



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

PETRÓLEOS MEXICANOS

SUBDIRECCIÓN DE SERVICIOS DE SALUD

GERENCIA DE SERVICIOS MÉDICOS

HOSPITAL CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD

“La respuesta inflamatoria y sus posibles efectos sobre el metabolismo del Tolueno en trabajadores ocupacionalmente expuestos en una Refinería mexicana durante el mes de Mayo de 2013”

TESIS

DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN

MEDICINA DEL TRABAJO Y AMBIENTAL

PRESENTADA POR

DR. JOSÉ MIGUEL ISTILART RÍOS

Facultad de Medicina



MAYO DE 2013





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Dr. Rogelio Espinosa López
Director Médico

Del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos

Dra. Judith López Zepeda

Jefa del Departamento de Enseñanza Educación e Investigación

Del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos

Dr. Eric Alfonso Amador Rodríguez

Jefe del Servicio de Medicina del Trabajo y Ambiental

Del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos

Dra. Gladys Martínez Santiago

Profesora Titular del Curso de Especialización en Medicina del Trabajo y Ambiental

Del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos

Dr. José Miguel Istilart Ríos

Residente del 4to. Año del Curso de Especialización en Medicina del Trabajo y Ambiental

Del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos

Tutor de tesis

Dr. Eric Alfonso Amador Rodríguez

Jefe de Medicina del Trabajo del Hospital Central Sur
de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos

Director de tesis

Dr. David Abraham Alam Escamilla

Coordinador de Proyectos de Investigación del Laboratorio de Salud en el Trabajo
del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro”
del Instituto Mexicano del Seguro Social

Asesor de tesis

Dr. Francisco Mercado Calderón

Coordinador del Laboratorio de Toxicología Industrial de Nanchital Veracruz
de Petróleos Mexicanos

Asesor de tesis

Q.F.I. Víctor Manuel Vargas García

Jefe del laboratorio de Salud en el Trabajo
del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro”
Instituto Mexicano del Seguro Social

Asesor de tesis

Q.F.B. Fanny Eugenia González Sánchez

Responsable de validación de métodos analíticos del laboratorio de Salud en el trabajo del
Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro” Instituto Mexicano del Seguro Social

DEDICATORIA

A mis padres Maricela e Ignacio por ser el apoyo más grande de mi vida y brindarme un amor incondicional.

A mis hermanos Carmen y Juan quienes siempre han sido mis ejemplos a seguir.

A mi profesor y amigo Dr. Eric A. Amador digno de toda mi admiración.

A David Alam profesor, maestro y amigo por transmitir el entusiasmo y gusto por lo que se emprende.

A mi profesor y amigo Dr. Roberto Morín pilar clave en el curso de mi especialidad médica.

“He fallado más de 9000 tiros en mi carrera.
He perdido casi 300 juegos.
26 veces han confiado en mí para tomar el tiro que nos dé el triunfo en un juego y lo he fallado.
He fracasado una y otra vez en mi vida y es por eso que tengo éxito”.

Michael Jordan

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México por forjar mi camino desde el nivel bachillerato hasta la actualidad.

A Petróleos Mexicanos por ser la institución que me brindo la oportunidad de realizar una especialidad médica.

A la Refinería “Ing. Antonio M. Amor” de PEMEX.

Al Laboratorio de Salud en el Trabajo del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Al Laboratorio de Toxicología de Nanchital de Petróleos Mexicanos.

Al Laboratorio Clínico del Hospital Central Sur de Alta Especialidad, PEMEX.

A el Dr. Eric Alfonso Amador Rodríguez, jefe del servicio de Medicina del Trabajo en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad de PEMEX.

A la Dra. Gladys Martínez Santiago titular del curso de especialización en Medicina del Trabajo y Ambiental en el Hospital Central Sur de Alta Especialidad.

Al Dr. David Abraham Alam Escamilla por ser el director tesis y profesor de adjunto de la especialidad en Medicina del Trabajo y Ambiental.

Al Dr. Francisco Antonio Mercado Calderón, coordinador del Laboratorio de Toxicología de Nanchital de Petróleos Mexicanos, profesor del curso Toxicología de la especialidad en Medicina del Trabajo y Ambiental.

A la Bióloga Patricia Hernández Ramos por el apoyo brindado en el análisis del monitoreo ambiental de Tolueno.

CREDITOS DE PARTICIPACIÓN

INVESTIGADOR RESPONSABLE

DR. EN C. DAVID ABRAHAM ALAM ESCAMILLA.
MATICULA IMSS. 98382657.
DOCTOR EN CIENCIAS EN LA ESPECIALIDAD DE TOXICOLOGÍA.
ANALISTA COORDINADOR DE PROYECTOS.
LABORATORIO DE SALUD EN EL TRABAJO DEL HOSPITAL GENERAL DE ZONA 32 "DR. MARIO MADRAZO NAVARRO"
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DOM. CALZADA DEL HUESO S/N. COL. EXHACIENDA DE COAPA. DEL. COYOACAN, MÉXICO D.F.
david.alam@imss.gob.mx
dabales@hotmail.com

INVESTIGADORES ASOCIADOS

DR. FRANCISCO ANTONIO MERCADO CALDERÓN
FICHA PEMEX
MAESTRO EN CIENCIAS EN TOXICOLOGÍA INDUSTRIAL
COORDINADOR DEL LABORATORIO DE TOXICOLOGÍA DE NANCHITAL DE PETRÓLEOS MEXICANOS
DOM. SAN PEDRO Y SAN PABLO S/N COL. GUADALUPE TEPEYAC C.P. 96360, NANCHITAL VERACRUZ
francisco.antonio.mercado@pemex.com

DR. ERIC ALFONSO AMADOR RODRÍGUEZ
FICHA PEMEX 481434
MÉDICO ESPECIALISTA EN MEDICINA DEL TRABAJO
JEFE DE MEDICINA DEL TRABAJO DEL HOSPITAL
CENTRAL SUR DE ALTA ESPECIALIDAD DE PETRÓLEOS MEXICANOS
DOM. BLVD. ADOLFO RUÍZ CORTINES NO. 4091 COL. FUENTES DEL PEDREGAL DELEGACIÓN TLALPAN
C.P. 14140 MÉXICO, D.F.
eric.alfonso.amador@pemex.com

Q.F.I. VICTOR MANUEL VARGAS GARCIA
MATRICULA IMSS. 8428808
JEFE DE LABORATORIO DE SALUD EN EL TRABAJO DEL HOSPITAL GENERAL DE ZONA 32 "DR. MARIO MADRAZO NAVARRO"
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DOM. CALZADA DEL HUESO S/N. COL. EXHACIENDA DE COAPA. DEL. COYOACAN, MÉXICO D.F.
victor.vargas@imss.gob.mx

Q.F.B. FANNY EUGENIA GONZÁLEZ SÁNCHEZ
MATRICULA IMSS 98382597
RESPONSABLE DEL DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS
LABORATORIO DE SALUD EN EL TRABAJO DEL HOSPITAL GENERAL DE ZONA 32 "DR. MARIO MADRAZO NAVARRO"
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DOM. CALZADA DEL HUESO S/N. COL. EXHACIENDA DE COAPA. DEL. COYOACAN, MÉXICO D.F.
fanny.gonzalezs@imss.gob.mx

INDICE GENERAL

	Pagina
1. RESUMEN	1
2. MARCO TEÓRICO.	2
2.1 Inflamación.	3
2.2 Etapas de la Inflamación.	3
2.2.1 Quimiotaxis.	4
2.2.2 Aumento del diámetro vascular.	4
2.2.3 Aumento de la permeabilidad vascular.	5
2.2.4 Adherencia y rodamiento celular	5
2.2.5 Estimulación de la vía extrínseca de la coagulación	5
2.2.6 Transmigración o diapédesis celular	5
2.3 Ejercicio e inflamación	7
2.4 Hidrocarburos aromáticos	11
2.4.1 Tolueno	12
2.4.2 Identificación	13
2.4.3 Propiedades físicas	13
2.4.4 Valores máximos permisibles	14
2.4.5 Efectos a la salud	14
2.4.6 Metabolismo	16
2.4.7 Personal expuesto	19
2.4.8 Monitoreo biológico	20
2.5 Inflamación y metabolismo de Xenobióticos	20
3. JUSTIFICACIÓN	25
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	28
5. HIPÓTESIS	28
6. OBJETIVO GENERAL	28
7. OBJETIVOS ESPECIFICOS	28
8. TIPO DE ESTUDIO	29
9. DISEÑO	29
10. DEFINICIÓN DEL UNIVERSO	29
10.1 Muestra de estudio	30
10.2 Criterios de inclusión	30
10.3 Criterios de exclusión	30
10.4 Criterios de eliminación	31
10.5 Métodos de selección de la Muestra	31
10.6 Definición de variables	33
11. MATERIAL Y MÉTODOS	36
11.1 Sujetos de estudio	36
11.2 Estrategia experimental	36
11.3 Monitoreo ambiental	39
11.4 Determinación de Tolueno en aire por Cromatografía de gases	40
11.5 Monitoreo biológico	43
11.6 Protocolo de ejercicio	48

11.7 Reactantes de la fase aguda de inflamación	48
11.8 Análisis de Resultados	49
12. RESULTADOS	50
12.1 Características de la muestra	50
12.2 Antecedentes laborales	53
12.3 Factores de confusión	56
12.4 Condiciones protocolo de ejercicio e inflamación	60
12.5 Monitoreo ambiental	64
12.6 Monitoreo biológico	65
12.7 Asociación de Variables	74
13. DISCUSIÓN	78
14. CONCLUSIONES	85
15. BIBLIOGRAFÍA	87
16. ANEXOS	92

INDICE DE FIGURA

	Pagina
Figura 1. Evolución de los cambios de Leucocitos, Linfocitos y Neutrófilos en sangre periférica, durante y tras 45 minutos de ejercicio.	8
Figura 2. Mecanismos en la inflamación provocada por el ejercicio.	11
Figura 3. CYP2E1 CYP2B en el Metabolismo del Tolueno.	17
Figura 4. Metabolismo del Tolueno a partir de la síntesis de alcohol Bencílico.	17
Figura 5. Participación de las isoenzimas CYP en el Metabolismo del Tolueno.	18
Figura 6. Familias de CYP450 identificadas en humano y sus principales funciones	21
Figura 7. Efecto de las citoquinas y los factores de crecimiento sobre expresión de los isoenzimas del CYP.	23
Figura 8. Vía de activación del NF-kB.	24
Figura 9. Estrategia experimental.	38
Figura 10. Distribución del grupo de estudio por edad.	51
Figura 11. Distribución de la muestra según I.M.C.	52
Figura 12. Número de participantes por Planta.	53
Figura13. Distribución de la muestra por años de antigüedad.	54
Figura 14. Distribución de la muestra por categoría.	55
Figura 15. Consumo de tabaco entre los participantes.	56
Figura 16. Número de cigarrillos/Día y años fumando.	57
Figura 17. Consumo de carne por día	58
Figura 18. Consumo de medicamentos día 1	59
Figura 19. Consumo Máximo de O2 por participante	61
Figura 20. Reactantes fase aguda inflamación/Participante	63

Figura 21. Monitoreo ambiental Día 1 y 3 por planta.	64
Figura 22. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 1	66
Figura 23. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 3	68
Figura 24. Aumento Relativo Promedio Día 1 y 3	71
Figura 25. Pérdida relativa Promedio de ácido Hipúrico por participante.	73

INDICE DE TABLAS

	Pagina
Tabla 1. Operacionalización de Variables.	33
Tabla 2: Diluciones curva de calibración	47
Tabla 3. Distribución del grupo de estudio por edad.	51
Tabla 4. Características físicas de la muestra.	52
Tabla 5. Número de participantes por Planta.	53
Tabla 6. Distribución de la muestra por años de antigüedad.	54
Tabla 7. Distribución de la muestra por categoría	55
Tabla 8. Consumo de tabaco entre los participantes.	56
Tabla 9. Número de cigarrillos/Día y años fumando	57
Tabla 10. Consumo de carne por día	58
Tabla 11. Consumo de medicamentos día 1	59
Tabla 12. Consumo Máximo de O2 por participante	60
Tabla 13. Reactantes fase aguda inflamación/Participante	62
Tabla 14. Monitoreo ambiental Día 1 y 3 por planta	64
Tabla 15. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 1	65
Tabla 16. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 3	67
Tabla 17. Aumento Relativo Promedio Día 1 y 3	70
Tabla 18. Pérdida Relativa de ácido hipúrico por participante	72

Tabla 19. Correlación de variables contra ácido Hipúrico al Final de la Jornada Laboral del día 1	74
Tabla 20. Correlación entre Monitoreo Ambiental del día 1 con la cantidad de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 1	75
Tabla 21. Correlación entre Monitoreo Ambiental del día 3 con la cantidad de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 3	75
Tabla 22. Correlación entre reactantes de la Fase Aguda de Inflamación, edad y antigüedad de los participantes.	76
Tabla 23. Asociación entre edad, antigüedad y categoría con Pérdida Relativa de ácido Hipúrico	77
Tabla 24. Correlación de variables contra Pérdida Relativa de ácido Hipúrico	77

1. RESUMEN

La respuesta inflamatoria y sus posibles efectos sobre el metabolismo del Tolueno en trabajadores ocupacionalmente expuestos en una Refinería mexicana durante el mes de Mayo de 2013.

Istilarit Ríos JM, Amador Rodríguez EA, Mercado Calderón FA, Vargas García MV, González Sánchez FE, Alam Escamilla DA.

