChek Control (REF 8925, LOT 304), nivel I (8923)= 3.86 (2.51-5.22) nmol/L y nivel II (8924)= 24.4 (17.0-31.7) nmol/L. Para el nivel I el valor observado experimentalmente fue de 2.6446 nmol/L (% Recuperación= 68.51) y para el nivel II de 20.5564 nmol/L (% Recuperación= 84.25).

El límite de detección, como el límite de cuantificación se calculó mediante el método de la desviación estándar de la pendiente que se basa en la curva de calibración. El límite de detección resultó de 0.12 nmol/L y el límite de cuantificación obtenido de 0.24 nmol/L.

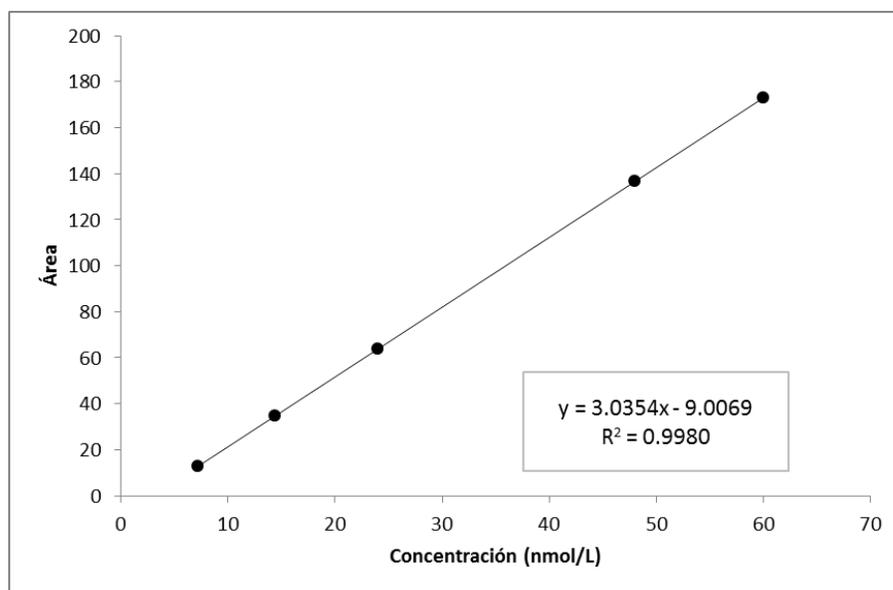


Figura 7. Curva de calibración para 1-OHP.

Precisión		
Concentración (nmol/L)	Repetibilidad	Reproducibilidad Intralaboratorio
	%CV	%CV
7.2	2.78	15.82
14.4	5.35	18.85
24.0	17.40	13.76
48.0	5.28	15.03
60.0	15.99	15.11
Promedio	9.36	15.72

Tabla 9. Precisión del método para la determinación de 1-OHP.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el uso del Software GraphPad Prism versión 5.0. Se aplicó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk, para determinar la distribución de los datos. Al no cumplirse la prueba de normalidad, se usó la prueba Kruskal-Wallis y la prueba de Dunn. Asimismo se usó la prueba de Spearman para evaluar la correlación entre los niveles de 1-OHP y de *t,t*-MA urinarios.

RESULTADOS

CUESTIONARIO DE EXPOSICIÓN

Dentro de la evaluación de la exposición infantil a HAPs y benceno, como se dijo con anterioridad se aplicó un cuestionario de exposición al padre o tutor de cada niño participante, con la finalidad de detectar las posibles fuentes de exposición a ambos contaminantes. Dicho cuestionario constó de las siguientes preguntas:

- i) ¿Algún miembro de la familia fuma en el interior de su casa?
- ii) ¿Se acostumbra la quema de basura en su casa y su localidad?
- iv) ¿Qué tipo de industrias se localizan cerca de su vivienda?
- v) ¿Qué tipo de combustible utiliza para cocinar sus alimentos?
- vi) ¿Cuántas veces al día usa leña?

Los resultados obtenidos del análisis de los cuestionarios se muestran en las Figuras 8, 9 y 10. Con respecto a la presencia de industria, en Alpuyecá indican que existe industria de construcción y agrícola; las personas de Industrial San Luis mencionan que hay industria de construcción, acerera, alimenticia y química; los participantes de Villa de la Paz hacen referencia a la industria minera y química, finalmente en Cedral indican que está instalada industria agrícola y química.

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS

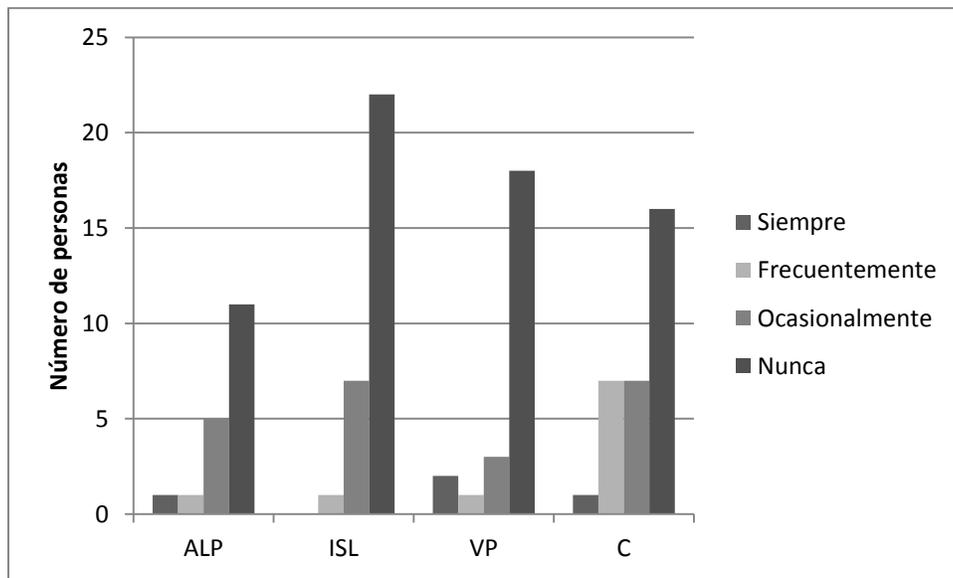


Figura 8. Hábito de fumar dentro del hogar.

