



0346
10
2eje.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MONITOREO DE DAÑO GENOTOXICO EN
TRABAJADORES DE UNA ESTACION DE
TRANSFERENCIA DE DESECHOS INDUSTRIALES
PELIGROSOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS
(BIOLOGIA CELULAR)**

P R E S E N T A :

ANA MARIA SALAZAR MARTINEZ

DIRECTORA DE TESIS: DRA. PATRICIA OSTROSKY-WEGMAN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Esta tesis se realizó en el Departamento de Genética y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la Universidad Nacional Autónoma de México bajo la dirección de la Dra. Patricia Ostrosky-Wegman.

Y con el apoyo de una beca de Intercambio Académico UNAM y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Un agradecimiento especial al Dr. Fernando Díaz-Barriga jefe del laboratorio de Toxicología de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por su ayuda para la realización de este estudio.

AGRADECIMIENTOS

A los miembros del Jurado, las Dras. Rosario Rodríguez, Sandra Gómez, Patricia Ramos y al Dr. Fabio Salamanca por sus valiosas sugerencias y observaciones a este trabajo.

A Maricha, Regi, Emilio y Luis Alonso por el apoyo que me brindaron, por asesorarme y enseñarme sus experiencias.

A Fernando Díaz-Barriga y Leticia Yáñez por su ayuda y motivación para seguir aprendiendo.

Al Dr. Miguel Angel Santos por sus consejos.

A mis compañeros de laboratorio por su apoyo y amistad.

A las Sras. Aurora Castillo y Silvia Santibañez por su ayuda.

Con especial cariño y admiración a Paty Ostrosky que me brindó la oportunidad, por sus enseñanzas, su apoyo y amistad.

DEDICATORIA

**Con todo mi amor y admiración
a quienes son mi fortaleza:
mis padres**

**A mis hermanos Abel, Francisco y
Alfonso con cariño.**

A Javier por su amor y apoyo.

INDICE

	Página
I RESUMEN	1
II INTRODUCCION	2
2.1. MARCADORES BIOLÓGICOS	
2.1.1. CONCEPTOS Y DEFINICIONES	2
2.1.2. MARCADORES DE EXPOSICION	3
2.1.3. MARCADORES DE EFECTO	4
2.1.4. MARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD	5
2.1.5. BIOMARCADORES EN EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR Y CANCER	6
2.1.6. USO DE MARCADORES BIOLÓGICOS PARA VALORAR LA GENOTOXICIDAD DE DESECHOS INDUSTRIALES	7
2.1.7. USO DE MARCADORES BIOLÓGICOS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A SUSTANCIAS PELIGROSAS	8
2.2. DESECHOS INDUSTRIALES PELIGROSOS	
2.2.1. DEFINICION DE DESECHO INDUSTRIAL	10
2.2.2. SITIOS PELIGROSOS POR LA PRESENCIA DE DESECHOS INDUSTRIALES	10
2.2.3. CONFINAMIENTOS PARA RESIDUOS INDUSTRIALES	11
2.2.4. LOS RESIDUOS PELIGROSOS A NIVEL MUNDIAL Y NACIONAL	12
2.2.5. IMPACTO DE LOS DESECHOS INDUSTRIALES SOBRE LA SALUD AMBIENTAL	13
2.3. EL CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS PARA EL ESTUDIO DE POBLACIONES EXPUESTAS	15
2.3.1. EL CICLO CELULAR DEL LINFOCITO	15
2.3.2. EVALUACION DEL DAÑO GENETICO Y DE LA PROLIFERACION CELULAR	17
2.3.2.1. Aberraciones cromosómicas	17
2.3.2.2. Intercambios de cromátidas hermanas	18
2.3.2.3. Proliferación celular	19
2.4. ESTACION DE TRANSFERENCIA "LA PEDRERA"	
2.4.1. ANTECEDENTES DEL SITIO PELIGROSO	21
2.4.2. EVALUACION DEL IMPACTO AMBIENTAL Y BIOMARCADORES DE EXPOSICION EN LOS TRABAJADORES DEL SITIO PELIGROSO	22

III PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24
IV HIPOTESIS	25
V OBJETIVOS	26
VI MATERIAL Y METODOS	
6.1. ESTUDIO POBLACIONAL	27
6.1.1. INDIVIDUOS A ESTUDIAR	27
6.2. DISEÑO EXPERIMENTAL	
6.2.1. TOMA DE MUESTRAS	27
6.2.2. CULTIVO DE LINFOCITOS	27
6.2.3. COSECHA	28
6.2.4. PREPARACION Y TINCION DE LAMINILLAS	28
6.3. ANALISIS DE MARCADORES DE GENOTOXICIDAD	
6.3.1. ANALISIS DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS	29
6.3.2. ANALISIS DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS	29
6.4. ANALISIS DE MARCADORES DE CITOTOXICIDAD	
6.4.1. ANALISIS DE LA CINETICA DE PROLIFERACION CELULAR	30
6.5. ANALISIS ESTADISTICO	30
VII RESULTADOS	32
VIII DISCUSION	34
IX CONCLUSIONES	38
X COMENTARIOS	39
XI REFERENCIAS	40
XII TABLAS	
XIII FIGURAS	

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Ejemplos de biomarcadores de dosis interna y de dosis biológicamente efectiva.
- Tabla 2. Ejemplos de biomarcadores de efecto biológico temprano.
- Tabla 3. Confinamientos de residuos sólidos industriales.
- Tabla 4. Incineradores para residuos sólidos industriales.
- Tabla 5. Plantas de tratamiento de residuos sólidos industriales peligrosos.
- Tabla 6. Rellenos industriales.
- Tabla 7. Lista de material que se recibió de Noviembre de 1990 a Mayo de 1991.
- Tabla 8. Cuestionario que se aplicó a los individuos testigo y expuestos.
- Tabla 9. Continuación del cuestionario.
- Tabla 10. Criterios para el análisis de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE).
- Tabla 11. Número y tipo de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos testigo y expuestos.
- Tabla 12. Promedio de la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos testigo y expuestos.
- Tabla 13. Número de células con aberraciones cromosómicas testigo y expuestos.
- Tabla 14. Promedios de la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos testigo y expuesto, agrupados en fumadores y no fumadores.

Tabla 15. Promedios de la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en trabajadores expuestos con antecedentes laborales a plaguicidas.

Tabla 16. Frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) observadas en el grupo expuesto

Tabla 17. Valores de células en primera (M1), segunda (M2) y tercera (M3) división e índice de replicación (IR).

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Relación entre los biomarcadores de susceptibilidad, exposición y efecto.
- Figura 2. Base conceptual del desarrollo de biomarcadores en epidemiología del cáncer.
- Figura 3. Descripción general de un cementerio industrial con los requerimientos mínimos de diseño.
- Figura 4. Desechos industriales peligrosos acumulados en los ecosistemas de México de 1900 al 2000.
- Figura 5. Formación de intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) en presencia de bromodesoxiuridina (BrdU) durante dos ciclos de duplicación del ADN.
- Figura 6. Incorporación de bromodesoxiuridina (BrdU) para el análisis de la cinética de proliferación celular(CPC).
- Figura 7. Trabajadores sin equipo de protección en la estación de transferencia.
- Figura 8. Aberraciones cromosómicas estructurales (ACE).
- Figura 9. Células con aberraciones por individuo.
- Figura 10. Aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos fumadores y no fumadores.
- Figura 11. Aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) con antecedentes laborales de exposición a plaguicidas.
- Figura 12. Aberraciones cromosómicas totales con relación a tiempo de exposición.
- Figura 13. Porcentaje de células dañadas con relación al tiempo de exposición.

I RESUMEN

El manejo inadecuado de los desechos industriales representa un peligro potencial para la salud del ser humano, de ahí que resulten relevantes los estudios de prevención. Los marcadores biológicos de genotoxicidad y de citotoxicidad sirven como indicadores tempranos de daño a la salud.

En el presente estudio se realizó un monitoreo en 12 individuos expuestos ocupacionalmente en un sitio de depósito para residuos industriales tóxicos y en 7 individuos testigo. Los biomarcadores que se determinaron fueron: aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y cinética de proliferación celular.

Los resultados encontrados no muestran efectos con respecto al intercambio de cromátidas hermanas y la cinética de proliferación celular, sin embargo, los trabajadores presentaron una frecuencia significativamente alta de rompimientos cromatídicos e isocromatídicos, cuya magnitud está relacionada con el tiempo de exposición.

Este trabajo sugiere sensibilidad diferencial de los marcadores que se evaluaron y que la determinación de biomarcadores de daño genotóxico puede ser un parámetro útil en la evaluación de riesgo ocupacional cuando se sospecha exposición de alto riesgo.

II INTRODUCCION

2.1. MARCADORES BIOLOGICOS

2.1.1. CONCEPTOS Y DEFINICIONES

Un biomarcador o marcador biológico es un indicador de que ha ocurrido una exposición tóxica (este indicio puede encontrarse a nivel molecular o celular), o de efectos adversos en la salud, o bien un indicador de susceptibilidad, por lo tanto, representan cambios en el organismo o en la célula que pueden ser medidos en los sistemas biológicos.¹⁻³ Es útil definir tres categorías de marcadores biológicos: de exposición a agentes químicos o físicos, de efectos de la exposición y de susceptibilidad (Fig. 1).

Un **marcador biológico de exposición** señala la presencia de una sustancia exógena o sus metabolitos, o el producto de una interacción entre un agente xenobiótico y alguna molécula blanco o célula, que puede ser medida dentro de un compartimento en el organismo.^{1,2}

Un **marcador biológico de efecto** es un indicador de una alteración bioquímica, fisiológica o genética, resultado de la exposición a un agente xenobiótico y que dependiendo de su magnitud es reconocida como un daño o como una enfermedad potencial o ya establecida.^{1,2} De este modo, se plantea que si se logra identificar la alteración cuando su magnitud es aún menor, estos marcadores sirven como señales de advertencia e indicadores tempranos de enfermedad y permiten determinar si un grupo de signos y síntomas conducen a una enfermedad o proceso patológico temprano, para así intervenir prudente y oportunamente antes de que el daño sea irreversible.

Un **marcador biológico de susceptibilidad** es un indicador de una limitación adquirida o inherente de un organismo para responder a la exposición a una sustancia xenobiótica.^{1,2} Se

propone a los biomarcadores de susceptibilidad como indicadores del incremento (o decremento) del riesgo en cualquier etapa de la progresión hacia la enfermedad. Son modificados por varios factores como los genéticos, inmunológicos u otras características fisis-patológicas del huésped que reflejan una susceptibilidad para la ocurrencia.

2.1.2. MARCADORES DE EXPOSICION

Se basan en mediciones farmacocinéticas, por lo que están influenciados por factores que afectan la absorción y distribución de un agente químico y sus metabolitos. Algunos marcadores biológicos de exposición, se unen específicamente a moléculas biológicas como en el caso de los aductos de ADN, los aductos de hemoglobina, y otras proteínas alteradas, que directamente señalan la presencia de la sustancia xenobiótica y su interacción con una macromolécula crítica.³⁻⁹

En esta clase de marcadores, se considera que la cantidad de material xenobiótico al que se somete un organismo, constituye un indicador o un marcador del nivel de exposición externa, mientras que la cantidad absorbida del xenobiótico en el organismo es un marcador de dosis interna y la cantidad que interactúa con el tejido blanco, es marcador de dosis biológicamente efectiva² (Fig. 1).

La absorción es una fase importante para estimar la interacción de una sustancia tóxica ambiental con el organismo, por lo cual se consideran algunos factores que modifican la absorción de un agente tóxico, tales como la concentración, la duración de la exposición y la naturaleza fisicoquímica del tóxico; otros factores que afectan significativamente la absorción o distribución del agente químico y sus metabolitos son las diferencias entre especies, las variaciones individuales en cuanto a sexo, edad y el estado de salud; además la dieta o el estado hormonal modifican la dosis absorbida, ya que alteran la motilidad intestinal, lo cual que influir en la absorción¹ (Tabla 1).

2.1.3. MARCADORES DE EFECTO

Se considera que un marcador de efecto biológico temprano, representa un evento que puede correlacionarse con el daño a la salud y tiene una posibilidad predictiva; mientras que un marcador de alteración estructural y/o funcional representa cambios biológicos más estrechamente relacionados con el desarrollo de la enfermedad. También la enfermedad clínica y el significado del pronóstico se representan por los biomarcadores² (Fig. 1).

La interacción directa del agente tóxico o su metabolito con la célula blanco es capaz de ocasionar daño biológico antes de que aparezca la enfermedad, estos cambios o alteraciones biológicas se identifican a través de los marcadores de efectos tempranos, ya sea a nivel genético, bioquímico o fisiológico.²

Los marcadores de efectos tempranos que caracterizan el daño genético, tienen relevancia particular dentro de la epidemiología, ya que permiten establecer el riesgo potencial de una exposición. Incluyen, aberraciones cromosómicas (AC), intercambios de cromátidas hermanas (ICHs), micronúcleos (MN), mutaciones génicas a nivel de los locus HPRT, HLA, glicoforina A, hemoglobina A, así como la medición de la reparación no programada de ADN y otras alteraciones en la estructura cromosómica, tales como los fragmentos polimórficos largos de restricción y la translocación de marcadores.^{3,10,11}

Recientemente se han identificado algunos cambios genéticos específicos como eventos moleculares críticos en la iniciación y desarrollo de muchos tipos de cáncer.^{3,5,12-14} Se considera que los biomarcadores más importantes en estos eventos son la activación de oncogenes, especialmente aquellos de la familia *ras*, y la inactivación de genes supresores de tumores (por ejemplo, p53) por mutaciones puntuales y/o deleciones cromosómicas. Si bien, se conoce que

algunos de estos cambios pueden ocurrir en tumores inducidos químicamente en animales experimentales, aún se está determinando el posible papel de los carcinógenos químicos en la generación de anomalías genéticas en cánceres humanos.³ Sin embargo, este tipo de marcadores de daño genético que son capaces de detectar respuestas biológicas tempranas, pueden ser útiles para correlacionar la exposición a carcinógenos con las etapas iniciales en los procesos de carcinogénesis (Tabla 2).

Los marcadores de efecto a nivel bioquímico y fisiológico comprenden por ejemplo, la inhibición de la actividad enzimática y la activación de receptores hormonales.²

La cinética de proliferación celular (CPC) en cultivos de linfocitos se ha propuesto como un marcador de citotoxicidad, que puede emplearse como un indicador temprano de daño celular y cuya sensibilidad se ha demostrado *in vivo* e *in vitro* para la exposición a arsénico.^{15,16}

2.1.4. MARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD

Algunos marcadores biológicos pueden indicar diferencias individuales o poblacionales, por ejemplo, las variaciones en los niveles de inmunoglobulinas, en la absorción o en el metabolismo, ya sea determinada genéticamente o inducida por factores ambientales. Asimismo la susceptibilidad individual es modificada por el estado nutricional del individuo, el papel del sitio blanco en la función general de todo el organismo, la condición del tejido blanco (por ejemplo la presencia de enfermedad actual o anterior) y la compensación por mecanismos homeostáticos durante y después de la exposición.¹⁷

En la última década se ha incrementado la atención hacia las diferencias individuales en la capacidad de metabolizar xenobióticos como un factor clave en la predisposición o susceptibilidad del riesgo de cáncer. Los marcadores que tienen interés particular en esta área son los polimorfismos

metabólicos de origen genético y ambiental¹⁸ como son la medición de la actividad de varias enzimas de diversas familias del citocromo p450 y de enzimas como glutatión-transferasas, acetil-transferasas, sulfo-transferasas, glucuronil-transferasas y peroxidasas.³ Otros polimorfismos genéticos se han desarrollado en el metabolismo de drogas y están siendo evaluados con relación a riesgo de cáncer, por ejemplo, la capacidad para metabolizar debrisoquinona (locus CYP2D6) y la activación transcripcional por 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (locus CYP1A1).¹⁹

2.1.5. BIOMARCADORES EN EPIDEMIOLOGIA MOLECULAR Y CANCER

El propósito principal de utilizar a los marcadores biológicos en la investigación de la salud ambiental es lograr identificar los estados tempranos de daño a la salud, ya que pueden representar señales de los eventos progresivos que ocurren entre una exposición ambiental y la enfermedad.^{1,2} Desde la exposición en el ambiente hasta el desarrollo de la enfermedad clínica, son descritos los marcadores biológicos (Fig. 2): de dosis interna, de dosis biológicamente efectiva, de efectos biológicos tempranos, de alteración estructural y/o funcional y de enfermedad clínica.