ANTECEDENTES: Es conocida la menor capacidad del hígado para metabolizar los Xenobióticos en el curso de la inflamación, esto es debido a una desregulación de genes individuales del citocromo P-450 (CYP). En la inflamación, tanto in vivo como in vitro, las Citoquinas y el Interferón (IFN) producen un efecto inhibitorio sobre la expresión de la mayoría de las isoformas del CYP. El ejercicio intenso induce respuestas inflamatorias transitorias en los músculos y se asocia a elevación de los niveles de citoquinas pro y antiinflamatorias así como a un incremento de los niveles de PCR y VSG. El Tolueno es uno de los disolventes con mayor uso industrial en la actualidad. La vía metabólica del Tolueno es la formación de alcohol Bencílico, una reacción que tiene lugar en el hígado y que está a cargo del citocromo P-450 2E1. La mayoría del Tolueno inhalado o ingerido se elimina en la orina dentro de las 12 horas después de la exposición. El monitoreo biológico del Tolueno se realiza mediante la determinación del ácido Hipúrico en orina al inicio y al final de la jornada laboral y dichos valores no deben de exceder de 1.6 g/g de creatinina, es decir, 1.6 gramos de ácido Hipúrico por gramo de creatinina.

JUSTIFICACIÓN: En la industria petrolera es inherente la exposición de los trabajadores a diversas sustancias químicas por lo que es de gran importancia el desarrollado diversos controles biológicos respecto al monitoreo de los mismos en beneficio de la salud de los trabajadores y con un sentido preventivo.

OBJETIVO: Determinar si la presencia de un proceso inflamatorio agudo inducido mediante ejercicio físico disminuye la capacidad de metabolización del Tolueno, en un grupo de trabajadores ocupacionalmente expuestos.

MATERIAL Y METODOS: Estudio experimental de Cohorte Longitudinal. La muestra fue 10 trabajadores ocupacionalmente expuestos a Tolueno que se encuentren actualmente laborando en la Refinería. Se realizó monitoreo ambiental de Tolueno por cromatografía de gases, determinación de ácido Hipúrico en orina al inicio y final de la jornada laboral como biomarcador de exposición a Tolueno por cromatografía de líquidos. Todos los participantes realizaron un protocolo de ejercicio para inducir un proceso inflamatorio, mismo que se corroboró con la determinación de PCR y VSG y se buscó correlaciones con el metabolismo del Tolueno.

RESULTADOS: No se encontró relación entre los niveles de Tolueno ambientales con los niveles de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral. Los niveles de PCR y VSG presentaron una media de 6.93 y 11.3 respectivamente con lo cual se garantiza la presencia de un proceso inflamatorio inducido por el ejercicio. La Pérdida Relativa de ácido Hipúrico tiene una correlación positiva con los niveles de VSG ($P < 0.05$) y con la categoría que ostentan los participantes ($P < 0.05$).

CONCLUSIONES: Los niveles de Tolueno encontrados en el Ambiente sobrepasan el Límite Máximo Permisible. Los niveles de ácido Hipúrico en orina reportados al inicio de la jornada laboral no exceden el índice de exposición biológica que establece la NOM-047-SSA1-2011. La cuantificación de los Reactantes de Fase Aguda de Inflamación (PCR y VSG) demostró que el protocolo de ejercicio seleccionado fue eficaz. La presencia de un proceso inflamatorio inducido por ejercicio influye directamente en el metabolismo del Tolueno.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Inflamación

Para que los organismos sobrevivan, resulta esencial la capacidad de librarse de los restos necróticos o lesionados y de los invasores extraños, como los microbios. La respuesta del anfitrión orientada a conseguir estos objetivos se denomina inflamación. Se trata de una respuesta fundamentalmente protectora, diseñada para librar al organismo de la causa inicial de la lesión y también de las consecuencias de las lesiones. Sin la inflamación, las infecciones no serían controladas, las heridas nunca se cicatrizarían y los tejidos lesionados serían una fuente de lesión permanente, es por ello que la inflamación es una reacción tisular compleja que consiste básicamente en respuesta de los vasos y leucocitos (1).

La inflamación puede ser aguda o crónica en función de la naturaleza del estímulo y la eficacia de la reacción inicial para eliminar el estímulo o los tejidos lesionados. La inflamación aguda se inicia de forma rápida (en minutos) y dura poco, unas horas o pocos días; se caracteriza, sobre todo, por la exudación de líquido y proteínas plasmáticas (edema) y la emigración de leucocitos, sobre todo neutrófilos (también llamados Neutrófilos Polimorfonucleares). Cuando la inflamación aguda consigue eliminar con éxito a los responsables del daño, la reacción desaparece, pero cuando la respuesta no consigue eliminarlos, se evoluciona a una fase crónica. La inflamación crónica puede aparecer después de la inflamación aguda o ser insidiosa desde el comienzo. Dura más y se asocia a la

presencia de linfocitos y macrófagos, proliferación vascular, fibrosis y destrucción tisular (1).

En el proceso inflamatorio intervienen dos familias de reguladores: Los mediadores de la inflamación como son la Histamina, Serotonina, Bradicinina, Eicosanoides (prostaglandinas, prostaciclina, tromboxanos y leucotrienos), quimiocinas, enzimas (triptasas y otras proteasas), Factor Activador de Plaquetas, Fibrina, Factor del Complemento 3a (C3a) y Factor del Complemento 5a (C5a) y las citocinas, mismas que se pueden dividir en tempranas o de "alarma" como son la Interleucina 1 (IL-1), la Interleucina 6 (IL-6), factor de Necrosis Tumoral (TNF), las citocinas quimioattractantes como la Interleucina 8 (IL-8); inductoras de la respuesta linfocítica (Interleucina 12 e Interleucina 18); generadoras de células en médula ósea (Interleucina 3 y el Factor de Estimulación de Colonias de Monocitos); supresoras del proceso (Interleucina 10 y el Factor Transformador de Tejidos β) (2).

2.2 Etapas de la Inflamación

2.2.1 Quimiotaxis

Es el desplazamiento, que por atracción, realiza una célula a lo largo de un gradiente de concentración de una molécula atrayente. A través de este proceso llegan y se acumulan células en el sitio dañado. Por la acción de quimioattractantes como IL-8, C5a, Histamina, Leucotrieno (LT) B₄, lipopolisacáridos, restos de

Fibrina o de Colágena, las áreas lesionadas reclutan, además de células de la circulación, aquellas que se encuentran en reposo adheridas a las paredes endoteliales. Inicialmente se captan Neutrófilos y posteriormente, en un lapso de 24 a 72 horas, participan Monocitos, Fagocitos y Linfocitos. Las células tisulares (Cebadas, Fibroblastos, Queratinocitos, etcétera) adyacentes a la zona infectada o lesionada, son las primeras en llegar, en ser activadas y en promover la inflamación (2).

2.2.2 Aumento del diámetro vascular

Este cambio vascular, inducido principalmente por las sustancias inflamatorias: Histamina, Bradicinina, Eicosanoides, Triptasas, que son secretadas desde los primeros segundos por los Mastocitos locales, los Basófilos y las células endoteliales activadas, aumentan el flujo de sangre hacia el área inflamada, lo que genera elevación de la temperatura y enrojecimiento local (calor y rubor) (2).

2.2.3 Aumento de la permeabilidad vascular

La dilatación capilar permite el paso de líquido y proteínas sanguíneas (entre las que se encuentran complemento e inmunoglobulinas), éstos al acumularse producen edema (tumor). La distensión de los tejidos, la acción de la Bradicinina y el estímulo que todo lo anterior ejerce sobre las terminaciones nerviosas, originan el dolor, última de las cuatro manifestaciones clínicas cardinales de la inflamación: calor, rubor, tumor y dolor, descritas por Celsus (2).

2.2.4 Adherencia y rodamiento celular

Inicialmente los Neutrófilos (posteriormente los Monocitos) se unen a las células endoteliales a través de las moléculas de adherencia de baja afinidad denominadas Selectinas. Los Leucocitos se desplazan sobre las células endoteliales de las vénulas postcapilares mediante un mecanismo denominado rodamiento; la velocidad de estas células, que normalmente viajan a 4,000 μm por segundo, se reduce a 40 μm . Las quimiocinas (IL-8) se adhieren a la superficie de los Leucocitos en rodamiento e inducen en ellos la expresión de otros grupos de moléculas de adherencia de alta afinidad, las Integrinas; a su vez la IL-1 y el TNF actúan sobre las células endoteliales para que aumente la expresión de los ligandos (moléculas unidoras) para las Integrinas de los Leucocitos, con lo que se establece una unión firme entre ambas células (2).

2.2.5 Estimulación de la vía extrínseca de la coagulación

En forma simultánea a los eventos señalados, se inicia esta vía. El proceso culmina con la formación de Fibrina y un estado procoagulante, lo que impide la diseminación de gérmenes a través de la circulación sanguínea (2).

2.2.6 Transmigración o diapédesis celular

El rodamiento de leucocitos sobre las células endoteliales, culmina con el paso de los Leucocitos hacia el foco infeccioso o el tejido lesionado. Los Leucocitos pueden pasar a través de las uniones intercelulares. La Molécula Adhesiva de la

Unión (proteína JAM) que es una proteína perteneciente a la superfamilia de las Inmunoglobulinas junto con las Ocludinas y la Molécula de adhesión Vasculare Endotelial (Cadherina VE) mantienen las uniones laterales de las células endoteliales, al momento de la trans migración se ha observado una pérdida focal de esta última molécula, lo que favorece la apertura. Los Leucocitos también pueden pasar de manera transcelular, para lograrlo, los Neutrófilos extienden pseudópodos al interior de la célula endotelial y migran a través de sus poros; esta vía es guiada predominantemente por Quimiocinas. Una vez que los Leucocitos han traspasado la barrera endotelial, pueden llegar al tejido inflamado, guiados por las señales quimioattractantes que en él se generan. En el sitio de la inflamación, las células fagocíticas endocitan al antígeno, lo procesan y lo convierten en pequeños péptidos, los que unidos a moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC) pueden ser presentados a los Linfocitos T. De esta manera, se induce la participación de la inmunidad específica o facultativa, con lo que se potencializa notablemente la respuesta inmune ante los agresores o causantes de la inflamación. Si la respuesta inflamatoria aguda local es exitosa: el agresor es eliminado, el daño no se extiende, no hay manifestaciones sistémicas, la respuesta es inhibida oportunamente, finaliza en poco tiempo y el tejido es reparado satisfactoriamente. Si por el contrario, el proceso no limitó el daño, la inflamación aguda inicialmente local, se transforma en un proceso sistémico o crónico (2).

2.3 Ejercicio e inflamación.

El ejercicio intenso induce respuestas inflamatorias transitorias en los músculos ejercitados más intensamente. Esta situación corresponde a microtraumatismos musculares y participa en los procesos de reparación, hipertrofia y angiogenesis muscular secundarios al ejercicio. Esta afección sistémica se traduce en forma de respuesta de fase aguda a la inflamación (3).

Son numerosos los estudios realizados acerca de la influencia del ejercicio físico sobre el sistema inmune, coincidiendo en que se produce una Leucocitosis. Se ha observado que la actividad física altera tanto el número como las capacidades funcionales de numerosos tipos de células inmunes provocando alteraciones en los niveles locales y sistémicos de diversos mediadores moleculares del sistema inmune (3).

La Leucocitosis provocada es transitoria y su magnitud está relacionada directamente con la intensidad del ejercicio, e inversamente con el nivel de forma física, ya que es más acusada en sujetos sin entrenar que en sujetos entrenados. La tasa de Leucocitos aumenta hasta cuatro veces y puede mantenerse hasta 24 horas después del ejercicio (3).

El incremento de los Leucocitos circundantes afecta notablemente a los Neutrófilos, y también a Monocitos y Linfocitos. Por otra parte el ejercicio no tiene

efecto a largo plazo sobre las cifras de Leucocitos en reposo que, por tanto, son normales en individuos entrenados (3).

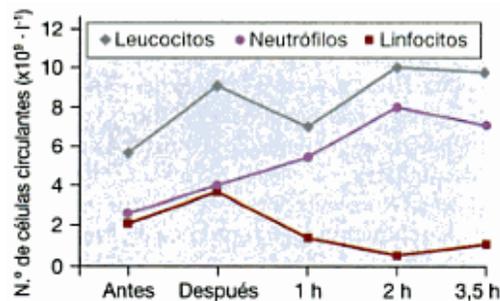


Figura 1. Evolución de los cambios de Leucocitos, Linfocitos y Neutrófilos en sangre periférica, durante y tras 45 minutos de ejercicio (3).

El ejercicio de corta duración aumenta las cifras de Linfocitos, incremento que es proporcionalmente menor al observado en las cifras de otros tipos de Leucocitos, como los Neutrófilos. La magnitud de la Linfocitosis es proporcional a la intensidad del ejercicio (3).

El ejercicio cuando induce daño muscular, ya sea por microtraumas adaptativos, isquemia/hipoxia local, contusiones o torsiones, o bien por el tipo de ejercicio desarrollado, se asocia a elevación de los niveles de citoquinas pro y antiinflamatorias. Con el ejercicio se ha observado aumento de la concentración sérica de IL-6, y TNF- α y de IL-1(2).

El ejercicio induce una respuesta de la fase aguda que se traduce en un incremento de la Proteína C Reactiva (PCR) tras las sesiones de entrenamiento (4).

La PCR es sintetizada principalmente en el hígado en respuesta a la IL-6 y esta síntesis es incrementada por la IL-1 β . Juega un papel importante en la regulación de la intensidad y extensión de la reacción inflamatoria aguda. Se une a diferentes ligandos (Fosforilcolina, fosfolípidos, fibronectina, cromatina y pequeñas ribonucleoproteínas) y tiene importantes capacidades de reconocimiento y activación. Las principales funciones de activación de la PCR son la activación de la vía clásica del complemento luego de interactuar con algunos de sus ligandos biológicos y la interacción con células del sistema inmune al unirse a los receptores Fc gamma (4).

Proteínas plasmáticas, como la PCR y el Amiloide Sérico A, pueden aumentar 1000 veces sus valores normales. En todos los casos existe un retraso de unas seis horas desde el inicio del daño y el aumento de sus concentraciones plasmáticas. La mayor parte de los estudios que relacionan el daño muscular asociado al ejercicio y las proteínas de fase aguda se han concentrado en la PCR (3).

