

50
Zej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLAN"

**CONCENTRACION TISULAR DE PLAGUICIDAS
ORGANOCORADOS Y ANEMIA APLASTICA**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA**

P R E S E N T A

ELSA IRENE SANCHEZ MONTES DE OCA

DIRECTOR DE LA TESIS:

Q. F. B. RAMON CENDEJAS RAMIREZ



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE GENERAL

	pág.
RESUMEN	2
INDICE DE TABLAS	4
INDICE DE FIGURAS	5
INTRODUCCION	6
PARTE TEORICA	8
A) Anemia Aplástica	9
a) Etiología	10
b) Manifestaciones clínicas	11
c) Diagnóstico	12
d) Tratamiento	13
B) Plaguicidas	14
a) Química	15
b) Movimiento de los plaguicidas organoclorados en el medio ambiente	25
c) Toxicología de los plaguicidas organoclorados	29
OBJETIVOS	39
PARTE EXPERIMENTAL	40
A) Material y equipo	40
B) Métodos	43
a) Muestreo	43
b) Análisis de tejidos	44
c) Análisis de suero	47
d) Análisis por cromatografía gas-líquido	47
e) Control de resultados	53
f) Confirmación por multicolumna	53
RESULTADOS Y DISCUSION	56
CONCLUSIONES	75
RECOMENDACIONES	79
BIBLIOGRAFIA	81
APENDICE I	92

RESUMEN

Se determinó el tipo y concentración de residuos de plaguicidas organoclorados en médula ósea, tejido adiposo y suero de ocho pacientes que fallecieron por anemia aplásica y tres que murieron por otras causas. Los extractos purificados de los tejidos, se analizaron por cromatografía gas-líquido y la confirmación se hizo por el método de multicolumna.

En el análisis cualitativo, se encontraron de uno a dos residuos de plaguicidas en sueros; y de tres a seis, en médulas óseas y tejidos adiposos. Para el grupo control, el orden de frecuencia de los compuestos hallados fué: p,p'-DDE < p,p'-DDT < β HCH < dieldrín < epóxido de heptacloro < p,p'-DDD. En el grupo de aplásicos, esta relación sólo fué diferente en el p,p'-DDD que se encontró con mayor frecuencia que el epóxido de heptacloro.

En el análisis cuantitativo, el p,p'-DDE fué el compuesto que se determinó en mayor concentración (11.6 a 21.3 ppm) en todos los sujetos y tejidos estudiados. Las concentraciones de DHCCH (1.2 a 3.4 ppm) y p,p'-DDT (1.2 a 3.8 ppm) fueron semejantes. Aunque cualitativamente el p,p'-DDD se presentaba con mayor frecuencia en los aplásicos respecto de los controles, la estadística sólo señaló diferencia significativa ($P \leq 0.05$) para el p,p'-DDD en el tejido adiposo de abdomen.

INDICE DE TABLAS

TABLA	NOMBRE
I	Variedades de Anemia Aplástica
II	Factores etiológicos descritos como causantes de la Anemia Aplástica
III	Cronología del desarrollo y uso de los plaguicidas
IV	Principales plaguicidas organoclorados y sus características
V	Toxicidad aguda de algunos compuestos organoclorados
VI	Concentración de DDT + DDE en tejido adiposo de habitantes de varios países del mundo
VII	Insecticidas organoclorados que estimulan el metabolismo de drogas
VIII	Características de los donadores de las muestras
IX	Fases estacionarias y condiciones de operación para la cromatografía gas-líquido
X	Soluciones estándar de plaguicidas organoclorados
XI	Residuos de plaguicidas organoclorados en médula ósea
XII	Residuos de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo
XIII	Residuos de plaguicidas organoclorados en suero
XIV	Concentración de compuestos organoclorados en varios tejidos humanos
XV	Concentración de compuestos organoclorados en varios tejidos humanos. Análisis cuantitativo.

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	NOMBRE
1	Producción de DDT y HCH en México
2	Teorías del modo de acción del DDT
3	Movimiento de los plaguicidas en el medio ambiente
4	Distribución característica del DDT en el ambiente
5	Cromatogramas del análisis cualitativo y cuantitativo de un tejido adiposo de abdomen
6	Cromatogramas de un análisis blanco y un análisis de recuperación
7	Frecuencia de compuestos organoclorados (COC) en varios tejidos de pacientes con anemia aplástica (AA).
8	Frecuencia de COC en varios tejidos de pacientes con AA
9	Representación gráfica del análisis cuantitativo
10	Comparación de COC encontrados en tejido adiposo de abdomen en varios países del mundo y México
11	Comparación de la concentración de COC encontrados en médula ósea de los habitantes de Hawaii y México

INTRODUCCION

Desde 1948, se conoce que los plaguicidas organoclorados y sus productos de degradación se pueden acumular en los tejidos humanos, (1). Debido a que estos productos se han empleado masivamente para innumerables fines domésticos, agrícolas o de salud pública, el riesgo potencial que existe para la población expuesta es muy grande y esto ha propiciado el interés de estimar sus efectos en la salud del hombre.

En varios países se han efectuado numerosos estudios (1,2) que tratan de relacionar a estas sustancias con posibles efectos en el ser humano; pero muy pocos se han hecho para tratar de buscar un vínculo entre anemia aplásica y plaguicidas (3-5).

En México, la anemia aplásica es una enfermedad que se ha observado tiene alta incidencia, especialmente en algunos centros hospitalarios del norte y centro del país. Esto, aunado al amplio uso de todo tipo de plaguicidas (aún los prohibidos en otros países), al deficiente control de los mismos y al escaso conocimiento de sus posibles efectos; estableció las condiciones para iniciar este estudio preliminar.

Establecer y comprobar una relación causa-efecto, como sería necesario en este caso, es difícil y requiere de toda una gama de trabajos de investigación; por lo que la idea del presente estudio sólo fué empezarlos y obtener así, resultados que indicaran la pauta a seguir.

Por otro lado, las dificultades que conlleva el realizar análisis de plaguicidas en un país en desarrollo como el nuestro, son muchas: el alto costo de los análisis, el tiempo que implican los mismos y la poca gente preparada para realizarlos, son algunas de ellas.

Sin embargo, siendo el problema de contaminación en general, vital para el futuro ya no del país, sino del planeta, creemos que cualquier esfuerzo que se haga para abordarlo será siempre importante.

PARTE TEORICA

La necesidad de aumentar la producción de alimentos para la población mundial creciente y el deseo de disminuir la incidencia de enfermedades transmitidas por insectos hicieron que el hombre buscara un medio eficaz de combatir las plagas. El uso de plaguicidas sintéticos solucionó en parte estos problemas pero, a su vez, provocó nuevas dificultades que, con el tiempo, se han hecho más graves y difíciles de resolver que el problema original.

Por su estructura química, algunos plaguicidas sintéticos son muy estables y, por lo tanto, persistentes en el ambiente; además, poseen alta afinidad por los tejidos grasos, tanto animales como vegetales, en los cuales se concentran. En la actualidad se ha comprobado la presencia de estos compuestos en plantas, suelos, aguas, aire, alimentos y en el hombre (6-10).

En los animales superiores y el hombre, los riesgos de sufrir los efectos de los plaguicidas organoclorados se intensifican por el almacenamiento predominante de dichas sustancias y de sus metabolitos en los tejidos grasos y en el hígado (11, 12). Este almacenamiento varía en función del tiempo de exposición, de la cantidad con la que el organismo esté en contacto, del metabolismo de cada compuesto y de factores inherentes al individuo como edad, sexo, susceptibilidad particular y condiciones generales de salud (9, 13).

Se han descrito diversas propiedades tóxicas de los plaguicidas. Algunos efectos derivados de ellos incluyen inducción e inhibición de sistemas enzimáticos (14, 15, 16), mutagénesis (17, 18), teratogénesis (13, 19), carcinogénesis (20) y algunas enfermedades hematológicas (21). Una de estas últimas es la anemia aplástica, enfermedad o síndrome de pronóstico grave, asociada con ciertos plaguicidas y que se ha observado que tiene una alta incidencia en ciertos grupos de la población mexicana (22).

A) ANEMIA APLASTICA

La anemia aplástica (AA), también conocida como anemia hipoplástica o anemia refractaria, es un desorden hematológico caracterizado por anemia, neutropenia y trombocitopenia en sangre periférica y por una médula ósea hipocelular, en ausencia de deficiencia nutricional, de procesos malignos, infecciosos o tóxicos (23, 24). Funcionalmente, la AA se caracteriza por una actividad medular cualitativamente normal pero cuantitativamente inadecuada.

Algunos autores definen el mecanismo de la génesis de la AA como un defecto en la autoduplicación y diferenciación de la

célula progenitora (célula stem) de las células sanguíneas (23, 25). Este defecto puede ser la falta de respuesta de los tejidos eritropoyéticos a estímulos adecuados, o bien la falta de algún estímulo necesario (26). El problema en los enfermos de AA es, entonces, la incapacidad de la médula ósea para producir eritrocitos y, generalmente, granulocitos y plaquetas, en número normal a pesar de disponer de cantidades adecuadas de todos los factores hematopoyéticos conocidos.

a) Etiología. La AA puede ser congénita o adquirida (TABLA I).

Los casos de tipo congénito son raros y en ellos el desorden hematológico puede presentarse como tal (AA tipo Estren y Dameshek), o puede coexistir con varias anomalías morfológicas congénitas (AA tipo Fanconi). Existe un tercer tipo de AA congénita que puede desarrollarse después de años de padecer púrpura trombocitopénica amegacariocítica (27).

En la AA adquirida, aproximadamente 50% de los pacientes presentan un defecto espontáneo en el comportamiento de la célula progenitora. Estos casos se denominan "idiopáticos" y en ellos no se ha comprobado ningún factor conocido que haya desencadenado el padecimiento. Aunque la patogenia de la AA idiopática es oscura, para explicarla se han propuesto varias teorías: una insuficiencia gradual de algún sistema enzimático en la célula madre, la aparición de procesos autoinmunes o la incapacidad del hígado para inactivar completamente hormonas y otros productos químicos que generalmente son inocuos pero que, por una falla congénita en el metabolismo hepático, pueden llegar a ser mielotóxicos (26).

En el 50% restante de los pacientes con AA adquirida, la presencia de la enfermedad tiene estrecha relación con una exposición previa a factores físicos y químicos que son mielotóxicos y que

TABLA I.

Variedades de Anemia Aplástica, (27, 28).

ANEMIA APLASTICA	Congénita	<ul style="list-style-type: none"> a) Tipo Estren y Dameshek - AA congénita como tal. b) Tipo Fanconi - AA acompañada de anormalidades morfológicas congénitas. c) Secundaria a púrpura trombocitopénica.
	Adquirida	<ul style="list-style-type: none"> a) Idiopática - el agente causal no está entre los ya conocidos. b) Secundaria a agentes mielotóxicos químicos, físicos o biológicos.

se clasifican como se observa en la TABLA II.

Los grupos 1 y 2 reúnen aquellos factores cuyos efectos se relacionan con la dosis y producen un daño intrínseco sobre la médula ósea, por lo que causan aplasia medular en todos los individuos que reciben una cantidad suficientemente alta de ellos. Los principales agentes en estos grupos son las radiaciones ionizantes, el benceno y las drogas quimioterapéuticas que tienen la capacidad de destruir células y que por ésto, se usan en el tratamiento de desórdenes malignos o inmunológicos.

El Grupo 3 está formado por sustancias que muestran un efecto mielodepresor no relacionado directamente con ellas ni con su dosis y que, al parecer, depende de la susceptibilidad de los individuos expuestos. Los agentes químicos que con mayor frecuencia se relacionan con la AA, según la Asociación Médica de los Estados Unidos (27, 28), aparecen en la TABLA II marcados con asterisco (*).

En algunos casos, la aplasia medular ocurre en estados severos de enfermedad, incluyendo hepatitis viral (aplasia particularmente virulenta) y hemoglobinuria paroxística nocturna. La prevalencia del tercer grupo de factores en la etiología de la AA no es constante, varía de acuerdo a la época, la edad y, aparentemente, grupo étnico (28).

b) Manifestaciones Clínicas. La AA puede ocurrir a cualquier edad. El comienzo suele ser gradual pero, en ciertos casos, el trastorno se presenta bruscamente y con gravedad.

TABLA II Factores etiológicos descritos como causantes de la Anemia Aplástica (25, 28, 29)

1. Factores físicos	1) Radiaciones ionizantes (rayos X, γ , ^{32}P)
2. Venenos mitóticos	1) Agentes alquilantes (ciclofosfamida, mostaza nitrogenada). 2) Antimetabolitos (metotrexano, 6-metilpurina) 3) Inhibidores mitóticos (uretano y derivados de colchicina) 4) Otros (benceno, tolueno, xileno)
3. Fármacos y agentes varios	1) Antimicrobiales (cloranfenicol*, sulfas) 2) Anti-inflamatorios (fenilbutazona*) 3) Anti-tiroideos (propiltiouracilo, carbimazole) 4) Anticonvulsivantes (hidantofnas) 5) Tranquilizantes (clorpromazina) 6) Insecticidas (p,p'-DDE*, lindano*, paratión) 7) Hipoglucemiantes (tolbutamida, cloropropamida) 8) Diuréticos (acetazolamida)

* - Agentes químicos que con mayor frecuencia se han relacionado con anemia aplástica.

() - Se dan algunos ejemplos.

En general, los signos clínicos de la enfermedad corresponden a un decremento de los tres tipos de células mieloides (eritrocitos, granulocitos y megacariocitos). La gravedad de la anemia que se produce depende del número de eritrocitos presentes y de la edad del paciente. La presencia y severidad de infecciones provocadas por patógenos oportunistas se relaciona directamente con el nivel de granulopenia en los enfermos y las hemorragias cutáneas, viscerales o en mucosas están determinadas por la disminución en el número de plaquetas.

En los pacientes no se encuentra adenopatía, ni aumento del tamaño del hígado o del bazo. La anemia es normocítica o macrocítica y es característica la ausencia de signos de eritropoyesis como el aumento del número de reticulocitos (24). La médula es relativamente acelular, presenta un aumento de la cantidad de grasa y una infiltración difusa de escasos linfocitos y células mieloides hematopoyéticamente activas (30).

c) Diagnóstico. El diagnóstico de la AA presenta dos problemas, el primero de éstos consiste en establecer si la observación de una pancitopenia (disminución de las tres líneas celulares mieloides) se debe a una aplasia medular o a otro padecimiento.

Cuando se comprueba el diagnóstico de AA, se presenta el segundo problema que es identificar el agente causal de la enfermedad, o bien, comprobar su naturaleza idiopática.

Entre las enfermedades que plantean mayor dificultad para el diagnóstico diferencial con la AA están la leucemia, la mielofibrosis, los trastornos de eritropoyesis relacionados con la médula ósea, la anemia perniciosa y la anemia por carcinomatosis generalizada (26, 28).

Para descubrir la etiología verdadera de la AA es necesario investigar la relación del paciente con los diversos agentes capaces de producirla. Por lo general, es difícil establecer dicha relación ya que el período de latencia puede ser muy prolongado y varía dependiendo de la susceptibilidad y condición general del paciente.

d) Tratamiento. La primera medida terapéutica en la AA adquirida es la eliminación del contacto entre el enfermo y el agente etiológico. La razón de esto es que una re-exposición provoca generalmente la recaída del paciente, lo que la mayoría de las veces lo lleva a la muerte.

El paso siguiente es establecer una terapia sintomática que consiste en prevenir y/o tratar la anemia, las infecciones y las hemorragias que se pueden presentar. Ejemplo de esto son las transfusiones de sangre completa o paquete globular que se realizan para mantener valores satisfactorios de eritrocitos periféricos y que constituyen la piedra angular en el tratamiento de la AA. Además, es necesario el empleo de antibióticos para prevenir y controlar las infecciones, así como la aplicación de transfusiones plaquetarias para disminuir el riesgo de hemorragias.

Es importante también iniciar una terapia de recuperación del tejido hematopoyético, para lo cual se trata a los pacientes con estrógenos (oximetolona, prednisona) o andrógenos (24, 27). Aunque la terapia con hormonas parece tener un efecto estimulante de la eritropoyesis, los resultados de su uso aún son motivo de estudio.

Por último, para los pacientes en los cuales los tratamientos antes descritos no logran producir un estado de remisión satisfactorio es posible llevar a cabo un trasplante de médula ósea (26).

B) PLAGUICIDAS

Plaguicida es el nombre genérico que se aplica a la sustancia o mezcla de sustancias que se utilizan para prevenir o erradicar cualquier tipo de plaga (31).