La base conceptual por medio de la cual la epidemiología molecular puede inferir el mecanismo basándose en el desarrollo de biomarcadores, y la manera en que se han relacionado con el proceso de carcinogénesis,³ se ilustra en la figura 2. Este diagrama muestra el paradigma de la carcinogénesis inducida por agentes químicos, donde la exposición a carcinógenos conduce a su absorción, activación metabólica, y subsecuente interacción covalente con el ADN y las proteínas, siendo la cuantificación de aductos de ADN y de proteínas un medio útil como marcador de dosis de exposición biológica efectiva.²⁰ No obstante, el patrón de comportamiento de los aductos se puede alterar por los procesos de reparación y variar en eficiencia con respecto al tipo celular, tejido y naturaleza del carcinógeno. Por otro lado, la replicación del ADN produce la fijación de mutaciones que dan lugar a los eventos iniciales de la transformación. Este efecto es posible identificarlo a través del uso de marcadores citogenéticos tradicionales, tales como el ICHs o los MN en leucocitos

de sangre periférica, o por medio de la detección de mutaciones específicas en locus genéticos, como HPRT, HLA, o glicoforinas en leucocitos y eritrocitos de sangre periférica. Mutaciones en los genes de *ras* y p53 es posible encontrarlas en las células tumorales en estadios avanzados, donde se asume que tienen un significado funcional importante en el proceso de tumorigénesis. La alteración de la proliferación celular, aunada a la expansión clonal de las células portadoras de la mutación, genera en el organismo el tumor maligno y la enfermedad clínica y las alteraciones genéticas tienen un origen diverso tales como mutaciones puntuales, amplificación génica, translocaciones, pérdida de alelos, y deleciones cromosómicas. El número de cambios genéticos que están involucrados no se conoce, como se sugiere con las flechas punteadas en el diagrama de flujo.³

2.1.6. USO DE MARCADORES BIOLÓGICOS PARA VALORAR LA GENOTOXICIDAD DE DESECHOS INDUSTRIALES

La demostración de que los desechos industriales pueden inducir efectos genotóxicos en las especies acuáticas y terrestres (incluyendo al hombre) ha estimulado la investigación en esta área.²¹

Para estudiar el potencial mutagénico de los desechos industriales, se emplean extensivamente los ensayos de mutagénesis los cuales utilizan bacterias como *Salmonella sp*^{22,23} y *Escherichia coli WP2*,²⁴ hongos como *Aspergillus nidulans* en estado haploide;²⁵ levaduras como *Saccharomyces cerevisiae*;²⁶ plantas como *Arabidopsis thaliana*,²⁷ y células de mamífero en cultivo para la prueba de HPRT,²⁸ además del ensayo de linfoma en ratón L5178Y.²⁹

La reparación del ADN se puede detectar por experimentos de síntesis no programada de ADN, en fibroblastos humanos en cultivo. Esta prueba no parece ser útil en el estudio de los desechos industriales, porque todos los trabajos realizados hasta ahora han dado resultados negativos o dudosos, aún cuando se obtuvieron datos positivos en otros sistemas de prueba.³⁰

Las pruebas *in vivo* a corto plazo también se han usado para evaluar la genotoxicidad de muestras de residuos industriales, pero generalmente son más complejas y costosas que las investigaciones *in vitro*. Se incluyen entre los ensayos *in vivo* a corto plazo la detección de MN en eritrocitos en médula ósea de organismos acuáticos y terrestres y el análisis de la formación de aductos en roedores.²¹

El sistema de transformación morfológica de colonias en células de mamífero, mide cambios que presumiblemente indican daño preneoplásico³¹, sin embargo, se plantea que no es útil para evaluar desechos industriales porque en un estudio donde algunas muestras que fueron mutagénicas y clastogénicas en otros sistemas de prueba, no indujeron transformación.³²

Los ensayos de laboratorio permiten relacionar la dosis de exposición con la magnitud de la respuesta, este tipo de consideraciones es más difícil de investigar cuando se estudian personas expuestas y aún más, cuando la exposición humana es a desechos industriales cuya composición es una mezcla compleja.

2.1.7. USO DE MARCADORES BIOLÓGICOS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A SUSTANCIAS PELIGROSAS

En los últimos años, se ha propuesto el empleo de los marcadores biológicos en el estudio de individuos expuestos ocupacional o ambientalmente a residuos tóxicos y se ha demostrado la utilidad de éstos en el monitoreo de trabajadores en contacto con productos químicos en sitios de depósito de desechos peligrosos.³³⁻³⁷

Con base en el desarrollo de marcadores nuevos, se ha empleado la velocidad de la conducción nerviosa como un marcador de efecto neurotóxico potencial, en personas expuestas a mezclas en algunos sitios de depósito de desechos.³⁸ Buffler y colaboradores³³ identificaron

ciertos síntomas dermatológicos y neurológicos que podrían servir como marcadores de exposición a compuestos químicos tóxicos, o bien, como indicadores tempranos de efecto.

Los marcadores citogenéticos como ICHs y AC se han empleado para evaluar a los residentes del Love Canal, Nueva York,³⁹ pero el uso de estos marcadores en estudios epidemiológicos en sitios de desechos peligrosos, es limitado, dado que los marcadores de exposición por su accesibilidad y relativamente fácil interpretación, son más usados que los marcadores de efecto. Por otra parte, los marcadores de susceptibilidad no han sido evaluados en estudios epidemiológicos de sitios de desechos peligrosos.²

2.2. DESECHOS INDUSTRIALES PELIGROSOS

2.2.1. DEFINICION DE DESECHO INDUSTRIAL

Los desechos industriales comprenden los residuos aislados, mezclados o en solución, sólidos, líquidos o en forma de lodos que son generados como subproductos de un proceso industrial, así como los residuos resultantes de operaciones unitarias, o de la limpieza de maquinarias e instalaciones, y que por sus características fisicoquímicas y toxicológicas representan un peligro para la salud humana, los ecosistemas o la propiedad.⁴⁰ Sin embargo, también pueden surgir residuos peligrosos de las actividades de extracción y producción de materias primas o bien derivar de la actividad que se lleva a cabo dentro del hogar.

Entre los residuos que genera el sector industrial deben distinguirse aquellos establecidos como peligrosos según el criterio de la Ley General de Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente (LGEEPA). La LGEEPA define a los residuos peligrosos como "todos aquellos residuos, en cualquier estado físico, que por sus características corrosivas, tóxicas, venenosas, reactivas, explosivas, inflamables, biológicas, infecciosas o irritantes, representen un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente".⁴¹

2.2.2. SITIOS PELIGROSOS POR LA PRESENCIA DE DESECHOS INDUSTRIALES

Se considera que un sitio peligroso es el lugar donde de una manera intencional o involuntaria se arrojan o dispersan productos químicos que pueden afectar a la salud humana o al ecosistema. Pero no sólo estas sustancias químicas pueden ser nocivas para la salud humana, por lo que se aclara que pueden existir sitios peligrosos por la presencia de agentes físicos o biológicos.⁴⁰

Los residuos industriales peligrosos constituyen un riesgo potencial en todas las etapas de su ciclo, durante su generación, recolección y transporte, almacenamiento o en los lugares de recepción, así como su tratamiento o disposición final. Por lo tanto, una población en riesgo,

afectada por un sitio peligroso, será aquella aledaña a la zona (entierro, planta de tratamiento para sustancias peligrosas, almacenes abandonados, etc.) o la que puede verse afectada por el transporte de los contaminantes.⁴²

2.2.3. CONFINAMIENTOS PARA RESIDUOS INDUSTRIALES

Los agentes químicos que se producen en la industria han participado en el mejoramiento de las condiciones de vida para el ser humano, pero también es una realidad que muchos de los subproductos o residuos que resultan de los procesos de la transformación industrial son indeseables por no tener una utilidad inmediata y/o por ser altamente tóxicos.

El reconocimiento del riesgo que representa el manejo inadecuado de estos residuos indeseables llevó a la creación de lugares especiales para la disposición final de desechos industriales que no tienen un uso comercial actual, y que por su peligrosidad tampoco se pueden abandonar en el ambiente natural. Las siguientes estrategias son las que se han empleado para la disposición final de las sustancias peligrosas: 1) confinamiento en cementerios industriales 2) lagunas superficiales, 3) inyección a pozos profundos, 4) disposición en minas abandonadas y 5) tiraderos al mar.⁴³

Un cementerio industrial consiste en el entierro controlado de residuos sólidos industriales en celdas o zanjas (Fig. 3), diseñado para evitar fugas al ambiente, con membranas plásticas que eviten posibles escurrimientos y con sistemas de monitoreo y de recuperación de lixiviados,⁴⁰ además debe estar localizado en un lugar debidamente identificado como tal, es decir, debe ser registrado como un lugar peligroso para evitar que las generaciones futuras se expongan accidentalmente a los residuos confinados en estas zonas. Este tipo de tecnología para la disposición final de residuos peligrosos es la más empleada, aunque debe tomarse en consideración que ningún método es totalmente seguro, pues siempre existe el riesgo de que haya fugas al ambiente.

2.2.4. LOS RESIDUOS PELIGROSOS A NIVEL MUNDIAL Y NACIONAL

A nivel mundial se producen cada año de 325 a 375 millones de toneladas de desechos industriales peligrosos.⁴⁴ Sin embargo, no sólo es importante conocer cuanto se genera, sino también que cantidad de ese desecho se almacena o se trata adecuadamente.

Una idea del problema la da el caso de los Estados Unidos donde, más de 384 millones de toneladas de desechos se generan anualmente en la industria, de las cuales aproximadamente 275 millones de toneladas se clasifican como residuos peligrosos.^{21,44} Se considera que desde finales de los años cincuentas se han almacenado inadecuadamente más de 750 millones de toneladas de desechos industriales peligrosos en 30 a 50 mil sitios considerados como no controlados y/o clandestinos.⁴⁵

En cuanto a los residuos peligrosos en México la situación es relativamente la misma que en los Estados Unidos, ya que si bien se generan cada año cerca de 5 millones de toneladas de residuos industriales peligrosos, únicamente se tiene la capacidad de tratar o almacenar adecuadamente un 30%.⁴⁰ El resto se encuentra contaminando ríos, desiertos, barrancas, basureros municipales y traspatios de industrias. Según cifras oficiales en el país se producen cerca de 450 mil toneladas diarias de residuos industriales; de éstas 337.5 mil corresponden a la minería, 81 mil a los procesos químicos y 31.5 mil a la agroindustria. De ese total se estima que 14.5 mil toneladas diarias son residuos peligrosos.⁴¹

El país cuenta con 10 confinamientos de residuos sólidos industriales, de los cuales 5 operan actualmente, siendo tres para no peligrosos y dos para peligrosos (Tabla 3). Además existen dos incineradores privados y uno público (Tabla 4); 14 plantas de tratamiento de residuos peligrosos (Tabla 5) y cuatro rellenos industriales (Tabla 6).⁴¹

2.2.5. IMPACTO DE LOS DESECHOS INDUSTRIALES SOBRE LA SALUD AMBIENTAL

Cuando los agentes tóxicos industriales se tratan y depositan inadecuadamente ponen en peligro la salud humana y el ambiente. Puesto que la salud humana no pueden concebirse sin considerar al medio y su constante interacción con el hombre, es indudable la importancia que en este proceso tienen el acceso al agua potable, el manejo adecuado de las aguas residuales, la disposición correcta de basura y excreta o el control de la fauna nociva y de la contaminación biológica, física y química del ambiente. De especial interés para la evaluación del impacto del ambiente en la salud, es integrar la información de las enfermedades crónico-degenerativas propias de las últimas décadas de la vida, generalmente asociadas con la residencia en zonas urbanas e industriales, como son la hipertensión arterial, la diabetes mellitus y el cáncer.

Una propiedad de los desechos industriales peligrosos es su carácter persistente y acumulativo; esto implica que cada año las sustancias peligrosas se suman a las emisiones de los años anteriores, en consecuencia, las exposiciones humanas son más frecuentes y la naturaleza se ve cada vez más afectada.⁴⁰ En México se ha calculado la cantidad acumulada de residuos industriales peligrosos en su ecosistema desde el año 1900 al 2000 en donde se nota que a partir de la década de los 70 el incremento ha sido desmesurado (Fig. 4).

Dada esta situación, en los últimos años se presentan frecuentemente las evidencias sobre los efectos adversos en la salud humana por el mal manejo de productos y residuos peligrosos, así como por la exposición a contaminantes ambientales, lo cual ha dado lugar a "accidentes" en los que han muerto o enfermado un considerable número de personas.^{33,34} Sin duda, algunos de los casos que alertaron al mundo entero sobre la peligrosidad que representa el manejo inadecuado de desechos industriales fue el caso de Minamata, Japón, en donde se provocó el envenenamiento de una población de pescadores por ingestión de pescado contaminado con mercurio vertido a la Bahía de Minamata en descargas de aguas residuales sin tratamiento;⁴⁶ o en Estados Unidos de América

en Love Canal en N.Y. y en Lekkerkerk en Holanda, en donde el entierro de residuos industriales en zonas que posteriormente fueron urbanizadas, produjo problemas reproductores en diversas familias de la comunidad que se manifestaron como abortos, bajo peso al nacer y otras alteraciones.⁴⁷ Eventos semejantes han ocurrido en muchos más países, y por supuesto México no es la excepción.⁴⁰

Se conocen bien los efectos inmediatos de las exposiciones humanas ocupacionales, ambientales o accidentales, que van desde dolores de cabeza, irritaciones pulmonares y dérmicas, hasta daño serio en el funcionamiento hepático y del sistema nervioso.^{33,48} Sin embargo, los efectos a largo plazo son menos conocidos aunque existen evidencias de daño genotóxico cuya consecuencia en la salud se plantea como cáncer, alteraciones embrionarias, fetales y anomalías reproductoras; de hecho, este tipo de alteraciones se han observado en poblaciones que viven cerca de depósitos de desechos peligrosos, como el incremento en la incidencia de cáncer gastrointestinal,^{45,49} cáncer de vejiga,^{45,50} anomalías reproductoras^{47,51,52} y malformaciones congénitas.⁵¹

Cuando la exposición ha tenido lugar durante mucho tiempo y a bajas concentraciones de mezclas de agentes tóxicos, los disturbios en la salud de los individuos expuestos pueden tardar años en manifestarse o confundirse a veces con afecciones comunes, o bien provocar equivocación sobre su origen, por lo que es difícil definir con precisión la contribución de las sustancias peligrosas. Debe también considerarse que la interacción de los compuestos que forman los desechos industriales puede generar poderosos agentes tóxicos, y que en ausencia de datos sobre los efectos de las mezclas complejas, sólo puede predecirse su riesgo a partir del conocimiento de los peligros particulares de cada uno de los componentes de los desechos industriales.^{4,53}

2.3. EL CULTIVO DE LINFOCITOS HUMANOS PARA EL ESTUDIO DE POBLACIONES EXPUESTAS

Con los estudios epidemiológicos es posible detectar agentes ambientales con potencial mutagénico y/o carcinogénico pero, este tipo de investigaciones son costosas y los resultados se obtienen después de que las poblaciones han estado en contacto con un agente determinado, y el daño se ha presentado. Es por esto que se buscan sistemas que sean capaces de predecir el potencial mutagénico o carcinogénico de agentes físicos y químicos a los cuales el ser humano puede estar expuesto accidental, ocupacional o terapéuticamente.

Debido a la fácil obtención de una muestra de sangre, el cultivo de linfocitos humanos ha sido útil para evaluar la actividad genotóxica de sustancias químicas y de radiaciones,⁵⁴⁻⁵⁷ por lo que se ha utilizado en la mayoría de los estudios concernientes al monitoreo de poblaciones expuestas. Además es un sistema adecuado para detectar sustancias que afectan a la proliferación celular.^{15,58-60}

2.3.1. EL CICLO CELULAR DEL LINFOCITO

Se conoce como ciclo celular a los procesos que ocurren desde la formación de una célula hasta su propia división en dos células idénticas.

