



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ALTERACIONES CROMOSOMICAS
CAUSADAS POR EXPOSICION OCUPACIONAL
DEL CROMO

TESIS

Que para obtener el Título de:

BIOLOGO

PRESENTA:

María Teresa García Hernández

Director de Tesis:

DR. FABIO SALAMANCA GOMEZ

MEXICO, D. F.

1985



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.

C O N T E N I D O

- I ANTECEDENTES
- II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA
- III MATERIAL Y METODOS
- IV RESULTADOS
- V DISCUSION
- VI CONCLUSIONES
- VII BIBLIOGRAFIA

El cromo es un elemento que pertenece al primer grupo de metales de transición, con un peso atómico de 52.01, número atómico de 24, punto de fusión de 1,890°C y punto de ebullición de 2,200°C.

Tiene cuatro estados de oxidación: 0, II (divalente), III (trivalente) y VI (hexavalente)

El cromo metálico o de estado de oxidación cero resiste el ataque de ácidos oxidantes y de otros compuestos y por ello se utiliza ampliamente en la producción de aleaciones resistentes a la corrosión.

Las sales de cromo II, son inestables y no tienen importancia comercial, son oxidadas en el aire o en solución acuosa y por ello se les encuentra rara vez.

Los compuestos de cromo III son los más estables y ampliamente utilizados en la industria, como el óxido crómico (Cr_2O_3) y los dicromatos ($\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$), que son los más importantes en la industria pero también los más tóxicos.

El cromo está presente en la corteza terrestre en niveles cercanos a 100 partes por millón (ppm), pero a pesar de su amplia dispersión en depósitos naturales, nunca se les encuentra -

en estado libre. Sus principales usos son:

- 1) En la metalúrgia para la manufactura de aleaciones cero al cromo níquel.
- 2) En la elaboración de material refractario
- 3) En la síntesis de pigmentos y derivados crómicos; en la fabricación de emulsiones fotográficas; en la elaboración de catalizadores, explosivos y cerámica.
- 4) En la investigación en biomedicina, el radiocromato de sodio se aplica en el estudio de longevidad de los eritrocitos (1).

En la atmósfera de industrias metalúrgicas el sesquióxido de cromo (Cr^{3+}), es la forma más abundante. El cromo hexavalente (Cr^{6+}) se origina principalmente en la producción de cromatos y dicromatos (1)

Las sales de Cr III son difícilmente absorbidas en los tractos gastrointestinales y respiratorios, ya que no atraviesan fácilmente las membranas. El Cr VI es absorbido por vía oral, respiratorio y cutánea (1).

La toxicidad del Cr. III es baja debido a su pobre penetración a través de las membranas y a su naturaleza menos corrosiva que la de la forma hexavalente (2)

En la transición entre la entrada de cromo VI y su reducción intracelular a Cr III, la forma hexavalente actúa a nivel de membrana plasmática donde estimula los mecanismos de entrada de los nucleósidos a través de su acción sobre las nucleósido permeasas, esto ocurre hasta que el Cr III que está ligado a moléculas intracelulares excede los niveles críticos. Entonces el Cr III interfiere con las nucleósido permeasa lo que dificulta la entrada de los nucleósidos a la célula (3).

El cromo en el metabolismo del hombre:

Se ha demostrado que el cromo es capaz de incrementar la actividad de ciertas enzimas por ejemplo, la deshidrogenasa citocromo succínica, o de satisfacer los requerimientos de un metal cofactor como es el caso de la fosfoglucomutasa (4).

También se ha podido establecer experimentalmente si este metal con otros intervienen en la estabilización de la estructura terciaria de los ácidos nucleicos y de algunas proteínas (5).

Sin duda el papel más importante del Cr III es el formar -- parte de la molécula que constituye el "factor de tolerancia a la glucosa" (FTG). Recientemente se ha logrado preparar un complejo de cromo biológicamente activo que resulta ser similar, pero no idéntico al FTG, cuya estructura hasta la fecha sigue siendo desconocida, se sabe únicamente que está formado por dos moléculas de ácido nicotínico por cada átomo de cromo, que a su vez

está asociado a la cisteína, a la glicina y posiblemente al ácido glutámico (6).

En algunas investigaciones se ha indicado que el cromo que aporta el FTG interviene en la unión de la insulina con los receptores de la membrana celular del tejido adiposo, posiblemente mediante la formación de puentes disulfuros, lo que estimula absorción de la glucosa del torrente sanguíneo que se transforma en glucógeno, en la mayor parte de los tejidos pero principalmente en el hígado esquelético (4)

Se ha observado que el cromo y la insulina actúan conjuntamente sobre diversas funciones biológicas, tales como la incorporación de los aminoácidos para las proteínas presentes en los alimentos (7).

Efectos tóxicos del cromo en el hombre:

Los individuos que están expuestos al cromo lo retienen en todos los órganos y la concentración más alta se encuentra en el pulmón, probablemente el cromo acumulado proviene directamente del aire (8).

Existen tres rutas principales por las cuales el cromo puede entrar en el hombre: sistema respiratorio, tracto digestivo y piel.

Sistema respiratorio:

El hombre esta expuesto al cromo accidental u ocupacionalmente; en ambos casos puede respirar aerosoles que contengan el metal, o bién lo respira asociado con partículas de mayor tamaño las cuales son retenidas en el tracto respiratorio superior a diferencia de los contenidos en aerosoles que tienen la posibilidad de penetrar y depositarse en la tráquea, los bronquios y los alveólos. Una vez depositados el Cr III y el Cr VI en el tracto respiratorio, tienen un comportamiento diferente, mientras que el primero se redistribuye en el tracto, una parte del segundo se reduce a Cr III y otra a la sangre, al hígado, al riñón y al bazo.

Se ha encontrado que el Cr VI, es decir los cromatos pueden producir ulceraciones de la mucosa y perforaciones del septo nasal en trabajadores expuestos a este metal (9)

Varios estudios epidemiológicos han señalado una gran incidencia de cáncer pulmonar en trabajadores de fábricas que producen cromatos a partir de cromita y en menor grado en obreros de la industria de pigmentos (10, 11 y 12), la posibilidad de transformación maligna varía del 3 al 28% con un período de latencia de 10 a 27 años (13, 14).

En áreas de industrias metalúrgicas, la población urbana inhala de 0.03 a 0.3 μ g/día (1).