Los primeros plaguicidas usados por el hombre fueron sustancias de origen natural. Los chinos, por ejemplo, utilizaron arsénico para controlar las plagas de jardín (900 años A.C.); los europeos, durante mucho tiempo prepararon infusiones de tabaco para controlar ápidos y ácaros; y ciertas tribus caucásicas usaban flores de Piretrum contra piojos y pulgas. En 1845 se empezaron a utilizar los plaguicidas sintéticos inorgánicos. El verde de París, un compuesto de acetato y arsenito de cobre, se usó contra el escarabajo del Colorado y, en 1883, se empleó la mezcla de Burdeos para el control del moho felpudo (32).

El 2,4-dinitro-6-metilfenol fué el primer insecticida sintético orgánico. Después de él, se desarrollaron compuestos muy semejantes. Sin embargo, es realmente durante el período de la Segunda Guerra Mundial que se impulsó la síntesis orgánica de nuevos compuestos con acción plaguicida. Uno de ellos, el Diclorodifeniltricloroetano (DDT) fué obtenido por Zeidler en 1874, pero sus propiedades insecticidas fueron descubiertas hasta 1939. Su uso disminuyó de manera importante la incidencia de enfermedades endémicas como el paludismo y la fiebre amarilla. De 1940 a 1950 se sintetizaron otros plaguicidas organoclorados (llamados así porque en su molécula contienen átomos de cloro), entre ellos, toxafeno, clordano, aldrín y dieldrín (33).

Por otro lado, Schrader inició en 1943 es estudio de los plaguicidas organofosforados como paratión, systox, malatión, diazinón y vapona. Muchos de ellos son aún utilizados en México y otros países para el control de insectos.

Para disminuir los problemas de persistencia y bioacumulación de los compuestos organoclorados así como para prevenir la toxicidad aguda de los organofosforados, se intentaron caminos alternativos en la búsqueda de nuevos plaguicidas. Uno de éstos es el estudio de hormonas y feromonas, iniciados en 1967. Dichas sustancias son extraídas de los insectos y pueden funcionar como atrayentes, repelentes y hormonas juveniles que evitan el desarrollo de las pupas de ciertos insectos. Sus características importantes son su potencia, su especificidad y, por su carácter natural, no contaminan el medio ambiente, (32,35).

Los plaguicidas sintéticos de introducción más reciente son los piretroides. Estos compuestos presentan una baja toxicidad y generalmente se les utiliza combinados con sinergistas como butóxido de piperonilo (32).

Un resumen cronológico del desarrollo y uso de plaguicidas se presenta en la TABLA III.

a) Química. Entre los plaguicidas conocidos, los más importantes para este estudio son los plaguicidas organoclorados, por su amplio uso, sus propiedades de bioacumulación y su posible relación etiológica con la AA.

En nuestro país, se inició a partir de 1943, la elaboración de estos compuestos. Los datos de producción de 1959 a 1968 se muestran en las gráficas de la FIGURA 1. De 1968 a la fecha, los informes de producción, uso e importación de plaguicidas organoclorados son inciertos y poco precisos (36).

TABLA III. Cronología del desarrollo y uso de los plaguicidas,
(33, 34)

<u>Año</u>	<u>Plaguicida</u>	<u>Lugar</u>	<u>Observaciones</u>
*900	Arsenitos	China	} Era de los productos naturales
1690	Tabaco	Europa	
1787	Jabón	Europa	
*1800	Flor de piretro	Cáucaso	
1845	Fósforo	Alemania	
1848	Rafz de Derris	Malasia	
1845	Disulfuro de carbono	Francia	} Era de los fumigantes los plaguicidas inorgánicos y los productos derivados del petróleo
1867	Verde de París	E.U.A.	
1868	Productos del petróleo	E.U.A.	
1874	Síntesis del DDT*	Alemania	
1877	HCN*, fumigante		
1880	Cal-azufre	E.U.A.	
1883	Mezcla de Burdeos	Francia	
1886	Resinas de pino		
1892	Arseniatos de plomo	E.U.A.	
1918	Cloropicrina	Francia	
1932	Bromuro de metilo	Francia	
1925	Dinitroderivados	E.U.A.	} Era de los plaguicidas orgánicos sintéticos
1932	Tiocianatos	E.U.A.	
1939	Uso del DDT*	Suiza	
1940	Uso del HCH*	Francia	
1941	Síntesis de 2,4-D*	E.U.A.	
1944	Paratión	Alemania	
1940-50	Ciclodiénicos	E.U.A.	
1947	Carbamatos	Suiza	
1950	EPN*	Francia	
1952	Malatión	Alemania	
1958	Carbarilo (Sevin)	E.U.A.	
1962	Libro "La Primavera Silenciosa"	E.U.A.	
1967	Hormonas y feromonas	E.U.A.	} Primeros plaguicidas a base de hormonas juveniles y uso de piretroides
1965	Síntesis y uso de piretroides	E.U.A.	

• Ver APENDICE I.

* Aproximadamente

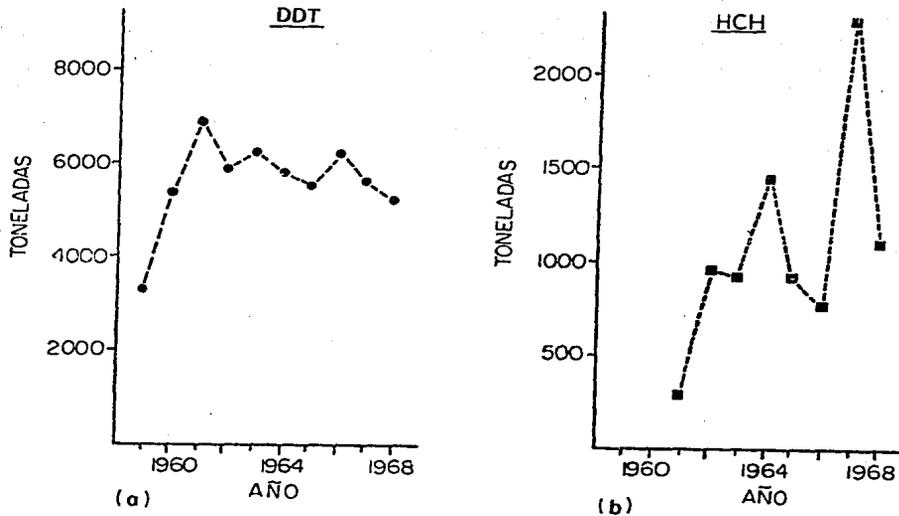


FIGURA 1. a) Producción de DDT en México (1959-68). (36).
b) Producción de HCH en México (1961-68). (36).

Los plaguicidas organoclorados se caracterizan químicamente por:

- La presencia en la molécula de carbono, cloro, hidrógeno y algunas veces oxígeno.
- Numerosos enlaces carbono-cloro.
- Cadenas cíclicas de carbono, aromáticas o alifáticas.

De estas características se derivan:

- La falta de un sitio químicamente activo definido
- Lipofilidad y baja polaridad.
- Estabilidad química.

Básicamente tres grupos de plaguicidas organoclorados han sido los más usados:

- 1) Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos.
- 2) Derivados halogenados de hidrocarburos alicíclicos.
- 3) Derivados halogenados de hidrocarburos ciclodiénicos.

En la TABLA IV se resumen las propiedades físicas, fórmulas y usos de los principales plaguicidas organoclorados de los tres grupos mencionados.

Derivados halogenados de hidrocarburos aromáticos

En este grupo de compuestos el DDT y sus análogos son los más importantes (Ver la TABLA IV).

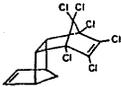
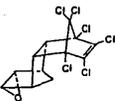
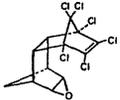
El DDT comercial o Diclorodifeniltricloroetano contiene sólo el 70% de p,p'-DDT, siendo su principal contaminante el o,p'-DDT. Aunque este último tiene menor actividad insecticida que el DDT, no es desactivado por la enzima DDT'asa de los insectos, por lo que es muy efectivo contra plagas DDT-resistentes.

El p,p'-DDD o Diclorodifenildicloroetano es también un importante análogo del DDT; ha sido usado en el control de varias especies de insectos a pesar de su menor efectividad. Por último, se debe mencionar el p,p'-DDE o Diclorodifenildicloroetileno, que es el principal metabolito del DDT, es muy persistente y, por esto, es el contaminante organoclorado que se encuentra más comúnmente en los seres vivos.

Tabla IV. Principales plaguicidas organoclorados y sus características (31, 34)

Nombre común	Fórmula	Nombre químico	Propiedades físicas	Usos
DDT (p,p'-DDT)		1,1,1-tricloro-2,2-di(4-clorofenil)etano.	Polvo blanco. Prácticamente insoluble en agua, pero soluble en cetonas y ésteres. Alta persistencia en las superficies.	Potente insecticida estomacal y de contacto. No sistémico. Muy efectivo contra ácaros fitófagos.
DDD (p,p'-DDD)		1,1-dicloro-2,2-di(4-clorofenil)etano	Cristales blancos, solubilidad semejante al DDT. Olor dulce.	Insecticida de menor efectividad que el DDT.
o,p'-DDT		1,1,1-tricloro-2-(4'-clorofenil)-2-(2'-clorofenil)etano.		Impureza del DDT, grado técnico.
DDD (p,p'-DDD)		1,1-dicloro-2,2-di(4-clorofenil)etileno		Principal producto de la degradación ambiental y la biotransformación.
Lindano (γ-HCH)		γ-1,2,3,4,5,6-hexaclorociclohexano	Cristales blancos, inodoros. Soluble en acetona e hidrocarburos aromáticos.	Insecticida estomacal y de contacto. Con acción fumigante.

TABLA IV. Principales plaguicidas organoclorados y sus características (continuación)

Nombre común	Fórmula	Nombre químico	Propiedades físicas	Usos
Clordano		1,2,4,5,6,7,8,8-octa- cloro-2,3,3a,4,7,7a- hexahidro-4,7-metano- III-indeno.	Insoluble en agua y soluble en hidrocar- buros alifáticos.	Insecticida efectivo contra insectos del suelo.
Heptacloro		1,4,5,6,7,8,8-hepta- cloro-3a,4,7,7a,-tetra- hidro-4,7-metano-indeno	Sólido cristalino blanco. Práctica- mente insoluble en agua, pero so- luble en etanol y keroseno a 27°C.	Insecticida estoma- cal y de contacto. Tiene acción fumi- gante. Util en el control de plagas del suelo.
Aldrín		1,2,3,4,10,10,-hexacloro- 1,4,4a,5,8,8a-hexa- hidro-exo-1,4-endo-5,8- dimetanonaftaleno.	Sólido cristalino blanco, con solubili- dad en agua de 0.027 ppm. Poco solu- ble en aceite de petróleo pero solu- ble en acetona y xileno.	Insecticida no sis- témico. Efectivo contra insectos del suelo.
Dieldrín		1,2,3,4,10,10-hexacloro- exo-6,7-epoxi-1,4,4a,5, 6,7,8,8a,octahidro-1,4, exo-exo-5,8-dimetano- naftaleno.	Cristales blancos, prácticamente in- solubles en agua. Soluble en disolven- tes aromáticos.	Insecticida estoma- cal, no sistémico.
Endrín		1,2,3,4,10,10-hexacloro- 6,7-epoxi-1,4,4a,5,6,7, 8,8a-octahidro-1,4-endo- -endo-5,8-dimetano-nafta- leno.	Sólido cristalino blanco. Insoluble en agua, poco soluble en acetona y benceno.	La tendencia actual es no usarlo.

El modo de acción exacto del DDT aún se desconoce, pero se ha observado que se absorbe a través de la cutícula del insecto produciéndole aumento de la excitabilidad neuronal que le causa hiperactividad y convulsiones.

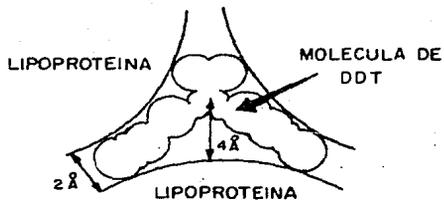
La excitabilidad neuronal y las convulsiones señalan que el "órgano blanco" es el sistema nervioso. En él, el efecto principal del DDT, parece ser, una descarga repetitiva como respuesta a un solo estímulo. Varios autores (37) han establecido teorías que tratan de explicar este fenómeno en términos de interferencia en la permeabilidad de la membrana a ciertos iones.

Welsh y Gordon en 1947 (38), señalaron que el fenómeno está relacionado con hipocalcemia y establecieron que el DDT interfiere con la recalcificación superficial necesaria para restablecer el potencial normal de reposo, después de una despolarización de la membrana axónica. Además, encontraron que el DDT tiene gran afinidad por el colesterol, lo que llevó a los mismos autores a postular que este compuesto actúa desde el colesterol de la membrana disminuyendo la permeabilidad de los iones calcio.

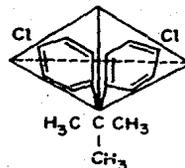
Otros autores sugirieron que existía interferencia sólo física del DDT en la permeabilidad de los iones. Mullins (39) en 1954, propuso la "Teoría de la rotación" que establece que la acción del DDT se deriva de su forma, la cual es tal que puede fijarse en los espacios intermoleculares del enrejado cilíndrico de la lipoproteína. La orientación del DDT en el "interespcio de Mullins" se ilustra en la FIGURA 2 (a). Para hacer este arreglo, el anillo de benceno del DDT, debe ser capaz de rotar.

Una variante a esta teoría es la llamada "Teoría de la configuración trihedral" que señala que en compuestos del tipo del DDT,

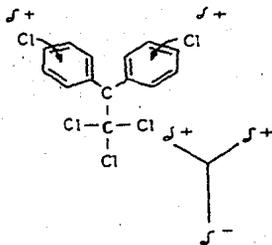
FIGURA 2. TEORIAS DEL MODO DE ACCION DEL DDT.



(a) "TEORIA DE LA ROTACION"
DE MULLINS



(b) "TEORIA DE LA CONFIGURACION
TRIREDRAL"



(c) DISTRIBUCION DE ELECTRONES
EN LA MOLECULA DE DDT

los anillos aromáticos se disponen de tal forma (para ser activos) que ocupan dos lados de una forma trihedral, como también se observa en la FIGURA 2 (b), (40).

Perkow en 1956 (37), notó que el DDT al tener cinco átomos de cloro, puede asumir una forma particular de distribución electrónica (ver la FIGURA 2 (c)) y estableció otra teoría en la que concluye que esta distribución electrónica es necesaria para la toxicidad de los análogos del DDT.

Desde un punto de vista bioquímico, Matsumura y colaboradores (16), encontraron que el DDT inhibe algunas ATP'asas de los nervios y de esta manera explicaron el modo de acción de tan importante insecticida. La inhibición fue más significativa en la ATP'asa de $\text{Na}^+ - \text{K}^+$, la cual juega un papel importante en el transporte activo de iones a través de la membrana del nervio.

Por último, O'Brien y Matsumura (41), sugirieron, dadas las propiedades electrofílicas del DDT y otros organoclorados, que la unión de estos compuestos a los componentes del nervio formaba un "complejo de transferencia de carga" que producía en él disturbios, por ejemplo hiperexcitación.

Si bien han sido variadas las teorías de acción del DDT y compuestos afines, en este momento aún no existe una de ellas que sea completamente aceptada.

Derivados halogenados de hidrocarburos alicíclicos

El principal representante de este grupo de compuestos es el Lindano. Este plaguicida es el isómero γ del hexaclorociclohexano (HCH) que fue preparado por Michel Faraday en 1825. En 1912, van der Linder descubrió 4 isómeros del HCH y purificó uno de ellos, el γ -HCH,

al que por esta razón se le dió el nombre de Lindano, (32). En la actualidad se conocen 8 estereoisómeros del HCH, pero el γ -isómero es el único que tiene propiedades insecticidas.

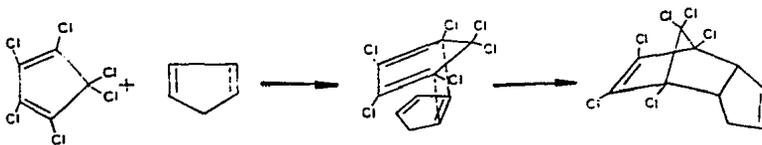
El β HCH es otro de los estereoisómeros del HCH, su importancia radica en que se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente pues se almacena en el tejido graso de los organismos vivos.

El modo de acción del lindano es muy similar al del DDT. Ambos compuestos pueden inducir resistencia en los insectos y son capaces de penetrar rápidamente por la cutícula del insecto. El isómero γ al igual que el DDT, puede interactuar con los poros de la estructura lipoproteica de los nervios del insecto y causar distorsión en la transmisión de los impulsos nerviosos y excitación.