El estudio del ciclo celular permitió establecer dos etapas, por una parte, en la que la célula se divide originando dos células descendientes, caracterizada por la división del núcleo o mitosis y la división del citoplasma o citocinesis; por otro lado, en la que la célula no tiene cambios morfológicos aparentes y comprende el espacio entre dos divisiones celulares sucesivas denominado interfase, el cual incluye los periodos: G₀, G₁, S y G₂.⁶¹

La fase G₀ se considera una etapa de "reposo", el contenido de ARN (ácido ribonucleico) es bajo, y se incrementa cuando la célula es inducida a proliferar. Se ha demostrado que los niveles de calmodulina (proteína reguladora de enzimas intracelulares sensibles a calcio), se elevan cuando la célula entra en G₀, mientras disminuyen cuando la célula es inducida a proliferar para entrar a G₁.⁶²

El período G₁ es generalmente el más variable en duración (1 a 9 horas), dependiendo del tipo celular, por ejemplo en los tejidos de renovación rápida, cuyas células están constantemente en ciclo, la etapa G₁ es corta, se caracteriza por la síntesis de proteínas histonas en pequeñas cantidades; al final de este período nuevamente se elevan los niveles de calmodulina; aparentemente los eventos cruciales que controlan la regulación del crecimiento celular ocurren en esta fase.⁶²

En la fase S se duplica el material genético y se sintetizan proteínas histonas por un lapso de 6 a 8 horas. La duplicación del ADN se realiza simultáneamente en los diferentes cromosomas y segmentos de un mismo cromosoma en unidades llamadas replicones.

El tiempo de duración de G₂ es de 2 a 6 horas y en ésta la célula se prepara para la mitosis, se caracteriza por una gran condensación de la cromatina.⁶¹

La mitosis tiene un tiempo de duración aproximado de una hora y corresponde a la división celular propiamente dicha. Consta de varias etapas: profase, metafase, anafase y telofase,⁶¹ en el estadio de metafase es posible observar la estructura de los cromosomas deteniendo la división celular con colcemida o colchicina. La proporción de células que se encuentran en metafase es un indicador de la actividad proliferante del cultivo y se conoce como Índice Mitótico (IM).⁶³

2.3.2. EVALUACION DE LA PROLIFERACION CELULAR Y DEL DAÑO GENETICO

2.3.2.1. Aberraciones cromosómicas

Desde la observación de Moorhead y colaboradores⁶⁴ de que los linfocitos de sangre periférica pueden ser observados en metafase cuando su división es estimulada *in vitro* con un mitógeno como la fitohemaglutinina (PHA), este sistema ha sido útil para obtener datos sobre la inducción de aberraciones cromosómicas en individuos expuestos a radiación y agentes químicos;⁶⁵ además es un ensayo que proporciona información sobre exposiciones potencialmente clastogénicas.

El daño al ADN inducido por agentes químicos en linfocitos no cicantes no se transforma en aberraciones hasta que las células sean estimuladas *in vitro*, inicien su ciclo, y comiencen la duplicación del ADN. Dado que la alteración puede ser reparada en las células en G₀, así como durante G₁, la frecuencia de aberraciones no será necesariamente proporcional al daño inducido al ADN sino más bien al que se mantiene en el momento de la duplicación, de modo que para la mayoría de los agentes químicos, sólo una proporción del daño inducido al ADN se convierte en aberraciones durante la duplicación.⁶⁶

Los mecanismos de formación de ICHs y de AC son diferentes, la mayoría de los estudios de poblaciones humanas expuestas a sustancias químicas no presentan una correlación entre las frecuencias de AC y de ICHs,⁶⁷ siendo comúnmente sólo uno de ellos positivo.⁶⁸⁻⁷⁰ Sin embargo, ambos marcadores de efecto genotóxico coinciden en provocar alteraciones en el ADN y en ser suficientemente sensibles para detectar exposición a mutágenos y carcinógenos químicos, de ahí que se recomiende su análisis en este tipo de estudios ya que pueden proveer información complementaria.

2.3.2.2. Intercambios de cromátidas hermanas

Los ICHs son el resultado de rompimientos y reuniones de material genético en sitios aparentemente homólogos de dos cromátidas del mismo cromosoma.

El fenómeno de ICHs fue descrito por primera vez utilizando timidina tritiada.⁷¹ Más tarde se desarrolló la técnica de fluorescencia más Giemsa que se basa en la incorporación de un átomo pesado y polarizable en el ADN, el bromo (Br), en la forma de un análogo de la timidina, la bromodesoxiuridina (BrdU) y que consiste en tratar el material con el fluorocromo Hoechst 33258, exponer a la excitación de la luz ultravioleta y teñir con Giemsa; hoy en día este método es el más empleado porque tiene la suficiente resolución para la cuantificación de los intercambios, es más sencillo y evita trabajar con isótopos radioactivos.⁷²

Después de un ciclo de duplicación en presencia de BrdU ambas cromátidas de cada cromosoma contienen ADN sustituido en una sola hebra (unifilar) y todos los cromosomas se observarán oscuros, después de un segundo ciclo de duplicación, el ADN de una cromátida de cada cromosoma está sustituido con BrdU en ambas hebras (bifilar) mientras la otra cromátida permanece unifilarmente sustituida, en este caso todos los cromosomas presentan una cromátida más oscura que la cromátida hermana, mostrando ocasionalmente algunos segmentos simétricos entre las cromátidas intercambiadas, es en este tipo de células donde se cuantifica el número de ICHs (Fig. 5).

El mecanismo molecular por el cual se originan los intercambios no se conoce, aunque está documentado que se producen durante la duplicación del ADN.⁷³ Algunas hipótesis han involucrado la mecánica de este proceso en la formación de los intercambios.⁷⁴⁻⁷⁷

Existen estudios que indican que los ICHs son inducidos eficientemente por sustancias que provocan aductos covalentes con el ADN, o que interfieren con el metabolismo de los precursores del ADN o con la reparación.⁷⁸⁻⁸² Algunos trabajos muestran una correlación entre el incremento en la frecuencia de ICHs y la presencia de mutaciones génicas,^{83,84} en individuos fumadores^{85,86} y expuestos a quimioterapia;⁸⁷ en los adultos se ha observado que no existe relación entre la frecuencia de ICHs en linfocitos y la edad.^{88,89} Cohen y colaboradores⁹⁰ sugieren que los factores genéticos pueden desempeñar un papel importante en la frecuencia basal de ICHs. Debido a los hallazgos encontrados esta prueba se ha utilizado en los estudios de genética toxicológica y algunos estudios han mostrado que es un ensayo con gran sensibilidad en el monitoreo de poblaciones para detectar exposición ocupacional a mutágenos y/o carcinógenos químicos.⁹¹⁻⁹⁴

2.3.2.3. Proliferación celular

La incorporación en el ADN de precursores marcados radioactivamente como la timidina tritiada es un método útil para evaluar la CPC. En la actualidad el empleo de timidina tritiada se considera una técnica clásica para estudiar los efectos citotóxicos de agentes químicos.⁹⁵

Otra técnica que permite determinar la historia duplicadora de la población celular en estudio a través de los patrones de diferenciación de las cromátidas de cada cromosoma, es la que emplea la incorporación de un análogo de la timidina, la BrdU y es el mismo método para el análisis de ICHs.

Al ser cultivadas las células en presencia de BrdU, después de un ciclo de duplicación, en dos cromátidas del cromosoma se sustituirá una sola de las cadenas de la doble hélice (unifilar) y los cromosomas adquieren una tinción homogénea; en el segundo ciclo de duplicación, a consecuencia de la duplicación semiconservadora del ADN, se observan los cromosomas con cromátida clara y una oscura, ya que la cromátida clara será sustituida bifiliaramente con BrdU y la oscura permanecerá sustituida unifiliaramente; en la siguiente división celular, el número de cromosomas que presentan

diferenciación entre sus cromátidas se reducirá a la mitad, el resto presentará ambas cromátidas tenuemente teñidas (Fig. 6). En las divisiones subsecuentes la proporción de la coloración clara con respecto de la oscura, se va haciendo mayor conforme se presentan las divisiones celulares. Por lo tanto, es posible la identificación de células en metafase que se han duplicado una, dos o más veces en un tiempo de cultivo.

Se ha determinado que la CPC en el cultivo de linfocitos puede variar en función de las condiciones del cultivo,^{96,97} de la edad de los donadores,^{98,99} así como del estado de salud de los mismos.¹⁰⁰⁻¹⁰³

La CPC ha mostrado ser útil para evaluar poblaciones expuestas a sustancias químicas¹⁵, a contaminantes ambientales,¹⁰⁴ a plaguicidas,¹⁰⁵ y a infecciones parasitarias.¹⁰⁶ También la CPC puede ser alterada por la exposición de linfocitos *in vivo* o *in vitro* a fármacos administrados experimental o terapéuticamente.¹⁰⁷⁻¹¹⁰

Se ha investigado la posible influencia del proceso maligno sobre la cinética de proliferación de los linfocitos de personas que no han sido sometidas a terapia y no se encuentran diferencias con respecto a los testigos en pacientes con cáncer esofágico¹¹¹ y cáncer de mama¹¹²; sin embargo, en otro estudio se encontraron cambios en pacientes con cáncer ovárico¹¹³ y adenoma y cáncer de colon.¹¹⁴ Además, el tratamiento con drogas antineoplásicas *in vitro* es capaz de disminuir la respuesta mitogénica de los linfocitos.⁶⁰

2.4. ESTACION DE TRASFERENCIA PARA RESIDUOS PELIGROSOS "LA PEDRERA" LOCALIZADA EN GUADALCAZAR, SAN LUIS POTOSI

2.4.1. ANTECEDENTES DEL SITIO

En el municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí, la empresa denominada "Confinamiento Técnico de Residuos Industriales S.A. de C.V." instaló una estación de transferencia para residuos industriales peligrosos, la cual fue previamente autorizada por la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología (SEDUE) ahora SEDESOL (Secretaría de Desarrollo Social), con la perspectiva de que en un futuro se convirtiera en un confinamiento controlado. La empresa inició operaciones en Noviembre de 1990, y hasta Mayo de 1991 recibió un volumen de 13,876 toneladas de residuos peligrosos (Tabla 7). Estos desechos tóxicos contenidos en aproximadamente 60 mil tambos, sacos y material a granel, se encontraban al aire libre mientras se terminaban de construir las celdas para el resguardo del material. 115,116

La población más cercana al sitio es "El Huizache" con aproximadamente 700 habitantes (a 4 Km. gradiente abajo). La geografía es árida y las temperaturas pueden superar los 35 °C con un promedio de lluvia de 274 mm anuales. Junto al área de almacenamiento de residuos pasa el arroyo "La Pedrera", que es intermitente; en época de lluvias, abastece a "El Huizache". Los pozos profundos más cercanos se localizan 11 y 15 Km. gradiente abajo. El subsuelo del sitio es arcilloso y en diferentes exploraciones los resultados fueron negativos en la búsqueda de agua; éstas se han realizado a profundidades de 200 m dentro de la estación de transferencia y de 300 m a 2 Km. fuera de ésta. No obstante, según la carta hidrológica de la zona en el ejido de "El Huizache" existe una zona con probabilidad de encontrar agua profunda, de ser esto cierto, una de las fuentes intermitentes de recarga sería el arroyo "La Pedrera". En la zona hay escasa actividad agrícola y toda es de temporal; los campos más cercanos están a 2 Km. gradiente abajo. La flora es típica de

las zonas áridas, siendo aprovechables las maderas de la palma, lechuguilla y el huizache. Abundan los conejos y otras especies menores.¹¹⁵

En el mes de Mayo, cuando todavía no se concluían las obras de construcción de las celdas donde sería almacenado el material tóxico, se presentaron lluvias que provocaron escurrimiento y derrame del material confinado, el área de tambos y celdas en construcción se inundó, y además se formó una corriente de agua que pasó por el sitio y llegó hasta el arroyo "La Pedrera".¹¹⁵

2.4.2. EVALUACION DEL IMPACTO AMBIENTAL Y BIOMARCADORES DE EXPOSICION EN LOS TRABAJADORES DEL SITIO PELIGROSO

Los derrames y escurrimientos ocasionados por las lluvias alarmaron a los poblados cercanos, ya que se pensó en la posibilidad de que la corriente de agua hubiese contaminado el arroyo por arrastre de los productos derramados en el suelo. Por tal motivo, el Congreso del Estado de San Luis Potosí, solicitó a un grupo de Universidades,^{115,116} una evaluación de los posibles efectos en la salud y en el ambiente que pudieran presentarse en el área.

Sin embargo, el análisis descrito por el grupo de investigadores no demostró la presencia de productos químicos en el agua y en los sedimentos del tanque de almacenamiento "El Huizache", se estudió también el agua de otros tanques (gradiente abajo y gradiente arriba) y el agua de los dos pozos cercanos y tampoco se reconocieron sustancias que pudiesen haberse originado en el sitio. En el suelo fuera del lugar no se identificaron contaminantes, sin embargo, dentro de la estación se encontraron niveles insignificantes de arsénico y plomo, así como señales de compuestos orgánicos en el aire. Los principales problemas que se detectaron fueron: tambos sin identificación, corrosión de tambos, almacenamiento de material químicamente activo y residuos líquidos (aún cuando los residuos líquidos o aceitosos no deben incluirse en este confinamiento que se supone es exclusivo para residuos sólidos). Por inspección visual se encontraron en el suelo signos de impacto ambiental

como son derrames de aceites y colorantes, y se logró percibir diversos olores de solventes, asimismo se identificó la presencia de derivados de benceno y tolueno en el material aceitoso que la empresa almacenó.^{115,116}

En el ambiente ocupacional se detectaron algunas irregularidades en el manejo de los residuos peligrosos dentro del sitio por parte de los obreros, quienes laboraban sin medidas de protección adecuadas (Fig. 7), por lo cual se evaluaron marcadores biológicos de exposición en los trabajadores del sitio: arsénico, fenol y mercurio en orina; cadmio y plomo en sangre; arsénico y cadmio en pelo. Cuando se comparó el grupo de trabajadores y el testigo se determinaron diferencias de exposición en los indicadores de arsénico. También la población expuesta ocupacionalmente y la testigo fueron sometidas a un interrogatorio y exploración física completa con el propósito de identificar signos y síntomas de alteraciones relacionadas con el contacto a agentes químicos y los resultados de este estudio demostraron cambios inespecíficos como insomnio e irritabilidad en el grupo de obreros expuestos.^{115,116}

Con bases en estos estudios se concluyó que hasta el momento la estación de transferencia no ha sido una fuente de contaminantes para el área vecina, pero existe el riesgo de exposición ocupacional.¹¹⁶

III PLANTEAMIENTO

Los marcadores biológicos son señales o indicadores de cambios que ocurren en el organismo a consecuencia de una exposición a agentes tóxicos que permiten detectar los efectos que ocurren entre la exposición y la enfermedad resultante. Se ha propuesto el empleo de marcadores biológicos para evaluar los daños en la salud humana por la exposición a agentes ambientales.

Los compuestos químicos pueden ya sea interactuar directamente con el ADN, o alterar el material genético de manera indirecta, produciendo cambios que afectan el funcionamiento celular y que a largo plazo causan trastornos en la salud, particularmente transformaciones malignas. De ahí la importancia de detectar la acción sobre la información genética en sus etapas iniciales mediante los biomarcadores genéticos y citotóxicos.

Este estudio se realizó con el fin de establecer la utilidad de los marcadores de efecto genotóxico y citotóxico como indicadores tempranos de daño producido por la exposición a mezclas de sustancias tóxicas. Para ello se analizó a un grupo de individuos que laboraban en la estación de transferencia para residuos industriales bajo condiciones inadecuadas de protección.

IV HIPOTESIS

La exposición a sustancias tóxicas que tuvieron los trabajadores del sitio de depósito para residuos industriales induce aberraciones cromosómicas y modifica la cinética de proliferación celular.

V OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluación de marcadores biológicos de daño genético y citotóxico, utilizándolos como indicadores de daño temprano en individuos expuestos a mezclas químicas complejas.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Estimar como marcadores de genotoxicidad la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) y de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en linfocitos en cultivo de individuos que han estado en contacto con sustancias tóxicas.
2. Determinar como biomarcador de citotoxicidad la cinética de proliferación celular (CPC) en linfocitos cultivados de los individuos expuestos a residuos tóxicos.