La VSG ha sido utilizada como el método que refleja la respuesta de fase aguda, es una medida indirecta de la concentración de proteínas de fase aguda; se modifica por variables como la viscosidad plasmática, el tamaño, forma y número de eritrocitos y las fuerzas de repulsión entre ellos, determinadas por el ácido Siálico en su superficie, cuya carga negativa actúa repeliendo las otras células

rojas. El incremento de las proteínas de fase aguda, como el fibrinógeno, las α_2 y globulinas, se traduce en un aumento de la agregación de los eritrocitos (formación de pilas de monedas o Fenómeno de Rouleaux) y en una caída más rápida de estos (4).

Se considera como la prueba tamiz en diferentes entidades inflamatorias y es útil para diferenciar los procesos inflamatorios de los no inflamatorios (4).

El ejercicio físico intenso y agudo se acompaña de respuestas que son notablemente similares en muchos aspectos a los que son inducidos por la infección, sepsis o traumatismo. También se producen aumentos en las concentraciones plasmáticas de diversas sustancias que influyen en las funciones de Leucocitos, incluyendo Citocinas inflamatorias, como el TNF-alfa, los Macrófagos inflamatorios, proteína-1 e IL-1; Citocinas antiinflamatorias IL-6, IL-10, y la IL-1-antagonista del receptor (IL-1ra), y proteínas de fase aguda, incluyendo la PCR. Se ha demostrado que un aumento relativamente pequeño de los niveles plasmáticos de IL-6 induce aumentos de otras Citocinas antiinflamatorias como la IL-1ra e IL-10, junto con la PCR. Durante el ejercicio, el aumento de la IL-6 precede al aumento de estas dos Citocinas, argumentando que la IL-6 puede ser el iniciador de esta respuesta (5).

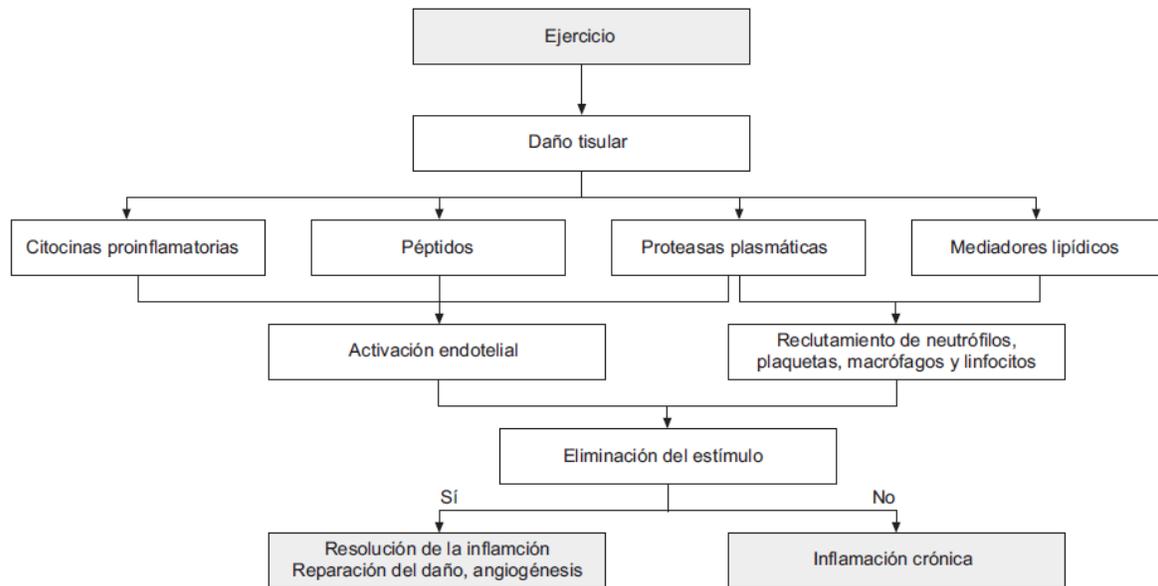


Figura 2. Mecanismos en la inflamación provocada por el ejercicio (5).

2.4 Hidrocarburos Aromáticos

Los Hidrocarburos Aromáticos son un conjunto de moléculas formado por el benceno, el Tolueno, el Orto-Xileno, Para-Xileno, Meta-Xileno y Etil-Benceno, son sustancias químicas que tienen la propiedad de disolver cuerpos grasos, tienen un amplio uso en la fabricación de pinturas, colas o adhesivos, desengrasantes, agentes limpiadores, en la producción de polímeros, plásticos, textiles, productos agrícolas y farmacéuticos. Se debe destacar de los hidrocarburos aromáticos su carácter liposoluble, su especial afinidad por el tejido graso del sistema nervioso central y periférico y el de la médula ósea y sus características nocivas toda vez que tienen poder tóxico, algunos tienen características mutagénicas y carcinogénicas (6).

Los Hidrocarburos Aromáticos son metabolizados a diferentes productos por enzimas como la citocromo P450, epóxido hidrolasa (EH), glutatión transferasa (GST), glucoroniltransferasa (UGT), sulfotransferasa (SULT), NAD(P)H quinona oxidorreductasa 1 (NQO1), aldo-keto reductasa (AKR). P450s juega un rol clave en el inicio de la oxidación de los hidrocarburos aromáticos. Los productos oxigenados son posteriormente metabolizados a productos más polares por enzimas de la llamada Fase II y los metabolitos resultantes usualmente son más solubles en agua que los compuestos originales por lo que pueden ser eliminados por el cuerpo principalmente mediante la orina (7).

2.4.1 Tolueno

El Tolueno es un disolvente de aceites, resinas, caucho natural (mezclado con ciclohexano) y sintético, alquitrán de hulla, asfalto, brea y acetilcelulosas (en caliente, mezclado con etanol). También se utiliza como disolvente y diluyente de pinturas y barnices de celulosa y como diluyente de las tintas de fotograbado. Al mezclarse con el agua, forma mezclas azeotrópicas que tienen un efecto deslustrante. El Tolueno se encuentra en mezclas que se utilizan como productos de limpieza en distintas industrias y en artesanía. También se utiliza en la fabricación de detergentes y cuero artificial y es una importante materia prima para síntesis orgánicas, como las de cloruro de Benzoilo y Bencilideno, Sacarina, Cloramina T, Trinitro Tolueno y un gran número de colorantes. El Tolueno es un componente del combustible para aviones y de la gasolina para automóviles (8).

2.4.2 Identificación.

CAS: 108-88-3

Formula: C₆H₅CH₃ / C₇H₈

RTECS: XS5250000

NU: 1294 CE

Índice Anexo I: 601-021-00-3

CE / EINECS: 203-625-9

Clasificación de Peligros NU: 3

Grupo de Envasado NU: II (9).

2.4.3 Propiedades físicas.

Punto de ebullición: 111°C

Punto de fusión: -95°C

Densidad relativa (agua = 1): 0,87

Solubilidad en agua: ninguna

Presión de vapor, kPa a 25°C: 3,8

Densidad relativa de vapor (aire = 1): 3,1

Densidad relativa de la mezcla vapor/aire a 20°C (aire = 1): 1,01

Punto de inflamación: 4°C

Temperatura de autoignición: 480°C

Límites de explosividad, % en volumen en el aire: 1,1-7,1

Coefficiente de reparto octanol/agua como log Pow: 2,69 (9).

2.4.4 Valores Máximos permisibles.

Límite Máximo Permissible de Exposición (LMPE) de 50 ppm (10).

Biological Exposure Indices (BEIs): ácido Hipúrico 1.6 g/g de creatinina (6).

Occupational Safety and Health Administration (OSHA): El permissible exposure limits (PEL) es de 200 ppm como promedio durante un turno laboral de 8 horas; de 300 ppm, que no debe excederse durante ningún periodo laboral de 15 minutos; y de 500 ppm, como nivel máximo aceptable durante 10 minutos en un turno laboral de 8 horas (11).

National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH): El Recommended Exposure Limits (REL) es de 100 ppm como promedio durante un turno laboral de 10 horas y de 150 ppm, que no debe excederse durante ningún periodo laboral de 15 minutos (11).

American Conference of Industrial Hygienists (ACGIH): El Threshold Limit Values (TLV) es de 20 ppm como promedio durante un turno laboral de 8 horas (11).

2.4.5 Efectos a la salud.

La toxicidad aguda del Tolueno es ligeramente más intensa que la del Benceno. La inhalación de Tolueno puede ocasionar lesiones cerebrales permanentes, depresión y hasta la muerte. La International Agency for Research on Cancer (IARC) menciona que la toxicidad del Tolueno es más prominente en el Sistema Nervioso Central (SNC) después de la exposición aguda y/o crónica (6).

La exposición a Tolueno causa tanto cambios reversibles como irreversibles en el SNC. Los efectos de la inhalación de Tolueno en algunas enzimas específicas y en la unión del glutamato y el receptor del ácido gamma-aminobutírico (GABA) en el cerebro han sido bien estudiadas utilizando la actividad de las enzimas ácido glutámico descarboxilasas (GAD), colinacetiltransferasa (ChAT) amino ácido aromático descarboxilasa (AAD) como marcadores de pérdida permanente de actividad neuronal, mostrando reducción importante en las neuronas Catecolaminérgicas después de exposición de 4 semanas a 250-1000 ppm Tolueno. También se ha encontrado proliferación de células gliales, un fenómeno frecuente en el daño de SNC. El Tolueno a concentraciones < 100 ppm puede producir alteraciones en los mecanismos dopaminérgicos del ganglio basal, llevando probablemente a cambios funcionales en la integración sensorio –motora (6).

En intoxicaciones leves produce irritación del tracto respiratorio superior, irrita membranas mucosas de la boca del esófago y del estómago, a nivel cutáneo genera irritación local en el sitio de exposición y a nivel ocular provoca conjuntivitis leve, irritación de párpados y lagrimeo (12).

En caso de intoxicación moderada afecta el SNC dando como resultado cefalea, vértigo, náusea, visión borrosa, confusión, debilidad y fatiga; si es ingerido provoca sensación de ardor en la boca y diarrea. A nivel cutáneo dolor, enrojecimiento y

prurito. En una exposición ocular provoca una conjuntivitis severa y disminución de la agudeza visual (12).

El cuadro por contacto severo incluye pérdida del estado de alerta, convulsiones, arritmias cardíacas, insuficiencia respiratoria, coma y muerte (12).

En intoxicaciones crónicas se ha asociado a aumento de abortos espontáneos en mujeres expuestas así como otros trastornos menstruales y del sistema reproductivo. De igual manera se han reportado efectos asociados con encefalopatía tóxica crónica (12).

2.4.6 Metabolismo

La inhalación es la principal vía de exposición del Tolueno, sin embargo, el Tolueno puede ser absorbido a través de la ingestión y absorción cutánea. La cantidad de Tolueno absorbido por inhalación depende del volumen minuto respiratorio, por lo que la actividad física afecta a la tasa de absorción de Tolueno. En reposo, los pulmones absorben alrededor del 50% de una dosis inhalada. Diferentes autores señalan que se absorbe entre el 40 y 60% del Tolueno inhalado (13).

Ya absorbido se distribuye rápidamente en todo el organismo, observándose una mayor concentración en el tejido adiposo, seguido por la médula ósea, glándulas

suprarrenales, riñones, hígado, cerebro y sangre (13, 14, 15). La cantidad de Tolueno retenida en el organismo está en función del porcentaje de grasa presente. Las personas obesas retienen más Tolueno que las delgadas (13).

La principal vía metabólica del Tolueno es la formación de Alcohol Bencílico, una reacción que tiene lugar en el hígado y que está a cargo del citocromo P-450 2E1 (CYP2E1) (16). Alrededor del 80% de Tolueno absorbido es oxidado en el hígado a ácido Benzoico, que luego se conjuga con Glicina para formar ácido Hipúrico o con ácido Glucurónico para formar Glucuronato Benzoilo. Una pequeña cantidad de Tolueno se somete a la oxidación del anillo aromático para formar Orto-y Para-Cresoles (15).

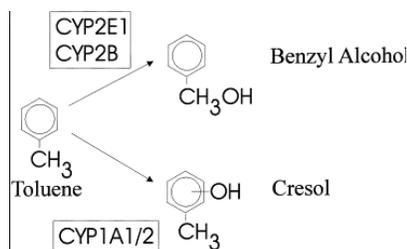


Figura 3. CYP2E1 CYP2B en el Metabolismo del Tolueno (17).

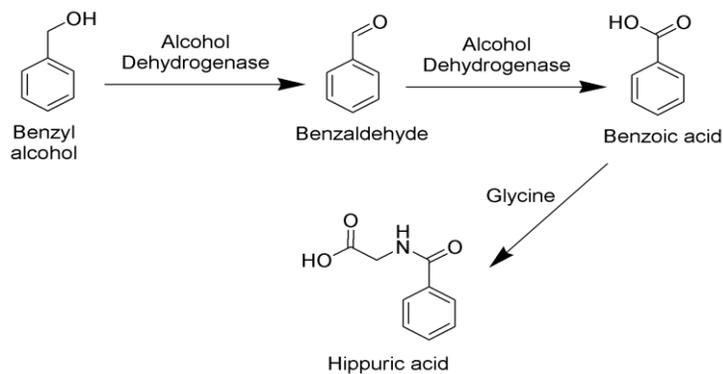


Figura 4. Metabolismo del Tolueno a partir de la síntesis de Alcohol Bencílico (18).

Se demostró que el CYP2E1, en bajas concentraciones de Tolueno, contribuye con la formación de Alcohol Bencílico y Para-Cresol.; el CYP1A1/2 contribuye con la formación del Orto-Cresol y Para-Cresol; y el CYP2B1/2 y el CYP2C11/6 (en altas concentraciones de Tolueno) contribuye con la formación de Alcohol Bencílico, Orto-Cresol y Paracresol. También demostró que el CYP2E1 es el más activo en la formación de Alcohol Bencílico, seguido por el CYP2B6, CYP2C8, CYP1A2 y CYP1A1. El CYP1A2 también estuvo activo durante la formación de Orto-Cresol y Para-Cresol (22% y 35% del total de metabolitos). El CYP2E1 y CYP2B6 catalizaron la formación de Para-Cresol (11-12% del total de metabolitos) (15).