Derivados halogenados de hidrocarburos ciclodienicos

Estos son derivados polihalogenados de hidrocarburos con estructuras endometilénicas puenteadas y que se preparan por la reacción de Diels-Alder. Por esta razón, los miembros más importantes de este grupo de plaguicidas reciben los nombres de dieldrín y aldrín.

El desarrollo de los plaguicidas ciclodienicos se inició con la síntesis del clordeno (1945), a partir de hexaclorociclopentadieno y ciclopentadieno:



Hexaclorociclopentadieno Ciclopentadieno

Clordeno

Además de dieldrín y aldrín, el heptacloro, endrín y clordano son miembros de este importante grupo de compuestos. Sus propiedades físicas y usos se indican en la TABLA IV.

En los insectos, todos los compuestos ciclodiénicos actúan provocándoles hipersensibilidad, hiperactividad con violentas convulsiones y finalmente postración completa con movimientos convulsivos. El "blanco" de los trastornos se localiza en los ganglios del sistema nervioso central.

b) Movimiento de los plaguicidas organoclorados en el medio ambiente

En la FIGURA 3 se esquematiza el movimiento de los plaguicidas en el medio ambiente, su persistencia y la forma en que se establece la exposición en el hombre.

La vía principal de entrada de los plaguicidas al medio ambiente es la aplicación voluntaria y directa de éstos en campos de cultivo, habitaciones, ropa, etc. Tanto si la aplicación se lleva a cabo usando aerosoles, como si es a través de polvos o directamente a la tierra, la mayor cantidad de estos compuestos llega finalmente al suelo. El suelo actúa como un reservorio a partir del cual los compuestos persistentes se mueven a los cuerpos de invertebrados y a las plantas que en él habitan. Pasan al aire o agua, o bien, son degradados. La cantidad de plaguicidas que permanece en los suelos, depende del tipo de compuesto de que se trate, de la formulación del mismo y de la composición del suelo al cual se aplicó.

Los plaguicidas persistentes pueden entrar a la atmósfera por varias rutas, principalmente por aplicación de aerosoles o volatilización de los que se encuentran en suelos o agua, como se observa en la FIGURA 3. Asimismo, el agua de lluvia puede acarrearlos hacia el suelo y posteriormente a ríos y mares.

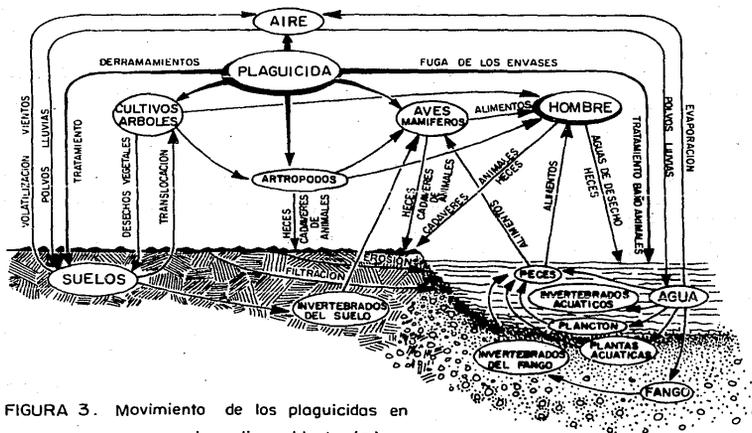


FIGURA 3. Movimiento de los plaguicidas en el medio ambiente (7)

En el agua, la mayor cantidad de estos compuestos insolubles se deposita en el fondo de ríos y lagos; mientras que la cantidad restante permanece en la materia orgánica suspendida en ella.

Existen dos riesgos derivados de la presencia de residuos de insecticidas en el agua: 1) gran cantidad de peces e invertebrados acuáticos pueden morir, si las concentraciones son altas; o 2) los residuos pueden permanecer en los tejidos de esos organismos, si ellas son relativamente bajas.

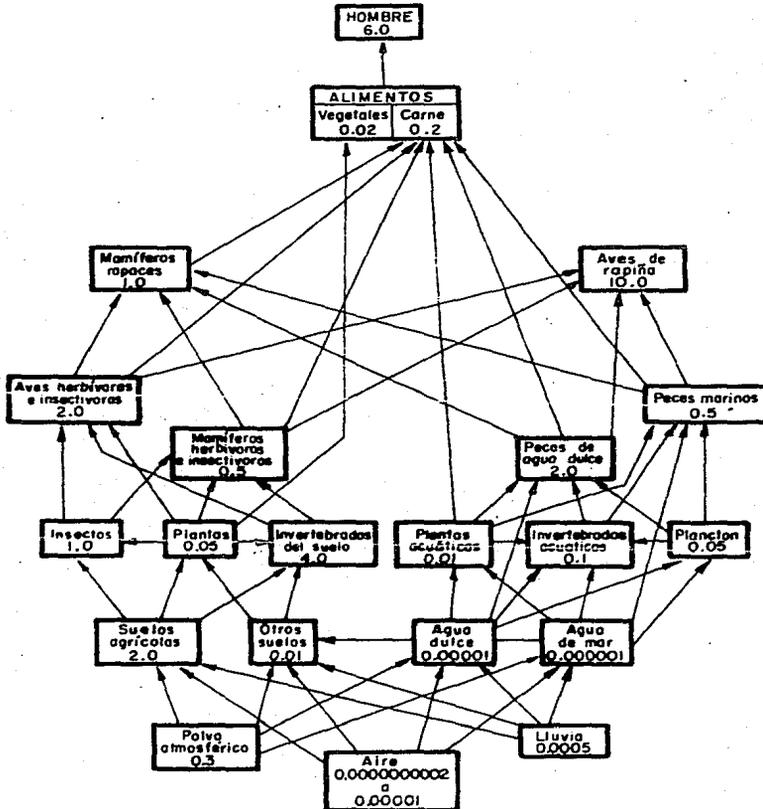
Aves que se alimentan de invertebrados o peces con residuos, así como mamíferos y animales domésticos que lo hacen de carne y plantas contaminadas, introducen de esta manera los insecticidas en sus tejidos.

Para el hombre normal, cuyos hábitos alimenticios comprenden el ingerir carne, vegetales, pescado y aves; los residuos de plaguicidas llegan a él principalmente por estos alimentos y en forma secundaria por el aire, agua y suelos que los contienen.

La persistencia no es el único problema que presentan los plaguicidas organoclorados en el medio ambiente. Son también susceptibles de presentar magnificación biológica o biomagnificación. La biomagnificación es el fenómeno por el cual la concentración de un compuesto químico aumenta en los pasos sucesivos de la cadena alimenticia, con peligro para algunas especies, especialmente aquellas que se encuentran en la parte superior de la cadena.

Un ejemplo se presenta en la FIGURA 4, mientras en el agua se encuentran .00001 ppm de DDT, en los peces se pueden encontrar 2 ppm y en el hombre de 6 a 10 ppm del mismo compuesto (7).

FIGURA 4. DISTRIBUCION CARACTERISTICA DEL DDT EN EL AMBIENTE (7).



c) Toxicología de los plaguicidas organoclorados

Existen dos tipos básicos de exposición humana a plaguicidas:

- 1.- Exposición aguda que es el resultado del contacto accidental o voluntario con cantidades excesivas de plaguicidas; por ejemplo, suicidios o derramamientos masivos de estos compuestos.
- 2.- Exposición crónica, en la cual los individuos están en contacto con cantidades pequeñas de plaguicidas, en ocasiones repetidas y por períodos más o menos largos. La exposición crónica puede ser de tipo ocupacional cuando ocurre en trabajadores que se relacionan con plaguicidas o de tipo incidental cuando es la consecuencia de la ubicuidad de los plaguicidas.

En la FIGURA 3 se esquematizó la forma en que se establece la exposición crónica incidental en el hombre.

Los datos sobre la toxicidad aguda de los plaguicidas provienen de los estudios realizados sobre animales de laboratorio y de los casos de envenenamiento accidental o voluntario de humanos. La dosis letal media (DL_{50}) se obtiene en ratas como medida útil, aunque no exacta, de la toxicidad de una sustancia. En la TABLA V se reportan las DL_{50} orales en ratas para los principales plaguicidas organoclorados, comparadas con la dosis umbral (dosis mínima capaz de producir síntomas clínicos) para el hombre.

Los síntomas generales de la intoxicación aguda con hidrocarburos clorados son agitación, desorientación, ataxia, temblores por fibrilación muscular, anorexia y crisis convulsivas que desembocan en la muerte. Se han observado también casos de hiperexcitabilidad miocárdica y, cuando la absorción es por vía

TABLA V. Toxicidad aguda de algunos compuestos organoclorados (1, 42).

Compuesto	DL ₅₀ oral (mg/Kg peso)	Toxicidad relativa (DDT=1)	Dosis umbral para el hombre (mg/Kg)
p,p'-DDT	250	1	285
p,p'-DDD	2500 - 3400	1/10 - 1/3	*
p,p'-DDE	750	1/3	*
HCH crudo	200	1	*
γ HCH	125	2	0.3
β HCH	6000	1/24	*
Clordano	225 - 590	1 - 1/2	24 - 47
Heptacloro	90	2	*
Aldrín	55 - 60	4	26
Dieldrín	22	11	10
Endrín	1900	1/8	**

* No se tienen datos precisos.

** No se puede determinar porque se elimina rápidamente por orina.

digestiva, puede sobrevenir vómito y diarrea. La intoxicación aguda para la mayoría de los animales y el hombre es observada cuando se alcanza una concentración de 20 mg/l (20 ppm) de DDT en la corriente sanguínea. Esta concentración equivale a 4000 veces la dosis que se requiere para el control de insectos. Por lo tanto, se puede decir que si el DDT se empleara como insecticida en las cantidades estrictamente necesarias, no debería producir intoxicación aguda en animales superiores.

La toxicidad crónica parece ser la más importante para algunos plaguicidas organoclorados (especialmente aquellos con DL₅₀ muy elevadas, ver la TABLA V). Múltiples estudios han revelado los efectos que sobre el ser humano y los animales tienen los compuestos clorados cuando se exponen a ellos en forma crónica. Los principales efectos son:

- 1) Depósito y almacenamiento corporal.
- 2) Hipersensibilidad y alergia.
- 3) Efectos neurológicos.
- 4) Efectos sobre sistemas enzimáticos.
- 5) Efectos citotóxicos.
- 6) Hepatotoxicidad.
- 7) Efectos hormonales.
- 8) Efectos inmunológicos.
- 9) Efectos sobre la médula ósea.

1) Depósito y almacenamiento corporal.- Por su lipofilia y estabilidad química, los plaguicidas organoclorados se acumulan y magnifican (su concentración aumenta en los organismos que forman las cadenas alimenticias) en el tejido de los organismos vivos. En humanos, la evidencia experimental indica que la población general del mundo tiene ya una carga corporal apreciable de compuestos organoclorados

TABLA VI Concentración de DDT + DDE en tejido adiposo de habitantes de varios países del mundo (9, 12, 13)

País	Año	No. de muestras	DDT + DDE (ppm)
Alemania (Oriental)	1966-67	100	13.1
Alemania (Occidental)	1970	20	3.6
Argentina	1967	37	12.0
Australia	1966	12	10.5
Canadá	1967-68	51	5.82
Checoslovaquia	1963-64	229	9.6
Dinamarca	1965	18	3.3
España	1966	41	15.7
Estados Unidos	1964	575	12.0
Francia	1961	10	5.2
Hungría	1960	48	11.7
India	1964	102	24.9
Inglaterra	1965-67	248	3.0
Israel	1966	458	12.7
Italia	1966	22	15.48
Japón	1968-69	241	2.4
México	1975	37	31.3
Nigeria	1967	43	8.8
Nueva Zelandia	1965-69	254	14.6
Polonia	1970	70	11.4
Rumania	1965	137	21.7
Venezuela	1964	38	10.3

(1, 43). Los residuos más comúnmente encontrados son el DDT y sus metabolitos. Aldrín y dieldrín se presentan en bajas concentraciones y ocasionalmente se determina también epóxido de heptacloro (EH), clordano, lindano y endrín (34).

Aunque no existen datos que asocien la presencia de plaguicidas con algún estado patológico, en algunos estudios se han observado altas concentraciones de plaguicidas en tejido adiposo de pacientes muertos de carcinoma primario de hígado, leucemia, cirrosis portal y tumores cerebrales (43).

2) Hipersensibilidad y alergia.- Se han observado casos de asma, sinusitis crónica, dermatitis aguda, eczema agudo y toxicoderma en trabajadores ocupacionalmente expuestos a DDT y lindano (1).

3) Efectos neurológicos.- Los efectos neurológicos descritos en humanos comprenden desde los más sutiles como fatiga, ansiedad, irritabilidad e insomnio por la exposición crónica al DDT (10), hasta otros más complicados como polineuritis, convulsiones y anormalidades en el electroencefalograma de trabajadores expuestos a aldrín, dieldrín y endrín (1).

4) Efectos sobre sistemas enzimáticos.- Se ha comprobado que los plaguicidas organoclorados estimulan la actividad de las enzimas de la fracción microsómica hepática. Un tipo de éstas, las oxidasas de función mixta, junto con el NADPH (fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido) y oxígeno (O_2) metabolizan compuestos extraños al organismo (10, 14, 15). Las posibles consecuencias de dicha inducción son entre otras, el metabolismo aumentado de sustancias extrañas al organismo (xenobióticos), la activación de algunas sustancias potencialmente carcinogénicas y el incremento del metabolismo de esteroides. En la TABLA VII aparecen los plaguicidas organoclorados que estimulan el metabolismo de drogas.

Por otro lado, se sabe también que el DDT provoca una inhibición sobre la actividad de la citocromo oxidasa (44) y de la ATP'asa de cerebro en varias especies animales (16, 45).

TABLA VII. Insecticidas organoclorados que estimulan el metabolismo de drogas (15).

Clordano	Endrín	Hexaclorociclohexano
Metoxicloro	Dieldrín	
p,p'-DDT	Aldrín	
p,p'-DDE	Heptacloro	
p,p'-DDD	Epóxido de heptacloro	

5) Efectos citotóxicos.- La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha estimado que más del 75% de los casos de cáncer humano se deben a contaminantes ambientales (46) y que el 90% de estos padecimientos podrían ser atribuidos a carcinógenos químicos. Por esto, los plaguicidas persistentes han sido estudiados ampliamente como compuestos capaces de producir mutaciones, tumores o cáncer.

En 1972, se informó que el DDT y uno de sus metabolitos, el DDA, indujeron mutaciones letales recesivas en D. melanogaster y por consiguiente, pudiera considerarse como mutágeno (47). En el mismo año, se comprobó que el DDT y sus metabolitos producen anomalías cromosómicas en cultivos celulares de mamíferos (48) pero en 1973, Legator encontró que el mismo compuesto no producía anomalías cromosómicas en células de médula ósea de ratas (49). Como puede observarse, la mutagénesis de los plaguicidas no está bien comprobada y parece depender de los sistemas en los cuales se prueba.

Por varios años, el poder tumorigénico y carcinogénico de los plaguicidas ha sido la base de largas controversias entre científicos. Sin embargo, se ha encontrado que ciertos plaguicidas pueden ser tumorigénicos en animales cuando se administran en dosis altas (50).

Estrictamente, no se ha establecido si el DDT y sus metabolitos el DDE y el DDD son carcinogénicos para el hombre. No obstante, los insecticidas aldrín y dieldrín se encuentran entre los compuestos considerados como "positivos" para la inducción de tumores por la Comisión en Plaguicidas y sus Relaciones con la Salud Ambiental (Departamento de Salud, Educación y Bienestar de los Estados Unidos), (20, 50) y, por esta causa, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US-EPA) les retiró el registro para su uso.

La teratogénesis es otro de los posibles efectos que pueden tener los plaguicidas persistentes sobre los seres vivos, ya que se ha demostrado que el DDT, lindano, dieldrín y clordano atraviesan la barrera placentaria (1). Hasta el momento no se dispone de información suficiente sobre este tema.

6) Hepatotoxicidad.- En humanos y en ratas se ha encontrado cambios histológicos en el hígado por la exposición crónica al DDT y al lindano. Dichos cambios suelen ser un incremento en los depósitos de grasa, la marginación de gránulos citoplasmáticos, hipertrofia de células y, más característicamente, la formación de complejos cuerpos de inclusión llamados "liposferas", (51).