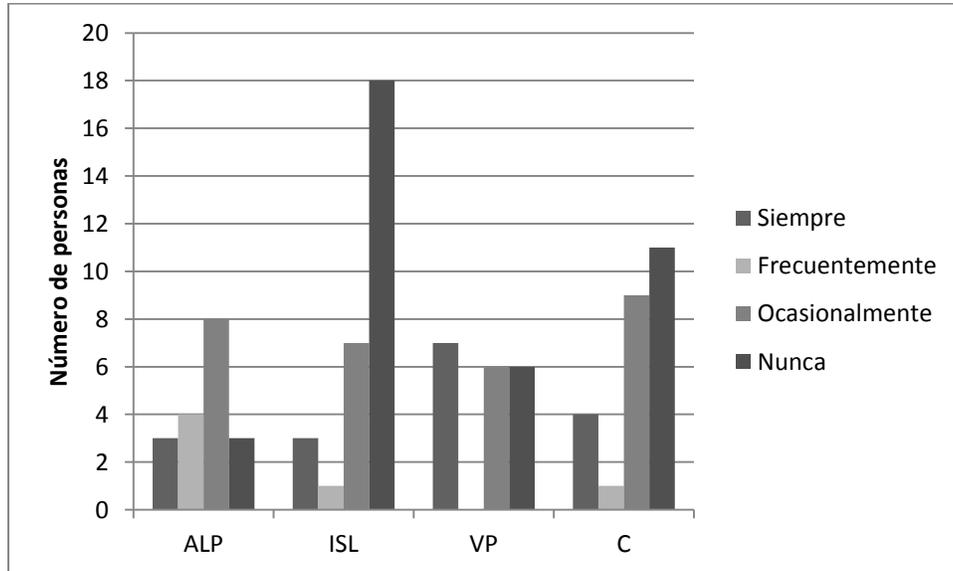


Figura 9. Hábito de quemar basura en casa y en la localidad.

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

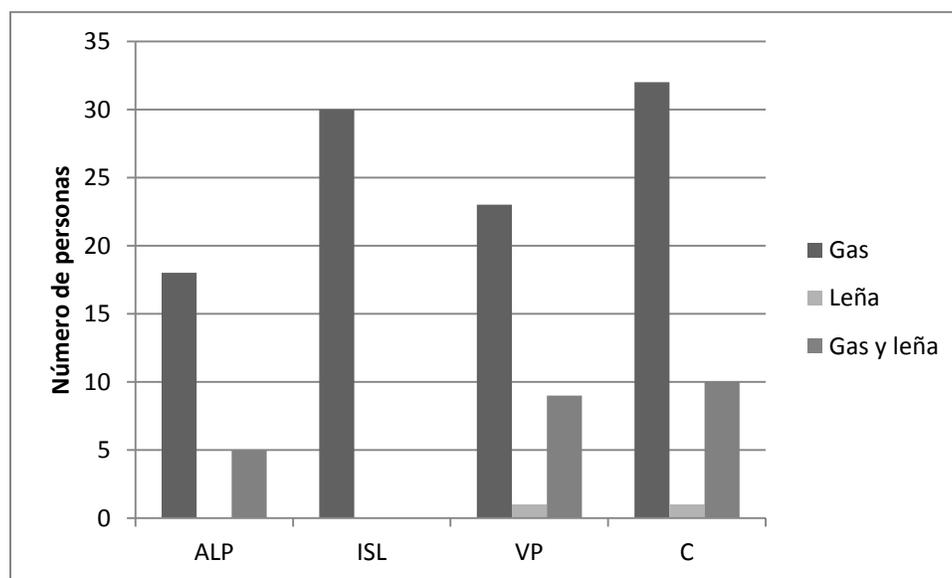


Figura 10. Combustible utilizado para cocinar los alimentos.

DETERMINACIÓN DE 1-OHP Y *T,T*-MA EN ORINA

Los resultados de las mediciones de 1-OHP y de *t,t*-MA urinario se presentan como valor de mediana (mínimo-máximo) para cada sitio en $\mu\text{mol/mol}$ creatinina y $\mu\text{g/g}$ creatinina respectivamente, además del porcentaje de niños que exceden el valor de referencia (Tablas 10, 11, 12 y 13). En la Tabla 14 se muestran los coeficientes de Spearman (r_s) y valores de p se muestran obtenidos.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Sitio	N	Mediana	Mínimo	Máximo	Porcentaje > Referencia*
Alpuyeca	24	0.11	0.01	0.41	0%
Industrial San Luis	31	0.06	0.01	0.61	3%
Villa de la Paz	24	0.10	0.02	0.77	4%
Cedral	33	0.16	0.03	3.30	6%

* Nivel de exposición ambiental= 0 – 0.5 µmol/mol creatinina

LDC= 0.24 nmol/L

Valores < LDC (LDC/2)

Tabla 10. Exposición a HAPs. Niveles de 1-OHP urinario (µmol/mol creatinina).

Sitio	N	Mediana	Mínimo	Máximo	Porcentaje > Referencia*
Alpuyeca	21	0.14	0.04	0.41	5%
Industrial San Luis	28	0.06	0.03	0.61	4%
Villa de la Paz	23	0.10	0.03	0.77	4%
Cedral	31	0.16	0.04	3.30	6%

* Nivel de exposición ambiental= 0 – 0.5 µmol/mol creatinina

LDC= 0.24 nmol/L

Tabla 11. Exposición a HAPs. Niveles de 1-OHP urinario (µmol/mol creatinina). No se toman en cuenta los valores < LDC.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Sitio	N	Mediana	Mínimo	Máximo	Porcentaje > BEI laboral*
Alpuyeca	24	312	33	2304	29%
Industrial San Luis	31	230	43	2009	16%
Villa de la Paz	24	577	74	2295	58%
Cedral	33	665	15	27927	55%

* IBE laboral= 500 µg/g creatinina

LDC= 0.05 mg/L

Valores < LDC (LDC/2)

Tabla 12. Exposición a benceno. Niveles de *t,t*-MA urinario (µg/g creatinina).

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Sitio	N	Mediana	Mínimo	Máximo	Porcentaje > BEI laboral*
Alpuyeca	21	334	79	2304	33%
Industrial San Luis	30	240	43	2009	17%
Villa de la Paz	24	577	74	2295	58%
Cedral	28	677	96	2139	57%

* IBE laboral= 500 µg/g creatinina

LDC= 0.05 mg/L

Tabla 13. Exposición a benceno. Niveles de *t,t*-MA urinario (µg/g creatinina). No se toman en cuenta los valores < LDC.

Sitio	Valor de rs	Valor de p
Alpuyeca	-0.068	0.753
Industrial San Luis	0.065	0.730
Villa de la Paz	0.012	0.955
Cedral	0.290	0.101

rs: coeficiente de correlación de Spearman

Tabla 14. Correlación entre los niveles en orina de 1-OHP y *t,t*-MA. Valores de rs y p de la prueba de Spearman.

DISCUSIÓN

HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS

Las fuentes de exposición a HAPs identificadas mediante las respuestas de los cuestionarios son: Alpuyecá: humo de tabaco, humo de la quema de basura y emisiones de autos, Industrial San Luis: humo de la quema de basura, emisiones industriales y de vehículos, Villa de la Paz: humo de tabaco, humo de leña, humo de la quema de basura, actividad industrial y emisiones de los coches y para Cedral: humo de tabaco, humo de leña, humo de la quema de basura y emisiones de autos. La magnitud de cada fuente difiere en cada lugar, ya que estamos tratando a una zona agrícola-comercial (área rural en transición), una zona industrial (área urbana) y dos zonas minero-metalúrgicas (consideradas como áreas suburbanas).