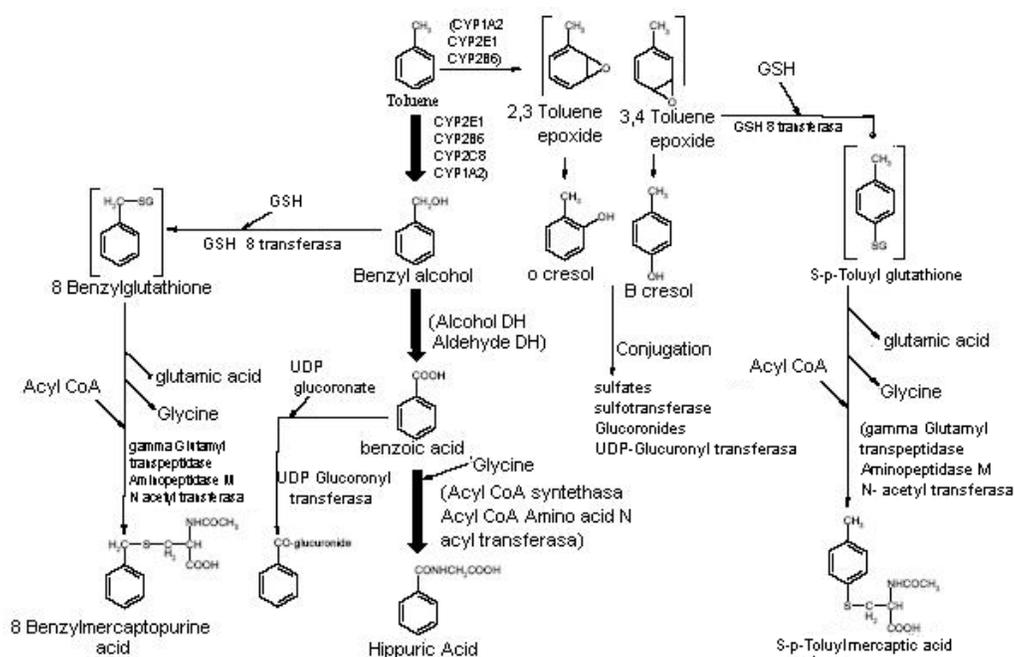


Figura 5. Participación de las isoenzimas CYP en el Metabolismo del Tolueno (15).

La mayoría del Tolueno inhalado o ingerido se elimina en la orina dentro de las 12 horas después de la exposición; una pequeña cantidad (hasta un 20%) se elimina en aire espirado como Tolueno libre y menos del 2% del total de metabolitos del Tolueno se excretan en la bilis (15). Después de una exposición única, la eliminación de Tolueno y sus metabolitos es casi completa en 24 h (14).

2.4.7 Personal expuesto.

Trabajadores que se encuentren en la fabricación de pinturas, diluyentes de pinturas, barniz para las uñas, lacas, adhesivos y gomas, ciertos procesos de imprenta, curtido de cuero, fabricación de gasolina junto con el Benceno y el Xileno, aquellos que estén en contacto con disolvente de alquitrán, brea, asfalto, acetilcelulosa, diluyentes de tintas de fotograbado, pinturas, barnices de celulosa (19).

En PEMEX Refinación la exposición ocupacional al Tolueno se da principalmente en las plantas Desparafinadoras ya que en estas se realiza la extracción de aceites y lubricantes de la parafina mediante baños a altas temperaturas con una solución compuesta a base de Tolueno y Metil-Etil-Cetona (54/46% respectivamente).

2.4.8 Monitoreo biológico.

Se realiza mediante la determinación del ácido Hipúrico en orina o ácido Bencilmercaptúrico también en orina solo que este último se encuentra en fase de investigación y desarrollo. Actualmente el ácido Hipúrico se considera el biomarcador más adecuado para el control de exposiciones a Tolueno. La Norma Oficial Mexicana NOM-047-SSA1-2011 determina que la concentración máxima permisible después de una jornada laboral de 8 horas es de 1.6 g/g de creatinina, es decir, 1.6 gramos de ácido Hipúrico por gramo de creatinina (12).

2.5 Inflamación y metabolismo de Xenobióticos.

La disminución en la capacidad metabólica del hígado para biotransformar los Xenobióticos en el curso de la inflamación, la regeneración y las hepatopatías severas es bien conocida. Ello es debido a una desregulación de genes individuales del citocromo P-450 (CYP), cuyo resultado es una disminución de la expresión del ARN microsomal (ARNm), de los niveles de proteína y de la actividad correspondiente (20).

Familia CYP450	Número de Subfamilias	Isoenzima	Función
CYP1	2(A,B)	1A1,1A2 1B1	Metabolismo xenobióticos
CYP 2	13 (A,B,C,D,E,F,G,J,R,S,T,U,W)	2A6, 2A7, 2A13, 2B6, 2C8, 2C9,2C18, 2C19,2D6,2E1,2F1,2J2, 2R1, 2S1,2U1, 2W1	Metabolismo esteroides y xenobióticos
CYP 3	1	3A4, 3A5, 3A7 y 3A43	Metabolismo de xenobióticos
CYP4	6 (A,B,F,V,X,Z)	4A20, 4A22, 4 A11 4 B1 4 F2 4 F3 4 F8 4 F11, 4F12, 4F22 4V2, 4X1 y 4Z1	4A11,4B1,4F2,4F3 y 4F8 participan en: Metabolismo de ácidos grasos α y β hidroxilación, Metabolismo de ácidos araquidónico, Síntesis de 12R-HETE), Metabolismo de ácidos araquidónico (20-HETE), Leucotrienos (LTB 4) y prostaglandinas (19R hidroxilación), respectivamente.
CYP 5	1	5A1	Metabolismo ácido araquidónico (Actividad de Sintetasa del Tromboxano A2)
CYP 7	2(A,B)	7A 7 B	Biosíntesis de ácidos biliares Síntesis de Neuroesteroides
CYP 8	2(A,B)	8 A 8 B	Ácido araquidónico (prostaciclina sintasa) Biosíntesis de ácidos biliares (12 α hidroxilasa)
CYP 11	2(A,B)	11A1 11B1 11B2	Biosíntesis de esteroides (colesterol a pregnenolona) Síntesis de cortisol (11- β hidroxilación de 11 desoxicortisol) Síntesis de aldosterona (18 hidroxilación de corticosterona)
CYP17	1	1	Biosíntesis de esteroides, testosterona y estrógenos (12 α hidroxilasa)
CYP19	1	1	Biosíntesis de esteroides (actividad aromatasa)
CYP20	1	1	¿?
CYP21	1	1	Biosíntesis de esteroides y cortisol (C21 esteroides sintetasa)
CYP 24	1		Catabolismo de la vitamina D
CYP 26	3(A,B,C)	26A 1 26B 1 26C 1	Metabolismo del ácido retinoico (trans hidroxilasa) Posible papel metabolismo ácido retinoico Posible papel metabolismo ácido retinoico
CYP 27	3(A,B,C)	27A 1 27R 1 27 C 1	Biosíntesis de ácidos biliares (esterol 27 hidrolasa) Activación de la vitamina D ₃ (1 α hidroxilación) ¿?
CYP 39	1	39	Metabolismo del colesterol24 (24 hidroxicolesterol 7 hidroxilasa)
CYP 46	1	46	Metabolismo del colesterol (24 colesterol hidroxilasa)
CYP 51	1	51	Metabolismo del colesterol (lanosterol 14- α desmetilasa)

Figura 6. Familias de CYP450 identificadas en humano y sus principales funciones (21)

En la inflamación, tanto in vivo como in vitro, las Citoquinas y el Interferón (IFN) producen un efecto inhibitor sobre la expresión de la mayoría de las isoformas del CYP (20). Aunque desde hace mucho tiempo se sabe esto, aún se desconoce si el metabolismo de cualquier producto Xenobiótico puede verse afectado por dicha situación (22).

Las Citoquinas son los mensajeros fisiológicos de la respuesta inflamatoria, pequeñas moléculas proteicas o glucoproteicas cuya función fundamental es intervenir en la transmisión de señales de una célula a otra. Se unen a receptores específicos de sus células blanco provocando en ellas modificaciones que llevan a la síntesis y liberación de mediadores secundarios (prostaglandinas, leucotrienos, tromboxanos, Factor activador de plaquetas). Los mediadores de fase aguda de inflamación (IL 1, IL 6 y TNF- α) producen una disminución de los niveles del CYP. Tanto en la inflamación como en la regeneración hepática, se observa una reducción de la mayoría de las isoformas del CYP. El aumento de los niveles de Óxido Nítrico (NO) en el hígado regenerante y durante los procesos inflamatorios, debido a la inducción de la enzima Óxido Nítrico Sintetasa (NOSi) por los factores de crecimiento y las Citoquinas, es considerado como uno de los mecanismos mayoritarios implicados en los cambios de los niveles del CYP (20).

Hay numerosos estudios que muestran de forma inequívoca un efecto inhibitor directo del IFN sobre la expresión constitutiva e inducible de la mayoría de las

familias del CYP. Este efecto se ha observado tras la administración de IFN- α , IFN- β e IFN- γ recombinantes, tanto in vivo como in vitro. Además, se ha descrito una disminución significativa de las isoenzimas CYP3A2, 2C11, 2E1 en rata; CYP1A2 y 2C6 en ratón, así como en los niveles de CYP1A1/2, 2A6, 2B6, 3A4 y 2E1 en hepatocitos humanos cultivados. Igualmente se ha mostrado disminución de los niveles inducibles de las isoformas CYP1A1/2, 2E1, 2B y 3A1 in vivo en roedores, e in vitro en hepatocitos rata y humanos (20).

También se ha descrito que la inflamación reduce la expresión hepática de CYP y algunos estudios han demostrado que las citocinas proinflamatorias como la IL-1 y el TNF- α tienen una regulación negativa en la expresión de genes CYP. La supresión de CYP es importante ya que regula muchas de las reacciones del organismo tanto a estímulos fisiológicos como patológicos (22).

<i>Ejector</i>	<i>CYP</i>	<i>Especie animal o sistema experimental</i>
TNF- α	2C11, 3A2	Rata
	1A, 2C11, 2B1/2, 3A2	Hepatocitos de rata
	1A2, 2B6	Hepatocitos de cerdo
	1A1/2, 3A4	Hepatocitos humanos
IL-1 β	1A, 2C11, 2B1/2, 3A2	Hepatocitos de rata
IL-1 α	1A, 3A4	Hepatocitos humanos
	1A2	Hepatocitos de cerdo
IL-6	1A1	Rata
	2C11	Hepatocitos de rata
	1A2, 2C, 2E1 3A4	Hepatocitos humanos
IFN - α/β	1A, 3A	Hombre
	3A2	Rata
	1A, 2B1, 3A2	Ratón
IFN- γ	2C11	Rata
	2E1	Rata
	1A2, 2C6	Ratón
	1A1/2, 2B1/2, 2E1, 3A1	Rata, hepatocitos de rata
HGF	1A1/2, 2A6, 2B6, 3A4, 2E1	Hepatocitos humanos
	1A1/2, 2A6, 2B6, 3A4, 2E1	Hepatocitos humanos
	1A1, 2C11, 3A2	Hepatocitos de ata
EGF	1A2, 3A4	Hepatocitos humanos

Figura 7. Efecto de las citoquinas y los factores de crecimiento sobre expresión de los isoenzimas del CYP (20).

El Factor Nuclear kB (NF-kB) es un factor de transcripción nuclear que regula la expresión de un gran número de genes que son críticos para la regulación de la apoptosis, la replicación viral, la tumorigénesis, la inflamación, y diversas enfermedades autoinmunes. En su forma inactiva, NF-kB está secuestrado en el citoplasma, unidas a miembros de la familia de proteínas inhibidores del Factor Nuclear Kb (IκB) de proteínas inhibidoras, que incluyen IκBa, IKBB, IκBg e IκBe. Los diversos estímulos que activan NF-kB causan fosforilación de IκB, seguido por su ubiquitinación y la posterior degradación. Esto resulta en la exposición de las señales de localización nuclear (NLS) de las subunidades NF-kB y la posterior translocación de la molécula al núcleo. En el núcleo, el NF-kB se une con una secuencia de consenso de varios genes y por lo tanto activa su transcripción (23).



Figura 8. Vía de activación del NF-kB (23).

Molecularmente, la activación de NF-kB, un regulador clave de la inflamación y la respuesta inmune, inhibe la expresión del Receptor Esteroide de Xenobióticos (SXR/PXR) y sus genes diana, mientras que la inhibición de NF-kB aumenta la actividad del (SXR/PXR). Este eje SXR / PXR-NF-kB proporciona una explicación para la supresión de ARNm CYP hepáticas por estímulos inflamatorios, lo que ocasionaría una alteración en el metabolismo de algunos Xenobióticos (15). También hay una disminución de los niveles de la proteína y de la actividad correspondiente, que se acompaña de una menor capacidad del hígado para biotransformar Xenobióticos (20).

Ya que SXR es un regulador importante de CYP y NF-kB también es un regulador transcripcional de las respuestas inmunes e inflamatorias, hipotéticamente la activación de NF-kB inhibe la actividad de SXR y CYP mientras que la inhibición de la actividad de NF-kB capaz de rescatar la actividad SXR reprimida y mejorar la expresión de CYP mediada por SXR mediada. Del mismo modo, la activación SXR inhibe la actividad de NF-kB y la expresión de sus genes diana (22).

3. JUSTIFICACIÓN

La Organización Internacional del Trabajo (OIT) y la Organización Mundial de Salud (OMS) definen a la Medicina del Trabajo como la rama de las ciencias de la salud que se ocupa de promover y mantener el más alto grado de bienestar físico, mental y social del hombre que trabaja, previniendo todo daño a la salud por las

condiciones de trabajo, protegiéndolo en su empleo contra los riesgos que resulten de la presencia de agentes nocivos para la salud (24).