7) Efectos hormonales.- En animales de laboratorio hembras, se ha observado que el DDT se acumula en los ovarios y que el aldrín interfiere en el ciclo estral. Además, la estimulación de las enzimas metabolizantes de drogas por los plaguicidas organoclorados,

sugiere que estos compuestos son capaces de estimular el metabolismo de los esteroides por hidroxilación de los mismos (52).

Múltiples estudios en animales han demostrado cambios en la tiroides por el efecto de pequeñas dosis de DDT. Los cambios son aumento de peso y disminución de coloide en los folículos, esto puede ser la causa de hipo o hipertiroidismo (53). Además, se ha comprobado que el o,p'-DDT contaminante del DDT grado técnico, produce una marcada inhibición de la función adrenocortical; por lo que se le ha utilizado en el tratamiento de enfermedades que presentan hiperproducción de corticoides, como es el caso del carcinoma adrenocortical (52).

8) Efectos inmunológicos.- El DDT parece ejercer acción depresora sobre el sistema inmune. Aunque las pruebas al respecto no son concluyentes, ratas y ratones que han ingerido DDT sufren depresión en la formación de anticuerpos y por lo menos una de las fracciones globulínicas de la sangre está disminuída (54).

9) Efectos sobre la médula ósea.- Los efectos de los plaguicidas sobre la médula ósea aún no han sido bien establecidos. Asimismo, no se tienen suficientes casos de daño medular asociado con algún plaguicida como para constituir una evidencia epidemiológica. Sin embargo, existen informes de anemias aplásticas, agranulocitosis y leucemia, atribuídos directamente al lindano en países como México (55), Checoslovaquia (56), Grecia (57), Suecia (58), Francia (59, 60), Australia (61) y algunos casos más en Estados Unidos (21, 62). Además, en el registro de discracias sanguíneas del Consejo sobre Drogas de la Asociación Médica Americana (E.U.A.) se incluyen 18 casos de AA que se han relacionado directa o circunstancialmente con el lindano o 1-hexaclorociclohexano (63).

Varios grupos de pacientes mexicanos con AA han sido descritos en la literatura. En ellos, los insecticidas aparecen de manera importante entre los agentes etiológicos (55, 64-66).

En el Departamento de Hematología del Centro Médico "La Raza" del Instituto Mexicano del Seguro Social, se han estudiado casos de pancitopenia con grados variables de hipocelularidad de la médula ósea y algunos de ellos se han considerado secundarios a insecticidas. Hasta el mes de agosto de 1970, en el mismo centro hospitalario, se habían registrado 136 casos de AA, de los cuales 122 (89.6%) fueron secundarios a algún agente etiológico y en 58 (47.5%) los insecticidas fueron considerados probables agentes etiológicos, (67).

Los estudios de toxicología aguda de insecticidas organoclorados u organofosforados hechos en animales de laboratorio, no han producido AA u otros tipos de daño medular cuando se alcanzan niveles altos en sangre, pues los animales fallecen por convulsiones y parálisis respiratoria. Por otra parte, los estudios toxicológicos humanos son escasos. Se han estudiado trabajadores de fábricas de insecticidas que tienen valores sanguíneos varias veces superiores a los observados en los controles y que no presentan alteraciones hematológicas (64, 68). Esto puede confirmar la idea de que, para desarrollar un padecimiento hematológico como la AA, es necesaria además de la exposición a algún agente mielotóxico una cierta susceptibilidad del individuo (69, 70).

La médula ósea (roja y amarilla) es rica en grasas y, salvo pequeñas diferencias, tiene la misma composición que la grasa de otros tejidos (71). De ahí que puede contener residuos de plaguicidas que pudieran afectarla. En un estudio (72) se determinó el contenido de insecticidas en grasa de médula ósea, grasa subcutánea y epidídimo en animales y en estudios post-mortem en humanos y se encontró que el

tejido adiposo subcutáneo tenía las concentraciones más altas de insecticidas organoclorados.

Finalmente, se ha estudiado el efecto del DDT en concentraciones altas sobre las células de médula ósea de ratas y no se observaron en ellas aberraciones, rupturas o cambios de figuras en los cromosomas (49).

Para obtener información complementaria, en el Centro Médico "La Raza" las trabajadoras sociales visitaron los domicilios de los pacientes con AA. Dichas visitas proporcionaron datos relacionados con la exposición de los enfermos y sus familiares a agentes potencialmente mielotóxicos. Además, ratificaron el uso de uno o varios insecticidas (organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, o de tipo no identificado) que adquieren en las tlapalerías sin envase comercial. También se obtuvieron datos sobre la ingestión de diversos medicamentos, la exposición a disolventes que forman parte de aerosoles, desodorantes ambientales, desengrasantes de muebles, pegamentos, etc., o la exposición simultánea a varios de estos productos. Esta multiplicidad de probables agentes etiológicos hace difícil precisar la causa de la AA en las condiciones actuales.

Por todo lo anterior, se podría pensar que si algunas personas desarrollan AA, probablemente por una constante exposición a plaguicidas, es posible asumir que en el tejido afectado (médula ósea) las concentraciones de estos compuestos serían mayores que en las personas que no tienen la enfermedad.

Así se inició el presente estudio con los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

- 1.- Establecer si existen residuos de compuestos organoclorados en la médula ósea, tejido adiposo y sangre de enfermos de AA.
- 2.- En caso positivo, identificar dichos residuos y determinar sus concentraciones.
- 3.- Investigar si el tejido adiposo obtenido de dos partes del cuerpo humano contiene la misma cantidad y tipo de residuos de plaguicidas organoclorados.
- 4.- Investigar si la médula ósea obtenida de dos partes del cuerpo humano contiene la misma cantidad y tipo de residuos de plaguicidas organoclorados.
- 5.- Comparar la concentración de residuos de plaguicidas organoclorados en médula ósea, tejido adiposo y sangre de enfermos de AA y de controles.
- 6.- De los resultados obtenidos postular la posible relación plaguicidas-AA y proponer futuras investigaciones al respecto.

PARTE EXPERIMENTAL

A) MATERIAL Y EQUIPO

a) Reactivos y Adsorbentes.

Arena purificada, (E. Merck, A.G.)
Cloruro de sodio purificado, (J.T. Baker)
Florasil activado, malla 60/100, (Floridin, Co.)
Hidróxido de potasio, (J.T. Baker)
Sulfato de sodio anhidro, (J.T. Baker)

b) Disolventes.

Acetona, (J.T. Baker)
Cloruro de metileno, (J.T. Baker)
Hexano, (J.T. Baker)
Metanol, (J.T. Baker)
iso-Octano, (J.T. Baker)
Agua purificada.

c) Plaguicidas estándar

α HCH, β HCH, γ HCH, Aldrin, Endrin, Dieldrin, Epóxido de Heptacloro, Heptacloro, o,p'-DDE, o,p'-DDD, o,p'-DDT, p,p'-DDE, p,p'-DDD, p,p'-DDT, Oxiclordano, Clordano α y Clordano γ .

Los estándares fueron proporcionados por la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (US-EPA).

d) Equipo para cromatografía gas-líquido, (GCL).

- Cromatógrafo Varian Aerograph, modelo 2400, equipado con doble columna y dos detectores de captura de electrones, de Tritio, (^3_1H).
- Cromatógrafo Varian Aerograph, modelo 1400, equipado con una columna y un detector de captura de electrones, de Tritio, (^3_1H).
- Cromatógrafo Varian Aerograph, modelo 3700, equipado con doble columna y dos detectores de captura de electrones, de Niquel, (^{63}Ni).
- Registradores Varian Aerograph, modelo A-25, de 20 velocidades.

e) Material para GCL.

- Columnas de vidrio de 6 pies de longitud, 1/8 de pulgada de diámetro externo y 2 mm de diámetro interno, (Varian Aerograph).
- Columnas de vidrio de 3 pies de longitud, 1/8 de pulgada de diámetro externo y 2 mm de diámetro interno, (Varian Aerograph).
- Férulas de teflón y grafito, (Varian Aerograph).
- Microjeringas, (Hamilton, Co.).
- Nitrógeno de alta pureza, (Infra de México, S.A.).

- Lana de vidrio, (Corning Glass Works, N.Y.).
- Tamiz molecular, 4 Å, malla 30/60, (E. Merck, A.G.).
- Gas Chrom Q, malla 100/120, (Applied Science Labs., Inc.).
- Septas para alta temperatura, (Applied Science Labs., Inc.).
- Fases estacionarias: OV-101, OV-210, OV-17, (Applied Science Labs., Inc.).

f) Equipo auxiliar

- Agitadores magnéticos, (Thermolyne Sybron Corp.).
- Congeladores, (American Corp.).
- Evaporadores rotatorios, (Buchler Instruments).
- Homogeneizador de rodillos, (W.H. Curtin).
- Horno con corriente forzada de aire, (Labline, Inc.).
- Instalaciones para la destilación de disolventes.
- Material de vidrio, (Pyrex, Kimax).
- Mufia, (Thermolyne Sybron Corp.).

Pureza de disolventes y reactivos. Para evitar interferencias durante el análisis por CGL con detector de captura de electrones, los disolventes y reactivos se purificaron según los métodos publicados por la Administración de Drogas y Medicamentos de los Estados Unidos, US-FDA (66) y el Laboratorio de Alimentos del Departamento de Agricultura de Canadá (74).

La pureza de los disolventes se comprobó con una prueba de concentración (74, 75). Todos aquellos disolventes que pasaron dicha prueba, se consideraron grado plaguicida o nanogrado [G.P.].

Activación de Florisil. El florisil, tal como se recibe de la fábrica contiene impurezas que interfieren en el análisis por CGL con detector de captura de electrones. Además,

su capacidad de adsorción es variable por lo que, antes de su uso, debe ser estandarizado. Para ésto, se le sometió a un proceso de lavado y uno de activación según los métodos descritos por el Laboratorio de Alimentos del Departamento de Agricultura de Canadá (74). Posteriormente se comprobó su grado de actividad por medio de la prueba de Hernández (75) y la prueba de Moddes (77).

El florisil que pasó ambas pruebas tiene la capacidad de adsorber la grasa de los extractos (purificación) sin retener los plaguicidas. A este florisil se le dió el nombre de "Moddes +".

Limpieza del material de vidrio. Todo el material empleado se lavó escrupulosamente como lo describen Albert y Reyes, 1978 (78). Además, antes de iniciar cada análisis se enjuagó todo el material con acetona [G.P.] y hexano [G.P.].

B) MÉTODOS

a) Muestreo. Las muestras del grupo de enfermos se obtuvieron en el Centro Médico "La Raza" del Instituto Mexicano del Seguro Social, de pacientes fallecidos que previamente habían cumplido con el diagnóstico de anemia aplástica. Para la selección no se tomó en cuenta sexo, edad, tratamiento, ni posible etiología de la enfermedad.

El grupo control se formó con pacientes no aplásticos que fallecieron por un padecimiento diferente a cirrosis portal, hepatitis, hepatoma, amiloidosis, aterosclerosis, tumor cerebral e hipertensión; ya que se ha comprobado que en estas enfermedades los residuos de plaguicidas organoclorados en los tejidos se encuentran aumentados (43).

De cada individuo, tanto aplástico como control, se tomaron las siguientes muestras:

- Médula ósea de cresta iliaca (MOI).
- Médula ósea de tibia (MOT).
- Tejido adiposo de abdomen (TAA).
- Tejido adiposo de glúteo (TAG).
- Suero (S).

Los dos tipos de médula ósea se obtuvieron para conocer si existe una concentración preferencial de residuos organoclorados en la médula ósea hematopoyéticamente inactiva (MOT) y la médula ósea hematopoyéticamente activa (MOI), ya que la primera tiene un contenido de grasa mayor que la segunda. Para saber si los compuestos organoclorados tienen la misma distribución en la grasa corporal de un mismo individuo, se tomaron muestras de tejido adiposo de glúteo y abdomen. Por último, se tomaron muestras de suero como control de la movilización de plaguicidas de tejidos a sangre y como un control de una exposición reciente a estos compuestos.

Los tejidos se colocaron en frascos de vidrio ámbar con contratapa de teflón, previamente lavados con mezcla crónica y enjuagados con acetona y hexano [G.P.]. La sangre para obtener el suero se tomó con jeringa de vidrio perfectamente lavada y enjuagada con acetona y hexano [G.P.].

Todas las muestras se almacenaron a -20°C hasta el momento de su análisis. En la TABLA VIII se muestra una relación de las características de los pacientes donadores de las muestras.

b) Análisis de los tejidos, (79, 81).

Extracción

1. Se pesan aproximadamente 100 mg de muestra en un mortero de

TABLA VIII. Características de los donadores de las muestras

Clave	Paciente	Edad (años)	Sexo	Obesidad	Ocupación	Lugar de residencia*	Causa de la muerte
C-2	H.F.A.	47	♂	-	Ind. fundición	México, D.F.	peritonitis
C-3	J.A.Z.	51	♀	+	hogar	?	hemorragia subaracnoidea#
C-4	R.R.C.	62	♂	-	empacador	México, D.F.	hemorragia cerebral#

AA-1	N.G.R.	20	♂	?	?	México, D.F.	AA
AA-2	P.L.G.	68	♀	-	agricultor	México, D.F.	AA, hemorragia cerebral
AA-3	I.F.M.	64	♂	-	comisionista	México, D.F.	AA, choque séptico
AA-4	F.B.H.	21	♂	-	estudiante	México, D.F.	AA, hemorragia cerebral
AA-5	S.G.R.	80	♀	+	hogar	México, D.F.**	AA, insuficiencia renal
AA-6	D.R.G.	50	♀	+	hogar	México, D.F.	AA, hemorragia cerebral
AA-7	T.M.V.	34	♂	+	vendedor	México, D.F.	AA, hemorragia cerebral
AA-8	J.B.F.	26	♂	-	oficinista	México, D.F.	AA, hemorragia gastrointestinal y sepsis.

* en los últimos 10 años

** residió en San Luis Potosí 5 años antes.

derivada de traumatismo

Ind. = industria

C = control

AA = anemia aplásica

vidrio de 2 cm de diámetro.

2. Se muelen y homogeneizan, primero con una parte de arena y, después, con dos partes de sulfato de sodio anhidro en el micromortero de vidrio.
3. Se transfiere el homogeneizado a una columna de vidrio de 1 cm de diámetro, sin llave, con tapón de lana de vidrio y se enjuaga el mortero con tres o cuatro porciones (de 1 ml) de cloruro de metileno [G.P.], que se transfiere a la columna.
4. Se eluye con 50 ml de cloruro de metileno [G.P.] y se recibe el eluato en un matraz de fondo redondo de 100 ml, con boca esmerilada 24/40, previamente tarado.
5. Por último, se evapora el disolvente en un evaporador rotatorio hasta obtener sólo la grasa.

Purificación

1. Se pesan 1.8 g de florisil activado (Moddes +) y 1.8 g de sulfato de sodio anhidro. Se transfieren a una columna de vidrio de 0.5 cm de diámetro interno, sin llave y con tapón de lana de vidrio.
2. Se disuelve la grasa en una pequeña cantidad de hexano [G.P.] y con una pipeta Pasteur se transfiere cuantitativamente a la columna.
3. Se enjuaga varias veces el matraz hasta completar un volumen de 10 ml.
4. Se eluye con una mezcla de hexano [G.P.]: metanol [G.P.], 99:1 (v/v) y se recibe en un matraz de fondo redondo de 100 ml, con boca esmerilada 24/40.
5. Se agregan unas gotas de tolueno al 2% en éter de petróleo [G.P.] y se evapora el eluato en el evaporador rotatorio hasta un volumen aproximado de 0.5 ml.
6. Se transfiere cuantitativamente el concentrado a un tubo de centrífuga graduado con aproximadamente 10 porciones de 1 ml de hexano [G.P.].

7. Se evapora con una corriente de nitrógeno hasta un volumen menor a 1 ml y se lleva a 1 ml con hexano [G.P].
8. Se analiza el extracto por CGL con detector de captura de electrones.

c) Análisis de suero, (82).

1. Con una pipeta volumétrica se pasan 2 ml de suero a un tubo de cultivo de 15 ml, de fondo redondo.
2. Se agregan 6 ml de hexano [G.P] con una pipeta volumétrica y se tapan los tubos perfectamente con un tapón de rosca con contratapa de teflón.
3. Los tubos se hacen rotar por 2 h a 50 rpm en un homogeneizador de rodillos.
4. Con una pipeta volumétrica se transfieren 5 ml del extracto hexánico a un tubo de centrifuga graduado y se concentra bajo una corriente de nitrógeno hasta un volumen de 1 ml.
5. El análisis del extracto obtenido se realiza por CGL con detector de captura de electrones.