La transformación celular provocada por el cromo en cultivo de tejidos parece depender del estado oxidativo y la solubilidad de sus compuestos (15, 16, 17 y 18), y en el caso del hombre, - la carcinogénesis también parece depender del estado oxidativo - y la solubilidad de su compuesto, de su persistencia en el sitio de depósito en el pulmón, así como de la inclusión intracelular progresiva que explican la localización de la neoplasia (19).

Tracto digestivo:

La ingestión es la forma más común por medio de la cual el metal llega al hombre, ya sea que provenga de la cadena alimenticia acuática o terrestre (4). Cuando el metal entra en forma de Cr III, la toxicidad es baja a pesar de que la cantidad sea considerable, debido a que al llegar al tracto digestivo se adsorbe a las fibras del alimento o bien se precipita y de esta manera - se elimina. En contraste, el Cr VI es un fuerte oxidante muy corrosivo que tiende a reducirse a Cr III por la presencia del HCl del estómago. La ingestión diaria de cromo en la dieta es de 30 a 200 μ g, de los cuales de 6 a 10 μ g. corresponden al cromo que contienen el agua (1).

El cromo es con certeza un agente tóxico menos acumulable - que el plomo y el cadmio, ya que una parte de la fracción que ha sido absorbida es eliminada principalmente en la orina (20).

La baja absorción de cromo ingerido pone de manifiesto la existencia de mecanismos de excreción, el más importante es el que se realiza por la vía urinaria, que elimina de 3 a 50 μ g/día (21).

Sin embargo el cromo VI al llegar al riñón provoca la disminución del ácido ascórbico, sustancia que protege al tejido renal, de manera que, cuando baja su nivel permite al metal ejercer su acción tóxica (22).

La eficiencia de la eliminación del cromo por la orina, depende del tiempo de exposición y de la concentración del metal - ya que cierto porcentaje de éste se reabsorberá en los riñones - lo que pueda alterar la función de filtración por posibles daños celulares (23).

Piel:

El cromo es capaz de penetrar a través de la piel y causar diferentes daños desde ulceraciones hasta infecciones secundarias. La dermatitis de contacto que produce el cromo se debe a una irritación directa o a una reacción alérgica y esto sucede - por la unión del Cr III a las proteínas, a las que altera su configuración lo que provoca la respuesta inmune del cuerpo contra las formas alteradas.

Cuando la exposición es al Cr VI se presentan los mismos --- efectos debido a que al ponerse en contacto con la piel se reduce a Cr III. El efecto sobre la configuración se explica por el hecho de que los iones crómicos tienen orbitales de unión disponibles que pueden formar compuestos con nitrógeno, oxígeno, azufre y los aminoácidos presentes en las proteínas de la piel (24). -- Sin embargo las úlceras son la respuesta más común de la exposición ocupacional del Cr VI (25)

A través de múltiples investigaciones se ha podido comprobar que tanto el Cr VI como el Cr III, pueden actuar como agentes carcinogénicos en el hombre (26) y en animales experimentales (27).

Se ha observado que el riesgo de cáncer en el pulmón que tienen los fumadores es de un 15 a 30 % mayor que el de los no fumadores (28). Este riesgo aumenta por varios de los compuestos del aire, factores contaminantes ambientales como los cromatos (29).-- Se han reconocido efectos sinérgicos entre el tabaco y el cromo que recombinados incrementan la incidencia del cáncer (30).

La forma de Cr VI se ha correlacionado principalmente con el efecto mutágeno. La acción mutagénica del cromo se ha evidenciado por: inducción de errores en la incorporación de nucleótidos durante la duplicación del ADN en bacterias (31, 32); mutaciones puntuales en bacterias, levaduras y células de mamífero in --

vitro (33, 34, 17); elevación de la frecuencia de micronúcleos en células de ratón (35); aberraciones cromosómicas y un número significativamente elevado de intercambios de cromátidas hermanas en varias especies y sistemas (17, 36, 37, 38, 39, 40, 41) (Tabla I)

TABLA I. Evidencias de la mutagenicidad del cromosoma.

TIPOS DE ALTERACION	REFERENCIAS
<p>- Mutaciones puntuales:</p> <p>Bacterias</p> <p>Levaduras</p> <p>Células de mamífero</p>	<p>(33) Venitt y cols (1974)</p> <p>(34) Bonatti y cols. (1974)</p> <p>(17) Newbold y cols. (1976)</p>
<p>- Frecuencia de micronúcleos en células de ratón.</p>	<p>(35) Wild y col. (1978)</p>
<p>- Reparación en la síntesis de ADN</p>	<p>(-) Di Paolo y Castro (1979)</p>
<p>- Aberraciones cromosómicas e Intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de humano, células de ratón y plantas.</p>	<p>(36) Tsuda y cols. (1977-80)</p> <p>(17) Newbold y cols. (1976)</p> <p>(37) Nakamuro y col. (1978)</p> <p>(38) Majone y col. (1979)</p> <p>(39) Stella y col. (1982)</p> <p>(40) Lewis y col. (1979)</p> <p>(41) Gómez-Arroyo y col. (1981)</p>

Los estudios de efectos genéticos de compuestos de cromo en sistemas de ácido nucléico purificados en bacterias, plantas y - animales in vivo e in vitro indican que el compuesto hexavalente (Cr VI) tiene actividad citotóxica, citogenética y mutagénica. - El efecto del Cr VI en la inducción de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) in vitro depende del período del ciclo mitótico durante el cual se realice el tratamiento.

La exposición ocupacional al cromo constituye un riesgo de mutagenicidad y carcinogenicidad, lo que hace indispensable profundizar en el conocimiento de sus efectos a nivel cromosómico.

En 1957 Taylor y otros investigadores muestran por medio de técnicas de autorradiografía el ICH, en la segunda generación de células marcadas con timidina tritiada (43)

Debido a la incorporación de la 5-bromodeoxiuridina (BrdU) en lugar de la timidina en el ADN recién sintetizado, se pueden obtener metafases con tinción diferencial, las cuales indican -- aquellas células que han pasado por 1, 2, 3 o más ciclos de duplicación por medio de la identificación de las dos cromátidas. Así la cromátida sustituida unifilarmente por la BrdU está condensada y se tinte más oscura con la técnica de Giemsa y la cromátida sustituida bifilarmente, es decir con BrdU en ambas cadenas del ADN, es menos condensada y se tinte débilmente (46).