Las medianas de 1-OHP obtenidas se muestran diferentes por las diversas fuentes presentes y el impacto de cada una de ellas es distinto en cada sitio, sin embargo, solo las medianas de Industrial San Luis y Cedral difieren significativamente, $p < 0.05$ (IC, 95%). La mediana determinada en cada área de estudio coincide con las reportadas para niños dependiendo de las características del lugar en donde habitan (Anexo 1) y los valores atípicos debido al uso de leña en casa también corresponden con los publicados para esta fuente de exposición a HAPs (Martínez, 2011; Pelallo, 2010; Zuki, 2012). Utilizando los valores de referencia propuestos para exposición a HAPs para analizar los resultados de un monitoreo biológico sobre población general, se tiene un valor para adultos no fumadores, no ocupacionalmente expuestos igual a $0.24 \mu\text{mol/mol}$ creatinina, enfocándonos en lo

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

obtenido en esta investigación como ya se dijo en el apartado de resultados cierto porcentaje de niños presentan un nivel mayor a este de referencia, sin embargo, se cuenta con valores actualizados (Jongeneelen, 2014; ACGIH, 2010), se maneja 0.5 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina como valor de referencia para exposición ambiental a HAPs, si se compara con los valores de cada sitio, se observa que todos se encuentran por debajo de este nivel (Figura 11).

Dado que no se cuenta con valores de referencia específicamente para infantes, se pueden tomar como una referencia los publicados en el Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals para 1-OHP corregidos por creatinina de niños de 6 a 11 años de edad de Estados Unidos, percentil 50= 0.0890 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina, percentil 75= 0.1327 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina y percentil 95= 0.3144 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina (CDC, 2013), para estos percentiles en cada lugar de estudio se obtuvieron los siguientes valores: Alpuyeca (0.114, 0.213 y 0.384 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina), Industrial San Luis (0.0562, 0.0804 y 0.372 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina), Villa de la Paz (0.0977, 0.120 y 0.332 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina) y para Cedral (0.156, 0.198 y 0.333 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina), se puede ver que no difieren en gran medida y todos son menores al valor de referencia de 0.5 $\mu\text{mol/mol}$ creatinina, los datos se ilustran en la Figura 12. Se puede decir que los niños residentes de Alpuyeca, Industrial San Luis, Villa de la Paz y Cedral (salvo los valores atípicos) participantes en este estudio presentan niveles menores a los considerados para exposición ambiental a HAPs.

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS

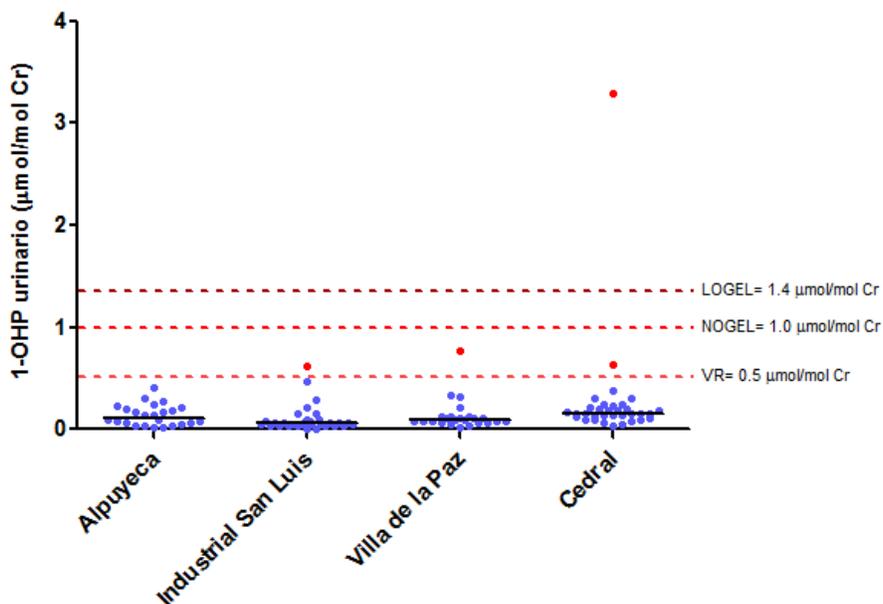


Figura 11. Exposición a HAPs. Niveles de 1-OHP en orina ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina).

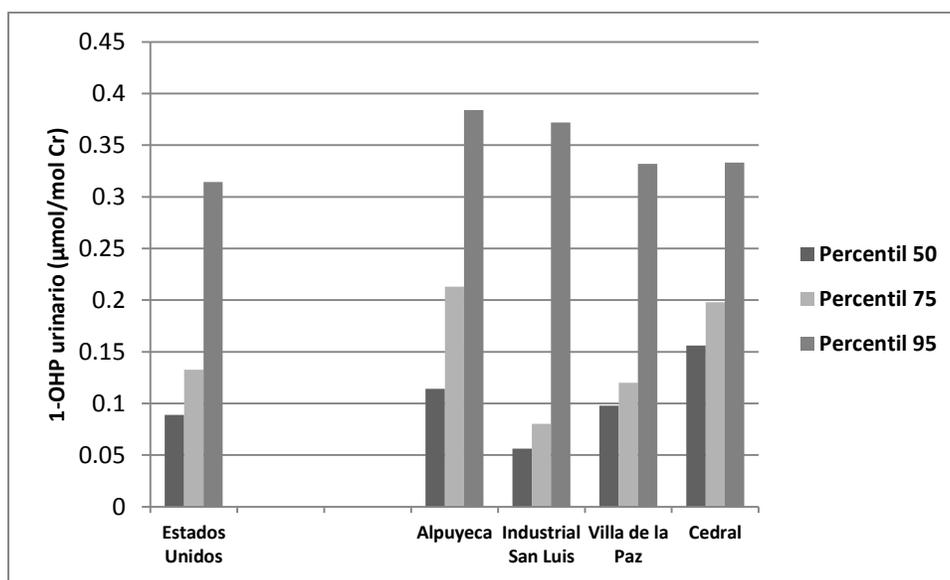


Figura 12. Nivel de 1-OHP urinario ($\mu\text{mol/mol}$ creatinina) reportado como Percentil 50, Percentil 75 y Percentil 95 para población infantil de diferentes zonas.

BENCENO

En la presente investigación las fuentes de exposición a benceno en cada sitio detectadas a través de los cuestionarios son las siguientes: Alpuyeca: humo de cigarro, humo de la quema de basura y emisiones vehiculares, Industrial San Luis: humo de la quema de basura, tráfico vehicular y presencia de industria, por ejemplo de acero, Villa de la Paz: humo de tabaco, humo de la quema de basura, actividad industrial (minería) y emisiones de autos y para Cedral: humo de tabaco, humo de la quema de basura y emisiones de coches.

El alcance en la exposición depende del impacto de cada fuente y este varía de acuerdo al área. No se observó una tendencia en los niveles de *t,t*-MA tomando en cuenta el grado de urbanización de cada lugar. Al igual que para el caso de los HAPs en la magnitud de la exposición influyen el tipo de fuente, localización geográfica y condiciones climáticas. En este último aspecto está reportado que los niveles de exposición a benceno son mayores en estaciones frías con respecto a estaciones calientes (Lagorio *et al.*, 2013) puesto que como es sabido el benceno es una sustancia muy volátil. Las muestras de Alpuyeca fueron recolectadas en otoño, de Industrial San Luis en invierno, y de Villa de la Paz y Cedral en otoño.