- d) Análisis por Cromatografía Gas-Líquido. En la TABLA IX se muestran las fases estacionarias empleadas y sus respectivas condiciones de operación. En todos los casos se utilizó Gas Chrom Q, malla 100/120 como soporte para las fases estacionarias y nitrógeno de alta pureza con filtro de tamiz molecular activado, como fase móvil.

Análisis Cualitativo

El análisis cualitativo se lleva a cabo con el fin de dar una identificación previa a los plaguicidas presentes en cada muestra. Se realizó por comparación de los tiempos de retención de los picos obtenidos en los cromatogramas de las muestras con

TABLA IX. Fases estacionarias y condiciones de operación para la cromatografía gas-líquido.

<u>Fase</u>	<u>%</u>	<u>T_i</u>	<u>T_c</u>	<u>T_d</u>	<u>F_{N₂}</u>	<u>V_c</u>	<u>Polaridad</u>
OV-101 (metil silicona)	3.5	195	150	210	30	5	No polar
OV-210 (trifluoropropil metil silicona)	4.0	195	160	210	30	5	Polar
OV-17 + OV-210 (metil fenil silicona + trifluoropropil metil silicona)	1.5 + 2	195	160	210	30	5	Poco polar

T_i = Temperatura del inyector, °C.

T_c = Temperatura de la columna, °C.

T_d = Temperatura del detector, °C.

F_{N₂} = Flujo de nitrógeno, ml/min.

V_c = Velocidad de la carta del graficador, pulg/h.

los correspondientes a cromatogramas de estándares obtenidos sucesivamente. Para este fin, se prepararon mezclas de los plaguicidas organoclorados más comunes, sus isómeros y sus metabolitos disueltos en iso-octano en concentraciones de 2×10^{-8} g/ml, 4×10^{-8} g/ml y 6×10^{-8} g/ml. La composición de las mezclas se observa en la TABLA X y en la FIGURA 5 se muestran los cromatogramas correspondientes al análisis preliminar de una serie de muestras.

Análisis Cuantitativo

Se realizó por la comparación de las alturas de los picos de los cromatogramas de las muestras con los correspondientes de los estándares.

A causa de la poca linealidad y estabilidad del detector de captura de electrones, en todos los casos las alturas de los picos de las muestras fueron similares a las de los picos de los estándares y los cromatogramas fueron obtenidos sucesivamente.

Los cálculos se hicieron con las siguientes fórmulas:

1. Para las muestras de tejidos

$$\text{ppm} = \frac{\text{ug}}{\text{g}} = \frac{\text{Hm}}{\text{He}} \times \frac{\text{Ve}}{\text{Vm}} \times \frac{\text{Ce}}{10^{-6}} \times \frac{\text{V}}{\text{P}} \times \frac{\text{Am}}{\text{Ae}}$$

en donde:

Hm = altura del pico de la muestra, cm.

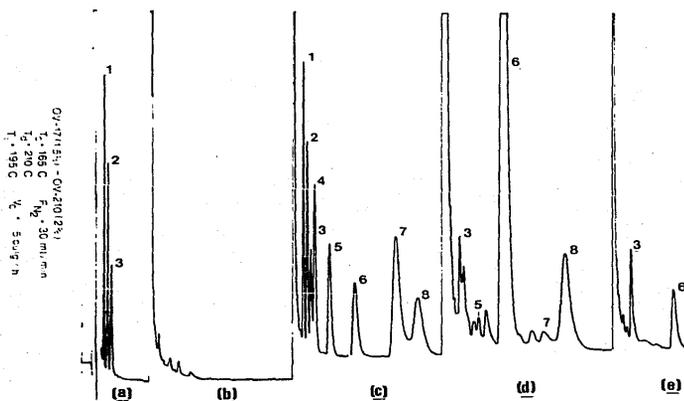
He = altura del pico del estándar, cm.

Vm = volumen inyectado de la muestra, ul.

Ve = volumen inyectado del estándar, ul.

Ce = concentración del estándar inyectado, g/ml.

FIGURA 5. Cromatogramas del análisis cualitativo y cuantitativo de un tejido adiposo de abdomen.



CRONATOGRAMA

- (a)
- (b)
- (c)
- (d)
- (e)

MUESTRA

- Estándar A (Ver TABLA IX)
- Análisis blanco
- Estándar C
- Análisis de TAM-3, AA.
- Estándar F

IDENTIFICACION DE PICOS

- 1. HCl
- 2. HCl
- 3. HCl
- 4. Aldrin
- 5. E.H.
- 6. p,p'-DDE
- 7. p,p'-DDD
- 8. p,p'-DDT

TABLA X Soluciones estándar de plaguicidas organoclorados.

Solución	Composición	Concentración (g/ml)
A	α HCH y γ HCH -----	2×10^{-8}
	β HCH -----	6×10^{-8}
B	α HCH, γ HCH, aldrín, dieldrín y endrín _	2×10^{-8}
	β HCH -----	6×10^{-8}
C	α HCH, γ HCH, aldrín, *EH y p,p'-DDE ----	2×10^{-8}
	p,p'-DDD -----	4×10^{-8}
	β HCH y p,p'-DDT -----	6×10^{-8}
D	Aldrín, o,p'-DDE y o,p'-DDD -----	4×10^{-8}
	o,p'-DDT -----	6×10^{-8}
E	Aldrín -----	2×10^{-8}
	Clordano α y clordano β -----	4×10^{-8}
F	p,p'-DDE -----	2×10^{-8}
	β HCH -----	6×10^{-8}
G	Aldrín, heptacloro y *EH -----	2×10^{-8}
H	p,p'-DDD -----	4×10^{-8}
I	p,p'-DDT -----	6×10^{-8}

*EH = Epóxido de heptacloro.

V = volumen del aforo final del extracto de la muestra, ml.
P = peso de la grasa analizada, g.
Am = atenuación para la muestra.
Ae = atenuación para el estándar.
ug = microgramos.
g = gramos.
ppm = partes por millón.

2. Para muestras de suero

$$\text{ppb} = \frac{\text{ng}}{\text{ml}} = \frac{a \cdot b \cdot e}{c \cdot d}$$

en donde:

a = concentración del estándar, ng.
b = altura del pico de la muestra, cm.
c = altura del pico del estándar, cm.
d = cantidad de suero extraída, ml.
e = factor de dilución obtenido como sigue:

$$e = \frac{V_h \times V_f}{V_e \times V}$$

en la que:

Vh = volumen de hexano agregado al suero, ml.
Vf = volumen del aforo final del extracto de la muestra,
ul.
Ve = volumen tomado del extracto, ml.
V = volumen inyectado de la muestra, ul.

e) Control de resultados. Para garantizar la validez de los resultados, en cada serie de 3 a 6 muestras se hizo además:

- 1.- Un análisis blanco, que tiene por objeto controlar la pureza de los reactivos y disolventes usados, así como la incorporación de impurezas durante el análisis.
- 2.- Un análisis de recuperación, cuya finalidad es controlar la eficiencia de los métodos de extracción y purificación utilizados.
- 3.- Un análisis por duplicado de una muestra de cada serie, tomada al azar, para comprobar la reproducibilidad del método. Este control no se hizo para todas las muestras del estudio por el elevado costo de la prueba.

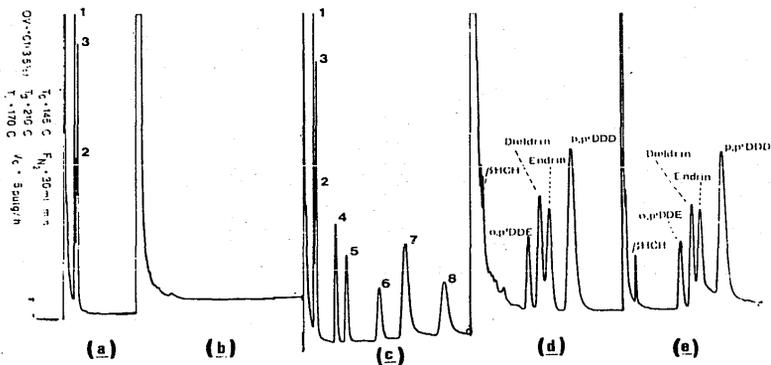
En la FIGURA 6 se presentan ejemplos de un análisis blanco y un análisis de recuperación.

f) Confirmación por multicolumna. En ciertas fases estacionarias, dos o más plaguicidas organoclorados pueden presentar los mismos tiempos de retención, por lo que es difícil asegurar con certeza su identidad cuando se usa sólo una fase estacionaria para el análisis.

Asimismo, pueden aparecer en los cromatogramas picos de uno o más compuestos que hayan sido coextraídos de la muestra y que pueden interferir o superponerse con el pico de algún plaguicida que presente el mismo tiempo de retención.

En estas condiciones, para poder asegurar la identidad asignada a cada plaguicida por medio de CGL, se deben usar por lo menos dos columnas con fases de polaridad diferente (83). De esta manera, los

FIGURA 6. Cromatogramas de un análisis blanco y un análisis de recuperación.



<u>CHROMATOGRAMA</u>	<u>MUESTRA</u>	<u>IDENTIFICACION DE PICOS</u>				<u>% DE RECUPERACION</u>
(a)	Estándar A	1. α HCH	6. p,p'-DDE	8 HCH	86.6%	
(b)	Análisis blanco	2. β HCH	7. p,p'-DDD	o,p'-DDE	106.9%	
(c)	Estándar C	3. γ HCH	8. p,p'-DDT	Dieldrin	109.1%	
(d)	Recuperación	4. Aldrin		Endrin	100.8%	
(e)	Estándar de recuperación	5. E.H.		p,p'-DDD	104%	

residuos de plaguicidas cuya identidad se va a confirmar deben presentar tiempos de retención diferentes para cada columna, pero éstos, a su vez, deben coincidir con los respectivos a los estándares para la columna dada.

La confirmación por multicolumna se hizo para todos los plaguicidas encontrados en los extractos de las muestras que se analizaron. En los casos en que la confirmación por multicolumna fué negativa, se descartó la posibilidad de la presencia del plaguicida en la muestra.

El análisis estadístico de los resultados se realizó aplicando la prueba de " t de Student " con un 95% de confianza, para encontrar diferencias de concentración de cada residuo entre aplásticos y controles. Para saber si los tejidos presentaban diferencias en el grado de concentración de los mismos residuos, se usó la prueba de " Análisis de varianza ", también con un 95% de confianza.

RESULTADOS Y DISCUSION

Por la alta incidencia de anemia aplástica en la zona norte de la ciudad de México y la aparente relación de esta enfermedad con los plaguicidas, se inició el presente estudio con el objeto de conocer las concentraciones de residuos de plaguicidas organoclorados en diversos tejidos de pacientes con anemia aplástica.

Se analizaron muestras de 8 enfermos de anemia aplástica que fallecieron en el Centro Médico "La Raza" del Instituto Mexicano del Seguro Social. Este grupo estuvo formado por 5 hombres (62.5%) y 3 mujeres (37.5%), todos ellos atendidos en el Departamento de Hematología del Hospital de Especialidades. No se tomó en cuenta etiología, edad, evolución de la enfermedad o tratamiento del paciente.

Simultáneamente se obtuvieron muestras similares de un grupo control formado por 3 pacientes (1 mujer, 33.3% y 2 hombres, 66.6%) del mismo centro hospitalario, que fallecieron por una enfermedad diferente de AA, amiloidosis, tumor cerebral o enfermedad hepática.

De cada individuo, aplásico o control, se tomaron 5 tejidos diferentes: médula ósea de ilíaco (MOI), médula ósea de tibia (MOT), tejido adiposo de abdomen (TAA), tejido adiposo de glúteo (TAG) y suero (S). El número total de muestras fué de 60. De todas ellas se obtuvo el extracto purificado que se analizó por cromatografía gas-líquido (CGL) con detector de captura de electrones, como se indica en la Parte Experimental.

Los resultados del análisis cualitativo de residuos de plaguicidas organoclorados en los diferentes tejidos, de enfermos y controles, se presentan en las TABLAS XI, XII y XIII. En forma general, se puede observar que en todas las muestras de controles, así como en todas las muestras de pacientes con AA se encontraron residuos de plaguicidas organoclorados; pero, el número de residuos por muestra fué diferente dependiendo del tejido de que se tratara. Así, la menor cantidad de estos residuos se encontró en sueros (1 a 2) y la máxima en médulas ósea y tejidos adiposos (3 a 6).

En los tejidos con mayor contenido de grasa, como son la médula ósea y el tejido adiposo, predominaron muestras con 4 o 5 clases de residuos (TABLAS XI y XII), ya que se identificaron este número de compuestos en el 63% del total de médulas y en el 72% del total de tejidos adiposos. Asimismo, en los sueros predominaron las muestras (81% del total) con sólo dos tipos de compuestos (TABLA XIII).

TABLA XI. Residuos de plaguicidas organoclorados en médula ósea.

Análisis Cualitativo*															
Médula ósea de ilíaco															
Controles				Pacientes con AA											
	Muestras	2	3	5	n/N	Muestras	1	2	3	4	5	6	7	8	n/N
B HCH		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	7/8
EI		+	+		0/3							+	+		2/8
Dieldrn		+	+		2/3		+	+	+	+	+	+	+	+	6/8
p,p'-DDE		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
p,p'-DDD		+	+		0/3		+	+	+	+	+	+	+	+	5/8
p,p'-DDT		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	7/8
Plag./muestra		4	4	3		4	4	5	2	6	5	5	4		
Médula ósea de tibia															
Controles				Pacientes con AA											
	Muestras	2	3	5	n/N	Muestras	1	2	3	4	5	6	7	8	n/N
B HCH		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
EI		+	+		2/3							+	+		2/8
Dieldrn		+	+		2/3		+			+	+	+			4/8
p,p'-DDE		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
p,p'-DDD		+			1/3		+	+	+	+					4/8
p,p'-DDT		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
Plag./muestra		5	6	3		4	4	4	3	6	5	5	3	5	

* Residuos de plaguicidas presentes en concentraciones mayores a 0.001 µg/g en base grasa total.

EI-epóxido de heptacloro
n/N-muestras positivas sobre el total de muestras

TABLA XII. Residuos de plaguicidas organoclorados en tejido adiposo.

<u>Análisis Cualitativo*</u>															
<u>Tejido adiposo de abdomen</u>															
<u>Controles</u>						<u>Pacientes con AA</u>									
	<u>Muestras</u>	2	3	5	<u>n/N</u>	<u>Muestras</u>	1	2	3	4	5	6	7	8	<u>n/N</u>
β HCH		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
EH		+			1/3										0/8
Dieldrin		+	+		1/3		+		+	+	+	+	+	+	6/8
p,p'-DDE		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
p,p'-DDD					0/3		+	+	+	+	+	+	+	+	7/8
p,p'-DDT		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
Plag./muestra		4	4	3	3/3		5	3	4	5	5	5	5	5	
<u>Tejido adiposo de glúteo</u>															
<u>Controles</u>						<u>Pacientes con AA</u>									
	<u>Muestras</u>	2	3	5	<u>n/N</u>	<u>Muestras</u>	1	2	3	4	5	6	7	8	<u>n/N</u>
β HCH		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
EH		+			1/3				+	+	+				5/8
Dieldrin			+		1/3		+		+	+					3/8
p,p'-DDE		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
p,p'-DDD		+			1/3					+	+	+	+	+	4/8
p,p'-DDT		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
Plag./muestra		5	4	3	3/3		4	3	4	4	6	4	5		

* - Residuos de plaguicidas presentes en concentraciones mayores a 0.001 µg/g en base, grasa total
 EH - epóxido de heptacloro
 n/N - muestras positivas sobre el total de muestras

TABLA XIII. Residuos de plaguicidas organoclorados en suero.

<u>Análisis Cualitativo*</u>															
		<u>Controles</u>				<u>Pacientes con AA</u>									
	<u>Muestras</u>	2	3	5	<u>n/N</u>	<u>Muestras</u>	1	2	3	4	5	6	7	8	<u>n/N</u>
β HClI					T										1/8
p,p'-DDE		+	+	+	3/3		+	+	+	+	+	+	+	+	8/8
p,p'-DDT		T	T		2/3		T	+						+	5/8
Plaguicidas/muestra		2	2	2			2	2	2	2	2	1	1	1	

* - Residuos de plaguicidas organoclorados en concentraciones mayores a 0.001 ug/ml
n/N - Muestras positivas sobre el total de muestras.
T - Trazas < 0.001 ng/ml.