Más recientemente, una interpretación diferente del fenómeno de ICH manifiesta gran potencialidad, Zakhrrarov y Egolina, -- (44), reportan que al hacer crecer las células de mamífero en -- presencia de BrdU en cultivo durante dos ciclos celulares, una -- cromátida de los cromosomas en metafase se tinte con Giemsa más -- intensamente que la otra. Al usar el fluorocromo Hoechst 33258, Latt (45) encuentra una de las cromátidas sustituidas por bromouracilo en ambas cadenas de ADN (sustitución bifilaria) que indica poca fluorescencia.

El ICH es extremadamente claro en estas preparaciones. Ahora se utilizan varios métodos para poner de manifiesto el ICH -- con la tinción de Giemsa en lugar de fluorescencia e incluso se combina con técnicas de bandas (46, 47, 48).

II PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Dentro del sector obrero en nuestro país, la intoxicación por cromo, constituye un riesgo para la salud del individuo y la población.

La exposición de este metal causa diversos tipos de alteraciones en el organismo, entre ellas el daño a los cromosomas.

El ICH se puede inducir in vitro con dosis subtóxicas y su análisis ofrece la posibilidad de una prueba cuantitativa para detección de daño cromosómico, la cual es rápida y sensible.

Debido a que en nuestro país no hay antecedentes respecto a estudios del efecto del cromo sobre los cromosomas, en personas expuestas a este metal, se decidió realizar el presente trabajo, con el objeto de conocer la acción del cromo sobre los cromosomas de obreros de una industria cromadora.

Se propone que hay una frecuencia de alteraciones cromosómicas inespecíficas y de intercambio de cromátidas hermanas significativamente mayor en sujetos expuestos crónicamente a Cr VI que en el grupo control.

III MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron 16 trabajadores expuestos al cromo hexavalente provenientes de una industria cromadora y 6 sujetos sanos voluntarios, sin antecedentes de exposición ocupacional al cromo, de edad y sexo comparable al grupo problema. En ambos se excluyeron sujetos con enfermedades virales o que hubieran recibido medicamentos clastogénicos, por lo menos dos meses antes de la toma de la muestra. Por razones ya discutidas, se consideró el antecedente de tabaquismo y se definió como fumador a aquel que consumía 10 cigarrillos o más por día.

Se practicó un exámen clínico a los sujetos estudiados y se hicieron análisis de:

- a) Concentración de Cr en sangre.
- b) Concentración de Cr en orina.

Estos estudios se realizaron en el laboratorio de la Jefatura de Medicina del Trabajo del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social, con las técnicas habitualmente empleadas (49).

Las muestras se procesaron en la Unidad de Investigación Clínica en Genética Humana, Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, con el fin de realizar el análisis de ICH y aberraciones inespecíficas.

MUESTRA:

Se tomaron 2 ml. de sangre venosa periférica por sujeto, -- con una jeringa estéril previamente heparinizada (0.1 ml)

CULTIVO DE LINFOCITOS**SIEMBRA:**

Se realizaron cultivos de linfocitos de sangre periférica -- con la técnica de Moorhead (50) con algunas modificaciones de -- nuestro laboratorio.

- En una campana previamente esterilizada se colocó el material necesario en condiciones óptimas de esterilidad y se irradió -- con luz ultravioleta durante 20 minutos (min)
- Cada cultivo se hizo por duplicado
- Se adicionó a cada cultivo 2 gotas de penicilina-estreptomici- na. 0.2 ml de fitohemaglutinina rehidratada (DIFCO) tipo M, -- 1 ml de suero fetal de ternera (GIBCO) y 4 ml de medio cultivo (Mc Coy 5a Microlab), 12 gotas de sangre total y se homogenizó.
- Para la técnica de intercambio de cromátidas hermanas, se uti- lizó el método descrito por Korenberg-Freedlender (44,45).
- A las 24 horas se adicionó a cada cultivo 10^{-6} g/ml de BrdU.
- Se reincubaron a 37°C durante 56 horas más.

COSECHA:

- Al término de las 56 horas se adicionaron 30^{-6} g de colchicina

(MERCK), se agitaron suavemente e incubaron a 37°C durante 30 -- min.

- Los cultivos se pasaron a tubos cónicos y se centrifugaron a - 1,000 revoluciones por minuto (rpm) durante 15 min.
- Se desechó gran parte del sobrenadante, para resuspender el bo tón suavemente, en 10 ml de solución hipotónica de cloruro de potasio (KCl) 0.075 M.
- Se incubaron nuevamente a 37°C durante 20 min.
- Se centrifugó a 1,000 rpm durante 15 min. se eliminó gran parte del sobrenadante y se resuspendió el botón
- Se agregó solución fijadora de Carnoy (metal-ácido acético, -- 3:1).
- Se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 15 min. se cen trifugó a 1,000 rpm durante 15 min. y se eliminó el sobrenadante.
- Se repitieron los 2 pasos anteriores dos veces más, se incubó a temperatura ambiente durante 24 horas.
- Al término de las 24 horas, se agregó la solución fijadora de acuerdo a la cantidad del botón obtenido.
- Las laminillas se hicieron en portaobjetos previamente humedecidos en etanol al 70 % donde se dejaron caer 6 gotas de la -- suspensión a una altura aproximada de 30 cm. para lograr una - adecuada dispersión de cromosomas y se fijaron por ignición.
- Se dejaron secar las laminillas y se lavaron con agua de ioniza

da y nuevamente se dejaron secar al aire.

TINCION:

Se llevó a cabo siguiendo la técnica de Korenberg-Freedlander (45) con algunas modificaciones de este Laboratorio.

- Las laminillas se colocaron en una copa Koplín que contenía una solución de trabajo del fluorocromo Hoeschst 33258 (1.0 mg/ml), en agua desionizada durante 60 min.
- Se lavaron con agua corriente.
- Se dejaron reposar las laminillas en total oscuridad durante 24 horas.
- Al término de las 24 horas, las laminillas se metieron en una solución amortiguadora de fosfatos a un pH de 6.8 (Na_2HPO_4 y K_2HPO_4) y se expusieron a la luz ultravioleta durante 25 min.
- Se lavaron con agua corriente y se dejaron reposar en completa oscuridad durante 24 horas.
- Se tificaron las laminillas con colorantes Giemsa (SIGMA) preparado con amortiguador de fosfatos a pH 7.5
- Se lavaron con agua corriente
- Ya secas se observaron al microscopio.

ANALISIS AL MICROSCOPIO

Las alteraciones cromosómicas se cuantificaron de acuerdo con la clasificación de Savage (51) y el ICH se midió observando la tinción diferencial en cromosomas en metafase y se clasifica--

ron las células de acuerdo a si se encontraban en el primero, segundo, tercero o cuarto ciclo de duplicación.