VI MATERIAL Y METODO

6.1. ESTUDIO POBLACIONAL

6.1.1. INDIVIDUOS A ESTUDIAR

Se estudiaron 12 trabajadores del sitio peligroso, quienes llevaban laborando de 4 a 8 meses sin utilizar ningún equipo de protección. Como grupo testigo se analizaron 7 individuos de El Huizache que no trabajaban en el confinamiento, cuyas condiciones socioeconómicas, edad, y lugar de residencia eran comparables. Se aplicó un cuestionario a fin de conocer su estado nutricional, sus antecedentes ocupacionales, sus hábitos de tabaquismo y de consumo de alcohol (Tablas 8 y 9). Las actividades de la población seleccionada como testigo fueron el tallado de palma, la caza de conejos, la construcción de obras y el comercio. Las personas de ambos grupos accedieron voluntariamente a participar en el estudio después de informarles acerca del mismo.

6.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

6.2.1. TOMA DE MUESTRAS

Se obtuvieron muestras de sangre por venopunción en las primeras horas del día, se codificaron y transportaron inmediatamente por vía terrestre a la ciudad de México para su procesamiento como se describe a continuación.¹⁵

6.2.2. CULTIVO DE LINFOCITOS

En tubos de plástico estériles de 15 ml, 0.5 ml de sangre periférica fueron incubados durante 48 y 72 horas en 6.5 ml de medio RPMI-1640 suplementado con aminoácidos no esenciales (10 mM)

y glutamina (2 mM). Se adicionó fitohemaglutinina (2.8%) para estimular la proliferación de linfocitos. Se agregó bromodesoxiuridina (32 uM), para identificar las células que proliferaron una, dos o tres veces durante el tiempo de cultivo. Los cultivos se mantuvieron a 37 °C.

6.2.3. COSECHA

A las 46 y 70 horas de incubación se agregó colcemida (2ug/ml) para detener a las células en metafase y a las 48 y 72 horas se centrifugaron los cultivos a 1200 r.p.m. durante 10 minutos, se retiró el sobrenadante y se incubó el paquete celular a 37 °C durante 20 minutos con solución hipotónica (cloruro de potasio 0.075 M). Posteriormente se centrifugaron los tubos (1200 r.p.m. durante 10 minutos) y las células se fijaron en Carnoy (metanol-ácido acético 3:1), el botón celular se lavó varias veces con la solución fijadora y se guardó a 4 °C.

6.2.4. PREPARACION Y TINCION DE LAMINILLAS

Se hicieron preparaciones por goteo del material sobre portaobjetos lavados y enfriados previamente en alcohol de caña. Se resuspendió el botón con una pipeta Pasteur y se dejaron caer algunas gotas sobre la laminilla.

Las preparaciones fueron teñidas por la técnica de fluorescencia más Giemsa.⁷² Esta consistió en sumergir el material en una solución de 0.3 ml de Hoechst (1 ug/ml) en 50 ml de agua destilada durante 30 minutos y en obscuridad. Una vez transcurrido este tiempo, las laminillas se enjuagaron con agua corriente y se secaron al aire; enseguida se colocaron sobre éstas unas gotas de amortiguador de fosfatos a pH 6.8 (Na_2HPO_4 0.066 M y KH_2PO_4 al 0.066 M en proporción 1:1) y un cubreobjetos para exponerse a luz negra durante 2 horas. Después se removió el cubreobjetos e inmediatamente se tiñeron con una solución de 1.5 ml de Giemsa en 50 ml de amortiguador de

fosfatos por un tiempo de 2 a 4 minutos, se eliminó el exceso de colorante con agua corriente y se secaron para ser analizadas en el microscopio óptico (Olympus).

6.3. ANALISIS DE MARCADORES DE GENOTOXICIDAD

Como marcadores de genotoxicidad se analizaron la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) y de intercambios de cromátidas hermanas (ICHs).

6.3.1. ANALISIS DE ABERRACIONES CROMOSOMICAS

En los cultivos de 48 horas, se registraron 100 células de primera división, todas con 46 cromosomas o 46 cinetocoros. Se han propuesto varios patrones que clasifican las aberraciones cromosómicas.¹¹⁷⁻¹¹⁹ En este trabajo el análisis se realizó tomando en cuenta los criterios¹²⁰ de la tabla 10. El número de aberraciones encontradas se describió como el porcentaje de ACE de cada tipo: brechas cromatídicas (B') o isocromatídicas (B''), rompimientos cromatídicos (R') o isocromatídicos (R'') y rearrreglos cromatídicos y cromosómicos (RC): trirradiados, tetrarradiados, anillos, dicéntricos y tricéntricos.

6.3.2. ANALISIS DE INTERCAMBIOS DE CROMATIDAS HERMANAS

En los cultivos de 72 horas, se observaron 25 células de segunda división. Para el análisis de este marcador se cuantificó a los intercambios terminales como uno y a los intersticiales como dos intercambios. El promedio de ICHs se reportó como el total de intercambios encontrados, entre 25, es decir, el promedio de intercambios por célula.

6.4. ANALISIS DE MARCADORES DE CITOTOXICIDAD

Como marcador de citotoxicidad se utilizó la cinética de proliferación celular (CPC).

6.4.1. ANALISIS DE LA CINETICA DE PROLIFERACION CELULAR

En los cultivos de 72 horas, se revisaron 100 metafases sucesivas y se contó la proporción que correspondía a células en primera, segunda y tercera divisiones. Se consideraron metafases en primera división a las células cuyos cromosomas se encontraban teñidos completamente de oscuro, como segundas divisiones a las células en que todos sus cromosomas estaban formados por una cromátida oscura y una clara, y como terceras divisiones a las metafases que contenían cromosomas completamente claros, además de los cromosomas con una cromátida oscura y otra clara. La cinética de proliferación celular se evidenció como el porcentaje de cada una de las proporciones. Se calculó el índice de replicación a partir de una fórmula matemática:¹²¹

$$IR = \frac{1(1as)+2(2as)+3(3as)}{100}$$

6.5. ANALISIS ESTADISTICO

Las evaluaciones estadísticas para la CPC e ICHs se realizaron con la prueba de "t" de Student, se eligió un nivel de significancia del 0.05.

Para ACE los resultados del grupo expuesto y el testigo se compararon utilizando la prueba de "U" de Mann-Whitney en un nivel de significancia de 0.05; se eligió esta prueba no-paramétrica porque no los datos no presentan una distribución normal (prueba Shapiro-Wilks) y puede ser aplicada a muestras pequeñas.

Se realizó un análisis de regresión lineal para estudiar la relación entre el tiempo de exposición (4 a 8 meses) y el daño encontrado (GraphPad Inplot versión 4.0 por GraphPad Software, Ca., U.S.A.) Para analizar el daño cromosómico dentro del grupo expuesto entre los individuos con y sin antecedentes laborales a plaguicidas, se utilizó un análisis de varianza no-paramétrico de Kruskal-Wallis con un nivel de significancia de $p < 0.05$.¹²²

VII RESULTADOS

En los individuos expuestos se encontró un incremento significativo ($p < 0.05$) en la frecuencia de aberraciones principalmente rompimientos de tipo cromatídico e isocromatídico (Tablas 11 y 12 y Fig. 8). Este incremento, también se reflejó en el porcentaje de células aberrantes por individuo, lo que indica el número de metafases que tuvieron por lo menos una aberración (excluyendo las brechas) (Tabla 13 y Fig. 9).

Uno de los trabajadores (número de código 10/tiempo de exposición 8 meses) presentó una frecuencia alteraciones cromosómicas mayor que el resto de la población expuesta, este daño no se logró correlacionar con los datos del cuestionario: no fumador, su ocupación anterior había sido la ganadería. Los marcadores de exposición que se evaluaron¹¹⁶ no estuvieron más elevados en el individuo 10.

Se consideró el hábito de fumar cuando se analizaron los resultados en términos de la frecuencia de aberraciones encontradas de cada tipo: 4 de los 7 individuos testigo y 4 de los 12 individuos expuestos fumaban entre 10 y 30 cigarrillos por día y un trabajador de cada grupo fumaba entre 1 y 3 cigarrillos por día. Cuando los fumadores y no fumadores del grupo expuesto se compararon con los datos del testigo, las diferencias detectadas se mantuvieron sin cambios. Debido a que se encontró una alta frecuencia de aberraciones en la población testigo en comparación con la descrita en la literatura, también se relacionó ésta con el hábito de fumar, no se notó diferencia en la frecuencia de ACE entre fumadores y no fumadores (Tabla 14 y Fig. 10).

A través del cuestionario se logró conocer los antecedentes ocupacionales de los dos grupos. En el de trabajadores del sitio peligroso, se observó que algunos obreros se habían dedicado a la

agricultura temporal, por lo que es posible que en el pasado estuvieran expuestos a plaguicidas. Sin embargo, cuando se correlacionó la frecuencia de ACE de cada tipo en el grupo expuesto con y sin antecedentes ocupacionales con plaguicidas, los resultados fueron significativamente diferentes con respecto al grupo testigo para los rompimientos, aberraciones totales y células aberrantes; los mismos resultados se obtuvieron cuando se realizó el análisis sin el individuo 10 (Tabla 15 y Fig. 11).

Con relación al tiempo de exposición, se realizó un análisis de regresión lineal para el total de aberraciones producidas, excluyendo brechas (Fig. 12). Los resultados muestran un incremento significativo con el tiempo de exposición, los obreros con mayor tiempo de exposición tuvieron una frecuencia más elevada de aberraciones que los individuos con menor tiempo de exposición; se tomó en cuenta el número de meses que los trabajadores laboraron en el sitio de depósito de desechos y se consideró el tiempo de exposición 0 meses a los individuos testigos. La $r=0.47$ con una $p < 0.04$. Si el individuo 10/8 se excluye del análisis la $r=0.58$ con una $p < 0.01$ cuando el mismo análisis se realizó tomando en consideración el porcentaje de células dañadas, la $r=0.65$ con una $p < 0.002$ (Fig. 13).

Para ICHs, en el grupo expuesto se encontró un promedio de 6.3 ± 1.0 , mientras que en el testigo el promedio fue de 6.5 ± 2.2 , sin diferencia significativa (Tabla 16).

El ciclo celular, evaluado por la proporción de células en primera, segunda y tercera división fue muy semejante entre ambos grupos, lo cual se notó también en el índice de replicación que fue de 2.38 en el grupo testigo y de 2.48 en el expuesto (Tabla 17).

Cuando se analizaron los resultados de la CPC e IR, y de la frecuencia de ICHs considerando el hábito de fumar y los antecedentes de exposición a plaguicidas, tampoco se encontró diferencia significativa.

VIII DISCUSION

En el presente trabajo no se encontraron diferencias en la cinética de proliferación celular, en el índice de replicación ni en la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas, entre los grupos estudiados. Los resultados indicaron que el tiempo de exposición de los trabajadores no alteró la capacidad de proliferación de los linfocitos ni la frecuencia de ICH.

El daño cromosómico mostró un incremento significativo en los trabajadores expuestos a residuos tóxicos; el cual aumentó en relación directa con el tiempo de exposición. Los tipos de aberraciones más frecuentes fueron los rompimientos cromatídicos e isocromatídicos, los cuales se han asociado con la exposición crónica a productos químicos genotóxicos.^{69,93,123-131}

Es importante mencionar que la frecuencia de ACE que se obtuvo en los individuos testigo, fue alta en comparación con grupos de personas que viven en otras áreas rurales de México¹⁵ y también es más elevada que la reportada en otros estudios de monitoreo.^{69,93,123-131} El daño que se manifestó en la población testigo no se logró correlacionar con los datos de los cuestionarios, pero se podría atribuir a la suma de varios factores, tales como el tamaño de la muestra, deficiencias nutricionales y la exposición temporal a sustancias como los pesticidas, a los que los sujetos se encuentran ocasionalmente en contacto.

Resulta difícil atribuir el daño observado en los individuos expuestos al hecho de que los obreros del confinamiento presentaron niveles de arsénico en orina significativamente más alto (52.2 ug/g de creatinina, en los trabajadores expuestos y 35.6 ug/g de creatinina en los testigos),¹¹⁶ porque estos bajos niveles de arsénico en comparación con otro estudio¹⁵ son difíciles de correlacionar con el tipo y frecuencia de aberraciones observadas. Se considera que debido a que el

arsénico es un conocido co-clastógeno,¹³² es posible que la combinación de la exposición a arsénico con otros agentes clastogénicos, contenidos en las mezclas complejas que fueron manejadas por los trabajadores, pudieron interactuar sinérgicamente y producir el incremento del daño cromosómico encontrado, aún cuando algunos de los genotóxicos monitoreados estuvieron a concentraciones debajo de los niveles de detección analítica³⁶ o no fueron determinados. Es conveniente destacar que en este estudio sólo se midieron los niveles de algunos de los productos químicos que formaban la mezcla compleja a la que se expusieron los trabajadores. Por lo tanto, cuando las concentraciones de las sustancias químicas no pueden ser determinadas o permanecen poco tiempo en los fluidos corporales debido a las reacciones farmacocinéticas, los biomarcadores de efecto como la frecuencia de AC, demostraron que realmente los tejidos internos estuvieron expuestos a un agente genotóxico, indicando asimismo la presencia de efectos biológicos tempranos.

Los datos permiten además observar diferencias individuales (Tabla 11) y se podría especular que éstas posiblemente se deben por un lado, a que en ciertos individuos expuestos a concentraciones bajas de compuestos químicos, durante un periodo, se activan los mecanismos de reparación del ADN, y por ello la frecuencia del daño disminuye. Se ha reportado que los linfocitos humanos tratados a dosis bajas de radiación, $133-136$ rayos X¹³⁷⁻¹⁴⁰ o inclusive, clastógenos químicos^{141,142} pueden inducir respuestas adaptativas en las que las células se hacen resistentes a la producción de aberraciones por exposiciones subsecuentes a dosis altas de estos agentes. Las dosis bajas de rayos X pueden llevar también a una disminución en las mutaciones puntuales causadas por altas dosis de rayos X.¹⁴³ Esta adaptación se ha atribuido a la inducción de mecanismos de reparación que, durante el momento de la radiación a dosis alta, reducen el número de rompimientos cromosómicos terminales que toman parte en la formación de aberraciones.¹⁴⁴

No se logró determinar que el daño cromosómico en el grupo expuesto pudiera deberse al contacto pasado con sustancias como los plaguicidas, es importante resaltar que la información obtenida por medio de las encuestas aporta datos cualitativos por lo que no es posible conocer si la exposición a plaguicidas ha sido suficiente para afectar la frecuencia de ACE.

Por otra parte, el individuo 10/8 (Tabla 11) presentó un daño cromosómico diez veces mayor que el promedio en el grupo expuesto. Debido a que esta frecuencia elevada de aberraciones no pudo correlacionarse con los informes del cuestionario, ni con la exploración física, o con los datos toxicológicos, la cantidad de daño genético que se registró podría explicarse en este caso, por una diferencia en la susceptibilidad farmacológica entre individuos.^{110,120} Este tipo de observaciones es uno de los desafíos que se manifiestan en los estudios en poblaciones humanas, ya que aunque se considera que los marcadores biológicos son útiles para describir los eventos que ocurren entre la exposición y la enfermedad clínica, existen numerosos factores que pueden influir en su aparición; los más conocidos son la capacidad para biotransformar a los agentes químicos,¹⁴⁵ así como el estado de salud y la nutrición del individuo, los que determinan que no todas las personas con exposiciones similares desarrollen una enfermedad o siquiera presenten los marcadores indicadores de exposición; estos fenómenos son descritos a nivel de la susceptibilidad individual.^{110,120} Resulta interesante que en estudios como el presente, se puede, mediante el uso de los marcadores biológicos, distinguir entre individuos más o menos susceptibles al daño por agentes mutagénicos/carcinogénicos potenciales. Ello hace que las investigaciones sobre monitoreo de grupos humanos expuestos a agentes tóxicos, sean informativos no sólo a nivel de grupo sino también para predecir el riesgo genético a nivel individual.

Los resultados de este trabajo ayudan a integrar los datos de una evaluación toxicológica temprana¹¹⁶ y muestran la importancia de analizar varios marcadores biológicos (de exposición, de efecto y de susceptibilidad). Si bien no se pudo atribuir a una sustancia en particular el daño que se

detectó en los trabajadores del sitio peligroso, sí es clara la correlación entre las aberraciones producidas y la duración de la exposición, demostrando que los obreros estuvieron en contacto con sustancias genotóxicas.

Los marcadores biológicos de efecto, como los estudiados en este caso, no solo completan la información toxicológica, sino que proporcionan datos acerca del tipo de efectos producidos en la salud y el posible origen de una enfermedad, además de hacer evidente la presencia de agentes genotóxicos en el ambiente.