La mediana más alta se observó en Villa de la Paz seguida de la de Cedral, Alpuyeca y la mediana más baja se vio en Industrial San Luis. El valor de mediana de Industrial San Luis se encontró significativamente diferente con respecto a las medianas de Villa de la Paz y Cedral, $p < 0.05$ (IC, 95%).

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

De igual forma que para exposición a HAPs, hablando de benceno, no existen valores de referencia para exposición ambiental en el sector infantil. Sin embargo, es imposible determinar un nivel seguro de exposición a benceno dado que es un contaminante ampliamente identificado por diversas agencias internacionales como carcinogénico en humanos, por ello cualquier exposición representa riesgo en salud (Smith, 2010). En base a la revisión de diversas publicaciones se ha divulgado que la media o mediana de concentración de *t,t*-MA urinario se encuentra en un rango de 30 $\mu\text{g/g}$ creatinina a 300 $\mu\text{g/g}$ creatinina, para poblaciones no ocupacionalmente expuestas a benceno (Arnold *et al.*, 2013). Con la finalidad de analizar los resultados obtenidos en este estudio, se toma como valor de referencia el IBE para exposición ocupacional a benceno mencionado en la NOM-047-SSA1-2011 que corresponde a 500 $\mu\text{g/g}$ creatinina, este índice es un valor de referencia que sirve para evaluar los resultados del monitoreo biológico de la exposición y que apoya en la evaluación de riesgo a la salud del personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas (DOF, 2012). Comparando con este valor, las medianas de *t,t*-MA de Alpuyecá (312 $\mu\text{g/g}$ creatinina) e Industrial San Luis (230 $\mu\text{g/g}$ creatinina) se encuentran por debajo de este, mientras que las de Villa de la Paz (577 $\mu\text{g/g}$ creatinina) y Cedral (530 $\mu\text{g/g}$ creatinina), por encima del mismo.

En cada sitio hubo niños con niveles superiores a 500 $\mu\text{g/g}$ creatinina (Figura 13). Comparando los valores obtenidos de *t,t*-MA con los reportados para adultos ocupacionalmente expuestos a benceno y niños con exposición ambiental es notorio que en general son elevados (Anexo 2). Existen varias razones para explicar estos valores altos.

Los resultados de este estudio para ambos metabolitos urinarios (1-OHP y *t,t*-MA) se ajustaron por creatinina lo cual no es recomendable de acuerdo a lo dicho en varias publicaciones, ya que los niveles en orina se ven muy influenciados por los de creatinina, entonces esto puede confundir a la hora de interpretar los resultados y realizar una clasificación de acuerdo a la exposición (Protano *et al.*, 2010; Protano *et al.*, 2012). Los niños se consideraron fumadores pasivos si en el cuestionario de exposición el padre o tutor indicó la presencia de un integrante de la familia con el hábito de fumar dentro del hogar sin importar la frecuencia de dicha actividad. Para fumadores, el fumar aporta cerca de un 90% de la exposición a benceno, para los no fumadores la exposición a benceno por humo de cigarro depende del estilo de vida y las restricciones locales respecto a fumar (Wallace, 1996). Específicamente, los fumadores tienen 1.4-4.8 veces más alta la concentración de *t,t*-MA que los no fumadores y una cantidad media adicional de *t,t*-MA excretado de 100 µg/g creatinina (Arnold *et al.*, 2013). Puede decirse entonces que los niveles elevados de *t,t*-MA encontrados en las determinaciones realizadas probablemente están afectados por la exposición a humo de tabaco.

Las emisiones industriales como ya se mencionó y las vehiculares incrementan los niveles de benceno en aire. Individuos que viven cerca o están en áreas con alta densidad vehicular pueden tener niveles ligeramente altos de *t,t*-MA urinario (Amodio-Cocchieri *et al.*, 2001; Scherer *et al.*, 1995; Weaver *et al.*, 1996). En contraste, otros investigadores encontraron que la densidad vehicular no provee diferencias significativas en los niveles de *t,t*-MA urinario entre niños de áreas urbano y rural (Barbieri *et al.*, 2002).

Desde el primero de enero del 2000, la legislación europea ha requerido que la cantidad de benceno en combustibles sea menor a 1% por volumen (European Commission, 1998), en Estados Unidos este porcentaje por volumen de benceno en gasolina es de aproximadamente 1, en tanto en México este porcentaje por volumen cambia dependiendo de la zona, para la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM), Zona Metropolitana de Guadalajara (ZMG) y Zona Metropolitana de Monterrey (ZMM) equivale a 1 para premium y magna, en el resto del país para premium es 2% y para magna 3%, estas diferencias en composición se reflejan en los niveles de exposición a benceno. La ingesta de alimentos con conservadores a base de ácido sórbico y sorbatos tiene el potencial de incrementar de manera significativa la excreción de *t,t*-MA (Kouniali *et al.*, 2003). El *t,t*-MA es un metabolito del ácido sórbico y sorbatos, la toma de diferentes cantidades de ácido sórbico (200-600 mg) puede resultar en un incremento en los niveles de *t,t*-MA. Esta ingesta de alimentos con tal conservador es distinta de un lugar a otro, y tal vez debido a ello varía la correlación entre niveles de *t,t*-MA y niveles de exposición personal a benceno descrito en la literatura. Por otro lado datos muestran que *t,t*-MA puede ser utilizado como un biomarcador de exposición a benceno, sin embargo, para una clara asociación a benceno se requiere de un monitoreo y control personal del ácido sórbico en la dieta (Amodio-Cocchieri *et al.*, 2001). Se estima que la vida media de *t,t*-MA es de 5.1 ± 2.3 h (Boogaard & Van Sittert, 1995; Johnson & Lucier, 1992).

Para este estudio como parte de las indicaciones de la toma de muestra se les entregó a los padres de familia una nota donde se hacía mención de que al menos 24 h antes

de la recolección no alimentaran al niño con productos que contuvieran ácido sórbico o sorbatos, en tal nota se enlistaban los más comunes porque eso podría interferir en los resultados. Lo anterior para controlar el factor dieta. Factores genéticos humanos, principalmente polimorfismos en enzimas metabolizadoras de benceno, también pueden influenciar los niveles de *t,t*-MA excretado en orina. Esto se traduce en que puede haber en la población general “metabolizadores de *t,t*-MA lentos” y “metabolizadores de *t,t*-MA rápidos” (Gobba *et al.*, 1997). Para el caso de los “metabolizadores rápidos” puede aumentar el riesgo de padecer algún efecto adverso (ej. leucemia) dado que el *trans, trans*-muconaldehído, precursor de *t,t*-MA es mielotóxico. Finalmente, los valores de *t,t*-MA no correlacionan con los niveles de 1-OHP, esto evaluado mediante la prueba de Spearman, $p > 0.05$ (IC, 95%).