El observador desconocía en cada caso si la preparación pertenecía al grupo problema o al control

Las metafases se observaron en un fotomicroscopio ZEISS III

Los datos fueron procesados por medio de la prueba de U de Mann-Whitney (52).

Se determina el valor de U mediante la siguiente fórmula:

$$U = n_1 n_2 + \frac{n_1 (n_1 + 1)}{2} - R_1$$

Donde:

R_1 = Es la suma de los intervalos asignados al grupo cuyo tamaño de muestra es n_1 .

n_1 = Es el número de casos del más pequeño de los dos grupos independientes.

n_2 = Es el número de casos del grupo más grande

Esta prueba se emplea para indicar si estos son al azar o no.

La prueba de U de Mann-Whitney puede usarse para probar si 2 grupos independientes han sido tomados de la misma población.

El valor de U es dado en la clasificación por el número de veces que un puntaje del grupo con n_2 casos precede a un puntaje del grupo n_1 casos.

En este caso:

n_1 = controles

n_2 = expuestos

Cálculo del valor de U:

$$U = n_1 n_2 + \frac{n_1 (n_1 + 1)}{2} - R_1$$

$$U = n_1 n_2 + \frac{n_2 (n_2 + 1)}{2} - R_2$$

$$U = (6)(15) + \frac{6(7)}{2} - 21 = 90$$

$$90 + 21 - 21$$

$$U = 90 - 90 = 0$$

$$P << 0.001$$

Se busca en la Tabla J

Estos son los pasos para usar la prueba de U de Mann-Whitney.

1) Se determinan los valores de n_1 y n_2 . n_1 es el número de casos en el grupo más pequeño

2) Se ordenan juntos los puntajes de ambos grupos, asignando el rango de 1 al puntaje que sea algebraicamente ^{mente} más bajo.

Los rangos van desde 1 hasta $N = n_1 + n_2$. Se asigna a las observaciones ligadas el promedio de los rangos ligados.

3) Se determina el valor de U contando 0 por medio de una de las fórmulas.

4) El método para determinar la significación del valor observado de U depende del tamaño de n_2 .

5) Si el valor observado de U tiene la probabilidad asociada igual o menor que α , se rechazan H_0 y se acepta H_1 .

IV RESULTADOS

La edad de los 16 trabajadores expuestos al cromo, osciló entre los 20 y 48 años con un promedio de 33 años de edad.

Con respecto al tiempo de exposición los límites fueron de 7 semanas a 21 años, el promedio de estos fué de 7.71 años.

El 100% de los trabajadores presentaron concentraciones - - anormales de cromo tanto en la orina como en sangre. El promedio fué de $47.97 \mu\text{g}/\text{l}$ en orina y $20.32 \mu\text{g}/100 \text{ gr}$ en sangre. (Tabla -- II).

Dentro del grupo control los límites de edad fueron de 24 y 29 años, el promedio fué de 27 años de edad.

El 100% de estos individuos presentaron valores normales, - tanto en concentración de cromo en sangre como en orina, sus valores fluctuaron entre 2 y $8 \mu\text{g}/100 \text{ gr}$ y 6 y $8 \mu\text{g}/\text{lt}$ respectivamente (Tabla II)

Las alteraciones cromosómicas observadas por individuos en el grupo problema fueron de 100% de brechas o huecos, el 93.75% de fracturas y un promedio de 27.01 de ICH por metafase. (Tabla III)

TABLA III Resultados cromosómicos de las alteraciones inespecíficas en los sujetos expuestos al cromo y en los sujetos controles.

VARIABLES	EXPUESTOS	CONTROLES
Brechas	40%	0.8%
Fracturas	20%	0%
ICH	$\bar{X} = 27.01$ por metafase	$\bar{X} = 5.70$ por metafase

El intercambio de cromátidas hermanas correlacionado con la concentración de cromo en sangre y orina, con la edad y el tiempo de exposición no fueron significativas ya que para el ICH/ -- tiempo de exposición se obtuvo un coeficiente de correlación positivo, el ICH/cr en orina, el coeficiente fué también negativo y para el ICH/edad fué positivo su coeficiente de correlación.

El tiempo de exposición/cr en sangre con un coeficiente de correlación negativo, para la correlación del tiempo de exposición con el cr. en orina tuvo un coeficiente negativo.

De la correlación del número de brechas o huecos encontrados por sujetos con respecto a la edad de éstos, se obtuvo un -- coeficiente negativo.

El número de brechas o huecos correlacionados con las fracturas fué positiva. (Tabla IV).

TABLA IV. Se muestran las diferentes correlaciones de las variables estudiadas, así como su nivel de significatividad en los expuestos.

VARIABLES ESTUDIADAS	COEFICIENTES DE CORRELACION	
ICH/TIEMPO DE EXPOSICION	$r = 0.50$	$p > 0.05$
• ICH/Cr en sangre	$r = -0.19$	$p > 0.1$
ICH/Cr en orina	$r = -0.18$	$p > 0.1$
ICH/Edad	$r = -0.40$	$p > 0.1$
Tiempo de exposición/Cr en sangre	$r = -0.25$	$p > 0.1$
Tiempo de exposición/Cr en orina	$r = -0.24$	$p > 0.1$
Brechas/Edad	$r = -0.58$	$p < 0.02$
Brechas/Fracturas	$r = 0.64$	$p < 0.001$

Se hizo un análisis de los resultados de los intercambios de cromátidas hermanas encontrados por sujetos expuestos al cromo y los controles, se tomaron de estos valores las medianas.