En PEMEX debido al gran compromiso por elevar los estándares de vigilancia a la salud, acorde al Sistema de Seguridad, Salud y Protección Ambiental (SSPA) y de conformidad a lo dispuesto en los elementos 2 (Agentes químicos), 10 (Comunicación en Riesgos para la Salud), 11 (Compatibilidad Puesto Persona) y 12 (Vigilancia de la Salud de los Trabajadores) del Subsistema de Administración de la Salud en el Trabajo (SAST), existe en el área de Medicina del Trabajo la visión preventiva hacia los riesgos laborales; dado el giro de nuestra empresa son de suma importancia los estudios toxicológicos, por lo que se han desarrollado diversos controles biológicos respecto al monitoreo de los mismos.

Algunos autores han mencionado la importancia que tienen los procesos inflamatorios en torno al metabolismo de diversos agentes Xenobióticos, sin embargo, la mayoría de los estudios que se han realizado con respecto a los disolventes orgánicos son sobre modelos animales y los pocos que existen sobre humanos se realizaron en modelos experimentales con células de hígado; de ahí la importancia de realizar un estudio que contemple analizar directamente este fenómeno en trabajadores ocupacionalmente expuestos a disolventes orgánicos de la familia de los hidrocarburos aromáticos.

Los índices biológicos presentan un interés especial, son parámetros de exposición biológica que se basan en la detección de metabolitos; en el caso del Tolueno es el ácido Hipúrico (25).

La exposición a Tolueno dentro de la refinación de petróleo es constante e incluye la inhalación de vapores y el contacto dérmico, esto tiene gran importancia por la gran variedad de efectos agudos y crónicos a la salud.

La cantidad de Tolueno absorbido por inhalación depende del volumen minuto respiratorio, por lo que la actividad física afecta a la tasa de absorción de Tolueno. En reposo, los pulmones absorben alrededor del 50% de una dosis inhalada. Diferentes autores señalan que se absorbe entre el 40 y 60% del tolueno inhalado (13).

Una vez absorbido el Tolueno se distribuye rápidamente en el organismo observándose una mayor concentración en el tejido adiposo, seguido por la médula ósea, glándulas suprarrenales, riñones, hígado, cerebro y sangre, por lo tanto son también órganos susceptibles de daños por este solvente (13, 14, 15).

El presente estudio pretende determinar si el metabolismo del Tolueno se ve afectado por los procesos inflamatorios con el fin de tomar medidas de control y

prevención en la salud de los trabajadores ocupacionalmente expuestos de nuestra empresa.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.

¿Pueden los procesos inflamatorios influir en el metabolismo del Tolueno en personal ocupacionalmente expuesto?

5. HIPOTESIS

Los trabajadores ocupacionalmente expuestos a Tolueno, que cursen con un proceso inflamatorio agudo inducido mediante ejercicio físico, presentaran una disminución en su capacidad para metabolizarlo, es decir, disminuirán los niveles de ácido Hipúrico en orina, lo cual los hará más vulnerables a sufrir los efectos de intoxicación aguda y/o crónica de dicho Xenobiótico.

6. OBJETIVO GENERAL

Determinar si la presencia de un proceso inflamatorio agudo inducido mediante ejercicio físico disminuye la capacidad de biotransformación de Tolueno, en un grupo de trabajadores ocupacionalmente expuestos de una refinería mexicana durante el mes de Mayo de 2013.

7. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar los niveles de Tolueno en el Ambiente Laboral.

- Medir el grado de exposición a Tolueno mediante la determinación de ácido Hipúrico en orina al inicio y al final de la jornada laboral.
- Encontrar la relación de los niveles ambientales de Tolueno con los valores urinarios de ácido Hipúrico.
- Cuantificar reactantes de la fase aguda de inflamación (PCR y VSG).
- Cuantificar la concentración de ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral posterior a la realización de ejercicio físico.
- Determinar si la presencia de un proceso inflamatorio agudo disminuye la capacidad de metabolización del Tolueno en el grupo de trabajadores ocupacionalmente expuestos según sus diferentes características interpersonales.

8. TIPO DE ESTUDIO

Experimental

9. DISEÑO

Cohorte Longitudinal

10. DEFINICIÓN DEL UNIVERSO

Trabajadores ocupacionalmente expuestos a Tolueno adscritos a la Refinería "Ing. Antonio M. Amor" ubicada en Salamanca, Gto. que laboren en una de las dos plantas Desparafinadoras de dicha refinería.

10.1 Muestra de estudio

- 10 trabajadores ocupacionalmente expuestos a Tolueno que se encuentren actualmente laborando en la Refinería a los que se les induzca, por medio de ejercicio físico, un proceso inflamatorio agudo.

10.2 Criterios de inclusión

- Hombres entre 21 -42 años de edad.
- Clínicamente sanos.
- Personas con un consumo máximo de oxígeno de 3.01 – 4.16 l/min.
- Personas que no sean consideradas como deportistas y que solo realicen ejercicio de forma recreacional y/o esporádica de 1 – 5 días a la semana durante 1 – 2 horas.
- Ocupacionalmente expuestos a Tolueno durante su jornada laboral.
- Firme y acepte el consentimiento informado.

10.3 Criterios de exclusión

- Consumo de drogas 1 semana antes de la toma de muestra.
- Trabajadores que refieran consumo de analgésico o antiinflamatorio los días 1 y 3.
- Trabajadores que haya presentado algún proceso infeccioso en los 5 días anteriores a la toma de muestra.
- Trabajadores con diagnóstico de patología inflamatoria aguda y/o crónica.

- Trabajadores con diagnóstico de Diabetes Mellitus descontrolada.
- Trabajadores con Índice de Masa Corporal igual o mayor a 35% u obesidad grado 2 según criterio de la OMS (26 y 27).
- Trabajadores con limitaciones físico funcionales para realizar ejercicio físico moderado.
- Trabajadores con diagnóstico de enfermedades crónico degenerativas descontroladas.
- Trabajadores que realicen alguna rutina de ejercicios de manera periódica.

10.4 Eliminación

- Aquellos trabajadores que habiendo sido incluidos previamente en el estudio y que por algún motivo no cumplieron con los criterios de inclusión o decidieron abandonar el estudio.
- Trabajadores con algún dato positivos de interferencia a los resultados de los marcadores de exposición detectados mediante el cuestionario correspondiente.

10.5 Métodos de selección de la muestra

Se identifico personal ocupacionalmente expuesto durante el mes de mayo de 2013 a Tolueno que se encontraban como trabajadores activos en las dos plantas Desparafinadoras (U5 o LG) de la Refinería “Ing. Antonio M. Amor”; se seleccionó una muestra representativa de 10 trabajadores de un total de 40 que son los que

integran la platilla de trabajadores ocupacionalmente expuestos (total de trabajadores en ambas plantas) mismos que, después de integrar historial médico, cumplían con todos los criterios anteriormente citados de inclusión y exclusión; cabe señalar que el personal que labora en el turno matutino son los que realizan la mayor cantidad de procesos y por ende, los de mayor exposición. Esta selección se realizó de forma aleatoria mediante randomización informática.

10.6 Definición de variables

Variable	Tipo	Unidad de Medida	Definición operativa	Técnica	Escala medición
Edad	Cuantitativa Discreta Independiente	Años cumplidos	Años de vida desde el nacimiento al momento del estudio.	Cuestionario	Numérica
Peso	Cuantitativa Continua Independiente	Kilogramos	Cantidad de kilogramos	Determinación en balanza	Numérica
Talla	Cuantitativa Continua Independiente	Metros	Estatura de cada participante medida en metros	Determinación mediante estadímetro	Numérica
I.M.C.	Cuantitativa Continua Independiente	Peso /Talla ²	Relación entre el peso y la talla del trabajador mediante la siguiente fórmula: IMC: $\text{Peso} / \text{Talla}^2$	Operación numérica	Numérica
Clasificación I.M.C.	Cualitativa Independiente	Normal 18 – 24.9 Sobrepeso 25 – 29.9 Obesidad Grado 1 30 – 34.9	Clasificación I.M.C. según la O.M.S.	Tabla clasificación I.M.C. de la O.M.S.	Nominal
VO2 max	Cuantitativa Continua Independiente	Litros/minuto		Método de Cooper	Numérica
Planta	Cualitativa Dicotómica Independiente	LG U5	Planta Desparafinadoras de adscripción de cada participante.	Cuestionario	Nominal
Categoría	Cualitativa Independiente	Nombre del puesto	Puesto de trabajo que tiene el trabajador al momento del estudio	Cuestionario	Ordinal

Tiempo de antigüedad en el área de exposición	Cuantitativa Discreta Independiente	Años cumplidos	Tiempo que tiene el trabajador laborando en la categoría al momento del monitoreo biológico y ambiental.	Cuestionario	Numérica
Tabaquismo	Cualitativa Dicotómica Independiente	Si No	Consumo de tabaco por participante	Cuestionario	Nominal
Número de Cigarrillos por día	Cuantitativa Discreta Independiente	Cigarrillos fumados al día	Número de cigarrillos fumados al día por cada participante	Cuestionario	Numérica
Tiempo Habito Tabáquico	Cuantitativa Discreta Independiente	Años fumando	Cantidad de años que lleva cada participante fumando	Cuestionario	Numérica
Alcoholismo	Cualitativa Dicotómica Independiente	Si No	Consumo de alcohol por participante	Cuestionario	Nominal
Número de Copas por semana	Cuantitativa Discreta Independiente	Copas consumidas a la semana	Número de copas bebidas por semana por cada participante	Cuestionario	Numérica
Consumo de carne	Cualitativa Dicotómica Independiente	Si No	Ingesta de carne los días de monitoreo biológico por parte de cada participante	Cuestionario	Nominal
Consumo de medicamentos	Cualitativa Dicotómica Independiente	Si No	Ingesta de medicamentos los días de monitoreo biológico por parte de cada participante	Cuestionario	Nominal
Tipo de medicamentos	Cualitativa Independiente	Ninguno AINES Otros	Tipo de medicamento consumido	Cuestionario	Nominal

Cuantificación de VSG	Cuantitativa Dependiente	Menor de 15 mm/h	Cantidad de milímetros que descienden los glóbulos rojos en una hora	Biometría Hemática	Numérica
Cuantificación de PCR	Cuantitativa Continua Dependiente	19 – 39 años < 2.68 mg/L 40 – 49 años < 4.80 mg/L	Cantidad de Proteína C Reactiva en suero		Numérica
Biomarcador de exposición a Tolueno	Cuantitativa Continua Dependiente	Ácido Hipúrico 1.6 g/g de creatinina.	Cantidad de Benceno, Tolueno y Xileno metabolizado y excretado en orina.	Cromatografía Líquida de alta Resolución.	Numérica
Aumento Relativo	Cuantitativa Continua Dependiente	Ácido Hipúrico Final de Jornada/ Ácido Hipúrico Inicio de Jornada	Ganancia de ácido Hipúrico Final de Jornada con respecto al ácido Hipúrico Inicio de Jornada	Operación Numérica	Numérica
Pérdida Relativa	Cuantitativa Continua Dependiente	Aumento Relativo Día 3/Aumento Relativo Día 1	Pérdida de ácido Hipúrico Final de Jornada Día 3 con respecto al ácido Hipúrico de Final de Jornada del Día 1	Operación Numérica	
Monitoreo Ambiental de Tolueno	Cuantitativa Continua Dependiente	Tolueno en partes por millos (ppm)	Partes por millón de Tolueno encontradas en el ambiente laboral medico con bomba SKC.	Cromatografía de gases	Numérica

Tabla 1. Operacionalización de Variables

11. MATERIAL Y METODOS

11.1 Sujetos de Estudio

Se seleccionaron aleatoriamente a 10 sujetos, masculinos, ocupacionalmente expuestos a Tolueno de un total de 40 trabajadores, calculando un margen de error del 15% y un nivel de confianza del 97%, apegado a los criterios de inclusión y exclusión en este estudio, todos trabajadores activos de la Refinería " Ing. Antonio M. Amor" ubicada en Salamanca, Gto. y que estuvieran como trabajadores activos en una de las dos plantas Desparafinadoras de la Refinería, ya que en estas plantas es donde el personal presente mayor exposición a Tolueno.

11.2 Estrategia experimental

Cada trabajador participó en dos eventos analíticos divididos en tres días. Día 1: Se explicó ampliamente a los participantes la metodología del estudio, aceptaron y firmaron consentimiento informado (anexos 1 y 2); se realizó un cuestionario a cada participante con el fin de integrar su historial clínico y laboral (anexo 3) posteriormente completaron un cuestionario para identificar interferencias al análisis del ácido Hipúrico (anexo 4); bajo supervisión médica, proporcionaron una muestra de orina al inicio de su jornada laboral y otra muestra de orina al final de dicha jornada para realizar la determinación de ácido Hipúrico como biomarcador de exposición a Tolueno.

Las muestras fueron debidamente identificadas, adicionadas con Timol, trasportadas y almacenadas a 2°C (\pm 2°C) hasta el momento de su análisis (menos de 30 días) (28).

Día 2: Los participantes realizaron, bajo supervisión médica, un protocolo de ejercicio 16 horas antes del siguiente evento analítico con el propósito de inducir una respuesta inflamatoria aguda; el ejercicio consistió en una sesión de 30 min de bicicleta estática al 65% de su consumo máximo de oxígeno, dicha rutina de ejercicio fue presentada en el *Journal of Physiology* en 1997 en un estudio donde se demostró y garantizó, mediante la medición de reactantes de la fase aguda de inflamación (PCR y VSG), la inducción de un proceso inflamatorio agudo en personas sedentarias (29).

Se informó a los participantes la necesidad de evitar el consumo de algún medicamento analgésico o antiinflamatorio que contrarrestara los efectos del ejercicio.