SUSCEPTIBILIDAD DE LOS NIÑOS

El nivel de referencia usado para analizar los resultados de 1-OHP en orina está descrito para exposición ambiental a HAPs de población general (incluyendo fumadores y no fumadores).

El nivel de referencia utilizado para examinar los resultados de *t,t*-MA urinarios, es un valor reportado para exposición ocupacional a benceno.

Lo anterior resulta importante dado que los niños son el sector de la población con mayor riesgo de padecer los efectos adversos de estos contaminantes, debido a que ellos se encuentran en etapa de desarrollo.

EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO EN SITIOS CONTAMINADOS

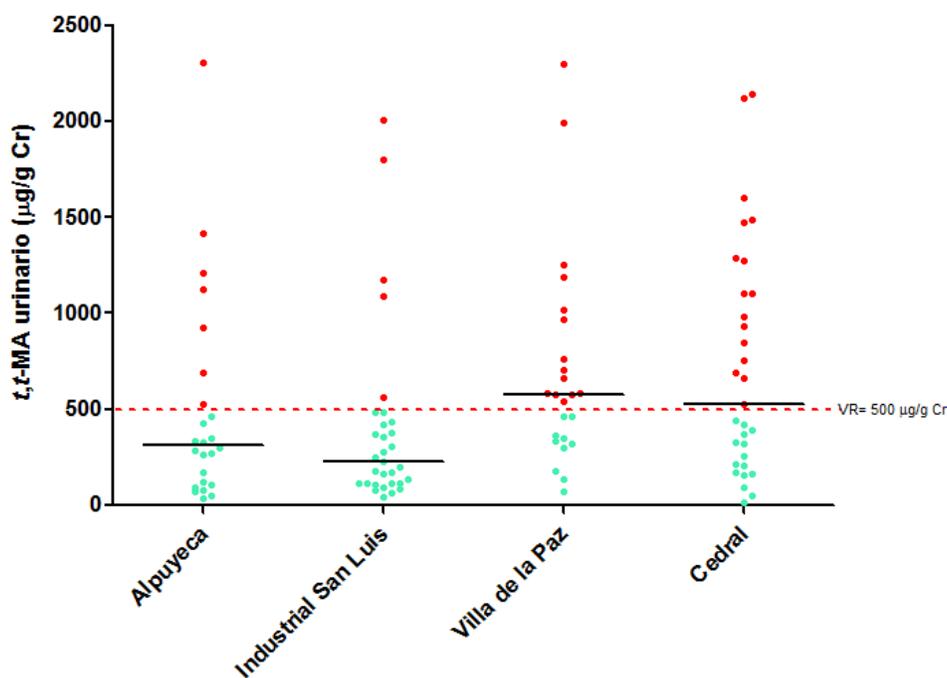


Figura 13. Exposición a benceno. Niveles de *t,t*-MA en orina ($\mu\text{g/g}$ creatinina).

CONCLUSIONES

La evaluación del grado de exposición de la población primordialmente del sector infantil a contaminantes, aún más a aquellos que está comprobado con datos científicos que provocan daño severo a la salud, tal es el caso de hidrocarburos aromáticos policíclicos y benceno es imprescindible.

Los resultados de esta investigación confirman que si existe exposición ambiental para HAPs, como para benceno. Las principales fuentes de exposición son: la gasolina y el humo de leña para ambos contaminates, en diferente magnitud. Los infantes presentaron niveles de 1-OHP por abajo del establecido como referencia ($0.5 \mu\text{mol/mol}$ creatinina) para

exposición a HAPs, en cambio para benceno, los valores de *t,t*-MA se notan elevados con respecto al valor de referencia considerado (500 µg/g creatinina).

LIMITANTES

1-HIDROXIPIRENO

- Algunos estudios reportan que no existe asociación significativa entre el nivel de 1-OHP en orina y efectos tóxicos relacionados con la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos (Barraza *et al.*, 2014).
- Otros HAPs, tal como el fluoreno y en menor medida el fenantreno están más relacionados con exposición ambiental a HAPs (Barraza *et al.*, 2014).

ÁCIDO *TRANS*, *TRANS*-MUCÓNICO

- El *t,t*-MA es un metabolito del ácido sórbico y sorbatos.
- La ingesta de alimentos con conservadores a base de ácido sórbico y sorbatos tiene el potencial de incrementar de manera significativa la excreción de *t,t*-MA.
- Esta ingesta de alimentos con tal conservador es distinta de un lugar a otro, siendo más usual en poblaciones occidentales (Kouniali *et al.*, 2003; Amodio-Cocchieri *et al.*, 2001).

RECOMENDACIONES

- Realizar un monitoreo biológico de exposición a HAPs más amplio.
- Llevar a cabo una evaluación de la exposición a benceno, utilizando un biomarcador de exposición con mayor especificidad.
- En base a lo anterior, elaborar normativas ambientales para el sector infantil.

BIBLIOGRAFÍA

1. ACGIH. (2007). *Threshold limit values (TLVs) and biological exposure indices (BEIs)*. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
2. ACGIH. (2010). *Documentation for a Recommended BEI of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. Cincinnati, OH: American Conference of Governmental Industrial Hygienists.
3. Amodio-Cocchieri, R., Del Prete, U., Cirillo, T., et al. (2001). Evaluation of benzene exposure in children living in Campania (Italy) by urinary trans,trans-muconic acid assay. *J Toxicol Environ Health Part A*, 63, 79-87.
4. Aquilina, N. J., Delgado-Saborit, J. M., Meddings, C., Baker, S., Harrison, R. M., Jacob III, P., et al. (2010). Environmental and biological monitoring of exposures to PAHs and ETS in the general population. *Environment International*, 36, 763-771.
5. Arnold, S., Angerer, J., Boogaard, P., Hughes, M., O'Lone, R., Robison, S., et al. (2013). The use of biomonitoring data in exposure and human health risk assessment: benzene case study. *Crit Rev Toxicol*, 43(2), 119-153.
6. ATSDR. (1995). *Toxicological Profile for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons*. U.S. Department of Health and Human Services.
7. ATSDR. (2007). *Toxicological Profile for Benzene*. Atlanta, Georgia: U.S. Department of Health and Human Services.

8. ATSDR. (2010). *Toxicological Profile for Benzene (Update)*. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry, US Department of Health and Human Services, Public Health Service.
9. Bader, M., Messerer, P., & Will, W. (2013). Urinary creatinine concentrations in an industrial workforce and comparison with reference values of the general population. *Int Arch Occup Environ Health*, 86(6), 673-680.
10. Bae, S., Pan, X-C., Kim, S-Y., Park, K., Kim, Y-H., Kim, H., et al. (2010). Exposures to Particulate Matter and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Oxidative Stress in Schoolchildren. *Environmental Health Perspectives*, 118(4), 579-583.
11. Barbieri, A., Accorsi, A., Raffi, G. B., et al. (2002). Lack of sensitivity of urinary trans,trans-muconic acid in determining low-level (ppb) benzene exposure in children. *Arch Environ Health*, 57, 224-228.
12. Barraza-Villarreal, A., Escamilla-Núñez, M. C., Schilman, A., Hernández-Cadena, L., Li, Z., Romanoff, L., et al. (2014). Lung Function, Airway Inflammation, and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Exposure in Mexican Schoolchildren. A Pilot Study. *JOEM*, 00(00), 1-5.
13. Boogaard, P. J., Van Sittert, N. J. (1995). Biological monitoring of exposure to benzene: a comparison between s-phenylmercapturic acid, trans,trans-muconic acid, and phenol. *Occup Environ Med*, 52, 611-620.