Del análisis de las medianas y los intervalos de ambos grupos estudiados se encontró que el valor más alto de ICH en los expuestos fué de 33.5 y el valor mínimo de 17.0 con un promedio de 25.1, mientras que en los controles los límites de ICH fueron de 0.5 y 9.0 y el promedio total de 6.0

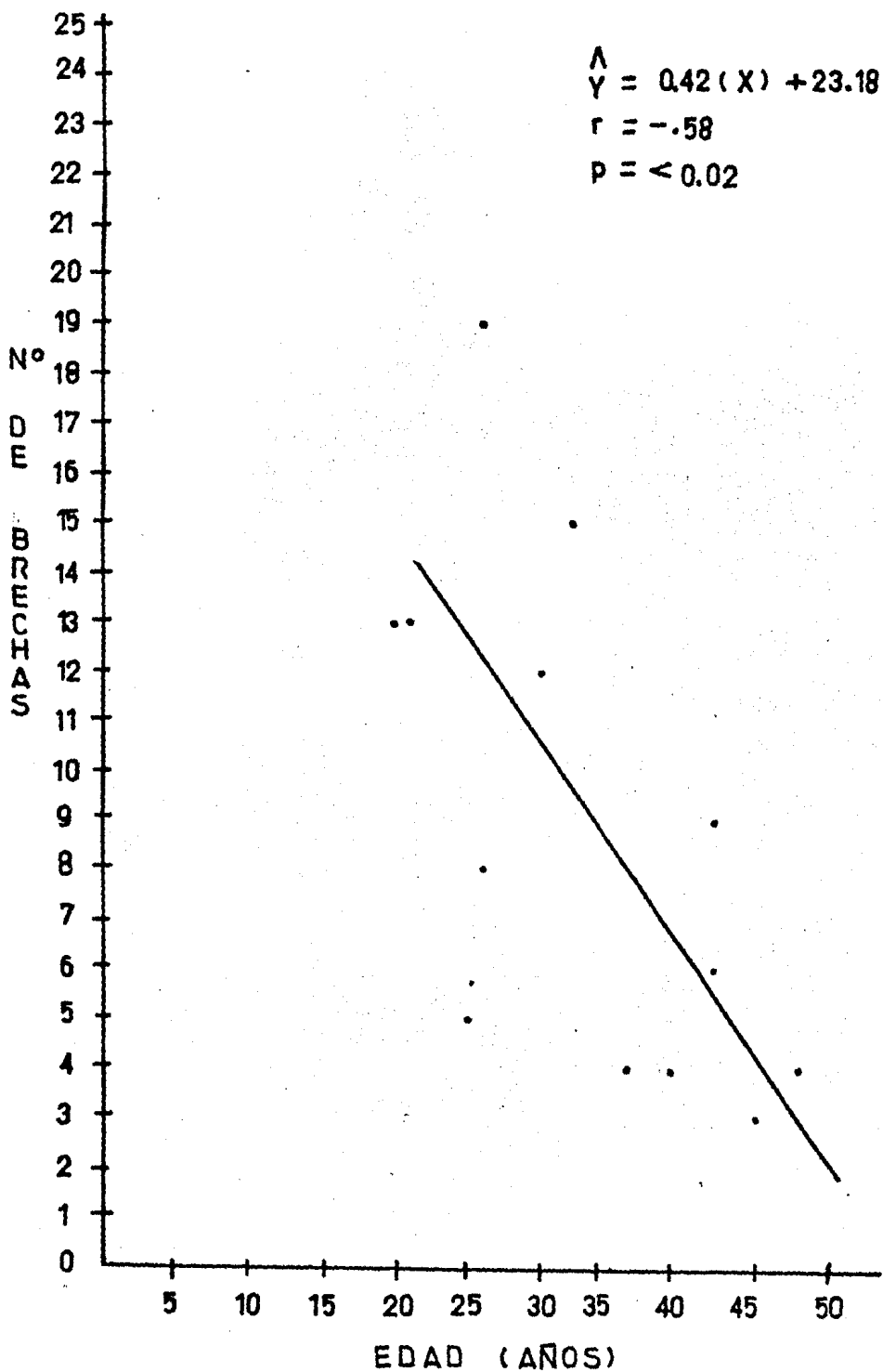
Con respecto a los límites en el grupo de expuestos al cromo, el índice más alto de ICH fué de 89 y el mínimo de 10 por metafase, mientras que en el grupo control, los límites de ICH, fueron de 0 y 17 por metafase.

A los resultados de ambos grupos, se les aplicó la prueba de U de Mann-Whitney, por la cual se obtuvo una $p < 0.001$, lo -- que indica que los resultados no son debido al azar (Tabla V).

SUJETOS		EXPUESTOS		CONTROLES	
Mediana	Intervalos	Mediana	Intervalos	Mediana	Intervalos
20.5	11 a 61	7.0	1 a 17		
23.5	10 a 56	7.0	0 a 1		
23.5	12 a 44	7.0	3 a 10		
21.0	14 a 49	9.0	5 a 16		
33.0	23 a 47	0.5	0 a 5		
32.0	15 a 89	5.5	0 a 11		
26.5	18 a 45				
31.5	21 a 53				
18.0	13 a 22				
17.0	11 a 28				
18.5	11 a 33				
26.0	18 a 35				
33.5	27 a 40				
28.0	21 a 43				
25.0	21 a 36				
Promedio total de ICH 27.1				Promedio total de ICH 6.0	

Con respecto a la correlación de brechas con la edad en el grupo problema, se observa un coeficiente negativo ($r = -0.58$) y $p < 0.02$, lo que estadísticamente indica que es una relación inversa.