Lo anterior concuerda perfectamente con el carácter lipofílico de los compuestos buscados ya que se encuentran con mayor frecuencia en los tejidos grasos. Por otro lado, el hallar residuos de plaguicidas organoclorados en sangre indica, si éstos no están en gran cantidad (exposición reciente), que se establece una partición de dichos compuestos entre las fases acuosa y lipídica del cuerpo; lo que lleva a pensar que la determinación en suero puede ser útil para conocer, de manera indirecta, la carga corporal de compuestos organoclorados.

Al comparar los dos grupos estudiados se puede ver que entre enfermos y controles no parece existir una diferencia importante en el número de residuos encontrados por muestra. De igual forma, de las mismas tablas se ve que los residuos organoclorados regularmente hallados fueron:

β HCH	estereoisómero del lindano
Epóxido de heptacloro	metabolito de heptacloro
Dieldrín	plaguicida y metabolito de aldrín
p,p'-DDE y p,p'-DDD	metabolitos del DDT
p,p'-DDT	plaguicida

Es importante hacer notar que en ninguna muestra se encontró alguno de los siguientes plaguicidas o metabolitos: α HCH, γ HCH (lindano), aldrín, endrín, clordano α y γ , heptacloro, o,p'-DDE, o,p'-DDD y o,p'-DDT. Era importante determinarlos en las muestras ya que se tiene conocimiento de que algunos de estos compuestos (lindano, aldrín, endrín, clordano α y γ , heptacloro) han sido ampliamente usados como plaguicidas en México y algunos otros (α HCH, o,p'-DDE, o,p'-DDD y o,p'-DDT) se encuentran como impurezas en los respectivos insecticidas grado técnico que son los más económicos y los de más fácil acceso a la población en general.

Por predominar los metabolitos entre las sustancias halladas, en lo sucesivo se hablará de compuestos organoclorados (COC).

Para comprender mejor los resultados cualitativos, en las FIGURAS 7 y 8 se muestran las frecuencias con que se presentaron los COC en las muestras, con base a cada tejido y cada plaguicida, respectivamente.

En la FIGURA 8 se aprecia que el COC más frecuente fué el p,p'-DDE que se determinó en el 100% de las muestras de todos los tejidos y de los dos grupos estudiados. El β HCH y el p,p'-DDT se hallaron en seguida en el orden de frecuencia y su perfil de aparición en los tejidos fué muy similar en controles y enfermos. Por último, los compuestos epóxido de heptacloro, dieldrín y p,p'-DDD se encontraron también, pero en menor frecuencia, variando ésta en el grupo de enfermos respecto del control. La frecuencia de estos tres últimos COC fué la principal diferencia cualitativa observada entre el grupo control y el de aplásicos.

El hecho de haber encontrado p,p'-DDE y p,p'-DDT en el 100% y casi el 90% del total de muestras, respectivamente, señala la dispersión de DDE en el ambiente y el uso en nuestro país de su precursor, el DDT.

El β HCH también estuvo presente en casi el 90% de todas las muestras, lo que indica un uso indiscriminado en el país del HCH grado técnico. Esta debe ser una de las razones de encontrar en forma preferencial el β HCH en tejido, pues el primero es una impureza que resulta de la obtención del plaguicida. Otras razones para encontrar sólo el β HCH en tejidos son la liposolubilidad de este compuesto, su estabilidad química y su consecuente resistencia a la biodegradación.

FIGURA 7. Frecuencia de COC en varios tejidos de pacientes con AA.

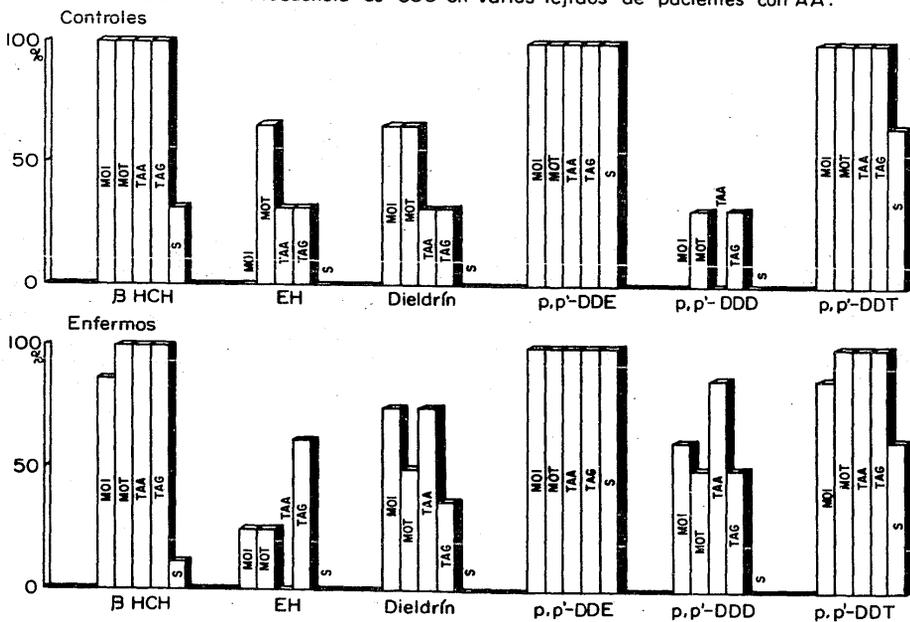
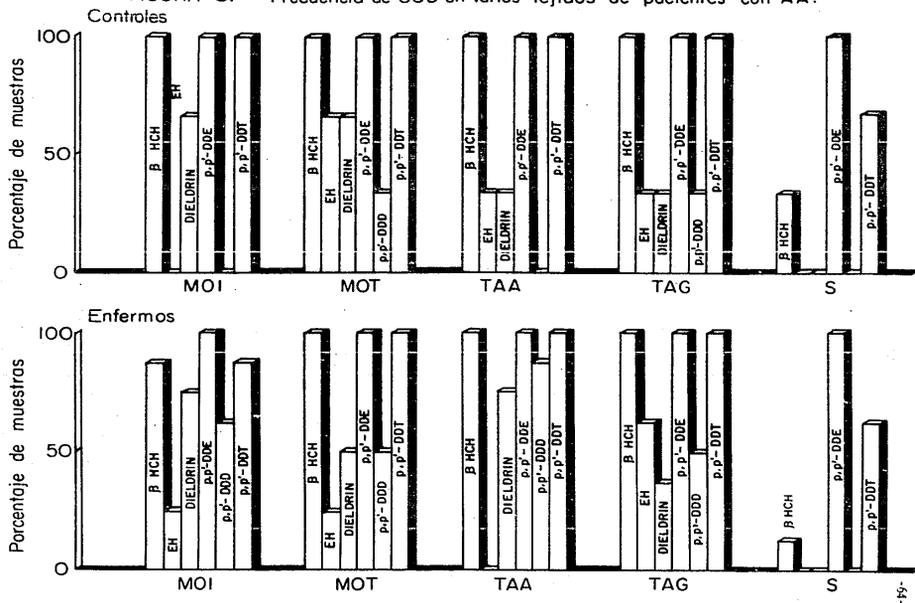


FIGURA 8. Frecuencia de COC en varios tejidos de pacientes con AA.



Como se observa en la FIGURA 8, en todos los tejidos se determinaron con cierta regularidad los cinco COC antes descritos, a excepción de epóxido de heptacloro (EH) que no se determinó en MOI de controles y en TAA de enfermos; y el p,p'-DDD que tampoco se determinó en TAA de controles. Además, es importante señalar que en ninguna muestra de suero se detectó epóxido de heptacloro, dieldrín y p,p'-DDD; y que el β HCH sólo se encontró en ciertos sueros de ambos grupos como trazas (T = concentración menor de 0.001 ng/ml).

En cuanto al análisis cuantitativo, los resultados se resumen en las TABLAS XIV Y XV. En ellas se presentan las concentraciones promedio de los diferentes COC encontrados en los tejidos y sus respectivas desviaciones estándar; respecto a los tejidos (TABLA XIV) y respecto a los COC (TABLA XV).

A grandes rasgos, se puede notar en la TABLA XIV que enfermos y controles siguen una tendencia muy similar de acumulación de COC. En dicha tendencia las concentraciones más elevadas en los controles para compuestos individuales correspondieron en el siguiente orden a:

p,p'-DDE > p,p'-DDT > β HCH > dieldrín > EH > p,p'-DDD ;

y en los enfermos:

p,p'-DDE > p,p'-DDT > β HCH > dieldrín > p,p'-DDD > EH

En la última columna de la TABLA XV se presenta la concentración del DDT total equivalente que es una forma de expresar la suma del DDT y sus análogos presentes en las muestras. En este caso, el DDT y sus compuestos afines están en mayor cantidad en controles que en enfermos, especialmente en TAA, TAG y S. Lo anterior puede

TABLA XIV. Concentración de COC en varios tejidos humanos.

Análisis Cuantitativo*						
Controles [3]						
	MOI	MOT	TAA	TAG	SUERO*	
β HCH	3.43 ± 3.08	1.81 ± 0.82	1.25 ± 0.46	1.36 ± 1.12	T	
E.H.	n.d.	0.06 ± 0.06	0.02 ± 0.03	0.22 ± 0.38	n.d.	
Dieldrin	1.17 ± 1.74	0.03 ± 0.03	0.02 ± 0.05	0.03 ± 0.06	n.d.	
p,p'-DDE	11.90 ± 6.76	11.69 ± 3.09	15.60 ± 3.85	21.39 ± 11.88	0.56 ± 0.07	
p,p'-DDD	n.d.	0.03 ± 0.05	n.d.	0.07 ± 0.13	n.d.	
p,p'-DDT	2.50 ± 1.91	1.22 ± 0.24	3.87 ± 4.67	3.56 ± 3.37	T	
DDT t.e.**	15.71 ± 9.25	14.23 ± 3.24	21.19 ± 8.93	27.39 ± 12.84	0.06 ± 0.08	
Pacientes con AA [8]						
	MOI	MOT	TAA	TAG	SUERO*	
β HCH	2.00 ± 2.53	2.17 ± 1.91	1.89 ± 0.99	2.15 ± 2.51	T	
E.H.	0.08 ± 0.14	0.02 ± 0.04	n.d.	0.13 ± 0.17	n.d.	
Dieldrin	0.41 ± 0.53	0.24 ± 0.35	0.23 ± 0.18	0.08 ± 0.14	n.d.	
p,p'-DDE	14.64 ± 10.87	13.27 ± 9.60	14.82 ± 10.95	12.16 ± 8.98	0.03 ± 0.013	
p,p'-DDD	1.13 ± 1.67	0.36 ± 0.86	0.15 ± 0.10 [#]	0.12 ± 0.15	n.d.	
p,p'-DDT	1.97 ± 1.29	1.92 ± 1.05	2.45 ± 1.21	1.49 ± 0.86	0.003 ± 0.003	
DDT t.e.**	19.46 ± 13.64	17.05 ± 12.05	19.06 ± 12.96	15.12 ± 10.35	0.034 ± 0.017	

* Concentraciones promedio (µg/g en base a grasa total) ± desviación estándar.

** Concentración promedio (µg/ml ± desviación estándar).

** DDT total equivalente, suma de los residuos de p,p'-DDE, p,p'-DDD (expresados como DDT) y p,p'-DDT.

Diferencia estadísticamente significativa, P ≤ 0.05

[] Número de muestras analizadas

n.d. no detectable.

T trazas > 0.001 ng/ml.

TABLA XV.

Concentración de compuestos organoclorados en varios tejidos humanos.

		Análisis Cuantitativo.*								
		% de lípidos	Σ HCl	E II	Dieldrin	p,p'-DDE	p,p'-DDD	p,p'-DDT	DDT t.e.**	
Controles (3)	NDI	20.56	3.43 ± 3.1	-----	1.17 ± 1.7	11.90 ± 6.8	-----	2.50 ± 1.9	15.7 ± 9.2	
	MDT	20.57	1.81 ± 0.8	0.06 ± 0.06	0.03 ± 0.03	11.69 ± 3.1	0.03 ± 0.05	1.22 ± 0.2	14.2 ± 3.2	
	TAA	72.7	1.25 ± 0.5	0.02 ± 0.03	0.02 ± 0.05	15.60 ± 3.8	-----	3.37 ± 4.7	21.2 ± 8.9	
	TAG	80.0	1.36 ± 1.1	0.22 ± 0.38	0.03 ± 0.06	21.39 ± 11.9	0.07 ± 0.13	3.56 ± 3.4	27.4 ± 12.8	
	S*	--	T	-----	-----	0.56 ± 0.07	-----	T	0.06 ± 0.08	
Enfermos (8)	NDI	5.05	2.00 ± 2.5	0.08 ± 0.14	0.41 ± 0.53	14.64 ± 10.8	1.13 ± 1.7	1.97 ± 1.3	19.46 ± 13.7	
	MDT	10.12	2.17 ± 1.9	0.02 ± 0.04	0.24 ± 0.35	13.27 ± 9.6	0.36 ± 0.8	1.92 ± 1.0	17.05 ± 12.05	
	TAA	81.3	1.89 ± 0.9	-----	0.23 ± 0.18	14.82 ± 10.9	0.15 ± 0.1 [#]	2.45 ± 1.2	19.06 ± 12.9	
	TAG	79.9	2.15 ± 2.5	0.13 ± 0.17	0.08 ± 0.14	12.16 ± 8.9	0.12 ± 0.1	1.49 ± 0.9	15.12 ± 10.35	
	S*	--	T	-----	-----	0.03 ± 0.01	-----	0.003 ± 0.003	0.034 ± 0.017	

* Concentración promedio (µg/g en base a la grasa total) ± desviación estándar.

** DDT total equivalente, suma de los residuos de p,p'-DDT más p,p'-DDE y p,p'-DDD expresados como DDT

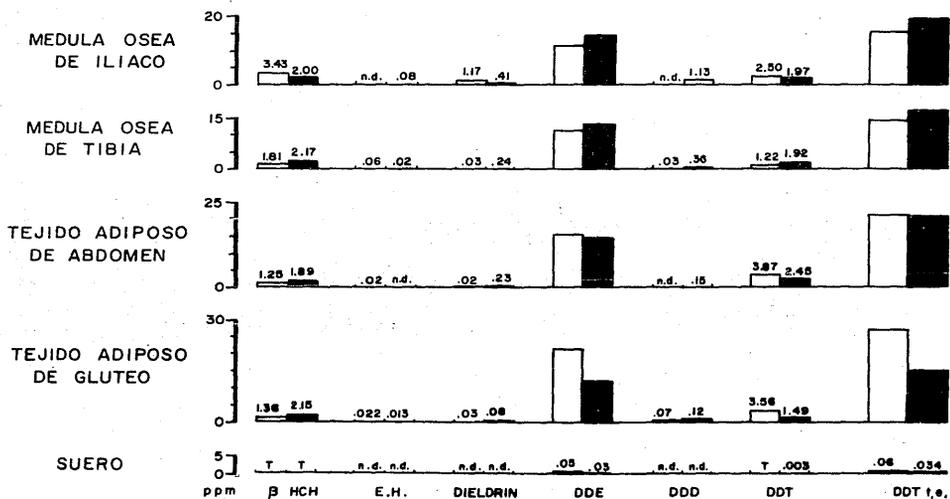
() Concentración promedio (µg/ml) ± desviación estándar)

() Número de muestras analizadas.

T Trazas < 0.001 ng/ml.

Diferencia estadísticamente significativa (Ps 0.05).

FIGURA 9 REPRESENTACION GRAFICA DEL ANALISIS CUANTITATIVO.



n.d. - no detectable

T - trazas < 0.001 ng/ml

□ CONTROLES

■ ENFERMOS

explicarse por la edad relativamente alta de los controles estudiados (47 a 62 años), que caen dentro del grupo de la población general en que según la edad se ha encontrado mayor acumulación de DDT (84).

En la TABLA XV se muestran también los porcentajes del contenido de lípidos en las diferentes muestras. Se puede observar que mientras el porcentaje de lípidos no varía importantemente en TAA y TAG entre enfermos y controles, en la MOI y MOT se presenta una disminución en los enfermos de 2 a 4 veces respecto de los controles. Estos resultados parecen contradecir el hecho de que cuando existe hipocelularidad en la médula ósea, aumenta el contenido de grasa en ella. Sin embargo, este hecho se puede explicar por la observación de que un número considerable de las muestras analizadas estaban contaminadas con sangre.

Después del análisis estadístico de los dos grupos de pacientes, los resultados fueron:

a) Sólo se encontró, para el tamaño de muestra que se estudió, una diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) en el TAA para el p,p'-DDD. La importancia que este resultado tenga se desconoce, ya que con los conocimientos actuales, no se sabe de una relación entre la presencia de un COC en TAA y el daño que éste pueda causar a la médula ósea.

b) No se observó diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre las concentraciones de COC encontradas en MOI y MOT del grupo control.

c) No se observó diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) en las concentraciones de COC halladas en TAA y TAG del grupo control.

d) Un análisis estadístico extra, hecho únicamente con los resultados positivos, como otros autores lo han realizado (85, 86), no reveló diferencia estadísticamente significativa ($P \leq 0.05$) entre los controles y enfermos para todos los tejidos y todos los COC.