Día 3: Los participantes completaron nuevamente el cuestionario para identificar interferencias; se les extrajo una muestra de 10 ml de sangre venosa por personal médico para análisis de reactantes inflamatorios (Proteína C Reactiva y Velocidad de Sedimentación Globular), bajo supervisión médica, proporcionaron una muestra de orina al inicio de su jornada laboral y otra muestra de orina al final de

dicha jornada para realizar la determinación de ácido Hipúrico como marcador de exposición a Tolueno.

De la misma manera estas muestras fueron debidamente identificadas, adicionadas con Timol, trasportadas y almacenadas a 2°C (\pm 2°C) hasta el momento de su análisis (menos de 30 días) (28).



Figura 9. Estrategia experimental.

11.3 Monitoreo Ambiental:

Materiales

- Bomba SKC Airchek Sampler modelo 224-PCKR4 No. de serie 666995
- Glibrador 2 Wet V4.4 No. de serie 908288-5
- Tubos de carbón activado de vidrio con ambos extremos sellados a la flama, de 7 cm de longitud, diámetro externo de 6 mm y 4 mm de diámetro interno, conteniendo 2 secciones de carbón activado de 20/40 mallas, separadas por una porción de espuma de poliuretano de 2 mm.

Método

Se utilizó una bomba SKC Airchek Sampler modelo 224-PCKR4 No. de serie 666995 a la cual se le realizó una calibración inicial a un flujo de 0.20 litros por minuto en el Laboratorio de Salud en el Trabajo del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social por personal debidamente capacitado. Se utilizaron también tubos de carbón activado SKC para toma de muestra de solventes orgánicos.

El día 1 y el día 3 se seleccionó a 2 de los participantes (uno por cada una de las plantas) mismos a los que se los colocó la bomba SKC durante su jornada laboral, la cual idealmente fue establecida en un día tipo; esto significa que durante el día del monitoreo ambiental los trabajadores no realizaron alguna actividad fuera de rutina. La bomba se calibró a un flujo de 200 ml por minuto y los tubos de carbón

activado fueron cambiados cada 4 horas durante 8 horas para evitar que se saturaran (10). Una vez utilizados, a cada tubo de carbón se le colocó un tapón en sus extremos, se identificó mediante la colocación de una etiqueta; se almaceno y se transportó a una temperatura de 0°C (\pm 2°C) hasta el momento de su análisis (17).

La bomba SKC se entrego al Laboratorio de Salud en el Trabajo del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social donde personal capacitado realizó la calibración final de la misma.

11.4 Determinación de Tolueno en aire por Cromatografía de gases

La determinación de Tolueno en aire se realizo en Laboratorio de Salud en el Trabajo del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social mediante el procedimiento 020 citado en la NOM-010-STPS-1999, “Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se manejen, transporten, procesen o almacenen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente laboral”, tal y como se describe a continuación:

Materiales

- Tubos de carbón activado de vidrio con ambos extremos sellados a la flama, de 7 cm de longitud de diámetro externo de 6 mm y 4 mm de

diámetro interno, conteniendo 2 secciones de carbón activado de 20/40 mallas, separadas por una porción de espuma de poliuretano de 2 mm.

- Cromatógrafo de gases marca Perkin Elmer modelo Auto System XL No. de serie 610N9011201 equipado con detector de ionización de flama.
- Columna de acero inoxidable de 0.915 m de longitud y de 0.3175 cm de diámetro exterior, empacada con copolímero de etilvinilbenceno-divinilbenceno con un área nominal de 500 a 600 m²/g y diámetro de poro promedio de 0.0075 µm (S3 de la farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos), malla 50/80.
- Un integrador electrónico para medir áreas de picos.
- Contenedores de muestra de 4 ml con tapones de vidrio o recubiertos de teflón.
- Microjeringa para Cromatografía de gases de 10 µl.
- Pipetas volumétricas de 10 ml.

Reactivos

- Disulfuro de carbono de calidad cromatográfica.
- Tolueno, grado reactivo.
- Nitrógeno y Helio purificados.
- Hidrógeno de alta pureza.
- Aire comprimido filtrado.

Procedimiento

Una vez recolectada la muestra los tubos de carbón activado fueron transportados al el Laboratorio de Salud en el Trabajo del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social donde a cada tubo se le hizo una muesca con una lima en la punta de la sección mayor de carbón activado y se abrió por ruptura. Se retiró y se desecho la fibra de vidrio. El carbón activado de la sección mayor se transfirió a un contenedor de muestra de 4 ml con tapón recubierto de teflón. Se retiró y desecho la sección de espuma separadora; la segunda sección de carbón activado se transfirió a otro contenedor tapado. Estas dos secciones fueron analizadas por separado.

Para la desadsorción de las muestras se colocaron alícuotas de 3 ml de disulfuro de carbono en cada contenedor de muestras en una campana de extracción de vapores. Las condiciones de operación para el cromatógrafo de gases fueron las siguientes:

- a)** 50 ml/min (60 psi) flujo de Nitrógeno y Helio como gases acarreadores;
- b)** 65 ml/min (24 psi) flujo de gas Hidrógeno al detector;
- c)** 500 ml/min (50 psi) flujo de aire al detector;
- d)** 473 K (200 °C) temperatura del inyector;
- e)** 538k (265 °C) temperatura del colector de escape (detector);
- f)** 428 K (155 °C) temperatura de columna;

Durante la inyección y para eliminar dificultades relacionadas con el desalojo del aire o destilación en la aguja de la jeringa, se empleó la técnica de la inyección de lavado previo con solvente (Disulfuro de Carbono). La jeringa de 10 μl fue lavada con solvente varias veces para mojar el cilindro y el émbolo, 3 μl de solvente se hicieron pasar dentro de la jeringa para aumentar la exactitud y reproducibilidad del volumen de muestra inyectado. La aguja se removió del solvente y el émbolo fue jalado unos 0.2 μl para separar la cantidad de solvente de la muestra mediante una capa de aire para ser usada como marcador. Se sumergió la aguja en la muestra y se tomó una alícuota de 5 μl , tomando en cuenta el volumen de la aguja, ya que la muestra en la aguja fue inyectada completamente. Después de que la aguja fue retirada de la muestra, y previo a la inyección, el émbolo se jaló 1.2 μl para minimizar la evaporación de la muestra de la punta de la aguja.

Las inyecciones se realizaron por duplicado por cada muestra para lograr un patrón, mismo que no arrojó una diferencia en las áreas mayor al 3%.

La medición de área de pico de muestra se realizó por un integrador electrónico.

11.5 Monitoreo Biológico.

Se recolectaron muestras de orina de cada participante al inicio y al final de su jornada laboral los días 1 y 3 para determinación de ácido Hipúrico en orina como biomarcador de exposición a Tolueno. Previo a la recolección de orina los

participantes firmaron un consentimiento informado, completaron el formato MB-6 “Cuestionario para Identificar Factores de Confusión del Monitoreo Biológico de la Exposición Química Laboral”.

La recolección de orina se realizó bajo supervisión médica en frascos de propileno de 125 ml no estériles, cada frasco fue debidamente identificado. Una vez recolectada la orina se adiciono a cada muestra una pizca de Timol y fueron transportadas y almacenadas a 2°C ($\pm 2^\circ\text{C}$) hasta el momento de su análisis.

La determinación de ácido Hipúrico se llevó a cabo en Laboratorio de Salud en el Trabajo del Hospital General de Zona 32 “Dr. Mario Madrazo Navarro” del Instituto Mexicano del Seguro Social por personal debidamente capacitado.

Las muestras fueron analizadas utilizando el Método analítico 8301 de NIOSH.

Material y reactivos:

- Timol.
- Cloruro de Sodio.
- Ácido Clorhídrico.
- Acetato de Etilo.
- Ácido Hipúrico grado reactivo.
- Ácido Fenilglicólico.

- Ácido Mandélico.
- Solución patrón del estándar.
- Fase móvil: 900 ml de agua destilada (grado 1) y 100 ml de Acetonitrilo (grado HPLC) medidos en matraz volumétrico y 250 micro litros de ácido Acético glacial.
- Tubos de 15 ml de polipropileno con tapa de rosca.
- Viales ámbar para HPLC de 2 ml con tapa de rosca.
- Microviales con capacidad de 300 micro litros.
- Pipetas Pasteur.
- Pipetas volumétricas.
- Matraces volumétricos color ámbar 10, 50 y 100 ml.
- Microjeringa para Cromatografía de líquidos.

Equipos:

- Vortex
- Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (HPLC) Perkin Elmer con detector Ultravioleta-Visible de la serie 200 y un integrador LCI – 100, columna C18 de fase reversa y Sistema de Calentamiento de Columna.
- Refrigerador
- Baño maría
- Centrífuga
- Balanza analítica

Condiciones Cromatográficas:

- Modo de separación Isocrático.
- Flujo 2 ml/min.
- Volumen de inyección 20 micro litros.
- Longitud de onda 254 nm.
- Columna ODS Hypersil C18 de 200 mm de longitud, 4.6 mm de diámetro y 5 micrómetros de tamaño de partícula.
- Temperatura de la columna 30 grados centígrados.
- Modo de calibración: curva de calibración.
- Unidades de calibración microgramos/mililitros.
- Tiempos de retención de los analitos: Ácido Fenilgloxílico (0.8 min), ácido mandélico (3.1 min); ácido Hipúrico (4.5 min).
- Tiempo total de la corrida cromatográfica: 6 min

Curva de calibración

Para preparar la solución patrón se pesó 10 mg de ácido Hipúrico con pureza del 98% se colocó en un matraz volumétrico de 10 ml, añadió 10 ml destilada (grado 1), esta solución tenía una concentración de 1 mg/ml de ácido Hipúrico con la cual se prepararon diluciones como se muestra en la tabla siguiente.

Tabla 2: Diluciones curva de calibración			
Estándar	Sol. Patrón (mg/ml)	H2O grado 1 (ml)	Concentración (mg/ml)
1	1.25	3.75	0.25
2	2.5	2.5	0.5
3	5	0	1

La curva de calibración se realizó de la misma manera que la preparación de las muestras.

Preparación analítica de las muestras urinarias.

Con una pipeta se transfirió 1 ml de cada estándar a un tubo de 15 ml de polietileno con tapa, se adicionó 40 microlitros de ácido Clorhídrico concentrado, 0.3 g de Cloruro de Sodio y 4 ml de Acetato de Etilo; posteriormente se agitó cada solución durante 1 min en vortex para después ser centrifugados durante 5 min a 5000 rpm. Al concluir se transfirieron 200 microlitros de la fase orgánica a un microvial y evaporó en baño maría a 60 C° durante 50 min.

El residuo de cada microvial fue redissuelto en 200 micro litros de agua destilada (grado 1) y se agitaron por 1 minuto en vortex. Finalmente se inyectaron 10 microlitros manualmente de cada muestra y estándar.

Determinación de Creatinina en orina.

Se determinó la concentración de creatinina tomando alícuotas de orina de cada una de las muestras en el Laboratorio Clínico del Hospital Central Sur de Alta Especialidad de Petróleos Mexicanos.

11.6 Protocolo de ejercicio.

Todos los participantes realizaron un protocolo de ejercicio el día 2 el cual consistió en un ejercicio concéntrico (bicicleta estática a dos pies) durante 30 minutos a 65% de su consumo máximo de Oxígeno (V_{O_2} max), mismo que fue determinado en una valoración previa a cada participante mediante test de Cooper.

11.7 Reactantes de la Fase aguda de Inflamación

A cada participante se le extrajo una muestra de sangre venosa el día 3 antes de iniciar su jornada laboral previa firma de consentimiento informado (anexo 2), con el fin de analizar reactantes de la fase aguda de inflamación (Proteína C Reactiva y Velocidad de Sedimentación Globular).

La obtención de la muestra se realizó por personal de laboratorio clínico capacitado; a través de venopunción se obtuvieron 10 ml de sangre (Tubo BD Vacutainer K2 EDTA y tubo BD Vacutainer SST); mediante procedimientos estándar de laboratorio; Citometría de flujo y Espectrofotometría, se realizó

Biometría Hemática completa con Velocidad de Sedimentación Globular y determinación de Proteína C Reactiva respectivamente. El análisis de estas muestras fue realizado por Laboratorios Clínicos Azteca unidad Universidad.

11.8 Análisis de Resultados

Se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS 19 (Statistical Package for the Social Sciences 19) para software de Windows y el programa Excel 2007. Las correlaciones entre las distintas variables fueron determinadas mediante T de Student. Se tomaron valores de $P < 0.05$ y < 0.001 como criterios de significancia estadística.

12 RESULTADOS.

12.1 Características de la muestra.

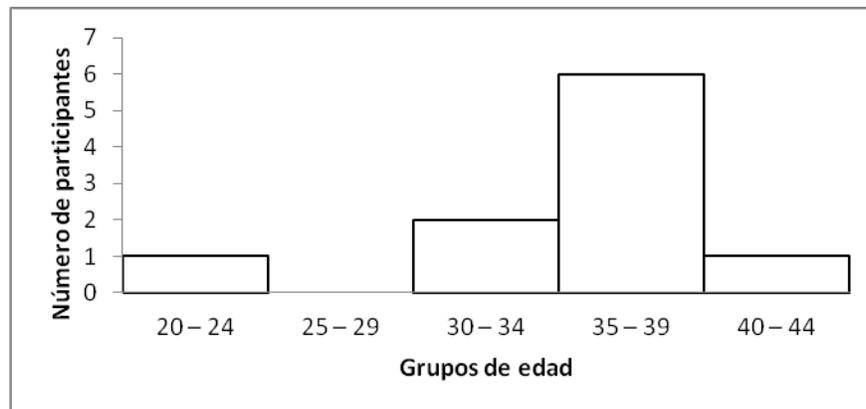
El estudio se realizó a 10 participantes ocupacionalmente expuestos a Tolueno de un total de 40 trabajadores que integran la plantilla de las 2 plantas Desparafinadoras de la Refinería (Planta U-5 y Planta LG); dichas plantas realizan el mismo proceso dentro de la Refinería, la única diferencia es que la Planta LG tiene 20 años más de antigüedad.