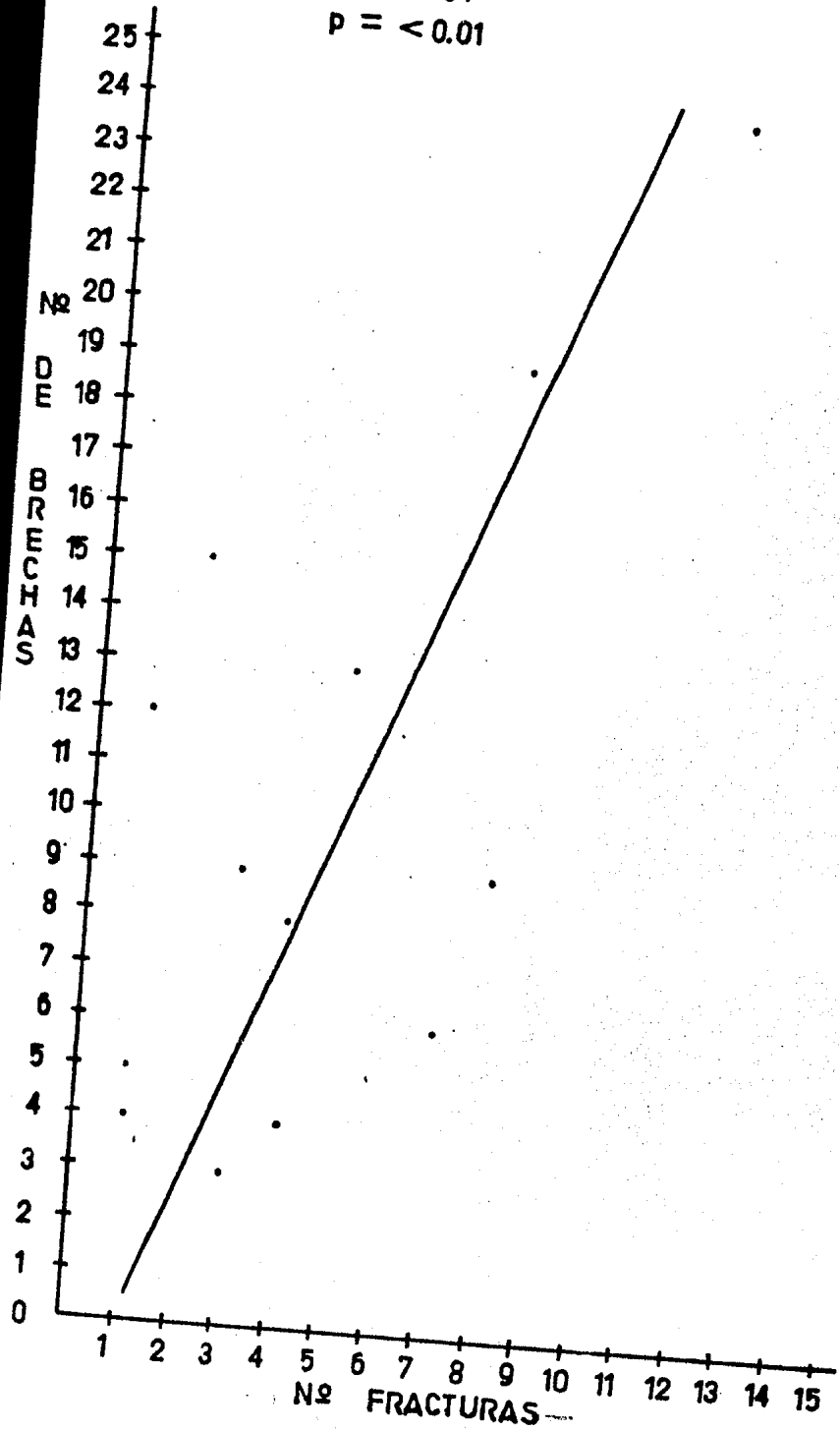
En la GRAFICA I, se observa que hay dispersión de puntos, lo cual la línea está extrapolada y donde se nota que no es -- muy significativa.



En cuanto a la correlación de brechas o huecos con respecto a las fracturas, se observa un coeficiente positivo ($r = 0.64$) y $p < 0.01$

En la GRAFICA II, se observa que no es muy representativa - pues su significancia es mínima, pero podemos observar que mientras aumenta el número de brechas o huecos, aumenta el número de fracturas.

$$\hat{Y} = 0.38(X) + 1.16$$
$$r = 0.64$$
$$P = < 0.01$$



V DISCUSION

Los datos de nuestro estudio fueron comparables con respecto al promedio de las edades tanto en expuestos como en los controles.

En cuanto al tiempo de exposición al cromo hubo un promedio de 7.71 años donde se observa una considerable significancia al compararlos con los controles debido a que éstos obviamente no tuvieron contacto de tipo ocupacional.

Los valores obtenidos de la concentración de cromo en sangre fueron significativamente diferentes a los controles, lo mismo se observó en los valores de concentración en orina.

Debido a que nuestro grupo problema estuvo expuesto en forma crónica al cromo, se consideró importante evaluarlo en la orina, ya que es la principal ruta de excreción del cromo absorbido (4, 14).

Los niveles detectados de la concentración de cromo en sangre fueron de 1.11 a 81 $\mu\text{g}/100\text{ gr}$ con un promedio de 20.32 $\mu\text{g}/100\text{ gr}$

Los niveles detectados de concentración de cromo en orina - en el grupo expuesto de 1.71 a 346 $\mu\text{g}/\text{lt}$ con un promedio de 47.97 $\mu\text{g}/\text{lt}$.

Se ha establecido que los valores anormales de excreción -- son de 3.0 a 50 $\mu\text{g}/\text{lt}$ (21). Los niveles registrados en el grupo control fueron menores a los anteriormente citados, puesto que estos van de 6 a 8.4 $\mu\text{g}/\text{lt}$, así que éstos valores quedan dentro de los intervalos considerados como anormales por lo que se aceptan como datos confiables para compararlos con el grupo de los - expuestos al cromo.

Guillemin y col. (53) al relacionar las concentraciones de cromo registradas en la orina con los daños tóxicos producidos, - establecen como umbral una concentración de 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$, de manera que cantidades mayores indican que los niveles del metal en el - organismo son potencialmente tóxicos.

En uno de los trabajadores no se apreció ICH, lo que pudo - deberse a un retardo en la respuesta al estímulo mitógeno ya - que al hacer el cómputo de primera, segunda, tercera y cuarta di - visión celular, la mayoría de las metafases se encontraron en -- primera división.

Si se considera que cada individuo tiene una respuesta dife - rente a la fitohemaglutinina (PHA), se comprende que no todos --

responden de la misma forma. Sin embargo en la preparaciones habituales se encontró en este sujeto una alta frecuencia de aberraciones inespecíficas.

Aunque en este caso particular hubiera sido preferible repetir el cultivo no se pudo tomar la muestra nuevamente para confirmar esta observación debido a la poca colaboración de la empresa.

En cuanto al tabaquismo, sólo uno de los sujetos estudiados de 44 años y con un tiempo de exposición al cromo de 16 años, fué considerado como fumador, presentó el mayor número de ICH, ya que como se sabe, el fumar es un hábito que influye en el incremento de ICH (29); sin embargo en los otros sujetos el ICH también fué significativamente mayor que en los controles. Lo cual quiere decir que no es significativo con un solo sujeto fumador, y para poder corroborar los resultados de que el tabaco influye en el incremento del ICH en estas condiciones se necesitaría tomar una muestra de sujetos que presenten antecedentes de tabaquismo.

La correlación de ICH/tiempo de exposición al cromo, se obtuvo un coeficiente de correlación de 0.50 y $p > 0.005$ la cual indica que se encuentra próxima a los límites de significancia, esto puede deberse a que el número de individuos es pequeño y para confirmar esta observación se necesitaría aumentar el número de casos.