La investigación en esta área es relevante porque permite prevenir exposiciones ambientales que dañan la salud, por ejemplo, a consecuencia de los resultados obtenidos por Díaz-Barriga y colaboradores¹¹⁶ se hicieron recomendaciones sobre las medidas de protección para evitar el contacto directo con las sustancias tóxicas y reducir el riesgo a la salud.

IX CONCLUSIONES

- * En este estudio se demuestra la utilidad de los marcadores biológicos para detectar los efectos tempranos en la salud causados por la exposición de individuos a sustancias tóxicas.
- * Los marcadores biológicos de efecto genético no tienen la misma sensibilidad para evaluar la exposición ocupacional a mezclas complejas de sustancias tóxicas que son particulares de los sitios de desechos industriales. Las aberraciones cromosómicas fueron el parámetro más sensible para medir el daño producido por exposición subcrónica a agentes químicos.
- * Las concentraciones de los tóxicos pueden estar bajo el límite de detección en fluidos biológicos; no obstante, su interacción puede generar otros agentes tóxicos más potentes, que aunados a la cronicidad que caracteriza a las exposiciones ocupacionales, provocan el daño; este trabajo indica que los efectos son acumulativos con respecto al tiempo de exposición.

X COMENTARIOS

* La existencia de confinamientos controlados es una necesidad no sólo para los países industrializados, sino para todo país en vías de desarrollo, como México cuyo incremento demográfico y desarrollo industrial recientes están teniendo un importante impacto en el medio y en la salud. Es preferible tener sitios controlados con sistemas adecuados de monitoreo ambiental y ocupacional que seguir permitiendo la dispersión de las sustancias peligrosas al ambiente. Cabe mencionar que la estación de transferencia para residuos industriales "La Pedrera" fue clausurada por presiones políticas a pesar de que pudo haberse convertido en un confinamiento controlado.

* Sería de gran interés realizar un nuevo estudio de seguimiento en los trabajadores y determinar si el daño genético que se manifestó en el momento del estudio ha desaparecido.

* Considerando que los confinamientos son opciones tecnológicas que no resuelven de una manera definitiva el problema de la disposición final, sería conveniente evitar que se sigan produciendo más desechos, mediante la optimización de los procesos industriales y estimulando el uso de los residuos basados en el concepto de que lo que es desecho para una industria puede convertirse en materia prima para otra.

XI REFERENCIAS

1. NRC (National Research Council). Biological Markers in environmental health research. *Environ Health Perspect* 1987;74:3-9.
2. NRC (National Research Council). Environmental epidemiology public health and hazardous wastes. VII Biologic markers in studies of hazardous-waste sites. National Academic Press, 1991:219-255.
3. Wogan GN. Molecular epidemiology in cancer risk assessment and prevention: Recent progress and avenues for future research. *Environ Health Perspect* 1992;98:167-178.
4. Henderson RF, Bechtold WE, Bond JA, Sun JD. The use of biological markers in toxicology. *Toxicology* 1989;20:65-82.
5. Wogan GN. Markers of exposure to carcinogens. *Environ Health Perspect* 1989;81:9-7.
6. Hulka BS. Overview of biological markers. En: *Biological markers in epidemiology*. Oxford University Press, New York, 1990:3-15.
7. Gaylor DW, Kadlubar FF, Frederick BA. Application of biomarkers to risk assesment. *Environ Health Perspect* 1992; 98:139-141.
8. Hayes RB. Biomarkers in occupational cancer epidemiology: considerations in study design. *Environ Health Perspect* 1992;98:149-154.
9. Perera F, Brenner D, Jeffrey A, Mayer J, Tang D, Warburton D, Young T, Wazneh L, Latriano L, Motykiewicz G, Grzybowska E, Mieczyslaw C, Hemminki K, Santella R. DNA adducts and related biomarkers in populations exposed to environmental carcinogens. *Environ Health Perspect* 1992;98:133-137.
10. Ashby J. Comparison of techniques for monitoring human exposure to genotoxic chemicals. *Mutat Res* 1988;204:542-551.
11. Carrano AV, Natarajan AT. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat Res* 1988;204:379-406.

12. Perera F. Molecular cancer epidemiology: a new tool in cancer prevention. *J Natl Cancer Inst* 1987;78:887-898.
13. Perera F. The significance of DNA and protein adducts in human biomonitoring studies. *Mutat Res* 1988;205:255-269.
14. Muir, CS. Epidemiology, basic science, and the prevention of cancer: implications for the future. *Cancer Res* 1990;50:6441-6448.
15. Ostrosky-Wegman P, Gonsebatt ME, Montero R, Vega L, Barba H, Espinosa J, Palao A, Cortinas C, García-Vargas G, del Razo LM, Cebrián M. Lymphocyte proliferation kinetics and genotoxic findings in a pilot study on individuals chronically exposed to arsenic in Mexico. *Mutat Res* 1991;250:477-482.
16. Gonsebatt ME, Vega L, Herrera LA, Montero R, Rojas E, Cebrián ME, Ostrosky-Wegman P. Inorganic arsenic effects on human lymphocyte stimulation and proliferation. *Mutat Res* 1992; 283:91-95.
17. Doull J. Factors influencing toxicology. En: Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons, 2nd ed. Eds. Doull J, Klaassen CD, Amdur MO. Macmillan, New York, 1980:70-83.
18. Harris CC. Interindividual variation among humans in carcinogen metabolism; DNA adduct formation and DNA repair. *Carcinogenesis* 1989;10:1563-1566.
19. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio Harri. Polymorphism in CYP1A1 and CYP2D6 genes: possible association with susceptibility to lung cancer. *Environ Health Perspect* 1993;101:109-112.
20. Skipper PL, Tannenbaum SR. Protein adducts in the molecular dosimetry of chemical carcinogens. *Carcinogenesis* 1990;11:507-518.
21. Stewart VH. The genotoxicity of industrial wastes and effluents. *Mutat Res* 1992;277:91-138.
22. Ames BN, McCann J, Yamasaki E. Methods for detecting carcinogens and mutagens with *Salmonella/mammalian* microsome mutagenicity test. *Mutat Res* 1975;31:347-364.
23. Maron D, Ames BN. Revised methods for the *Salmonella* mutagenicity test. *Mutat Res* 1983;113:173-212.

24. Green MHL, Muriel WJ. Mutagen testing using trp+ reversion in *Escherichia coli* WP2. *Mutat Res* 1976;38:3-32.
25. Scott BR, Dorn GL, Kafer E, Stafford R. *Aspergillus nidulans*: systems and results of test for induction of mitotic segregation and mutation. II. Haploid assay systems and overall response of all systems. *Mutat Res* 1982;98:49-94.
26. Zimmermann FK. Procedures used in the induction of mitotic recombination and mutation in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Mutat Res* 1975;31:71-86.
27. Muller AJ. The chimerical structure of M1 plants and its bearing on the determination of mutation frequencies in *Arabidopsis* induction of mutation process. Symp Czech Acad Sci Prague 1965:46-52.
28. O'Neill JP, Brimer PA, Machanoff R, Hirsch GP, Hsie AW. A quantitative assay of mutation induction at the hypoxanthine-guanine phosphoribosyl transferase locus in Chinese hamster ovary (CHO/HGPRT system): development and definition of the system. *Mutat Res* 1977;45:91-101.
29. Clive D, Johnson KO, Spector JFS, Batson AG, Brown MM. Validation and characterization of the L5178Y/TK +/- mouse lymphoma mutagen assay system. *Mutat Res* 1979;59:61-108.
30. Douglas GR, Nestmann ER, Betts JL, Mueller JC, Lee EGH, Stich HF, San RHC, Brouzes RJP, Chmelauskas AL, Paavila HD, Walden CC. Mutagenic activity in pulp mill effluents. In: Water chlorination: environmental impact and health effects. Eds. Joelley RL, Brungs WA, Cumming RB. Ann Arbor Sci, Ann Arbor, MI 1980;3:431-459.
31. Kakunaga T. A quantitative system for assay of malignant transformation by chemical carcinogens using a clone derived from BALB/3T3. *Int J Cancer* 1973;12:463-473.
32. DeMarini DM, Gallagher JE, Houk VS, Simmons JE. Toxicological evaluation of complex industrial wastes: Implications for exposure assessment. *Toxicol Letters* 1989;49:199-214.
33. Bufferl PA, Crane M, Key MM. Possibilities of detecting health effects by studies of population exposed to chemicals from waste disposal sites. *Environ Health Perspect* 1985;62:423-456.

34. Levine R, Chitwood DD. Public health investigations of hazardous organic chemical waste disposal in the United States. *Environ Health Perspect* 1985;62:415-422.
35. Phillips AM, Silbergeld EK. Health effects studies of exposure from hazardous waste site-Where are we today?. *Am J Ind Med* 1985;8:1-7.
36. Upton AC, Kneip T, Toniolo P. Public health aspects of toxic chemical disposal sites. *Ann Rev Public Health* 1989;10:1-25.
37. Cairns JJ, Niederlehner BR. Biological monitoring of hazardous waste sites. En: *Comments Toxicology* 1990;3:493-508.
38. Schaumburg HH, Spencer PS, Arezzo JC. Monitoring potential neurotoxic effects of hazardous waste disposal. *Environ Health Perspect* 1983;48:61-64.
39. Heath CW Jr, Nade MA, Zack MM Jr, Chen ATL, Bender MA, Preston J. Cytogenetic findings in persons living near the Love Canal. *J Am Med Assoc* 1984;251:1437-1440.
40. Ortiz F, Cortinas C, Maffey ML. Manejo de los desechos industriales peligrosos en México. Editorial Universo Veintiuno 1987.
41. SEDESOL (Secretaría de Desarrollo Social). Instituto Nacional de Ecología. Informe de la situación general en la materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente 1991-1992.
42. Zegel WC. Hazardous waste management. An overview of hazardous waste issues. *J Air Pollution Control Assoc* 1985;35:51-54.
43. EPA (Environmental Protection Agency). Hazardous waste generation and commercial hazardous waste capacity. An assessment. Office of water and waste management. Solid waste. Washington, DC, SW-84, 1980.
44. USEPA (U.S. Environmental Protection Agency). The waste system, office of solid waste and emergency response. Washington, DC, 1988.
45. Griffith J, Duncan RC, Riggan WB, Pellom AC. Cancer mortality in U.S. countries with hazardous waste sites and ground water pollution. *Arch Environ Health* 1989;44:69-74.
46. Kurland LT, Faro SN, Sielden H. Minamata disease. *World Neurology* 1960;1:370-395.

47. Vianna NJ, Polan AK. Incidence of low birth weight among Love Canal residents. *Science* 1984;226:1217-1219.
48. Grisham JW. Health aspects of the disposal of waste chemicals. Pergamon Press New York 1986:454.
49. Najem GR, Louria DB, Lavenhar MA, Feuerman M. Clusters of cancer mortality in New Jersey municipalities; with special reference to chemical toxic waste disposal sites and per capita income. *Intl J Epid* 1985;14:528-537.
50. Budnick LD, Sokal DC, Falk H, Logue JN, Fox JM. Cancer birth defects near the Drake Superfund site Pennsylvania. *Arch Environ Health* 1984;39:409-413.
51. Goldman LR, Paigen B, Magnant MM, Highland JH. Low birth weight defects in children living near hazardous waste site, Love Canal. *Haz Waste Haz Mat* 1985;2:209-223.
52. Paigen B, Goldman LR. Lessons from Love Canal: The role of the public and the use of birth weight, growth, and indigenous wildlife to evaluate health risk. En: *Health Effects from Hazardous Waste Sites*. Eds. Andelman JB, Underhill DW. Lewis Publishers, Chelsea, MI 1987:177-192.
53. Perera F, Jeffrey A, Santella R, Brenner D, Mayer J, Latriano L, Smith S, Young TL, Tasai WY, Hemminki K, Brandt-Rauf. Macromolecular adducts and related biomarkers in biomonitoring and epidemiology of complex exposures. *IARC Sci Pub* 1990;104:164-180.
54. Obe G, Beek B, Dudin G. The human leukocyte test system, V. DNA synthesis and mitosis in PHA-stimulated 3 day cultures. *Humangenetik* 1975;28:295-392.
55. Albertini RJ. Somatic gene mutations in vivo as indicated by the 6-thioguanine-resistant T-lymphocytes in human blood. *Mutat Res* 1980;150:411-422.
56. Hogsted B. Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm. A method for assessment of cytogenetic damage in man. *Mutat Res* 1984;130:63-72.
57. Ostrosky-Wegman P, Montero R, Cortinas de Nava C, Tice R, Albertini R. The use of bromodeoxyuridine labeling in the human lymphocyte HGPRT somatic mutation assay. *Mutat Res* 1987;191:211-214.

58. Gebhart E, Windolph B, Wopfner F. Chromosomes studies on lymphocytes of patients under cytostatic therapy: II Studies using the BrdU-labelling technique in cytostatic therapy. *Human Genet* 1980;56:157-167.
59. Gebhart E. The epidemiological approach: chromosome aberrations in person exposed to chemical mutagens. En: *Cytogenetic assays of environmental mutagenes*. Eds. Hsu TC. Allanheld Osmun, Totowa New York, 1982:385-405.
60. Rojas E, Montero R, Herrera LA, Sordo M, Gonsebatt ME, Rodriguez R, Ostrosky-Wegman P. Are mitotic index and lymphocyte proliferation kinetics reproducible endpoints in genetic toxicology testing?. *Mutat Res* 1992;282:283-286.
61. Darnell J, Lodish H, Baltimore D. *Molecular cell biology*. 2a. ed. Freeman y Company, New York 1990;Cap. 12:451-454.
62. Means A, Tash J, Chafouleas J, Physiological implications of the presence, distribution and regulation of calmodulin in eukaryotic cells. *Physiol Rev* 1982;62:1-39.
63. Piscioti AV, Westring DW, DePrey C, Walsh B. Mitogenic effect of PHA at different ages. *Nature* 1967;215:193.
64. Moorhead PS, Howell PD, Mellman WJ, Battips DM, Hungerford DA. Chromosome preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cell Res* 1960;20:613-619.
65. Preston RJ, Au A, Bender MA, Brewen JG, Carrano AV, Heddle JA, MCFEE AF, Wolff S, Wasson JS. Mammalian *in vivo* and *in vitro* cytogenetic assays: a report of the US EPA's Genetox Program. *Mutat Res* 1981;87:147-188.
66. Salazar AM, Herrera LA. Daño genético inducido por agentes físicos y químicos. *Rev Fac Med UNAM* 1992;35:75-81.
67. Hedner K, Hogstedt B, Koenig M, Maek-Vendel E, Strombeck B, Mitelman F. Relationship between sister chromatid exchanges and structural chromosome aberrations in lymphocytes of 100 individuals. *Hereditas* 1982;97:237-245.
68. Bauchinger M, Schmid E. Cytogenetic effects in lymphocytes of formaldehyde workers of a paper factory. *Mutat Res* 1985;158:195-199.

69. Schmid E, Bauchinger M, Hauf R. Chromosome changes with time in lymphocytes after occupational exposure to toluene. *Mutat Res* 1985;142:37-39.
70. Mayer J, Warburton D, Jefferey AM, Pero R, Walles S, Andrews L, Toor M, Latriano L, Wazneh L, Tang D, Tsai W-D, Kuroda M, Perera F. Biological markers in ethylene oxide-exposed workers and controls. *Mutat Res* 1991;248:163-176.
71. Taylor JH. Sister-chromatid exchanges in tritium-labeled chromosomes. *Genetics* 1958;43:515-529.
72. Perry P, Wolff S. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatid. *Nature (London)* 1974;251:156-158.
73. Wolff S, Bodycote J, Painter, RB. Sister-chromatid exchanges induced in Chinese hamster cells by UV irradiation of different stages of the cell cycle: the necessity for cell to pass through S. *Mutat Res* 1974;25:73-81.
74. Bender MA, Griggs HG, Beford JS. Recombinational DNA repair and sister-chromatid exchanges. *Mutat Res* 1974;24:117-125.
75. Painter RB. A replication model for sister-chromatid exchange. *Mutat Res* 1980;70:337-341.
76. Cleaver JE. Correlations between sister-chromatid exchange frequencies and replicon sizes. A model for the mechanism of SCE production. *Exp Cell Res* 1981;136:27-30.
77. Shafer DA. Alternate replication bypass mechanisms for sister-chromatid exchange formation. *Prog Topics Cytogenet* 1982;2:67-98.
78. Perry P, Evans HJ. Cytological detection of mutagen-carcinogen exposure by sister-chromatid exchange. *Nature* 1975;258:121-125.
79. Wolff S. Sister-chromatid exchange. *Ann Rev Genet* 1977;11:183-201.
80. Perry PE. Chemical mutagens and sister-chromatid exchanges. En: *Chemical mutagens: principles and methods for their detection*. Eds. De Serres FJ, Hollaender A. New York, Plenum Press 1980;6:1-39.
81. Latt SA. Sister-chromatid exchange formation. *Ann Rev Genet* 1981;15:11-55.