14. Boogaard, P. J., Van Sittert, N. J. (1996). Suitability of S-phenyl mercapturic acid and trans-trans-muconic acid as biomarkers for exposure to low concentrations of benzene. *Environ Health Perspect*, 104, 1151-7.
15. Centers for Disease Control and Prevention. (2013). *Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals, Updated Tables, September 2013*. Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services.
16. Chávez, C., Castro, J., Díaz-Barriga, F., Monroy, M. (2011). Modelo conceptual de riesgo ambiental por arsénico y plomo en el distrito minero de Santa María de la Paz, San Luis Potosí, México. *e-Gnosis [online]*, 9, 1-25.
17. Costilla, R. *Evaluación de riesgo en salud en dos sitios contaminados por bifenilos policlorados (PCBs) y metales pesados*. Tesis (Doctorado en Ciencias Ambientales). San Luis Potosí, México, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2010. 146 p.
18. Ding, J., Zhong, J., Yang, Y., Li, B., Shen, G., Su, Y., et al. (2012). Occurrence and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons and their derivatives in a rural Chinese home through biomass fuelled cooking. *Environmental Pollution*, 169, 160-166.
19. 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.

20. EPA. (2010). *Gasoline Composition Regulations Affecting LUST Sites*. Washington, DC: United States Environmental Protection Agency.
21. European Commission. (1998). Directive 98/70/EC of the European Parliament and of the Council of 13 October 1998 relating to the quality of petrol and diesel fuels and amending Directive 93/12/EEC. Brussels, Belgium: European Commission.
22. Fiala, Z., Viskocil, A., Krajak, V., Viau, C., Ettlerova, E., Bukac, J., et al. (2001). Environmental exposure of small children to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*, 74, 411-420.
23. Flores, R., Rico, E., Núñez, J. E., García, E., Carrizales, L., Ilizaliturri, C., Díaz-Barriga, F. (2012). Exposición infantil al plomo en sitios contaminados. *Salud Pública Méx*, 54(4), 383-392.
24. Fondelli, M. C., Bavazzano, P., Grechi, D., et al. (2008). Benzene exposure in a sample of population residing in a district of Florence, Italy. *Sci Total Environ*, 392, 41-49.
25. Fustinoni, S., Bollati, V., & Bertazzi, P. A. (2013). [Epigenic modifications associated with low benzene exposure]. *G Ital Med Lav Ergon*, 35(4), 263-267.
26. Gobba, F., Rovesti, S., Borella, P., Vivoli, R., Caselgrandi, E., & Vivoli, G. (1997). Inter-individual variability of benzene metabolism to trans,trans-muconic acid and its implications in the biological monitoring of occupational exposure. *Sci Total Environ*, 199(1-2), 41-48.

27. Hansen, A. M., Raaschou-Nielsen, O., & Knudsen, L. E. (2005). Urinary 1-hydroxypyrene in children living in city and rural residences in Denmark. *Sci. Total Environ.*, 347(1-3), 98-105.
28. Harley, R. A., Hooper, D. S., Kean, A. J., et al. (2006). Effects of reformulated gasoline and motor vehicle fleet turnover on emissions and ambient concentrations of benzene. *Environ Sci Technol*, 40, 5084-8.
29. Herbstman, J. B., Tang, D., Zhu, D., Qu, L., Sjödin, A., Li, Z., Camann, D., Perera, F. P. (2012). Prenatal Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, Benzo[a]pyrene-DNA Adducts, and Genomic DNA Methylation in Cord Blood. *Environmental Health Perspectives*, 120(5), 733-738.
30. INEGI. (2010). *Sistema para la Consulta de Información Censal 2010*. Instituto Nacional de Geografía y Estadística.
31. Inoue, O., Seiji, K., Kasahara, M., et al. (1989). Urinary t,t-muconic acid as an indicator of exposure to benzene. *Br J Ind Med*, 46, 122-127.
32. Johnson, E. S., Lucier, G. (1992). Perspectives on risk assessment impact of recent reports on benzene. *Am J Ind Med*, 21, 749-757.
33. Jongeneelen, F. J., Anzion, R. B., Henderson, P. T. (1987). Determination of hydroxylated metabolites of polycyclic aromatic hydrocarbons in urine. *J Chromatography*, 413, 227-232.
34. Jongeneelen, F. J. (2001). Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Ann Occup Hyg*, 3-13.

35. Jongeneelen, F. J. (2014). A guidance value of 1-hydroxypyrene in urine in view of acceptable occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. *Toxicol. Lett.* <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.05.001>
36. Kawanami, S., Nguyen, T-T-U., Inoue, J., Kawai, K., & Horie, S. (2014). Urinary 1-Hydroxypyrene Levels among Office Workers Living in Industrial Areas. *J UOEH*, 36(1), 1-10.
37. Klaassen, C. D. (2008). *Casarett & Doull's. Toxicology. The Basic Science of Poisons.* (7^a ed.). United States of America: Mc Graw Hill Medical.
38. Kouniali, A., Cicoella, A., Gonzalez-Flesca, N., Dujardin, R., Gehanno, J-F., & Bois, Y. F. (2003). Environmental benzene exposure assessment for parent-child pairs in Rouen, France. *The Science of the Total Environment*, 308, 73-82.
39. Kyrtopoulos, S. A., Georgiadis, P., Autrup, H., Demopoulos, N. A., Farmer, P., Haugen, A., et al. (2001). Biomarkers of genotoxicity of urban air pollution. Overview and descriptive data from a molecular epidemiology study of populations exposed to moderate-to-low levels of polycyclic aromatic hydrocarbons: the AULIS project. *Mutat. Res.*, 496, 207-228.
40. Lagorio, S., Ferrante, D., Ranucci, A., Negri, S., Sacco, P., Rondelli, R., et al. (2013). Exposure to benzene and childhood leukaemia: a pilot case-control study. *BMJ Open*, 3, 1-11.
41. Lauwerys, R. (1994). *Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales.* España: Masson.