Los 10 participantes eran del sexo masculino con un promedio de edad de 35.5 años con una desviación estándar de ± 5.72 ; solo un participante se encuentra fuera del rango de edad citado en los criterios de inclusión (21 – 42 años) pero al no contar con algún otro participante que cumpliera con la mayoría de los criterios se decidió incluirlo en el estudio, es así que el 70% de la muestra se encuentra entre 35 y 44 años de edad.

Tabla 3. Distribución del grupo de estudio por edad.

Grupo de Edad	Número de participantes	Porcentaje
20 – 24	1	10 %
25 – 29	0	0 %
30 – 34	2	20 %
35 – 39	6	60 %
40 – 44	1	10 %
Total	10	100 %

Figura 10. Distribución del grupo de estudio por edad.

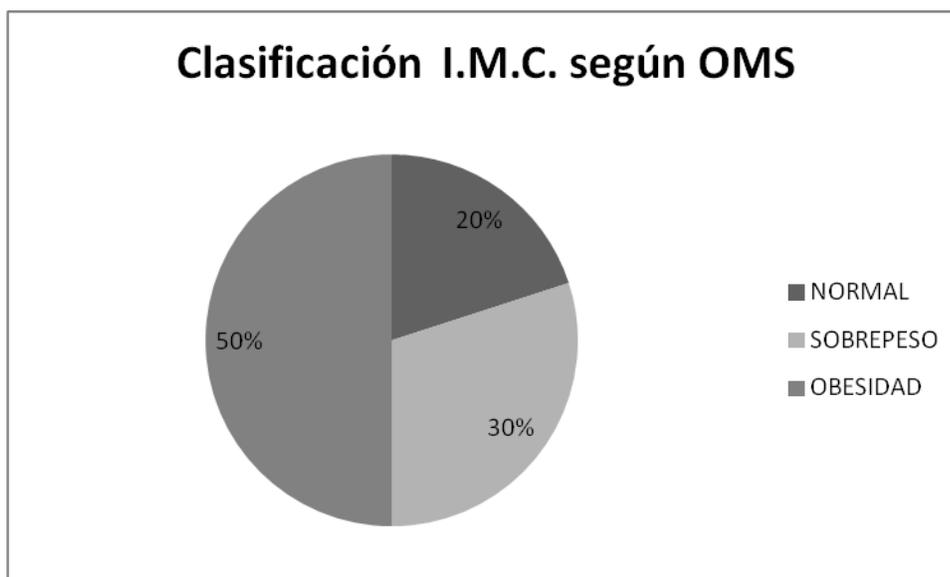


Los participantes tienen un peso corporal promedio de 87.99 Kg, siendo el mayor peso registrado entre los participantes de 104 Kg y el menor peso 65 Kg; la talla promedio en metros fue de 1.72 y un Índice de Masa Corporal promedio de 29.39%; lo cual coloca al 50% de la muestra en Obesidad Grado 1 según la Clasificación de la OMS.

Tabla 4. Características físicas de la muestra.

	Media	D.E.
Peso (Kg)	87.99	± 14.07
Talla (mts)	1.72	± 0.02
I.M.C (%)	29.93	± 4.23

Figura 11. Distribución de la muestra según I.M.C.



12.2 Antecedentes laborales

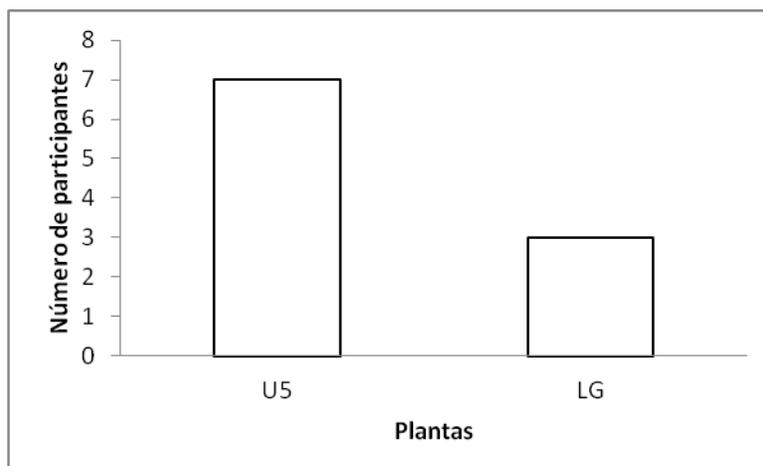
Todos los participantes son trabajadores activos de las plantas Desparafinadoras (U-5 y LG) de la Refinería “Ing. Antonio M. Amor” ubicada en Salamanca. Gto. Pertenecen al organismo Refinación en Petróleos Mexicanos. El proceso que se realiza en ambas plantas es el mismo y consiste en aceite de la parafina mediante el baño de la misma con una mezcla de Tolueno y Metiletilcetona (54/46 % respectivamente). La planta LG fue puesta en marcha 20 años antes que el inicio de operaciones de la planta U-5.

El 70% del total de la muestra realiza sus labores en la planta U-5 mientras que el resto (30%) lo realiza en la planta LG.

Tabla 5. Número de participantes por Planta.

Planta	No. de Participantes	Porcentaje
U-5	7	70%
LG	3	30%

Figura 12. Número de participantes por Planta.

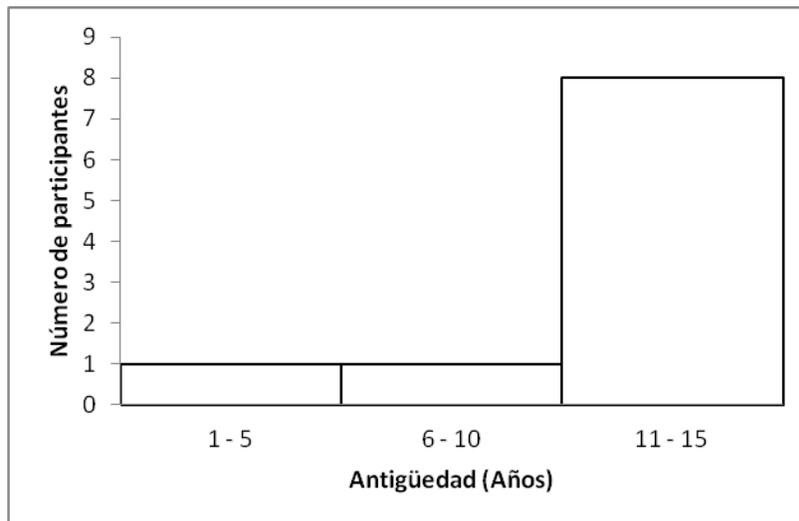


En cuanto a la antigüedad se observó que el 80% de los individuos tiene más de 10 años de antigüedad.

Tabla 6. Distribución de la muestra por años de antigüedad.

Antigüedad (Años)	No. de Participantes	Porcentaje
1 - 5	1	10%
6 - 10	1	10%
10 - 15	8	80%

Figura 13. Distribución de la muestra por años de antigüedad.

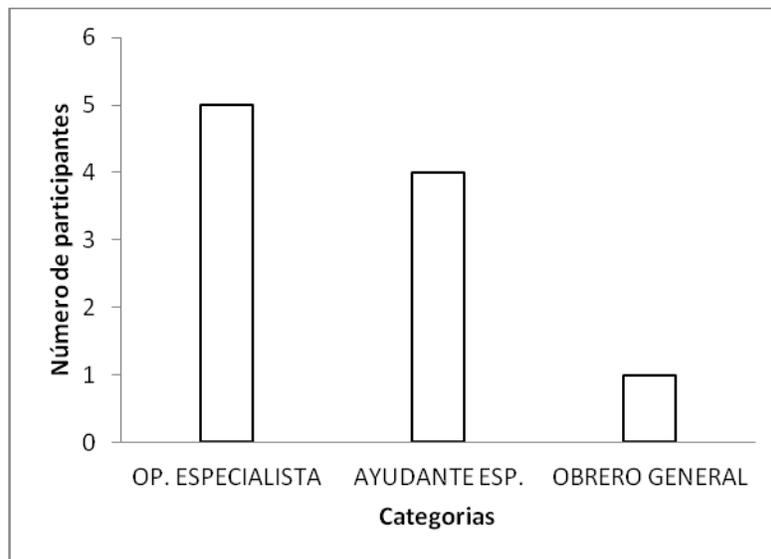


En este estudio estuvieron presentes tres categorías: Operario Especialista, Ayudante Especialista y Obrero General; estas categorías son las que cuentan con mayor exposición ocupacional dentro de las plantas Desparafinadoras.

Tabla 7. Distribución de la muestra por categoría.

Categoría	No. de Participantes	Porcentaje
OP. ESPECIALISTA	5	50%
AYUDANTE ESP.	4	40%
OBRERO GENERAL	1	10%

Figura 14. Distribución de la muestra por categoría.



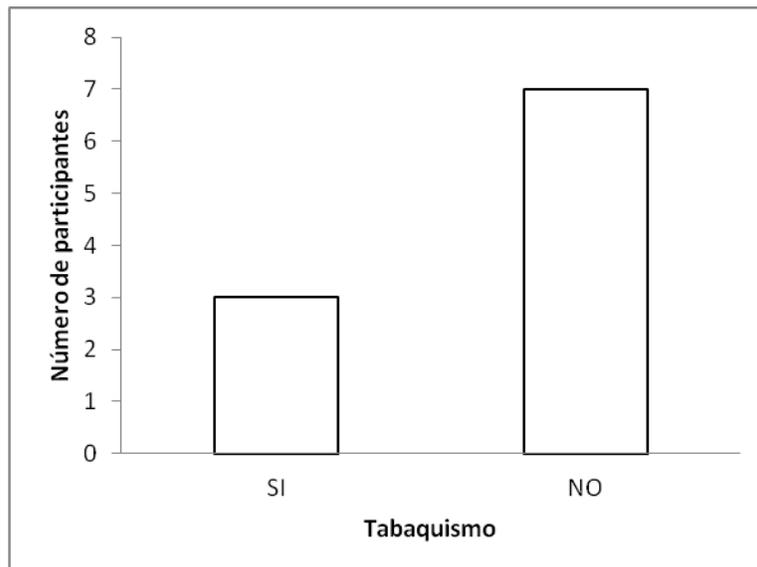
12.3 Factores de confusión.

El único dato positivo encontrando en este rubro fue el hábito tabáquico, el cual fue positivo para tres participantes de la muestra; en cuanto al consumo de bebidas alcohólicas todos los participantes negaron este hábito, así como el uso de cualquier otra sustancia.

Tabla 8. Consumo de tabaco entre los participantes.

Tabaquismo	No. de Participantes	Porcentaje
Si	3	30%
No	7	70%

Figura 15. Consumo de tabaco entre los participantes.



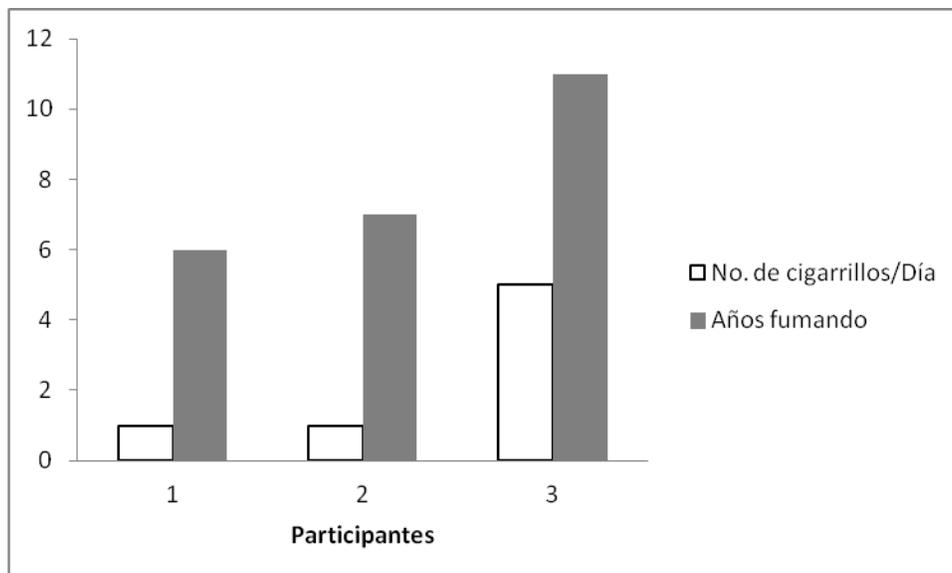
De los 3 participantes en el estudio que contestaron de forma afirmativa sobre el consumo de tabaco 2 de ellos consumían 1 cigarrillo por día mientras que el tercero consumía hasta 5 cigarrillos por día.

Respecto al tiempo que llevan fumando se encontró que los dos participantes que fumaban un cigarrillo al día tenían menos de 10 años de haber iniciado con su hábito mientras que el tercer participante tenía ya 11 años fumando.

Tabla 9. Número de cigarrillos/Día y años fumando.

Participante	No. de Cigarrillos /Día	Años Fumando
1	1	6
2	1	7
3	5	11

Figura 16. Número de cigarrillos/Día y años fumando.