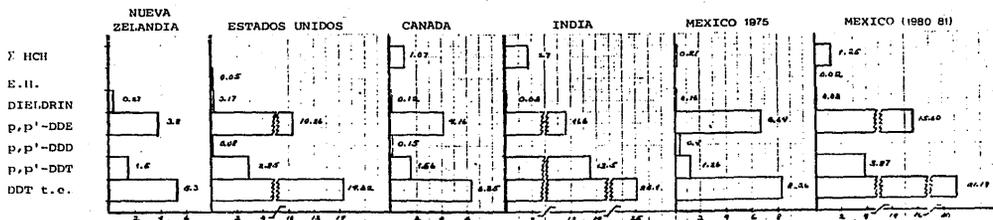
Estos resultados van en el mismo sentido que los obtenidos por Wang y Grufferman en 1981 (5). En su trabajo se estimó el riesgo relativo de contraer AA en hombres ocupacionalmente expuestos a plaguicidas (agricultores, jardineros). Los resultados sugieren que la gente que trabaja en ocupaciones expuestas a plaguicidas pueden tener un riesgo menor de sufrir la enfermedad que aquellas que no lo están. Además, en ninguno de los individuos estudiados se presentaron anomalías hematológicas que indicaran el inicio o la presencia de AA y en un estudio estadístico paralelo, los mismos autores demostraron que no existe correlación entre el total de COC usados en Estados Unidos y la mortalidad por AA en este país.

Por otro lado, es importante hacer notar la gran variabilidad de los resultados obtenidos en cada individuo, la cual se hace evidente en las desviaciones estándar tan grandes que se obtuvieron. Este hecho, aunado al tamaño pequeño de la muestra pudieron afectar considerablemente la significancia de los resultados, por lo que sería importante en los estudios subsiguientes, trabajar con una muestra control mayor. Además, la variabilidad de concentraciones de COC tisulares entre individuos se ha descrito antes en otros estudios (87, 88) y, básicamente, se debe a las variables no controlables como sexo, edad, raza, hábitos alimenticios y, en este caso particular tratamiento, que en el presente trabajo tampoco fué posible controlar.

Los resultados de este estudio se pueden comparar con los de algunos trabajos realizados antes en otros países (85, 89-91) y uno más realizado en México en 1975 (12). La comparación se presenta en la FIGURA 10.

FIGURA 10 . Comparación de COC encontrados en TAA en varios países del mundo y México.

COMPUESTO	NUEVA ZELANDIA (1966) 52	ESTADOS UNIDOS (1968) 29	CANADA (1967-68)	INDIA (1964) 24	MEXICO D.F. (1975) 10	MEXICO Nte. del D.F. (1980-81) 3
Y HCH	n.d.	n.d.	1.07	1.7	0.21	1.25
E.H.	n.d.	0.05	n.d.	n.d.	n.d.	0.02
DIELDRIN	0.27	0.17	0.12	0.03	0.16	0.03
P,p'-DDE	3.80	10.26	4.16	11.6	6.64	15.60
P,p'-DDD	n.d.	0.08	0.15	n.d.	0.40	n.dt.
P,p'-DDT	1.50	2.85	1.56	13.5	1.26	3.87
DDT t.c.	5.30	14.32	6.35	25.1	8.26	21.19



De la FIGURA 10 es obvio que las cantidades de p,p'-DDT y p,p'-DDE que se encontraron en las muestras del norte de la ciudad de México han aumentado respecto de las halladas para el mismo tejido de las muestras tomadas en el Distrito Federal cinco años antes. Esto indica que la población de esta ciudad ha seguido expuesta principalmente a DDE, metabolito que se ingiere básicamente en los alimentos. Este hallazgo nos lleva a pensar que en nuestro país no existen reglamentos adecuados para la utilización de plaguicidas o los que existen no se aplican de manera efectiva; o bien, que el desconocimiento general del problema lleva a no creer necesario el establecimiento de algún control en las concentraciones de COC en alimentos.

Comparando nuestros resultados con los obtenidos de habitantes de la India es evidente que las cantidades de COC encontrados son muy similares, pero cabe mencionar que estos resultados son de 1964, cuando la campaña de erradicación del paludismo se realizaba en pleno en ese país; de ahí que la cantidad de DDT observada en el tejido adiposo de sus habitantes sea mayor.

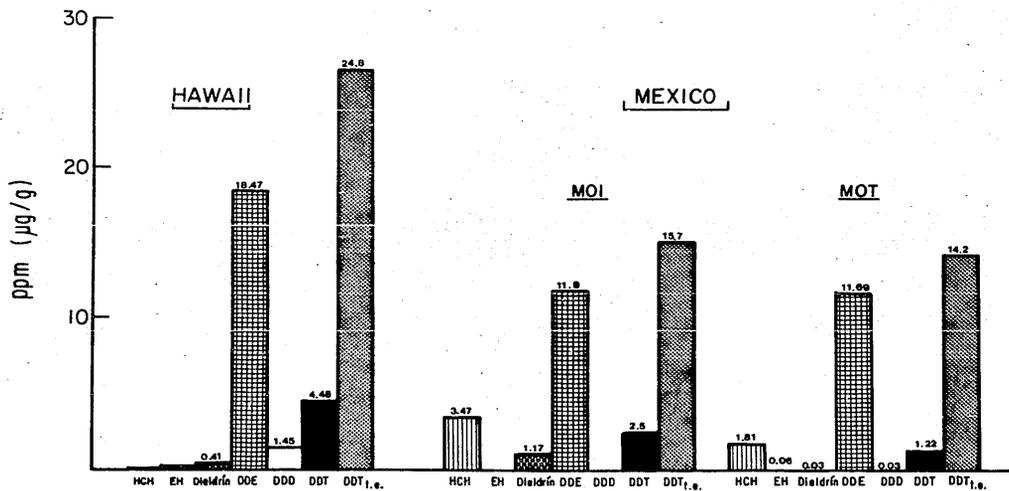
Entre los numerosos estudios realizados en 1966, los que se llevaron a cabo en los habitantes de Nueva Zelanda y Canadá fueron los que demostraron menores cantidades de COC en tejido adiposo (FIGURA 10). Según se puede ver en el gráfico, los habitantes de estos países tuvieron de 3 a 4 veces menos cantidad de COC que los encontrados en México en 1975 y 1980.

Respecto a los Estados Unidos, país en que fué muy extendido el uso de plaguicidas, pero que en la actualidad tiene un estricto control de los mismos, se observa que las cantidades de HCH total, p,p'-DDE y p,p'-DDT son superiores a las halladas en Canadá y Nueva Zelanda, aunque de ninguna manera son mayores que los de México en 1980.

Las determinaciones de COC en sangre son más sencillas y rápidas que las correspondientes a otros tejidos. Además, ellas reflejan las concentraciones de estos compuestos en la grasa y demás tejidos del organismo por lo que era importante llevarlas a cabo. Casarett y colaboradores en 1966 (85) encontraron en suero las siguientes concentraciones de COC en ppb (partes por billón=ng/ml): Σ HCH 1.4, dieldrín 1.49, p,p'-DDE 15.72 y p,p'-DDT 4.18. Estas cantidades son comparativamente mayores que las halladas en los sueros mexicanos, que fueron: Σ HCH en trazas, dieldrín no se detectó, p,p'-DDE 56.0 y p,p'-DDT en trazas. Sólo el p,p'-DDE se encontró en una concentración tres y media veces mayor en las muestras de México que las muestras de Hawaii que ellos estudiaron.

Por último, sólo se pudo encontrar un trabajo previo en el que se describían los valores hallados en médula ósea (85). En dicho trabajo se detectaron cantidades mayores de DDT y sus análogos, en la médula ósea de un grupo de población de Hawaii, que las encontradas en México para los habitantes de la zona norte de la ciudad (FIGURA 11). Sin embargo, es de notar que mientras en las muestras de Hawaii no se detectó ningún isómero del HCH, en las muestras de pacientes mexicanos se encontró el isómero β , en concentraciones de 3,47 ppm para MOI y 1.81 ppm para MDT. Además, se determinó casi 3 veces más dieldrín en MOI de mexicanos (1.17 ppm) que en las respectivas de Hawaii (0.41 ppm).

FIGURA 11. COMPARACION DE LA CONCENTRACION DE COC ENCONTRADOS EN MEDULA OSEA DE LOS HABITANTES DE HAWAII Y MEXICO



CONCLUSIONES.

De los resultados obtenidos se puede concluir lo siguiente:

1. En todos los tejidos analizados que pertenecían a pacientes con Anemia Aplástica se encontraron residuos de compuestos organoclorados.
2. En el tejido adiposo y en la médula ósea de enfermos de Anemia Aplástica se identificaron seis compuestos. Los más comunes fueron p,p'-DDE, β HCH, p,p'-DDT y dieldrín; y los que se encontraron en las mayores concentraciones fueron p,p'-DDE, β HCH y p,p'-DDT, en ese orden.

3. En suero de pacientes con Anemia Aplástica se identificaron sólo tres compuestos: p,p'-DDE, p,p'-DDT y β HCH. El más común y el que estuvo en la concentración más elevada fué el p,p'-DDE. Los otros dos compuestos se encontraron en trazas.

4. No se pudo demostrar diferencia en el tipo y número de compuestos organoclorados encontrados entre el grupo control y el de aplásicos.

5. Sólo se encontró diferencia significativamente mayor ($P < 0.05$) en la concentración de p,p'-DDD encontrada en tejido adiposo de abdomen para el grupo de enfermos respecto de los controles. Sin embargo, existen ciertas diferencias de concentración de compuestos organoclorados en otros tejidos que aunque no son significativas son importantes de señalar.

Como ejemplo, (ver FIGURA 9) se encontró mayor cantidad de β HCH, dieldrín y p,p'-DDD en enfermos que controles en todos los tejidos, salvo médula ósea de ilíaco y suero. Esto es importante porque el lindano y el p,p'-DDT son los compuestos que se han relacionado más frecuentemente con anemia aplástica, en la literatura (21, 35, 63)

Probablemente en médula ósea de ilíaco, los datos no siguen la misma tendencia para β HCH y dieldrín debido al escaso número de muestras que se analizaron.

6. La médula ósea de ilíaco (hematopoyéticamente activa) y la médula ósea de tibia (hematopoyéticamente inactiva) concentraron el mismo tipo, aunque no estrictamente, la misma cantidad de compuestos organoclorados (ver FIGURA 9).

En médula ósea de ilíaco de controles se determinó (no significativamente) una cantidad mayor de β HCH, dieldrín y p,p'-DDD que en médula ósea de tibia también de controles.

Por otro lado, se encontró una tendencia en las médulas óseas de aplásicos de concentrar mayor cantidad de p,p'-DDE, p,p'-DDD y DDT que en las de los controles. Además, en médula ósea de ilíaco de enfermos se detectó la presencia de epóxido de heptacloro; mientras que en el mismo tejido de controles no se encontró este compuesto.

7. La distribución cualitativa y cuantitativa de compuestos organoclorados en tejido adiposo de glúteo y abdomen fué la misma para los principales compuestos (β HCH, p,p'-DDE y p,p'-DDT); pero se observó mayor concentración de dieldrín y p,p'-DDD en enfermos que en controles.

8. Al parecer, las principales diferencias cuantitativas de compuestos organoclorados en los tejidos de enfermos y controles se encontraron para el p,p'-DDD, dieldrín y β HCH, en ese orden.

9. Para el órgano blanco de la enfermedad, médula ósea de ilíaco, las diferencias apuntan hacia el p,p'-DDD, p,p'-DDE y epóxido de heptacloro.

Los resultados de este trabajo no permiten establecer con certeza una relación entre la presencia de compuestos organoclorados en el organismo y la aparición de Anemia Aplástica. Las razones fundamentales serían el número relativamente bajo de pacientes estudiados, la ubicuidad de los compuestos organoclorados y la intervención de otros compuestos capaces de producirla. En los hogares, por ejemplo, la mayor parte de los insecticidas que se usan tienen combinaciones de organoclorados, piretroides, carbamatos u organo-

fosforados. Además, en las formulaciones se incluyen propelentes como freón e isobutano, disolventes de tipo hidrocarburos de cadena abierta, por ejemplo, propano, butano, o mezclas de éstos, tales como kerosina y petróleo incoloro. Finalmente, algunos de ellos incluyen un vehículo cuya naturaleza química no se especifica pero que probablemente corresponda a otro tipo de disolvente. Esto plantea la posibilidad de que las mezclas de productos químicos puedan ser mielotóxicas, sin que lo sean los compuestos aislados, o bien que los efectos mielotóxicos que se atribuyen a los insecticidas sean producidos por los agentes químicos que se incluyen en la formulación, ya que en algunos de ellos, como el freón, se ha descrito este efecto (92).

Por otro lado, no se debe descartar la susceptibilidad genética de cada individuo hacia la enfermedad (69, 70).

RECOMENDACIONES

Para completar el presente trabajo sería importante entonces, realizar los siguientes estudios:

A) Un estudio con un tamaño de muestra mayor y con muestras pareadas para eliminar las variables externas. Es decir, que para un aplásico dado, buscar un individuo que sea su control y que tenga la misma edad, sexo y condición social.

B) Ampliar los estudios anteriores para incluir pacientes aplásicos que estén bajo tratamiento, usando como controles a pacientes con otras enfermedades hematológicas.

C) Efectuar un estudio químico de los compuestos de las formulaciones comerciales de plaguicidas y determinar cuáles de ellos son tóxicos ya descritos.

D) Realizar un estudio similar al descrito en la letra A pero dedicado a los plaguicidas organofosforados.

E) Llevar a cabo estudios de cultivo de médula ósea humana agregando a los cultivos los compuestos organoclorados encontrados en el presente trabajo.

F) Investigar qué tipo de residuos de plaguicidas organoclorados están presentes en la dieta total y en el medio ambiente de los hogares de los pacientes.

G) Efectuar un estudio epidemiológico relacionado con las posibles sustancias mielotóxicas ambientales.

H) Realizar un estudio longitudinal con pacientes bajo tratamiento para saber de qué manera afecta éste la acumulación de compuestos organoclorados.

I) Investigar en pacientes bajo dieta controlada, de qué manera una disminución de peso influye en el almacenaje de compuestos organoclorados.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Hayes, W.J., Jr. Toxicology of Pesticides. Capítulo 7, pp 311-378. The Williams & Wilkins Co.; Baltimore, 1975.
- 2.- Mercier, M.: Criteria (dose/effect relationships) for organochlorine pesticides. Commission of the European Communities. Pergamon Press, L.T.D.; Londres, 1981.
- 3.- Rappolt, R.T.: Kern County study. Ind. Med. Surg. 39:351-355, 1970.
- 4.- Samuels, A.J. y Milby, T.H.: Human exposure to lindane. Clinical hematological and biochemical effects. J. Occup. Med. 13(3): 147-151, 1971.

- 5.- Wang, H.H. y Grufferman, S.: Aplastic anemia and occupational pesticide exposure: A case-control study. *J. Occup. Med.* 23(3): 364-366, 1981.
- 6.- Mc Ewen, F.L. y Stephenson, G.R. The use and significance of pesticides in the environment. pp 229-445. John Wiley & Sons, Inc.; E.U.A., 1979.
- 7.- Edwards, C.A. Persistent pesticides in the environment. pp 6-74, C.R.C. Press, Inc.; Cleveland, Ohio, 1975.
- 8.- West, I.: Pesticides as contaminants. *Arch. Environ. Health* 9(5):626-631, 1964.
- 9.- Edwards, C.A. Environmental pollution by pesticides. Cap. 8, pag 313, Plenum Press; Nueva York, 1973.
- 10.- Kagan, Y.S.; Fudel-Ossipova, S.I.; Khaikina, B.J.; Kuzminokaya, U.A. y Kouton, S.D.: On the problem of the harmful effect of DDT and its mechanism of action. *Residue Rev.* 27:43-79, 1979.
- 11.- Bevenue, A.: The bioconcentration aspects of DDT in the environment. *Residue Rev.* 61:37-112, 1976.
- 12.- Méndez, F.: Residuos de plaguicidas organoclorados en grasa y en hígado humanos en tres localidades de la República Mexicana. Tesis Profesional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I.P.N., México, D.F., 1976.
- 13.- Hayes, W.J. Toxicology of pesticides. pp 78-83. The Williams & Wilkins, Co.; Baltimore, 1975.