42. Li, Z., Sjödin, A., Romanoff, L. C., Horton, K., Fitzgerald, C. L., Eppler, A., et al. (2011). Evaluation of exposure reduction to indoor air pollution in stove intervention projects in Peru by urinary biomonitoring of polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites. *Environment International*, 37, 1157-63.
43. Mastandrea, C., Chichizola, C., Ludueña, B., Sánchez, H., Álvarez, H., Gutiérrez, A. (2005). Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquím Clín Latinoam*, 39(1), 27-36.
44. Martí-Cid, R., Llobet, J. M., Castell, V., Domingo, J. L. (2008). Evolution of the dietary exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in Catalonia, Spain. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 3163-71.
45. Martínez, R. *Estimación de riesgo en salud por exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos y DDT residual en población infantil del Estado de Chiapas*. Tesis (Doctorado en Ciencias Ambientales). San Luis Potosí, México, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2011. 111 p.
46. Mucha, A. P., Hryhorczuk, D., Serdyuk, A., Nakonechny, J., Zvinchuk, A., Erdal, S., et al. (2006). Urinary 1-hydroxypyrene as a biomarker of PAH exposure in 3-year old Ukrainian children. *Environ Health Perspect*, 114(4), 603-609.
47. Naeher, L. P., Brauer, M., Lipsett, M., Zelicoff, J. T., Simpson, C. D., Koenig, J. Q., et al. (2007). Woodsmoke health effects: a review. *Inhal Toxicol*, 19, 67-106.
48. NOM-047-SSA1-2011, *Salud ambiental-Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas*. México: Diario Oficial de la Federación (06 de Junio de 2012).

49. NOM-086-SEMARNAT-SENER-SCFI-2005, *Especificaciones de los combustibles fósiles para la protección ambiental*. México: Diario Oficial de la Federación (30 de Enero de 2006).
50. Collins, F. G. (2014). *Benzene Reference Exposure Levels. Technical Support Document for the Derivation of Noncancer Reference Exposure Levels Appendix D1*. Office of Environmental Health Hazard Assessment California Environmental Protection Agency (OEHHA).
51. OMS. (2006). *Ambientes saludables y prevención de enfermedades: hacia una estimación de la carga de morbilidad atribuible al medio ambiente: resumen de orientación*. Organización Mundial de la Salud.
52. OMS. (2013). *Salud Ambiental*. Organización Mundial de la Salud.
53. OSHA. (2012). *Occupational Safety and Health Standards. Benzene*. Recuperado el 16 de Abril de 2013, de: http://www.osha.gov/pls/oshaweb/owadisp.show_document?p_table=STANDARDS&p_id=10043
54. Pearson, R. L., Wachtel, H., & Ebi, K. L. (2000). Distance-weighted traffic density in proximity to a home is a risk factor for leukemia and other childhood cancers. *J Air Waste Manag Assoc*, 50(2), 175-180.
55. Pelallo, N. A. *Evaluación de riesgo en salud en población infantil expuesta a una mezcla de contaminantes en Coatzacoalcos, Veracruz*. Tesis (Doctorado en Ciencias Ambientales). San Luis Potosí, México, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2010. 73 p.

56. Perera, F., Li, T. Y., Lin, C., & Tang, D. (2012). Effects of prenatal polycyclic aromatic hydrocarbon exposure and environmental tobacco smoke on child IQ in a Chinese cohort. *Environmental Research*, *114*, 40-46.
57. Protano, C., Guidotti, M., Manini, P., Petyx, M., La Torre, G., & Vitali, M. (2010). Benzene exposure in childhood: Role of living environments and assessment of available tools. *Environment International*, *36*, 779-787.
58. Protano, C., Andreoli, R., Manini, P., & Vitali, M. (2012). Urinary trans, trans-muconic acid and S-phenylmercapturic acid are indicative of exposure to urban benzene pollution during childhood. *Science of the Total Environment*, *435-436*, 115-123.
59. Pyatt, D., Hays, S. (2010). A review of the potential association between childhood leukemia and benzene. *Chemico-Biological Interactions*, *184*, 151-164.
60. Rehfuess, E., Mehta, S., & Pruss-Ustun, A. (2006). Assessing household solid fuel use: multiple implications for the Millennium Development Goals. *Environ Health Perspect*, *114*, 373-378.
61. Repetto, M., Repetto, G. (2009). *Toxicología Fundamental*. (4^a ed.). España: Díaz de Santos.
62. Riojas-Rodríguez, H., Schilman, A., Marron-Mares, A. T., Masera, O., Li, Z., Romanoff, L., et al. (2011). Impact of the Improved Patsari Biomass Stove on Urinary Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Biomarkers and Carbon Monoxide Exposures in Rural Mexican Women. *Environmental Health Perspectives*, *119*(9), 1301-07.

63. 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. *Toxicology Letters*, *168*, 200-209.
64. Ruppert, T., Scherer, G., Tricker, A. R., et al. (1997). Trans,trans-muconic acid as a biomarker of non-occupational environmental exposure to benzene. *Int Arch Occup Environ Health*, *69*, 247-251.
65. Sabourin, P. J., Chen, B. T., Lucier, G., et al. (1987). Effect of dose on the absorption and excretion of [¹⁴C]benzene administered orally or by inhalation in rats and mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, *87*, 325-336.
66. Safe Work Australia. (2013). *Polycyclic aromatic hydrocarbons*. Recuperado el 13 de Mayo de 2014, de: <http://www.safeworkaustralia.gov.au/sites/swa/about/publications/pages/hm-polycyclic-aromatic-hydrocarbons>
67. Scherer, G., Ruppert, T., Daube, H., et al. (1995). Contribution of tobacco smoke to environmental benzene exposure in Germany. *Environ Int*, *21*, 779-789.
68. Siwińska, E., Mielżyńska, D., Bubak, A., & Smolik, E. (1999). The effect of coal stoves and environmental tobacco smoke on the level of urinary 1-hydroxypyrene. *Mutation Research*, *445*, 147-153.
69. Siwińska, E., Mielżyńska, D., & Kapka, L. (2004). Association between urinary 1-hydroxypyrene and genotoxic effects in coke oven workers. *Occup Environ Med*, *61*, 1-7.

70. Smith, M. T. (2010). Advances in understanding benzene health effects and susceptibility. *Annu Rev Public Health, 31*, 133-148.
71. Tovalin-Ahumada, H., Whitehead, L. (2007). Personal exposures to volatile organic compounds among outdoor and indoor workers in two Mexican cities. *Sci Total Environ, 376*, 60-71.
72. Tunsaringkarn, T., Soogarun, S., & Palasuwan, A. (2013). Occupational exposure to benzene and changes in hematological parameters and urinary trans, trans-muconic acid. *Int J Occup Environ Med, 4*, 45-49.
73. Van Rooij, J. G., Veeger, M. M., Bodelier-Bade, M. M., Scheepers, P. T., & Jongeneelen, F. J. (1994). Smoking and dietary intake of polycyclic aromatic hydrocarbons as sources of interindividual variability in the baseline excretion of 1-hydroxypyrene in urine. *Int Arch Occup Environ Health, 66*, 55-65.
74. Vyskocil, A., Fiala, Z., Che'nier, V., Krajak, L., Ettlerova, E., Bukak, J., et al. (2000). Assessment of multipathway exposure of small children to PAH. *Environ. Toxicol. Pharmacol., 8*, 111-118.
75. Wallace, L. (1996). Environmental Exposure to benzene: an update. *Environ Health Perspect, 104*, 1129-36.
76. Weaver, V. M., Davoli, C. T., Heller, P. J., et al. (1996). Benzene exposure, assessed by urinary trans,trans-muconic acid, in urban children with elevated blood lead levels. *Environ Health Perspect, 104*, 318-323.