82. Carrano AV, Thompson LH. Sister-chromatid exchange and single-gene mutation. En: Sister-chromatid exchange. Ed. S. Wolff, New York, John Wiley y Sons, Inc, 1981:59-86.
83. Carrano AV, Thompson LH, Lindl PA, Minkler JL. Sister-chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. *Nature* 1978;271:551-553.
84. Carrano AV, Thompson LH. Sister-chromatid exchange and gene mutation. *Cytogenet Cell Genet* 1982;33:57-61.
85. Ardito G, Lamberti L, Ansaldi E, Ponzetto P. Sister-chromatid exchanges in cigarette-smoking human females and their newborns. *Mutat Res* 1980;78:209-212.
86. Carrano AV. Sister-chromatid exchange as and indicator of human exposure. En: Indicators of genotoxic exposure. Eds. Bridges BA, Butterworth BE, Weinstein IB. New York: Cold Spring Harbor Laboratory 1982:307-318.
87. Gillian CM, Jones WG, Taylor JH. Sister chromatid exchange in human lymphocyte exposure to single cytotoxic drugs *in vivo* or *in vitro*. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1982;18:979-989.
88. Lambert B, Lindblad A. Sister-chromatid exchanges and chromosome aberrations in lymphocytes of laboratory personnel. *J Toxicol Environ Health* 1980;6:1237-1243.
89. Livingston GK, Cannon LA, Bishop DT, Johnson P, Fineman RM. Sister-chromatid exchanges: variation by age, sex, smoking, and breast cancer status. *Cancer Genet Cytogenet* 1983;8:289-299.
90. Cohen MM, Martin AD, Obe C, Simpson SJ. A family study of spontaneous sister-chromatid exchange frequency. *Am J Hum Genet* 1982;34:249-306.
91. Das BC. Factors that influence formation of sister chromatid exchanges in human blood lymphocytes. *CRC Crit Rev Toxicol* 1988;19:43-86.
92. Wilcosky TC, Rynard SM. Sister chromatid exchanges. En: Biological markers in epidemiology. Eds. Hulka BS, Wilcosky TS, Griffith JD, Oxford University Press, New York 1990:105-124.

93. De Ferrari M, Artuso M, Bonatti S, Cavalieri Z, Pescatore D, Marchini E, Pisano V, Abbondandolo A. Cytogenetic biomonitoring of an Italian populations exposed to pesticides: chromosome aberration and sister-chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res* 1991;260:105-114.
94. Tates AD, Grummt T, Tornqvist M, Famer PB, van Dam FJ, van Mossel H, Schoemaker HM, Osterman-Golkar S, Uebel CH, Tang YS, Zwinerman AH, Natarajan AT, Ehrenberg L. Biological and chemical monitoring of occupational exposure to ethylene oxide. *Mutat Res* 1991;250:483-494.
95. Freshney RJ. Culture of animal cells: a manual of basic techniques. Ed. R. Liss. New York, 1987:385.
96. Mutchinick O, Ruz L, Casas L. Time of first-generation metaphases: I The effect of various culture media and of fetal calf serum in human lymphocyte cultures. *Mutat Res* 1980;72:127-134.
97. Gonsebatt ME, Mutchinick O. Human lymphocyte proliferation kinetics in hank's BSS supplemented with autologous plasma and in synthetic medium. *Mutat Res* 1990;243:255-258.
98. Schneider LE, Sternberg H, Tice RR, Senula GC, Kram D, Smith J, Bynum G. Cellular replication and age. *Mech Age Dev* 1979;9:313-324.
99. Wen WN, Liew TL. The effect of age and cell proliferation on the frequency of sister chromatid exchange in human lymphocytes cultures *in vitro*. *Mech Age Dev* 1983;21:337.
100. Dutrillaux B, Fose AM. Utilization de BrdU dans l'étude du cycle cellulaire de sujets normaux et anormaux. *Ann Genet* 1976;19:95-102.
101. Mutchinick O, Lisker R, Ruz L, Salamanca F, Armendares S. Frequency of sister chromatid exchanges in severe protein calorie malnutrition. *Ann Genet* 1979;22:129-132.
102. Nazarenko SA, Burmakina IE. Relationship of spontaneous chromosome instability and sister chromatid exchanges in fanconi's anemia. *Biull Eksp Biol Med* 1984;98:334-336.
103. Ortiz R, Betancourt M. Length of cell cycle *in vitro* and sister chromatid exchange frequency in bone marrow cells from severely malnourished rats. *Mutat Res* 1990;232:71-76.
104. Motykiewicz G, Michalska J, Pendzich J, Perera FP, Chorazy M. A cytogenetic study of men environmentally and occupationally exposed to airborne pollutants. *Mutat Res* 1992;280:253-259.

105. Rupa DS, Reddy PP, Reddi OS. Analysis of sister-chromatid exchanges, cell kinetics and mitotic index in lymphocytes of smoking pesticide sprayers. *Mutat Res* 1989;223:253-258.
106. Ostrosky-Wegman P, García G, Arellano L, Espinoza J, Montero R, Cortinas de Nava C. Genotoxicity of antiamebic, anthelmintic and antimycotic drugs in human lymphocytes. En: *Sister chromatid exchanges*. Ed. Tice R, Hollaender A. Plenum Publishing Corp 1984:915-925.
107. DuFrain RJ, Littlefield LG, Wilmer JL. Cyclophosphamide induced SCE's in rabbit lymphocytes. *Environ Mutagen* 1979;1:283-286.
108. Madle S. Evaluation of experimental parameters in an S9/human leukocyte SCE test with cyclophosphamide. *Mutat Res* 1981;85:347-356.
109. Singh NP, D'Ambrosio SM. Sister chromatid exchange frequency and cell cycle kinetics in cancer patients treated with cytostatic drugs. *Basic Life Sci* 1984;29:885-893.
110. Elizondo G, Montero R, Herrera JE, Hong E, Ostrosky-Wegman P. Lymphocyte proliferation kinetics and sister-chromatid exchanges in individuals treated with metronidazole. *Mutat Res* 1993;305:133-137.
111. Adhvaryu SG, Rawal UM, Patel JV, Balar DB. Elevated sister chromatid exchange frequencies in the lymphocytes of esophageal cancer patients. *Cancer* 1988;61:1867-1871.
112. Adhvaryu SG, Rawal UM, Patel JV. Increased frequency of sister chromatid exchange in lymphocytes of breast cancer patients. *Int J Cancer* 1988;41:394-398.
113. Adhvaryu SG, Rawal UM, Patel JV. Enhancement of lymphocytic SCE frequencies in patients with ovarian cancer. *Neoplasma* 1988;35:103-108.
114. Slavutsky I, Mudry MD, Labal de Vinuesa M, Meiss R, Chopita N, Larriva I. Sister chromatid exchanges and cellular kinetics in lymphocytes of patients with adenoma and colon cancer. *Gastroenterol Clin Biol* 1988;12:935-940.
115. Díaz Barriga F, Cuéllar JA, Gómez H, Ostrosky-Wegman P, Ruíz E, Yañez L, Santos MA, Batres L, Carrizales L, Mejía J, García A, Pérez A, Montero R. Evaluación de efectos en la salud de la estación de transferencia para residuos peligrosos "La Pedrera" localizada en Guadalcázar, San Luis Potosí. Informe Técnico presentado a la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología Estatal (SEDUE), 1991.

116. Díaz Barriga F, Santos MA, Yañez L, Cuéllar JA, Ostrosky-Wegman P, Montero R, Pérez A, Ruiz E, García A, Gómez H. Biological monitoring of workers at a recently opened hazardous waste disposal site. *J Exposure Anal Environ Epidemiol* 1993;3:63-71.
117. Evans HJ, O'Riordan ML. Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen test. *Mutat Res* 1975;31:135-148.
118. Savage JR. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J Med Genet* 1975;13:103-122.
119. Savage JR. Some practical notes on chromosomal aberrations. *Clin Cytogenetics Bull* 1983;1:64-76.
120. Ostrosky-Wegman P, García G, Montero R, Pérez Romero B, Alvarez Chacón R, Cortinas de Nava C. Susceptibility to genotoxic effects of niclosamide in human peripheral lymphocytes exposed *in vitro* and *in vivo*. *Mutat Res* 1986;173:81-87.
121. Ivett JL, Tice RR. Average generation time: a new method to analysis and quantitation of cellular proliferation kinetics. *Environ Mutagen (abst)* 1982;4:358.
122. Zar, H.J. Biostatistical analysis. Prentice Hall Inc., Englewood Cliff, N.J., U.S.A. 1974.
123. Funes-Carvioto F, Lambert B, Lindsten J, Ehrenberg L, Natarajan AT, Osterman-Golkar S. Chromosome aberrations in workers exposed to vinyl chloride. *Lancet* 1975;10:459.
124. Sarto F, Cominato I, Pinton AM, Brovedani PG, Faccioli CM, Bianchi V, Levis AG. Cytogenetic damage in workers exposed to ethylene oxide. *Mutat Res* 1984;138:185-195.
125. Srám RJ, Holá H, Kotesovec F, Verve R. Chromosomal abnormalities in soft coal open-cast mining workers. *Mutat Res* 1985;144:271-275.
126. Shoo X, Lie L, Cue M, You R, Lie L, Ian Z. Cytogenetic monitoring of petrochemical workers. *Mutat Res* 1986;175:237-242.
127. Gallows SM., Berry PK, Nichols WW, Wolman SR, Soper KA, Stolley PD, Archer P. Chromosome aberrations in individuals occupationally exposed to ethylene oxide, and in a large population. *Mutat Res* 1986;170:55-74.

128. Páldy A, Puskás N, Vincze K, Hadházi M. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutat Res* 1987;187:127-132.
129. Bender MA, Leonard RC, White O, Constantino JF Jr, Redmond CK. Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges in lymphocytes from coke oven workers. *Mutat Res* 1988;296:11-16.
130. Kourakis A, Mouratidou M, Kokkinos G, Barbouti A, Kotsis A, Mourelatos D, Dozi-Vassiliades J. Frequencies of chromosomal aberrations in pesticide sprayers working in plastic green houses. *Mutat Res* 1992;279:145-148.
131. Al-Sabti K, Lloyd DC, Edwards AA, Stegnar P. A survey of lymphocyte chromosomal damage in Slovenian workers exposed to occupational clastogens. *Mutat Res* 1992;280:215-223.
132. Wiencke JK, Yager JW. Specificity of arsenite in potentiating cytogenetic damage induced by the DNA crosslinking agent diepoxybutane. *Environ Mol Mutagen* 1992;19:195-200.
133. Olivieri G, Bodycote J, Wolff S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentrations of radioactive thymidine. *Science* 1984;223:594-597.
134. Wiencke JK, Afzal V, Olivieri G, Wolff S. Evidence that the [³H]thymidine-induced adaptive response of human lymphocytes to subsequent doses of X-rays involves the induction of a chromosomal repair mechanism. *Mutagenesis* 1986;1:375-380.
135. Wiencke JK, Nicotinamide deficiency in human lymphocytes prevents the [³H]thymidine-induced adaptive response for repair of x-ray-induced chromosomal damage. *Exp Cell Res* 1987;172:518-523.
136. Sankaranarayanan K, von Duyn A, Loos MJ, Natarajan AT. Adaptive response of human lymphocytes to low-level radiation from radioisotopes or X-rays. *Mutat Res* 1989;211:7-12.
137. Shadley JD, Wolff S. Very low doses of X-rays can cause human lymphocytes to become less susceptible to ionizing radiation. *Mutagenesis* 1987;2:95-96.
138. Wang ZQ, Saigusa S, Sasaki MS. Adaptive response to chromosome damage in cultured human lymphocytes primed with low doses of X-rays. *Mutat Res* 1991;246:179-186.

139. Wolff S, Wiencke JK, Afzal V, Youngblom J, Cortés F. The adaptive response of human lymphocytes to very low doses of ionizing radiation: a case of induced chromosomal repair with the induction of specific proteins. En: Low dose radiation: Biological bases of risk assessment. Eds. Baverstock KF, Stather JW. Taylor and Francis, London 1989:446-454.

140. Cai L, Lui SZ. Induction of cytogenetic adaptive response of somatic and germ cells *in vivo* and *in vitro* by low-dose X-irradiation Nit J Radiate Biol 1990;58:187-194.

141. Wolff S, Olivieri G, Afzal V. Adaptation of human lymphocytes to radiation or chemical muteness: differences in cytogenetic repair. En: Chromosomal Aberrations: Basic and Applied Aspects. Eds. Natarajan AT, Bo G. Springer-Verlag, Berlin, 1989:140-150.

142. Vijayalaxmi BW. Resistance and cross-resistance to chromosome damage in human blood lymphocytes adapted to bleomycin. Mutat Res 1989;211:1-5.

143. Kelsey KT, Memisoglu A, Frenkel D, Liber HL. Human lymphocytes exposed to low doses of X-rays are less susceptible to radiation-induced mutagenesis. Mutat Res 1991;263:197-201.

144. Wolff S, Afzal V, Jostes RF, Wiencke JK. Indications of repair of radon-induced chromosome damage in human lymphocytes: an adaptive response induced by low doses of X-rays. Environ Health Perspect Suppl 1993;101:73-77.

145. Nebert DW, Gonzalez FJ. P450 genes: structure, evolution and regulation. Ann Rev Biochem 1980;56:945-993.

XII TABLAS

Tabla 1. Ejemplos de biomarcadores de dosis interna y de dosis biológicamente efectiva.

BIOMARCADOR	EJEMPLOS
<p>MARCADOR DE DOSIS INTERNA</p>	<p>Medición directa de compuestos tóxicos o sus metabolitos en células, tejidos o fluidos biológicos (por ejemplo, sangre, orina, heces, leche materna, líquido amniótico, sudor, pelo, uñas, saliva)</p> <p>Aire exhalado: agentes químicos orgánicos volátiles</p> <p>Sangre: estireno, plomo, cadmio, arsénico</p> <p>Metabolitos en orina: aflatoxina, benceno, arsénico</p> <p>Mutágenos en orina: drogas quimioterapéuticas</p> <p>Muestras de pelo: arsénico</p> <p>Carboxihemoglobina: monóxido de carbono</p> <p>Metahemoglobinemia: nitratos orgánicos</p>
<p>MARCADOR DE DOSIS BIOLÓGICA EFECTIVA</p>	<p>Aduetos de ADN</p> <p>DNA celular: benzo[a]pireno en trabajadores mineros; cisplatino en pacientes con quimioterapia</p> <p>Orina: aflatoxina-N-guanina de individuos que consumen aflatoxina B₁; bases oxidadas por radiación y otras formas de estrés oxidante</p> <p>Aduetos de Proteínas</p> <p>Hemoglobina: óxido de etileno, aminas aromáticas, nitrosaminas específicas de tabaco, cisplatino</p> <p>Albumina: aflatoxina B₁</p>

Tabla 2. Ejemplos de biomarcadores de efecto biológico temprano.