La correlación de ICH/Cr en sangre, ICH/Cr en orina, ICH/--edad, Tiempo de exposición/Cr en orina, no fueron significativas pero se supone que con una población más grande, como ya se había mencionado, estos resultados (Tabla II) pudieran llegar a -- ser de alguna manera significativos.

Con respecto a la correlación de brechas/edad, se observó - un coeficiente de correlación negativo ($r = -0.58$) y $p < 0.02$, - lo que estadísticamente indica que es una relación inversa, o -- sea, que a menor edad presentaron mayor número de brechas, lo -- cual han sido encontrados en otros estudios (39) y rprobablemente pueda explicarse en este caso como consecuencia de la exposición reciente al cromo, la falta de precauciones dentro de la empresa como puede ser que: no usan máscaras para protegerse de la inhalación de los vapores de este metal, los uniformes no son los -- adecuados y la inexperiencia de estos trabajadores de reciente - ingreso (Gráfica I)

Por esto, tiene que establecerse una reglamentación en cada industria para proteger a todos sus trabajadores, y que sea cumplida por las empresas industriales.

En cuanto a la correlación de brechas/fracturas, se observó un coeficiente de correlación positivo ($r = 0.64$) y $p < 0.01$; así - mientras aumenta el número de brechas, aumenta el número de frac

turas, en la Gráfica II, se observa que no es muy representativo pero al analizarla se puede suponer que las brechas o huecos y - las fracturas son indicadores de daño en la estructura cromosómica.

Debe hacerse resaltar en este trabajo, la observación de -- alteraciones importantes de la estructura cromosómica, de un incremento significativo de ICH en los sujetos ocupacionalmente expuestos al cromo, en quienes sin embargo, no había evidencia clínica de efectos de intoxicación por el metal, lo cual llama la - atención sobre la necesidad de utilizar los parámetros de índole cromosómica, como indicadores tempranos de riesgo en estos trabajadores, hechos relevantes en la medicina del trabajo y en la medicina preventiva.

VI CONCLUSIONES

De acuerdo a la literatura revisada podemos concluir en general, lo siguiente:

CONCLUSIONES GENERALES

1. La intoxicación por cromo tiene su origen en la inhalación (polvo, aire), en la ingestión (agua, alimentos contaminados), por contacto directo.
2. Los mayores efectos de intoxicación por cromo tienen lugar en los trabajadores de la industria de cromatos o bien por exposición accidental a altas concentraciones.
3. Las sales de cromo hexavalente tienen acción principalmente en la región centroamérica, produciendo brechas o huecos, isobrechas y rupturas.
4. El número de intercambio de cromátides hermanas puede estar asociado a la mutación. Esto se basa en que el ICH es frecuentemente observado en el sitio de la ruptura o el intercambio resulta estar en la deleción (si es que la hay). Esto es evidente que esta incompleta o anormal el cromosoma, los ICH que se presenten en los eventos y esto ciertamente resulta una aberración y posible mutación.

CONCLUSIONES DE ESTE ESTUDIO

1. La incidencia de ICH en linfocitos humanos es relativamente constante entre los individuos y es independiente de la edad y sexo, como es el caso de los controles.
2. Las brechas cromatídicas son las aberraciones dominantes en los sujetos expuestos al cromo hexavalente.
3. Las células linfocíticas son muy sensitivas al cromo hexavalente para su daño cromosómico.
4. El cromo hexavalente induce retraso mitótico y las aberraciones cromosómicas aumentan prevaleciendo las brechas o huecos, rupturas e intercambio de cromátidas hermanas.
5. El intercambio de cromátidas hermanas en un índice útil de daño cromosómico inducido por mutágenos (en este caso el CrVI) ya que aumenta la frecuencia de ICH in vivo, aún cuando las aberraciones cromosómicas son pocas.
6. Es necesario continuar con estudios similares para corroborar las evidencias encontradas en este estudio.

VII BIBLIOGRAFIA

1. Leonard, A. and Lauwerrys, R.R. (1980). Carcinogenicity and mutagenicity of chromium. *Mutat. Res.* 76:227
2. Jaworski, J.F. (1967). Effects of chromium in the Canadian - environment. *Rep. Monogr. Non. Serials.* 168:292
3. Levis, A., Biandhi, V., Tamino, G. and Pegorano, B. (1978)-- Citotoxic effects of chromium on mammalian cells in vitro. - *Br. J. Cancer.* 37:386
4. Mertz, W. (1969). Chromium occurrence and function in biological system. *Physiol. Rev.* 49:165
5. Wacker, W and Valle B. (1959). I. Chromium, manganese, nickel iron and other metal in ribonucleic acid from diverse biological sources. *J. Biol. Chem.* 234:3257
6. Mertz, W (1974) Biological function of chromium citotinic --- acid-complexes. *Fed Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 33:659
7. Roginski, E. and Mertz, W. (1967). Dietary chromium and amino acid incorporation in rats on a low-protein ration. *Fed. Proc.* 26:301
8. Kretzchmar, J.G., Delespaul, I. and Rijck de T. (1980). Heavy metal levels in Belgium; a five year survey. *Sci Total. - Environ.* 14:85
9. Bidstrup, A.P. (1976). Effects of Cr compounds on human -- health. En: Effects of chromium in the Canadian environment. National Research Council of Canada. Publication 15017 Environmental Secretariat. Ottawa. Canada.

10. Machle, W. and Gregorius, F. (1948). Cancer of the respiratory system in United States chromate producing industry. *Publ. Healt. Resp.* 63:1114
11. Taylor, F.H. (1966) The relationship of mortality and duration of employment as reflected by a cohort of chromate workers. *Am. J. Publ. Healt.* 56:218
12. Waterhouse, J.A. (1974). Cancer among chromium platers. - *Br. J. Cancer* 29:257
13. Mancuso, T.F. (1951) Occupational cancer and other health hazards in a chromate plant: A medical appraisal. I.: Lung cancers in chromate workers. *Undust. Med. Surg.* 20:358
14. Beatjer, A.M. (1950). Pulmonary carcinoma in chromate workers. II: Incidence on basis of hospital records. *Arch. - Indus. Hyg. Occup. Med.* 2:505
15. Biabchi, V., Daltoso, R., Debetto, P. (1980) Mechanisms - of chromium toxicity in mammalian cell cultures. *Toxicology* 17:219
16. Levis, A.G., Biabchi, H., Tamino, G. and Pegoraro, B. --- (1978) Citotoxic on mammalian cells in vitro. *Br. J. Cancer.* 37:386
17. Newbold, R.F., Amos, J., and Connell, J.R. (1979). The cytotoxic mutagenic and clastogenic effects of chromium containing compounds on mammalian cells in cultured. *Mutat. Res* 67:55
18. Levis, A.G., Buttignol, M., Bianchi, V. and Sponza, G. -- (1978) Effects of potassium dichromate on nucleic acid -- and protein synthesis on precursor up take in BHK fibroblast. *Cancer. Res.* 38:110