- 14.- Kinoshita, F.K.; Frawley, J.P. y Du Bois, K.P.: Quantitative measurement of induction of hepatic microsomal enzymes by various dietary levels of DDT and Toxaphene in rats. Toxicol. Appl. Pharmacol. 9(3):505-513, 1966.
- 15.- Cramer, M.F.; Peoples, A. & Chadwick, R.: Biochemical effects of repeated administration of p,p'-DDT on the squirrel monkey. Toxicol. Appl. Pharmacol. 21:98-101, 1972.
- 16.- Matsumura, F.; Bratkowski, T.A. y Patil, K.C.: DDT: Inhibition of an ATP-ase in the rat brain. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 4(5):262-270, 1969.
- 17.- Fishbein, L.: Environmental sources of chemical mutagens II. Synthetic mutagens. Cap. 10, pp 295-302. En: Flamm, E.G. y Mehlman, M.A. (Editores). Advances in modern toxicology. Vol. 5, Mutagenesis. Hemisphere Publishing, Co.; Washington, D.C., 1978.
- 18.- Palmer, K. ; Green, S. y Legator, M.. Cytogenetic effects of DDT and derivatives of DDT in a Cultured mammalian cell line. Toxicol. Appl. Pharmacol. 22(3):355-364, 1972.
- 19.- Ware, G.W.: Effects of DDT on reproduction in higher animals. Residue Rev. 59:119-140, 1975.
- 20.- Kilgore, W. y Li, M.: The carcinogenicity of pesticides. Residue Rev. 48:141-162, 1973.
- 21.- West, I.: Lindane and hematological reactions. Arch. Environ. Health 15:97-101, 1967.
- 22.- Sinco, A.A.; Ambriz, F.R.; Avilés, M.A.; Peralvo, R.J. y Pizzuto, C.J.: Etiología de la anemia aplásica adquirida en doscientos casos. Rev. Méd. IMSS (México) 22:339, 1984.

- 23.- Linman, J.W. Hematology. "Physiologic, pathophysiologic and clinical principles". Cap. 9. pp 417-439. McMillan Publishing Co., Inc.; Nueva York, 1975.
- 24.- de Gruchy, G.C.: Drug-induced blood disorders. Cap. IV. pp 39-75. Blackwell Scientific Publications; Londres, 1975.
- 25.- Boggs, D.R. y Boggs, S.S.: The pathogenesis of aplastic anemia a defective pluripotent hematopoietic stem cell with inappropriate balance of differentiation and self replication. Blood 48:71-76, 1976.
- 26.- Leavell, B.S. y Thorup, O.A. Hematología. 4a, Cap. 6, pp 151-174. Nueva Editorial Interamericana; México, D.F., 1978.
- 27.- O'Gorman Hughes, D.W.: The varied pattern of aplastic anemia in childhood. Austr. Paed. J. 2:228-236, 1966.
- 28.- Sánchez-Medal, L.: Aplastic anemia. XV Congress of The International Society of Hematology; Jerusalem, 1974.
- 29.- Scott, J.L.; Cartwright, G.E. y Wintrobe, M.M.: Acquires aplastic anemia: an analysis of thirtynine cases and review of pertinent literature. Medicine 38:119, 1959.
- 30.- Dreyfus, B.; Sultan, C. y Rochant, H.: Drug treatment of chronic bone-marrow failure. pp 323-329. En: Hematopoietic agents. Vol I de la International Encyclopedia of Pharmacology and Therapeutics. Pergamon Press; Londres, 1971.
- 31.- Melnikov, N.N.: Chemistry of Pesticides. Residue Rev. 36:1-448, 1972.

- 32.- Fletcher, W. The pest war. pp 45-51; Billing & Sons, Ltd.; Londres, 1974.
- 33.- Brooks, G.T. Chlorinated insecticides. Technology and application. Vol. I, C.R.C. Press, Inc.; Cleveland , Ohio, 1974.
- 34.- Matsumura, F. Toxicology of insecticides. Plenum Press. Cap. 3, pp 47-101; Nueva York, 1975.
- 35.- Beroza, M., ed. Pest management with insect sex attractants and other behaviour-controlling chemicals. A.C.S. Symposium series # 23. American Chemical Society, Washington, D.C., 1976.
- 36.- Grasso, T.: The regulation of pesticides in Mexico. Residue Rev. 40:133-152, 1971.
- 37.- Matsumura, F. Toxicology of insecticides. Cap. 4, pp 105-163. Plenum Press; Nueva York, 1975.
- 38.- Welsh, J.H. y Gordon, H.T.: The mode of action of DDT. Fed. Proc. 5:112, 1946.
- 39.- Mullins, L.J.: Structure-toxicity in Hexachlorocyclohexane isomers. Science 122:118, 1955.
- 40.- Brown, H.D. y Rogers, E.F.: The insecticidal activity of 1,1-dianisylneopentane. J. Am. Chem. Soc. 72:1864, 1950.
- 41.- O'Brien, R.D. y Matsumura, F.: DDT: a new hypothesis of its mode of action. Science 146:657, 1964.

- 42.- Fréjaville, J.P.; Christoforov, B.; Bismuth, C. y Pebay-Peyroula, F.: Toxicologie Clinique. pp 463-466. Flammarion, Médecine-Sciences; París, Francia, 1975.
- 43.- Deichman, W.: Toxicology of DDT and related chlorinated hydrocarbon pesticides. J. Occup. Med. 14(4):285-292, 1972.
- 44.- Ludwig, D.M. y Cali, C.: The effect of DDT on the activity of cytochrome-oxidase. Ann. Entomol. Soc. Amer. 48:165, 1955.
- 45.- Witherspoon, F.G. y Wells, M.R.: Adenosine triphosphatase activity in brain, intestinal mucosa, kidney and liver cellular fractions of the red-eared turtle following in vitro treatment with DDT, DDD and DDE. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 14:537-544, 1975.
- 46.- WHO. Prevention of Cancer. WHO Tech. Rep. Ser. # 276; Ginebra, 1964.
- 47.- Vogel, E.: Investigations on the mutagenicity of DDT and the metabolites DDE, DDM, DDOM, DDA in Drosophila melanogaster. Mutat. Res. 16:157-164, 1972.
- 48.- Palmer, K.A.; Green, S. y Legator, M.S.: Cytogenetic effects of DDT and derivatives of DDT in cultured mammalian cell line. Toxicol. Appl. Pharmacol. 22(3):355-364, 1972.
- 49.- Legator, M.S.; Palmer, K.A. y Adler, T.D.: A colaborative study of in vivo cytogenetic analysis. Toxicol. Appl. Pharmacol. 24: 332-337, 1973.

- 50.- Innes, J.R.M.; Ulland, B.M.; Valenic, M.G.; Petrucelli, L.; Fishbein, L.; Hart, E.R.; Pallotta, A.J.; Bates, R.R.; Falk, H. L.; Gart, J.J.; Klein, M.; Mitchell, I. y Peters, J.: Biossay of pesticides and industrial chemicals for tumorigenicity in mice: A preliminary note. *J. Natl. Cancer Inst.* 42:1101, 1969.
- 51.- Ortega, P.: Light and electron microscopy of rat liver after feeding with DDT. *Fed. Proc.* 21(2):306, 1962.
- 52.- Kupfer, D.: Effects of some pesticides and related compounds on steroids function and metabolism. *Residue Rev.* 19:11-30, 1972.
- 53.- Moriarty, F., ed. Organochlorine insecticides persistent organic pollutants. Academic Press; Nueva York, 1975.
- 54.- Wasserman, M.; Wasserman, D.; Kedar, E. y Djavaherian, M.: Immunological and detoxication interaction in p,p'-DDT fed rabbits *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 6(5):426-435, 1971.
- 55.- Sánchez-Medal, L.; Castanedo, J.P. y García-Rojas, F.: Insecticides and aplastic anemia. *New Eng. J. Med.* 269:1365-1367, 1963.
- 56.- Jedlicka, V.L.; Hermanska, Z. y Smida, I.: Paramyeloblastic leukemia appearing simultaneously in two blood cousins after simultaneous contact with gammexane (hexachlorocyclohexane). *Acta Med. Scand.* 161(6):447-451, 1958.
- 57.- Danopolus, E.; Melissinos, K. y Katsas, G.: Serious poisoning by hexachlorocyclohexane *Arch. Indust. Hyg.* 8:582, 1953.
- 58.- Friberg, L. y Martensson, J.: Case of pamyelophthisis after exposure to chlorophenothane and benzene hexachloride. *Arch. Indust. Hyg. Occup. Med.* 8:166, 1953.

- 59.- Marchand, M.; Dubrulle, P. y Goudemand, M.: Agranulocytose chez un sujet soumis a des vapeurs d'hexachlorocyclohexane. Arch. Mal. Prof. 17:256, 1956.
- 60.- Albahary, C.; Dubrisay, J. y Guerin, A.: Pancytopenie rebelle au lindane (Isomere γ de l'hexachlorocyclohexane). Arch. Mal. Prof. 18:687, 1957.
- 61.- Wodliff, H.J.; Connor, P.M. y Scopa, J.: Aplastic anemia associated with insecticides. Med. J. Aust. 1:628, 1966.
- 62.- Loge, J.P.: Aplastic anemia following exposure to benzene hexachlorine (lindane). J. Am. Med. Assoc. 193(2):104-106, 1965.
- 63.- Best, W.R.: Drug-associated blood dyscracias. J. Am. Med. Assoc. 185:286, 1963.
- 64.- Reynoso, E.; Martínez, R. y Argáez, M.: Hipoplasia de la médula ósea. Revisión de 85 casos. Rev. Med. IMSS 7:190, 1968.
- 65.- Sánchez-Medal, L. y Dorantes, S.: Aplastic anemia. Paeditrician 3:74, 1974.
- 66.- Quesada, V.N.: Tratamiento de las anemias aplásticas. Tesis de Doctorado. Universidad de San Marcos, Lima, Perú, 1972.
- 67.- Reynoso, E.; Mendoza, C. y Rivas, R.: Efectos nocivos de los insecticidas. Rev. Med. IMSS IX(3):222-230, 1970.
- 68.- Laws, E.; Curley, A. y Biros, F.: Men with intensive occupational exposure to DDT. A clinical and chemical study. Arch. Environ. Health 15:766-775, 1967.

- 69.- Vega López, M.A.: Antígenos HLA (A,B,C) en pacientes con anemia aplásica. Tesis Profesional. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, U.N.A.M., México, D.F., 1982.
- 70.- Nebert, D.W.; Levitt, R.C.; Jensen, N.M.; Lambert, G.H. y Felton, J.S.: Birth defects and aplastic anemia: Differences in polycyclic hydrocarbon toxicity associated with the Ah locus. Arch. Toxicol. 39:109-132, 1977.
- 71.- Zach, E.; Shafrir, E.: Composition of bone marrow adipose tissue in relation to body fat depots in various species. Isr. J. Med. Sci. 10:1541, 1974.
- 72.- Jonezyk, H.; Rudowsky, W.; Traczyk, Z.; Klawe, Z. y Arczynska, E: Dalsze badania nad zaro artoscia DDT, jego metabolitow oraz beta i gamma HCH we krwi, Szpiku i tkance tluszczowej wnieltoiyh zespolach hematologiczrych. Pol. Tyg. Lek. 30:46, 1975.
- 73.- Burke, I., ed. Pesticide Analytical Manual. Vol. 1. Cap. 1, Sección 121.1, pag 3, U.S.H.E.W. Food and Drug Administration, Washington, D.C., 1971.
- 74.- Analytical Methods for Pesticides. Food Laboratory, Dept. of Agriculture, Prov. de Alberta, Edmonton, Canadá. Comunicación personal, 1976.
- 75.- Vega, P.: Determinación de residuos de plaguicidas organoclorados en leches maternas y otras leches procedentes de la Región Lagunera. Tesis Profesional. Instituto Tecnológico Regional de la Laguna, Torreón, Coah., 1977.

- 76.- Hernández, R.; Raymond, H. y Axelrod, L.R.: Standardization of silicic acid for chromatography. *Analytical Chemistry* 33(3):370-373, 1961.
- 77.- Moddes, R.: Activation studies on Florisil. *J. Assoc. Off. Analyt. Chem.* 44(2):169-170, 1961.
- 78.- Albert, L. y Reyes, R.: Plaguicidas organoclorados II. Contaminación de algunos quesos mexicanos por plaguicidas organoclorados. *Rev. Soc. Quím. Mex.* 22(2):65-72, 1978.
- 79.- Bowes, G. y Lewis, J.: Extraction of polychlorinated byphenyls: Evaluation of a column technique applied to polar bear and seal tissue. *J. Assoc. Off. Analyt. Chem.* 57:138-144, 1974.
- 80.- Wyllie, J.; Gabica, J. y Benson. W.: Organochlorine pesticide residues in serum and biopsed lipoid tissue. *Pest. Monit. J.* 6:84-88, 1972.
- 81.- Mes, I. y Campbell, D.: Extraction efficiency of polychlorinated biphenyl organochlorine pesticides and phtalate esters from human adipose tissue. *Bull. Environ. Cont. Toxicol.* 16(1):53-60, 1976.
- 82.- Dale, W.; Curley, A. y Cueto, C.: Hexane extractable chlorinated insecticides in human blood. *Life Sci.* 5:47, 1966.
- 83.- Simmons, H.J. y O'Tatton, J.G.: Improved gas chromatographic systems for determining organochlorine pesticides residues in wildlife. *J. Chrom.* 27:253-255, 1967.

- 84.- Wasserman, M.; Tomatis, L.; Wasserman, D.; Day, E.G.; Groner, Y.; Lazarovici, S. y Rosenfeld, D.: Epidemiology of organochlorine insecticides in adipose tissue of israelis. Pest. Monit. J. 8(1): 1-7, 1974.
- 85.- Casarett, L.J.; Fryer, G.C.; Yauger, W.L. y Klemmer, H.W.: Organochlorine pesticide residues in human tissues-Hawaii. Arch. Environ. Health 17:306-311, 1968.
- 86.- Griffith, F.D., Jr. y Blanke, R.V.: Pesticides in people. Blood organochlorine pesticide levels in Virginia residents. Pest. Monit. J. 8:219-223, 1975.
- 87.- Warnick, S.L.: Organochlorine pesticide levels in human serum and adipose tissue, Utah-Fiscal, years 1967-71. Pest. Monit. J. 6:9-13, 1972.
- 88.- Davies, J.E.; Edmundson, W.F.; Scheider, N.J. y Cassady, J.C.: Problems of prevalence of pesticide residues in humans. Pest. Monit. J. 2:80-85, 1968.
- 89.- Brewerton, H.V. y McGrath, H.J.W.: Insecticides in human fat in New Zealand. N.Z.J. Sci. 10:486-492, 1967.
- 90.- Kadis, V.W.; Breitkreitz, W.E. y Jonansson, O.J.: Insecticide levels in human tissues of Alberta residents. Can. J. Public. health 61:413-416, 1970.
- 91.- Dale, W.E.; Copeland, F. y Hayes, E.J., Jr.: Chlorinated insecticides in the body fat of people in India. Bull. WHO 23:471-477, 1965.
- 92.- Thienas, H.; Clinton, A. y Haley, J.T.: Clinical Toxicology. 5a. edición. L.E.A. & Febiger; Filadelfia, 1972.

APENDICE I

Abreviaturas y fórmulas usadas en el texto.

- AA - Anemia aplástica
- A.C. - antes de Cristo
- CGL - Cromatografía gas-líquido
- CS₂ - Disulfuro de carbono
- 2,4-D - Acido 2,4-diclorofenoxiacético, herbicida.
- p,p'-DDA - DDA, ácido diclorodifenilacético, metabolito del DDT que se elimina por orina.
- EH - Epóxido de heptacloro, metabolito del insecticida organoclorado heptacloro.
- EPN - o-etil-o,p-nitrofenilbencenotiofosfato, plaguicida organofosforado.
- HCH - Hexaclorociclohexano, plaguicida organoclorado.
- HCN - Acido cianhídrico.
- MOI - médula ósea de cresta ilíaca
- MOT - médula ósea de tibia
- OMS - Organización Mundial de la Salud
- ppm - partes por millón, ug/g ó ug/ml.
- ppb - partes por billón, ng/g ó ng/ml.
- rpm - revoluciones por minuto
- S - suero
- TAA - tejido adiposo de abdomen
- TAG - tejido adiposo de glúteo
- US-EPA - Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos
- US-FDA - Agencia de Administración de Alimentos y Drogas de los Estados Unidos.