77. Whitehead, T. P., Metayer, C., Petreas, M., Does, M., Buffler, P. A., & Rappaport, S. M. (2013). Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Residential Dust: Sources of Variability. *Environmental Health Perspectives*, 121(5), 543-550.
78. WHO. (2001). *Biomarkers in risk assessment: validity and validation*. [environmental health criteria 222]. Geneva: World Health Organization.
79. WHO. (2010). Exposure to benzene: A major public health concern. World Health Organization. Recuperado el 29 de Mayo de 2014, de: http://www.who.int/ipcs/assessment/public_health/benzene/en/
80. Yu, R., Weisel, C. P. (1996). Measurement of the urinary benzene metabolite trans,trans-muconic acid from benzene exposure in humans. *J Toxicol Environ Health*, 48, 453-477.
81. Zuki, B. A. *Evaluación de la exposición a benceno e hidrocarburos policíclicos aromáticos en población infantil de San Luis Potosí*. Tesis (Maestría en Ciencias Ambientales). San Luis Potosí, México, Universidad Autónoma de San Luis Potosí, 2012. 110 p.

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Anexo 1. Valores de 1-OHP urinario reportados por diferentes autores.

Sitio	Características de los sujetos	Mediana 1-OHP/mol creatinina	µmol	Referencia
Provincia de Santiago de Chuco, Región La Libertad (Perú)	Mujeres expuestas a humo de leña (antes de intervención)	1.6660		Li <i>et al.</i> (2011)
	Mujeres expuestas a humo de leña (después de intervención)	1.3015		
Michoacán (México)	Mujeres expuestas a humo de leña (antes de intervención)	1.8273		Riojas-Rodríguez <i>et al.</i> (2011)
	Mujeres expuestas a humo de leña (después de intervención)	1.2338		
Kitakyushu (Japón)	Trabajadores, no fumadores, vecinos de industria	0.0359		Kawanami <i>et al.</i> (2014)
Thai Nguyen (Vietnam)		0.2171		
London, West Midlands y South Wales (Reino Unido)	Adultos no fumadores, no ocupacionalmente expuestos	0.196*		Aquilina <i>et al.</i> (2010)
Estados Unidos	Niños (6-11 años)	0.0890		CDC (2013)
Cd. de México (México)	Niños (6-14 años)	0.0603		Barraza-Villarreal <i>et al.</i> (2014)
Ala Shan (China)	Niños	1.2390**		Bae <i>et al.</i> (2010)
Beijing (China)		0.6195**		
Seoul (Corea)		0.3488**		
Jeju (Corea)		0.2915**		
Chiapas (México)	Niños	0.65*		Martínez (2011)
Nuevo Nicapa		0.19*		
San Miguel 2ª. Sección		0.58*		
San Martín Chamizal		1.23*		
San Francisco León		0.74*		
Polonia	Niños (uso de carbón en el hogar)	0.565**		Siwińska <i>et al.</i> (1999)
	Niños (uso de electricidad/gas en el hogar)	0.404**		
Polonia	Niños (expuestos a humo de la quema de carbón y de cigarros)	0.45		Siwińska <i>et al.</i> (1999)
	Niños no expuestos	0.25		
Bangkok (Tailandia)	Niños de área rural (expuestos a emisiones de autos)	0.09		Ruchirawat <i>et al.</i> (2007)
	Niños de área urbana (expuestos a emisiones de autos)	0.15		
Montreal (Canadá)	Pequeños (expuestos por gran tráfico vehicular)	0.20*		Vyskocil <i>et al.</i> (2000)
Ucrania	Niños (residentes de una zona cercana a un área industrial)	0.69***		Mucha <i>et al.</i> (2006)
República Checa	Niños (sitio no contaminado)	0.06*		Fiala <i>et al.</i> (2001)
Dinamarca	Niños (área rural)	0.09***		Hansen <i>et al.</i> (2005)
	Niños (área urbana)	0.11***		
Coatzacoalcos y zonas aledañas (México)	Niños	0.20*		Pelallo (2010)
Allende		1.26*		
López Mateos		0.41*		
San Luis Potosí (México)	Niños, sitio urbano, zona ladrillera	0.23		Zuki (2012)
Terceras		0.03		
Morales		0.06		Presente estudio
Industrial San Luis		0.06		
Bellas Lomas		0.09		Zuki (2012)
Rincón de San José		0.10		
Villa de la Paz		0.16		Presente estudio
Cedral		0.14		
Cuatlamayán		0.15		Zuki (2012)
Santa María Picula		0.11		
Morelos (México)	Niños, zona agrícola-comercial	0.11		Presente estudio

* Media Geométrica (MG); ** Media de mínimos cuadrados (least-square mean); *** Media

**EXPOSICIÓN INFANTIL A HIDROCARBUROS AROMÁTICOS POLICÍCLICOS Y BENCENO
EN SITIOS CONTAMINADOS**

Anexo 2. Valores de *t,t*-MA urinario reportados por diversos autores.

Sitio	Características de los sujetos	Mediana $\mu\text{g } t,t\text{-MA/g creatinina}$	Referencia
Bangkok (Tailandia)	Trabajadores de estación de gasolina	1450**	Tunsaringkarn <i>et al.</i> (2013)
Bangkok (Tailandia)	Niños de área rural (expuestos a emisiones de autos)	30	Ruchirawat <i>et al.</i> (2007)
	Niños de área urbana (expuestos a emisiones de autos)	60	
Coatzacoalcos y zonas aledañas (México)			
Allende	Niños	388*	Pelallo (2010)
López Mateos		369*	
Mundo Nuevo		363*	
Ruan (Francia)	Niños	850**	Kouniali <i>et al.</i> (2003)
	Adultos	730**	
Italia	Estudio piloto casos y controles de niños con leucemia		Lagorio <i>et al.</i> (2013)
	Primavera	82	
	Verano	83	
	Otoño	102.48	
Italia	Niños de área rural	65.04	Protano <i>et al.</i> (2010)
	Niños de área urbana	114.95	
Italia	Infantes, sitio no urbano	66.36	Protano <i>et al.</i> (2012)
	Infantes, sitio bastante urbanizado	116.57	
	Infantes, sitio muy urbanizado	102.54	
San Luis Potosí (México)			
Terceras	Niños, sitio urbano, zona ladrillera	430	Zuki (2012)
Morales	Niños, sitio urbano, industria minera	259	
Industrial San Luis	Niños, sitio urbano, zona industrial	230	Presente estudio
Bellas Lomas	Niños, sitio suburbano	221	Zuki (2012)
Rincón de San José	Niños, sitio rural	427	
Villa de la Paz	Niños, zona minera	577	Presente estudio
Cedral	Niños, zona minera	530	
Cuatlamayán	Niños, sitio rural (quema de biomasa)	185	Zuki (2012)
Santa María Picula	Niños, sitio rural (quema de biomasa)	215	
Morelos (México)	Niños, zona agrícola-comercial	312	Presente estudio

* Media Geométrica (MG)

** Media