BIOMARCADOR	EJEMPLOS
<p>MARCADOR DE EFECTO BIOLÓGICO TEMPRANO</p>	<p>Mutaciones que se observan <i>in vivo</i> después de exposiciones a compuestos genotóxicos</p> <ul style="list-style-type: none"> Locus de HPRT en linfocitos Locus de HLA-A en linfocitos Locus Glicotorina en eritrocitos <p>Mutaciones en oncogenes y genes supresores de tumores en cánceres con sospecha de una etiología ambiental</p> <ul style="list-style-type: none"> Mutaciones en <i>ras</i> Mutaciones en p53 <p>Citogenética tradicional</p> <ul style="list-style-type: none"> Aberraciones cromosómicas Intercambio de cromátidas hermanas Micronúcleos

Tabla 3. Confinamientos de residuos sólidos industriales

Tipo de residuo	Compañía o empresa	Tipo de servicio	Operación	
			Inicio	Estado actual
1 No peligrosos	Fideicomiso Sahagún; Ciudad Sahagún, Hidalgo.	Público	1982	1984 cerrado
2 No peligrosos	Fracionadora Industrial del Norte Matamoros, Tamaulipas.	Público	1986	1992 clausura parcial
3 No peligrosos	Kimberly Clark de México, SA de CV; San Juan del Río, Querétaro.	Privado		1992 en operación
4 No peligrosos	Procesadora Mexicali, SA; Mexicali, Baja California.	Privado	1968	1992 en operación
5 No peligrosos	Industrias Químicas de México. SA de CV; Tlaquepaque, Jalisco.	Privado	1989	1992 en operación
1 Peligrosos	Química Central de México, SA; San Francisco del Rincón, Guanajuato.	Privado	1983	1992 en operación. Para eliminar residuos acumulados en elaboración
2 Peligrosos	Aldrett, SA; Maxquillo de Carmona, San Luis Potosí.	Público	1982	1990 operación suspendida. La Comisión Local investiga si ha habido efectos en salud pública y ambiente
3 Peligrosos	Residuos Industriales Multiquim, SA; Mina, Nuevo León.	Público	1985	1992 en operación
4 Peligrosos	Parque Industrial Hermosillo; Hermosillo Sonora.	Público	1988	1992 en operación suspendida por adecuación de instalaciones
5 Peligrosos	Confinamiento Técnico de Residuos Industriales, SA; La pedrera. Municipio de Guadalcázar, San Luis Potosí.	Público		Inicio trámite 1992 operación cancelada por parte del gobierno estatal.

Fuente: Dirección General de Normatividad Ambiental, Instituto Nacional de Ecología, Sedesol, 1992.

Tabla 4. Incineradores para residuos sólidos industriales

Tipo de residuo	Compañía o empresa	Tipo de servicio	Lugar
Productos farmacéuticos caducos y envases con plaguicidas.	Bayer	Privado	Santa Clara, Edo. de México.
Productos farmacéuticos caducos y químicos.	Ciba-Geigy	Privado	Atotonilquillo, Jalisco.
Bifenilos policlorados	Tijuana Equilibrio Ecológico S.A. (TEESA), ahora Chemical Waste Management de México.	Privado	Tijuana, B.C., 1992. No entró en operación. Se estudia su reubicación.

Fuente: Dirección General de Normatividad Ambiental, Instituto Nacional de Ecología. Sedesol, 1992.

Tabla 5. Plantas de tratamiento de residuos sólidos industriales peligrosos

Cent.	Tipo de instalación	Capacidad anual	Empresa	Lugar
4	Recicladora de solventes	35 millones de litros	-Tratamientos Industriales Tecnológicos Internacionales S.A. (TITISA/CWMN) -Reind Química -Química Omega -Química Fortek	Tijuana, B.C. Edo. de México. Edo. de México. Chih., Chih.
3	Recuperadora de plomo		-Acumuladores Mexicanos -Huera -Metrometal	Monterrey, N.L. Ascensión, Chih. Reynosa, Tamps.
1	Recuperadora de cinc	24 mil toneladas	-Cinc Nacional	Monterrey, N.L.
2	Recuperadora de aceite	31 millones de litros	-Texaco	Guerátaro, Oro.
4	Recuperadora de aluminio		-Russment -Aluminio y Cinc Industrial -Nemark -Tecnología de Metales	Tijuana, B.C. Edo. de México Nuevo León, N.L. Nuevo León, N.L.
1	recuperadora de níquel		-Residuos Industriales Multiquim	Nuevo León, N.L.

Fuente: Dirección General de Normatividad Ambiental, Instituto Nacional de Ecología, Sedesol, 1992.

Tabla 6. Rellenos industriales

Cant.	Tipo	Propiedad o uso	Nombre	Localidad
1	No peligrosos	Público	-Finsa	Matamoros, Tamps.
3	No peligrosos	Privado	-Kimberly Clark de México	San Juan del Río, Querétaro.
			-Procesadora Mexicali	Mexicali, B.C.
			-Industrias Químicas de México	Tlaquepaque, Jalisco.

Fuente: Dirección General de Normatividad Ambiental. Instituto Nacional de Ecología. Sedesol, 1992.

Tabla 7. Lista del material que se recibió de Noviembre de 1990 a Mayo de 1991*.

RESIDUOS	KILOGRAMOS
Lodos de salmuera	1,315,965
Lodos de pintura	2,872,962
Escoria de fundición	502,760
Tela filtro impregnada con aceites automotivos	483,560
Lodos de aceites automotivos	459,938
Pila y pasta eléctrica para radios y equipo portátil	180,725
Bujías automotivas fuera de especificación	24,920
Lodos de sulfato de calcio pigmento y colorantes	5,991,124
Lodos de ácido acético	869,383
Lodos de tratamientos de aguas con metasulfito de sodio	86,940
Lodos de asbesto	32,845
Lodos de aceite soluble del proceso de maquinado	13,450
Lodos residuales y natas de pintura	7,720
Residuos de catalizador gastado (acetato de etilo)	3,800
Polímero de toluendisocianato	79,000
Lodos de fosfato de zinc y cromo trivalente	10,110
Lodos de catalizador gastado (pentóxido de vanadio)	20,710
Lodos de benzaldehído, acetato de bencilo	99,615
Lodos de catalizador gastado (pentóxido de vanadio)	13,030
Lodos abrasivos	53,525
Lodos con salicilato de hexilo, acetofenona, acetato de herbilo, acetato de fenil etilo	45,000
Pasta de ácido acetilsalicílico, bicarbonato de sodio	
ácido cítrico	20,399
Lodos de poliéter, sulfato de potasio y celulosa	88,753

	13,876,224Kgs

*Proporcionado por la empresa.

Tabla 8. Cuestionario que se aplicó a los individuos testigo y expuestos.

	Nombre: _____
	Número: _____
1.	¿TOMA CAFE? si ____ no ____ Si toma, ¿Cuántas tazas al día? _____
2.	¿TOMA TE? si ____ no ____ Si toma, ¿Cuántas tazas al día? _____
3.	¿INGIERE BEBIDAS EMBRIAGANTES? si ____ no ____ Si toma, ¿Con qué frecuencia? _____
4.	¿Fuma? Si fuma ¿Cuántos cigarrillos al día? _____ Si no fuma, ¿Ha fumado en alguna época de su vida? si ____ no ____ Cuando fumaba, ¿Cuántos cigarrillos al día? _____ ¿Cuándo dejó de fumar? _____
5.	¿Qué come normalmente? desayuno _____ almuerzo _____ comida _____ cena _____
6.	¿Caza algún animal para comerlo? si ____ no ____ Conejo Liebre Correcamino Rata Otro

Tabla 9. Continuación del cuestionario.

7.	¿Come carne? si___no___; con qué frecuencia_____
	¿Come fruta? si___no___; con qué frecuencia_____
	¿Come verdura? si___no___; con qué frecuencia_____
	¿Toma leche? si___no___; con qué frecuencia_____
8.	OCUPACION_____

9.	ANTIGUEDAD EN LA OCUPACION ACTUAL

10.	OTRAS OCUPACIONES ANTERIORES

11.	ANTIGUEDAD EN LAS OCUPACIONES ANTERIORES

12.	EN SU TRABAJO REFIERE:
	dolor de cabeza si___no___; con qué frecuencia_____
	náuseas si___no___; con qué frecuencia_____
	vómito si___no___; con qué frecuencia_____
	irritación de ojos si___no___; con qué frecuencia_____
	irritación de garganta si___no___; con qué frecuencia_____
	percepción de olores extraños si___no___; con qué frec_____
	dolor de estómago si___no___; con qué frecuencia_____
	diarrea si___no___; con qué frecuencia_____
	preocupación si___no___; con qué frecuencia_____

Tabla 10. Criterios para el análisis de aberraciones cromosómicas estructurales

BRECHA CROMATIDICA: región acromática en una cromátida y su tamaño puede ser igual o más pequeño que el grosor de la cromátida.

BRECHA ISOCROMATIDICA: región acromática de ambas cromátidas y su tamaño es igual o más pequeño que el grosor de la cromátida.

ROTURA CROMATIDICA: región acromática en una cromátida y el tamaño de la cual es igual o más grande que el grosor de la cromátida; puede estar alineado o desalineado.

ROTURA ISOCROMATIDICA: región acromática en ambas cromátidas pero es más grande que el grosor de la cromátida y puede estar alineado o desalineado.

FRAGMENTO: es un trozo o un pedazo de una o dos cromátidas.

TRANSLOCACION: intercambio de material cromosómico entre dos cromosomas.

REARREGLOS COMPLEJOS: translocaciones que involucran a más de dos cromosomas.

TRIRRADIAL: arreglo anormal de cromátidas dando por resultado una configuración de tres brazos.

CUADRIIRRADIAL: arreglo en el que un par de cromosomas (homólogos o heterólogos) aparecen con sus cromátidas apareadas en una configuración con cuatro brazos.

CROMOSOMAS DICENTRICOS: cromosomas provistos de dos centrómeros.

ANILLOS: cromosomas circulares por la unión de los extremos de sus cromátidas; pueden ser céntricos o acéntricos.

PULVERIZACION DE UN CROMOSOMA: cromosoma con apariencia parcial o totalmente fragmentada.

PULVERIZACION DE CROMOSOMAS: dos o más cromosomas en una metafase que aparecen total o parcialmente fragmentados.

Tabla 11. Número y tipo de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos testigo y expuestos.

Individuo/ tiempo de exposición	Aberraciones/ 100 células					Total sin brechas
	B'	B''	R'	R''	RC	
Testigos						
1/ 0*	6	1	4	1	0	4
11/ 0*	3	0	2	1	0	3
12/ 0	8	0	1	2	0	3
15/ 0*	4	0	5	1	0	6
16/ 0*	3	0	1	0	0	1
21/ 0	2	0	2	1	0	3
23/ 0*	2	0	2	2	0	4
Total	28	1	16	8	0	24
Expuestos						
17/ 4 «»	3	0	7	4	0	11
2/ 5	7	0	10	3	0	13
3/ 5* «»	3	0	4	3	1	8
5/ 5*	10	0	8	5	0	13
22/ 6	8	0	10	3	0	13
4/ 7*	6	3	6	2	0	8
6/ 7 «»	6	0	7	8	0	15
18/ 7 «»	2	1	5	4	0	9
10/ 8	9	1	86	20	1	107
13/ 8* «»	5	0	25	15	3	43
14/ 8*	5	1	6	0	0	6
20/ 8 «»	6	1	4	4	1	9
Total	70	7	178^a	71^a	6	255^a

B': brecha cromatídica, B'': brecha isocromatídica, R': rompimiento cromatídico, R'': rompimiento isocromatídico, RC: rearreglo complejo. ^a p<0.05

* Individuos fumadores.

«» Individuos con antecedentes laborales de exposición a plaguicidas

Tabla 12. Promedios de la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos testigo y expuestos.

	Testigos	Expuestos
n	7	12
Tipos de aberraciones ($\bar{X} \pm DS$)		
B'	4.00 \pm 2.23	5.83 \pm 2.44
B''	0.28 \pm 0.37	0.58 \pm 0.90
R'	2.42 \pm 1.51	14.83 \pm 23.10 ^a
R''	1.14 \pm 0.69	5.91 \pm 5.82 ^a
RC	0.0	0.50 \pm 0.90
Aberraciones totales ($\bar{X} \pm DS$)		
sin brechas	3.42 \pm 1.51	21.25 \pm 28.69 ^a
% de células dañadas ($\bar{X} \pm DS$)	3.28 \pm 1.49	12.33 \pm 7.60 ^a

B': brecha cromatídica, B'': brecha isocromatídica, R': rompimiento cromatídico, R'': rompimiento isocromatídico, RC: rearreglo complejo.

^a p < 0.05

Tabla 13. Número de células con aberraciones cromosómicas en los individuos testigo y expuestos.

Individuo	Tiempo de exposición (meses)	Número de células aberrantes
Testigo		
1*	0	4
11*	0	3
12	0	3
15*	0	6
16*	0	1
21	0	3
23*	0	3
Promedio ($\bar{X} \pm DS$)		3.28 \pm 1.49
Expuestos		
17 «»	4	10
2	5	8
3* «»	5	7
5*	5	13
22	6	13
4*	7	7
6 «»	7	10
18 «»	7	8
10	8	31
13* «»	8	24
14*	8	6
20 «»	8	9
Promedio ($\bar{X} \pm DS$)		12.33 \pm 7.60

* Individuos fumadores.

«» Individuos con antecedentes laborales de exposición a plaguicidas

Tabla 14. Promedios de la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos testigo y expuestos agrupados en fumadores y no fumadores.

	Testigos No fumadores	Testigos Fumadores	Expuestos No fumadores	Expuestos Fumadores
n	2	5	7	5
Tipos de aberraciones	($\bar{X} \pm DS$)	($\bar{X} \pm DS$)	($\bar{X} \pm DS$)	($\bar{X} \pm DS$)
B'	5.0 \pm 4.2	3.6 \pm 1.5	5.8 \pm 2.5	5.8 \pm 2.5
B''	0.0	0.2 \pm 0.44	0.4 \pm 0.5	0.6 \pm 1.3
R'	1.5 \pm 0.7	2.8 \pm 1.6	18.4 \pm 29.8	9.8 \pm 8.6
R''	1.5 \pm 0.7	1.0 \pm 0.7	6.5 \pm 6.1	5.0 \pm 5.8
RC	0.0	0.0	0.3 \pm 0.5	0.8 \pm 1.3
Aberraciones totales sin brechas	3.5 \pm 0.7	3.6 \pm 1.8	25.2 \pm 36.1	15.6 \pm 15.5
% de células dañadas	3.0 \pm 0.0	3.4 \pm 1.8	12.7 \pm 8.24	11.4 \pm 7.5

B': brecha cromatídica, B'': brecha isocromatídica, R': rompimiento cromatídico, R'': rompimiento isocromatídico, RC: rearreglo complejo.

Tabla 15. Promedios de la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los trabajadores expuestos con antecedentes laborales a plaguicidas

	Testigos	Expuestos sin antecedentes	Expuestos con antecedentes
n	7	5	6
Tipos de aberraciones ($\bar{X} \pm DS$)			
B'	4.00 \pm 2.23	7.20 \pm 1.92	4.16 \pm 1.72
B''	0.28 \pm 0.37	0.80 \pm 1.30	0.33 \pm 0.51
R'	2.42 \pm 1.51	8.00 \pm 2.00 ^a	8.66 \pm 8.11 ^a
R''	1.14 \pm 0.69	2.6 \pm 1.62 ^a	6.33 \pm 4.58 ^a
RC	0.0	0.0	0.83 \pm 1.16
Aberraciones totales ($\bar{X} \pm DS$) sin brechas			
	3.42 \pm 1.51	10.60 \pm 3.36 ^a	15.83 \pm 13.54 ^a
% de células dañadas ($\bar{X} \pm DS$)			
	3.28 \pm 1.49	9.40 \pm 3.36 ^a	11.50 \pm 6.18 ^a

B': brecha cromatídica, B'': brecha isocromatídica, R': rompimiento cromatídico, R'': rompimiento isocromatídico, RC: rearme complejo.
n: número de individuos.

^a p < 0.05 significativo con respecto al grupo testigo

Tabla 16. Frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) observadas en el grupo testigo y expuesto.

Individuo	Tiempo de exposición (meses)	ICHs/célula ($\bar{X} \pm DS$)
Testigo		
1 *	0	7.1 \pm 3.5
11*	0	5.3 \pm 2.4
12	0	7.3 \pm 5.3
15*	0	3.3 \pm 1.8
16*	0	4.4 \pm 2.3
21	0	9.2 \pm 4.1
23*	0	8.7 \pm 3.6
Promedio ($\bar{X} \pm DS$)		6.47 \pm 2.20
Expuestos		
17 «»	4	5.2 \pm 2.5
2	5	6.5 \pm 3.3
3* «»	5	5.2 \pm 2.1
5*	5	6.8 \pm 3.7
22	6	5.2 \pm 2.8
4*	7	5.9 \pm 3.2
6 «»	7	5.7 \pm 3.1
18 «»	7	6.0 \pm 2.8
10	8	6.7 \pm 2.6
13* «»	8	8.7 \pm 3.7
14*	8	6.1 \pm 2.3
20 «»	8	7.7 \pm 3.5
Promedio ($\bar{X} \pm DS$)		6.30 \pm 1.06

*Individuos fumadores.