19. Petrilli, F.L. and De Flora S. (1978) Metabolic deactivation of hexavalent chromium mitagenicity. *Mutat. Res.* 54:139
20. Berode, P. and Guillemin, M. (1977) Evaluation d'une exposition professionnelle au chrome par le dosage du chrome-urinaire. *Med. Soc. Prev.* 22:201
21. Hambidge, K. (1971). Chromium nutrition in the mother and the growing child. En: Newer trace elements in nutrition. - Eds. Mertz, W. and Cornatzer, E. Chap. 9 Dekker, New York.
22. Simarvoyan, P. (1971). Acción del cromo en la filtración -- del riñón y su función de reabsorción. *Tr. Erevan, Med.Inst* 15:213. *Chem Abstr.* 78, 67803
23. Saltman, P. (1965). The role of chelation in iron metabolism. *J. Chem Educ.* 42:682
24. Samitz, M. and Katz, S. (1963) Preliminary studies on the reduction and binding of chromium with skin. *Arch. Dermatol.* 88:816
25. Gafefar, W. (1953). Health of workers in the chromate producing industry. U.S. Fed. Public. Health. Service Pub. 192
26. Browning, E. (1969). Toxicity of industrial metals 2nd Ed. Chap. 12 Appleton-Century Crofts. New York. pp. 1192
27. Hueper, W. and Payne, W. (1962) Experimental studies in metal carcinogenesis. Chromium, nickel, iron, arsenic. *Arch. Environ. Health.* 5:445
28. Fletcher, C.M. and Hoin, D. (1970). Smoking and health WHO *Chrom.* 24:345

29. Hoffman, D. and Whynder, E.L. (1976). Smoking and occupational cancers. *Prev. Med.* 5:245
30. Ayres, S.M. (1976). Cigarette smoking and lung diseases and - up date. *Respir. Care* 21:632
31. Tkeshelashvilo, L.K., Shearman, C.W., Zakour, R.A., Koplitz R.M., and Loeb, L.A. (1980) Effects of arsenic, selenium -- and chromium on the fidelity of DNA synthesis. *Cancer. Resp.* 40:2455.
32. Sirover, M.A., and Loeb, L.A. (1976) Infidelity of DNA synthesis in vitro: Screening for potential metal mutagens or carcinogens. *Science.* 194:1434.
33. Venitt, S. and Levy, L.S. (1974). Mutagenicity of chroma-- tes in bacteria and its relevance to chromate carcinogene-- sis. *Nature* 250:493
34. Bonatti, S., Meini, M. and Abbandandolo, A. (1976). Genetic effects of Potassium dichromate. *Mutat. Res.* 38:147
35. Wild, A. (1978). Cytogenetic effects in the mouse of 17 -- chemical mutagens and carcicogens evaluated by the micronu-- cleus. *Test. Mutat. Res.* 56:319
36. Tsuda, H. and Kato, K. (1977) Chromosomal aberration and -- morphological transformation in hamster embryonic cells trea ted with potassium dichromate in vitro. *Mutat, Res.* 46:87
37. Nakamuro, K., Yoshikawa, K., Sayato, Y. and Kurata, H. (1978) Comparative studies of chromosomal aberration and mutageni-- city of trivalent and hexavalent chromium compounds. *Mutat. Res.* 58:175
38. Majone, F. and Levis, A.G. (1979). Chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in chinese hamster cells trea ted in vitro with hexavalent chromium compounds. *Mutat. Res* 67-231

39. Stella, M., Montaldi, A., Rossi, R. and Levis, A.G. (1982). Clastogenic effects of chromium on human lymphocytes in vitro and in vivo. Mutat. Res. 101:151
40. Levis, A.G., and Majone, F. (1979) Cytotoxic and Clastogenic effects of soluble chromium compounds on mammalian cell cultured. Br. J. Cancer. 40:523
41. Gómez, A.S. Altamirano, M. and Villalobos, P.R. (1981) Sister Chromatid exchange induced by some chromium compounds - in human lymphocytes in vitro. Mutat. Res. 90:425
42. Villalobos, P.R. (1982) Efectos biológicos del cromo. An. - Inst. Biol. Univ. Nal. Auton. ^{Mex.} 48 Ser. Biol. Exp. (1):-115.
43. Taylor, J.H. (1960) Asynchronous duplication of chromosomes in cultured cells of chinese hamster. J. Biophys. Biochem. - Cytol. 7:455
44. Zakhrov, A.F. and Egolina, N.A. (1972) Differential spiralization along mammalian mitotic chromosomes. I. BrdU-revealed differentiation in chinese hamster chromosomes. Chromosoma 38:341
45. Latt, S.A. (1973) Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. -- Proc. Nat. Acad. Sci. 70:3395.
46. Perry, P. and Wolff, S. (1974) New giemsa method for the differential staining of sister chromatide. Nature 251:156
47. Korenberg, L.R. and Freedlender, E.F. (1970) Giemsa Technique for the detection of sister chromatide exchange. Chromosoma 48:355
48. Pathak, S., Stock, A.D. and Lusby, A.A. (1975). Acombination of sister chromatid differential staining and giemsa banding Experientia. 31:916

49. Perking, Elmer. (1973) Determination of chromium using an extraction procedure.
50. Moorhead, P.S., Nowel, P.C., Wellman, W.J., Battipe, D.M. and Hungerford, D.A. (1960). Chromosome preparation of -- leucocytes cultured from human peropheral blood. *Exp. Cell Res.* 20:673
51. Savage, J.R.K. (1976) Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J. Med. Genet.* 13: 103
52. Sidney, S. (1981) Estadística No Paramétrica. Ed. Trillas. Biblioteca Técnica de Psicología. pp. 360
53. Guillemin., P. and Berode, M. (1978). A study the difference in chromium exposure in workers in two types of electroplating process. *Ann. Occup. Hygg.* 21:105
54. Krishna, G., Mathur, J., Mehrotra, S., Sharma, S. and Alan mkhan, M. (1975). Blood and urine concentration of chrome in chrome industry workers Indian. *J. Med. Res.* 63:1357