«»Individuos con antecedentes laborales de exposición a plaguicidas.

- Tabla 17. Valores de células en primera (M1), segunda (M2) y tercera (M3) división e índice de replicación (IR).

Individuos	Tiempo exposición (meses)	M1	M2	M3	IR
Testigos					
1 *	0	31	21	48	2.17
11*	0	12	26	62	2.50
12	0	6	6	88	2.82
15*	0	13	23	64	2.47
16*	0	11	22	67	2.56
21	0	26	34	40	2.14
23*	0	33	34	33	2.00
Promedio ($\bar{X} \pm DS$)		18.8 \pm 10.8	23.7 \pm 9.5	57.4 \pm 18.62	2.38 \pm 0.28
Expuestos					
17 \leftrightarrow	4	3	5	92	2.89
2	5	22	18	60	2.38
3 * \leftrightarrow	5	13	27	60	2.47
5 *	5	14	15	71	2.57
22	6	22	20	58	2.36
4 *	7	6	23	71	2.65
6 \leftrightarrow	7	22	19	59	2.36
18 \leftrightarrow	7	10	5	85	2.75
10	8	31	27	42	2.11
13* \leftrightarrow	8	47	31	22	1.75
14*	8	7	12	81	2.74
20 \leftrightarrow	8	5	10	85	2.80
Promedio ($\bar{X} \pm DS$)		16.8 \pm 12.81	17.6 \pm 8.5	65.5 \pm 19.9	2.48 \pm 0.32

* Individuos fumadores.

\leftrightarrow Individuos con antecedentes laborales de exposición a plaguicidas

XIII FIGURAS

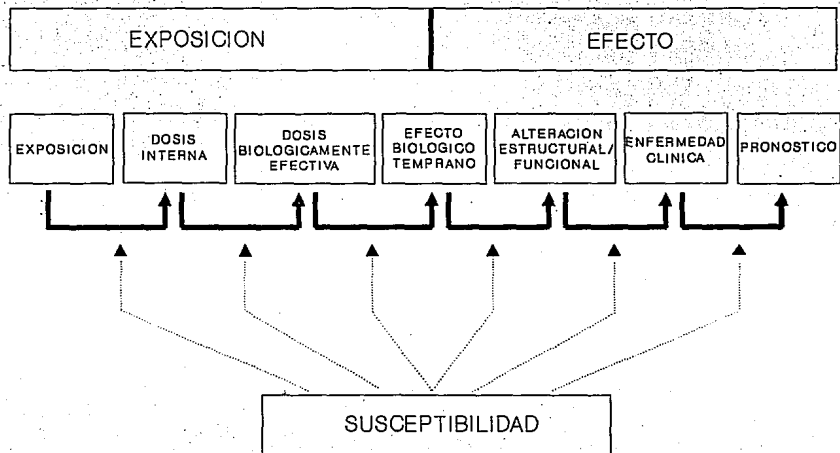


Figura 1: Relación entre los biomarcadores de susceptibilidad, exposición, y efecto.²

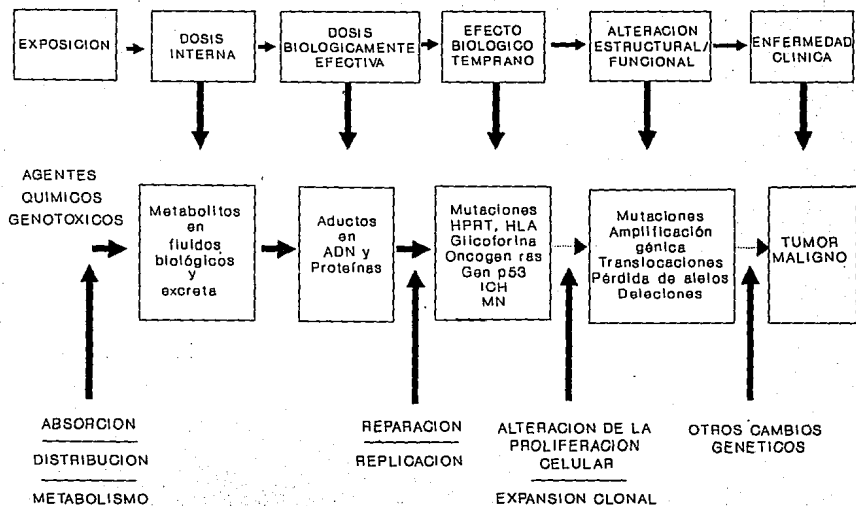


Figura 2. Base conceptual del desarrollo de biomarcadores en epidemiología del cáncer.³

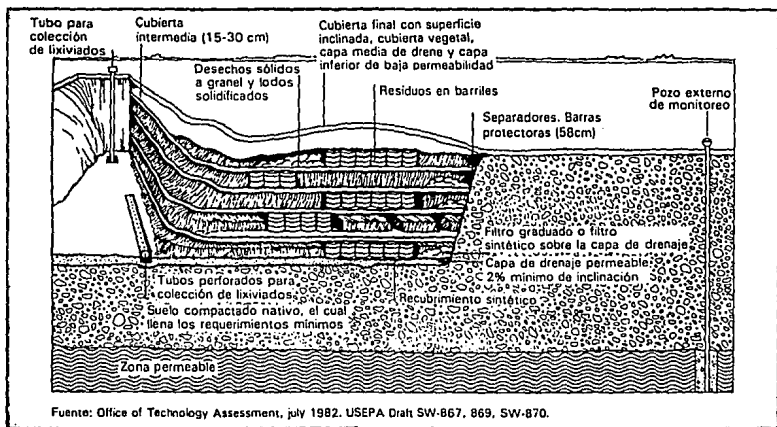


Figura 3. Descripción general de un cementerio industrial con los requerimientos mínimos de diseño.⁴⁰

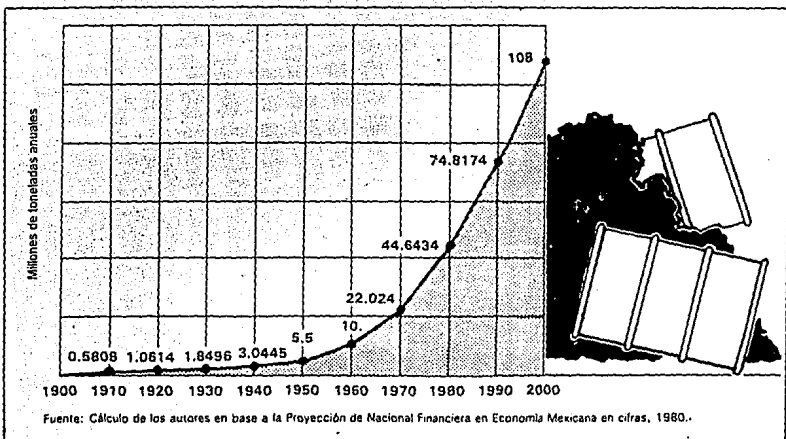


Figura 4. Desechos industriales peligrosos en los ecosistemas de México de 1900 al 2000.⁴⁰

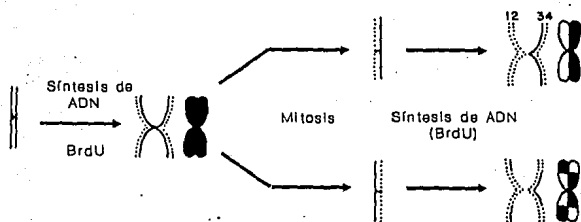


Figura 5. Formación de Intercambios de cromátidas hermanas (ICHs) en presencia de bromodesoxiuridina (BrdU) durante dos ciclos de duplicación del ADN.⁷²

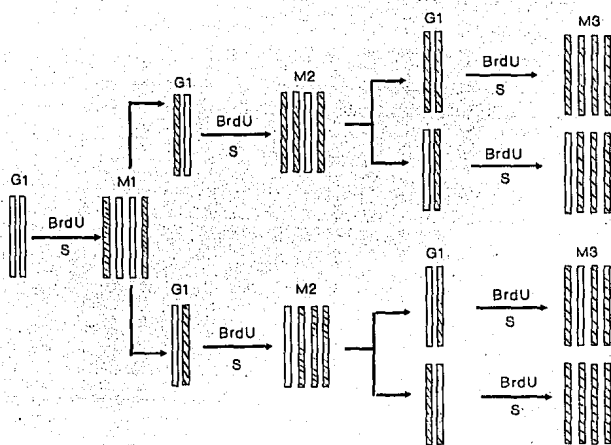


Figura 6. Incorporación de bromodesoxiuridina (BrdU) para el análisis de proliferación celular (CPC). Metafases en primera (M1), segunda (M2) y tercera (M3) divisiones.



Figura 7. Trabajadores sin equipo de protección en la estación de transferencia.

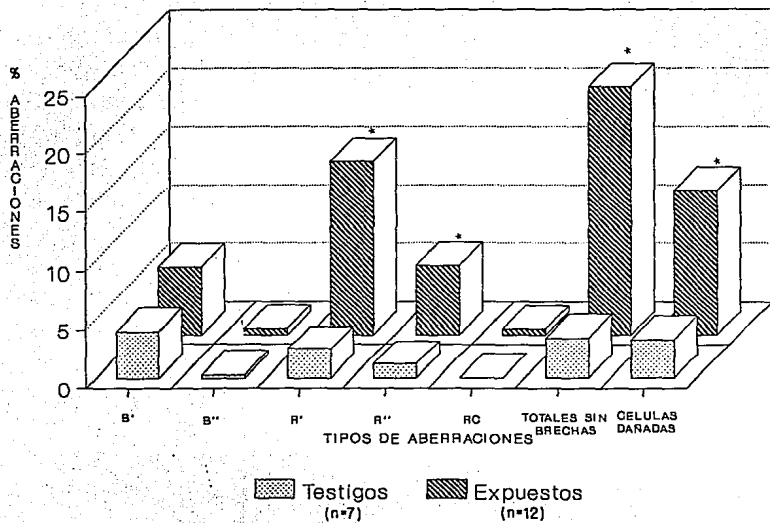


Figura 8. Aberraciones cromosómicas estructurales (ACE).
*significativo $p < 0.05$

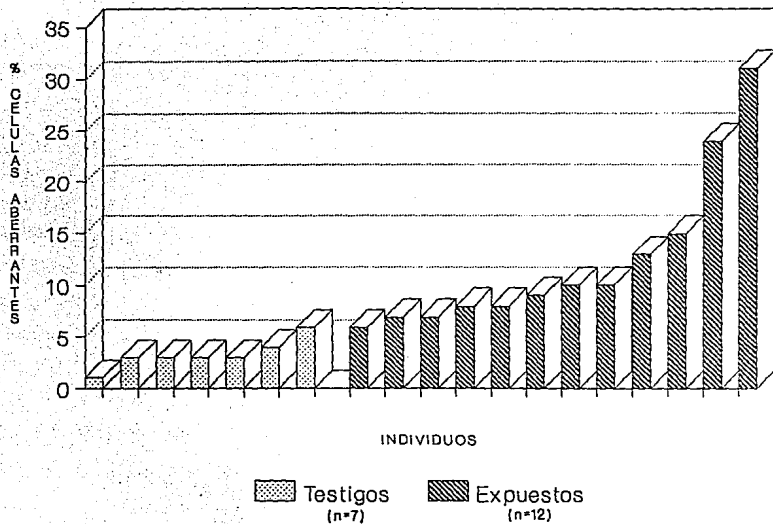


Figura 9. Células con aberraciones por individuo.

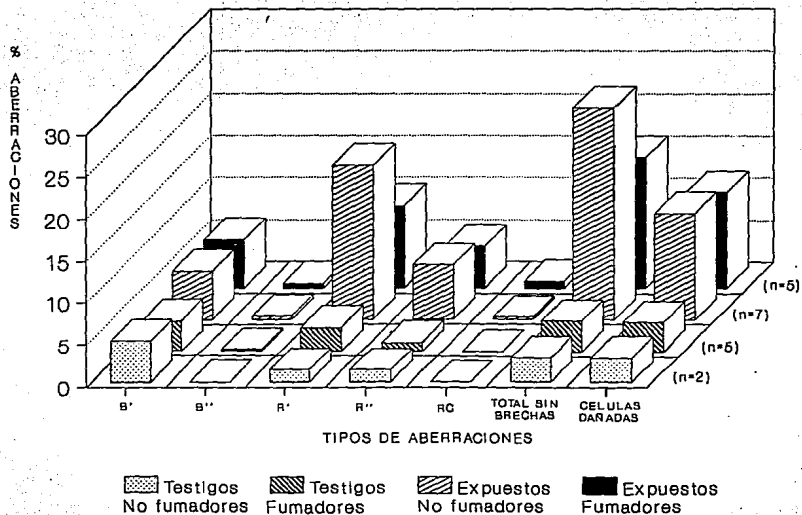


Figura 10. Aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) en los individuos fumadores y no fumadores.

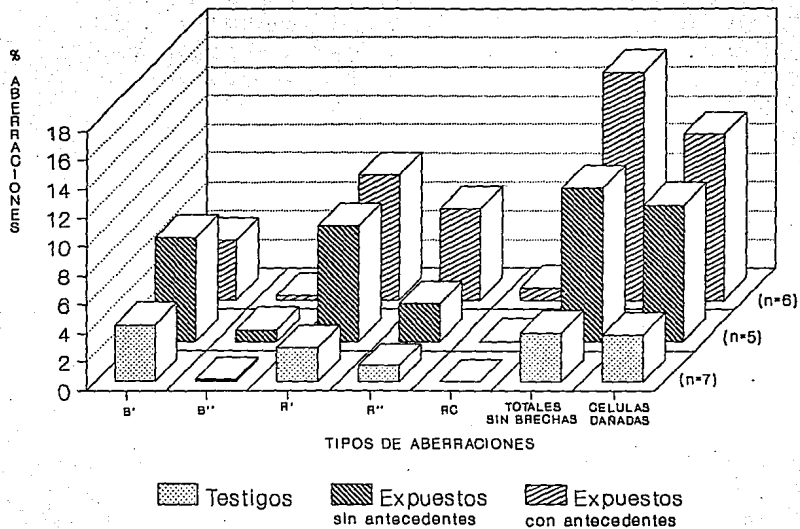


Figura 11. Aberraciones cromosómicas estructurales (ACE) con antecedentes laborales de exposición a plaguicidas.

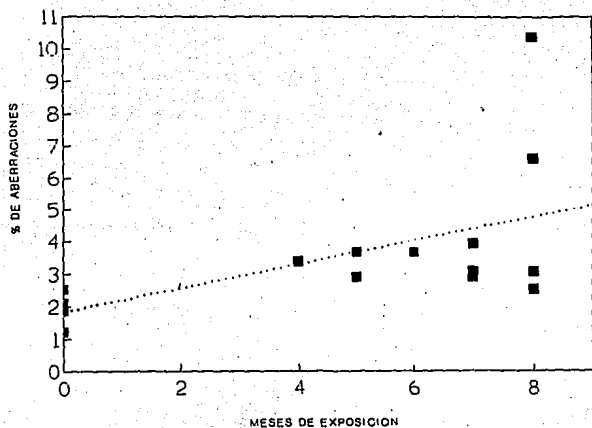


Figura 12. Aberraciones cromosómicas totales con relación al tiempo de exposición.

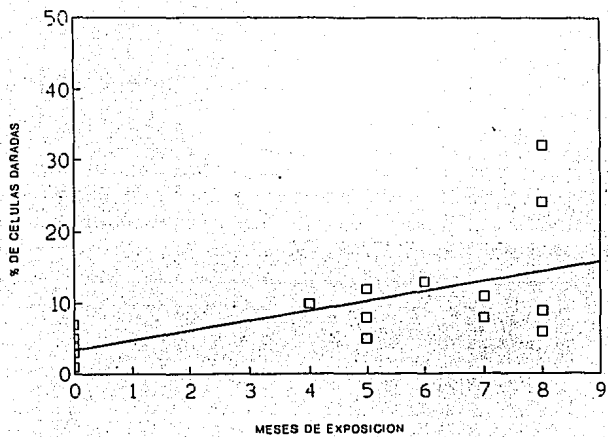


Figura 13. Porcentaje de células con daño con relación al tiempo de exposición.