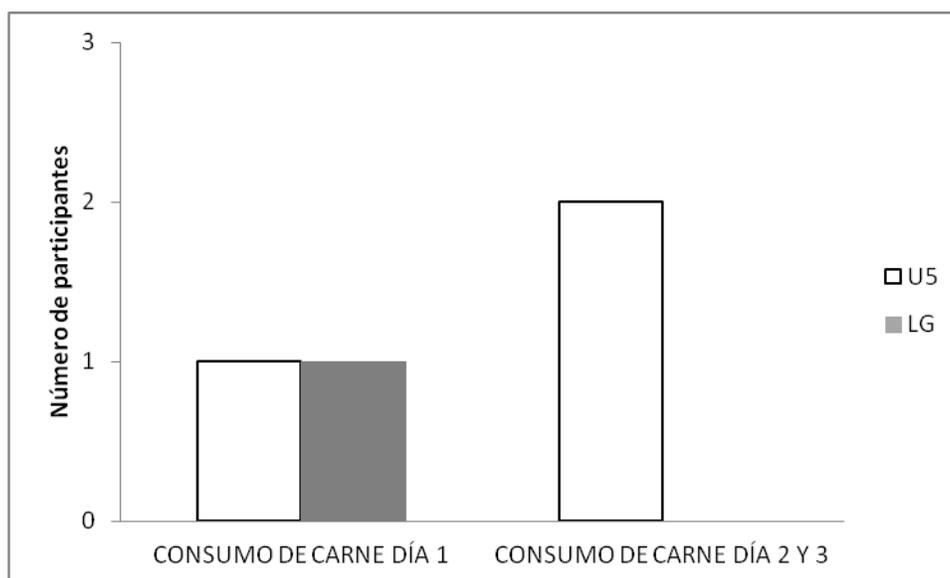


El consumo de carne puede ser un factor de confusión en el monitoreo biológico a exposición química del Tolueno por lo que fue interrogado y analizado encontrando que tanto el día 1 como los días 2 y 3 solo 2 participantes comentaron haber comido carne.

Tabla 10. Consumo de carne por día

Planta	No. de participantes que comieron carne el día 1	No. de participantes que comieron carne los días 2 y 3
U5	1	2
LG	1	0

Figura 17. Consumo de carne por día



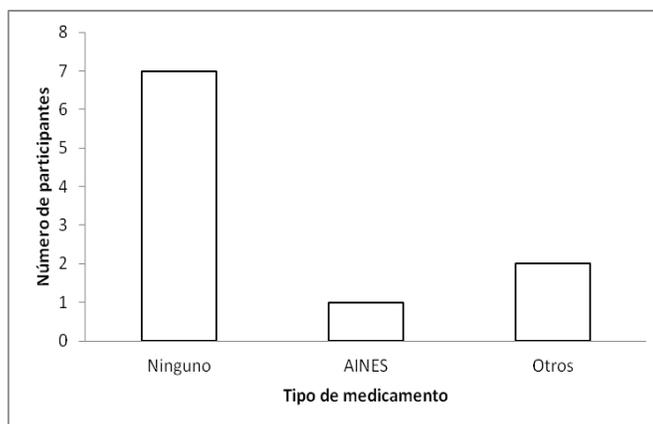
Otro factor que puede ser un factor de confusión en el monitoreo biológico a exposición química del Tolueno es el consumo de algunos medicamentos, por lo que también fue un dato que se investigó de forma intencionada mediante el formato MB-6 “Cuestionario para Identificar Factores de Confusión del Monitoreo Biológico de la Exposición Química Laboral”.

Se reportan resultados positivos en el día 1, no así en los días 2 y 3 ya que se instruyó a los participantes que evitaran el uso de cualquier tipo de medicamento esos días para evitar alteraciones en el análisis de los reactantes de inflamación.

Tabla 11. Consumo de medicamentos día 1

Tipo de Medicamento	No. de Participantes	Porcentaje (%)
Ninguno	7	70
AINES	1	10
Otros	2	20

Figura 18. Consumo de medicamentos día 1



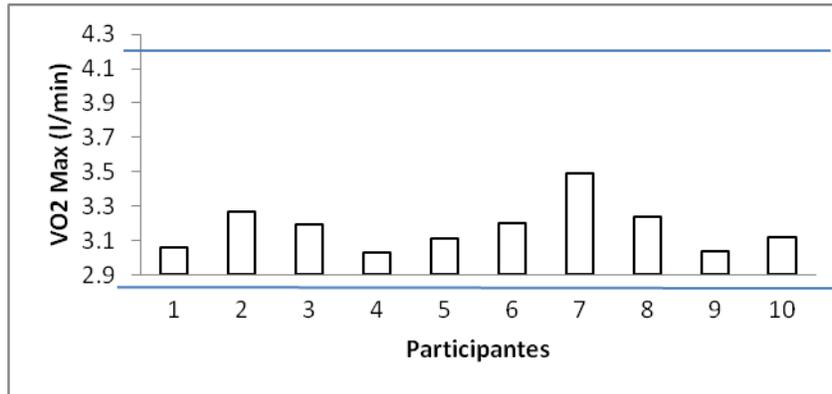
12.4 Condiciones protocolo de ejercicio e inflamación.

Todos los participantes realizaron un protocolo de ejercicio el día 2 para lo cual fue necesario conocer el consumo máximo de Oxígeno (VO₂ max), mismo que fue determinado en una valoración previa mediante test de Cooper. Como se planteó en el artículo original “Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage presentado en Journal of Physiology” en 1997 todos los participantes presentaron un VO₂ max entre 3.01 – 4.16 l/min.

Tabla 12. Consumo Máximo de O₂ por participante

Participante	VO ₂ max
1	3.06
2	3.27
3	3.19
4	3.03
5	3.11
6	3.2
7	3.49
8	3.24
9	3.04
10	3.12

Figura 19. Consumo Máximo de O2 por participante



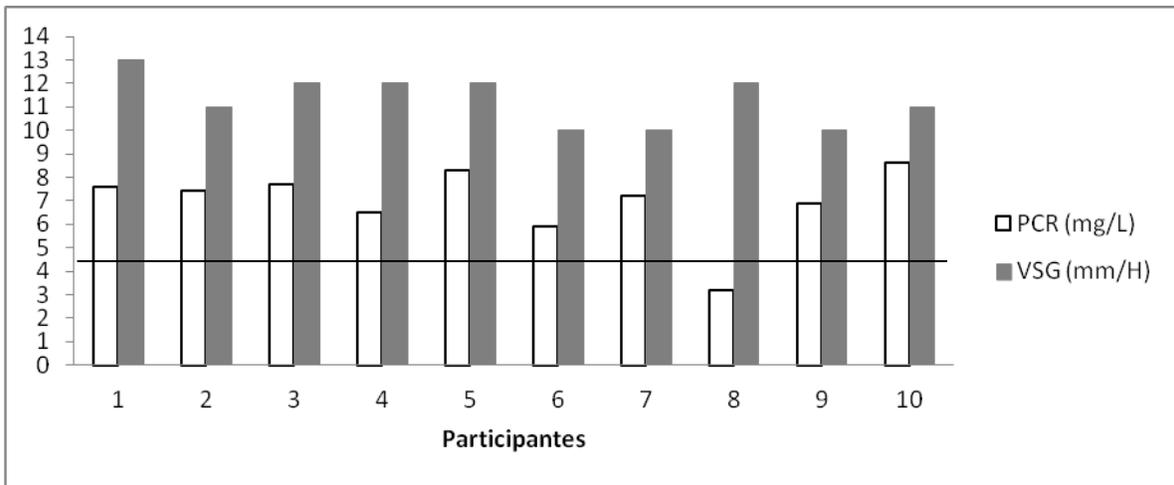
— VO2 max referido en Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage (3.01 – 4.16 l/min)

A cada participante se le extrajo una muestra de sangre venosa para determinación y cuantificación de reactantes de la fase aguda de inflamación (PCR y VSG) antes de su jornada laboral el día 3 y posterior a la realización del protocolo de ejercicio. En el caso de la PCR se observó un aumento discreto de los valores como se describe en varios estudios debido al ejercicio sobre los niveles basales (< 2.68 mg/L en personas menores a 39 años y < 4.80 mg/L en personas ente 40 – 49 años de edad); también se observó un incremento de los valores de VSG en todos los participantes hasta un límite normal superior (valor de referencia de 0 a 15 mm/H).

Tabla 13. Reactantes fase aguda inflamación/Participante

Participante	PCR (mg/L)	VSG (mm/H)
1	7.6	13
2	7.4	11
3	7.7	12
4	6.5	12
5	8.3	12
6	5.9	10
7	7.2	10
8	3.2	12
9	6.9	10
10	8.6	11

Figura 20. Reactantes fase aguda inflamación/Participante



— Nivel basal de PCR para personas menores de 49 años de edad.

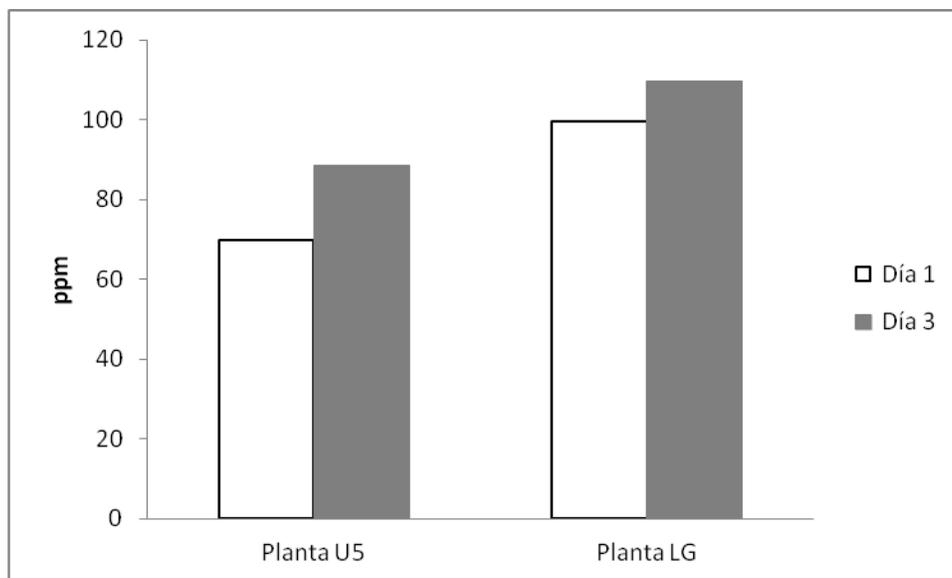
12.5 Monitoreo Ambiental.

Se realizó monitoreo ambiental en ambas plantas tanto el día 1 como el día 3. Los resultados muestran una mayor concentración ambiental de Tolueno en la Planta LG que coinciden con el hecho de que es la planta con mayor antigüedad de las dos. También podemos observar un aumento en la concentración de Tolueno en el ambiente el día 3 con respecto al día 1 en ambas plantas.

Tabla 14. Monitoreo ambiental Día 1 y 3 por planta.

Día	Planta U5	Planta LG
1	69.68	99.51
3	88.48	109.58

Figura 21. Monitoreo ambiental Día 1 y 3 por planta.



12.6 Monitoreo Biológico.

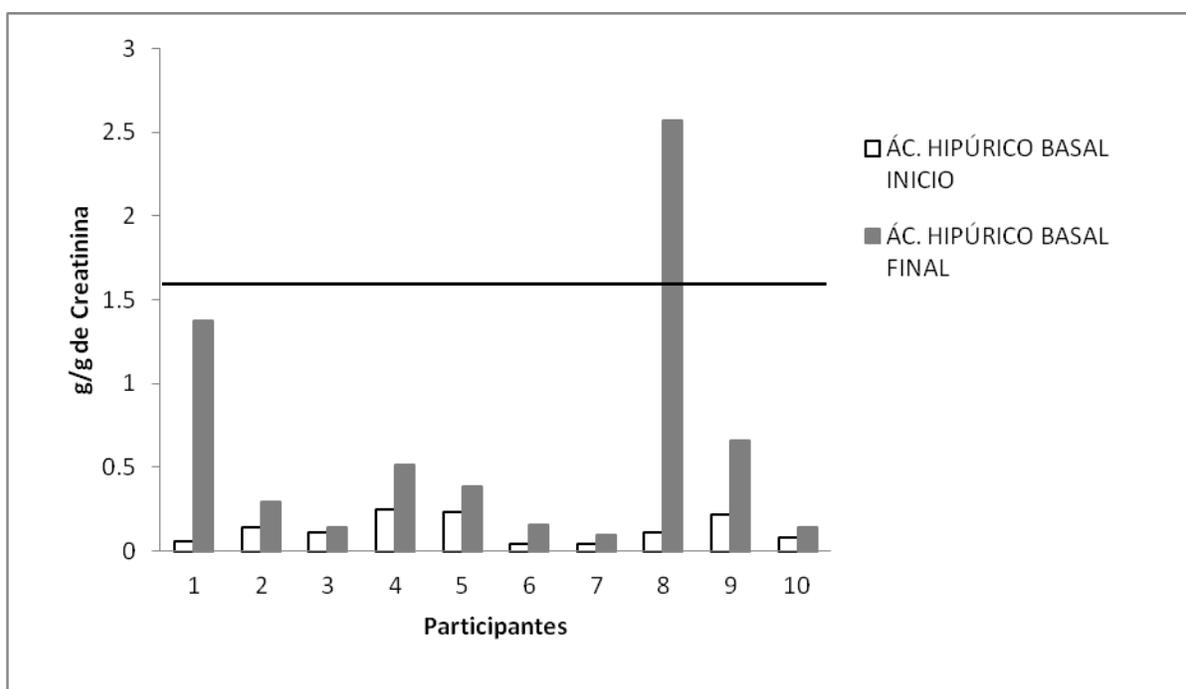
Se realizó la determinación de ácido Hipúrico como biomarcador de exposición al Tolueno en el día 1 y el día 3, en ambos caso se realizó el análisis de orina de cada participante al inicio y al final de su jornada laboral.

Se observó un incremento de la concentración de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral con respecto al de inicio de jornada laboral.

Tabla 15. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 1

Participante	Ác. Hipúrico Basal Inicio (g/g de Creatinina)	Ác. Hipúrico Basal Final (g/g de Creatinina)
1	0.060182963	1.375852
2	0.1446285	0.29109285
3	0.11027882	0.14226425
4	0.24812246	0.51823974
5	0.23494239	0.38706339
6	0.04415985	0.16070616
7	0.04457121	0.0946415
8	0.1080929	2.56797724
9	0.21987699	0.65925187
10	0.08082161	0.14303611

Figura 22. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 1



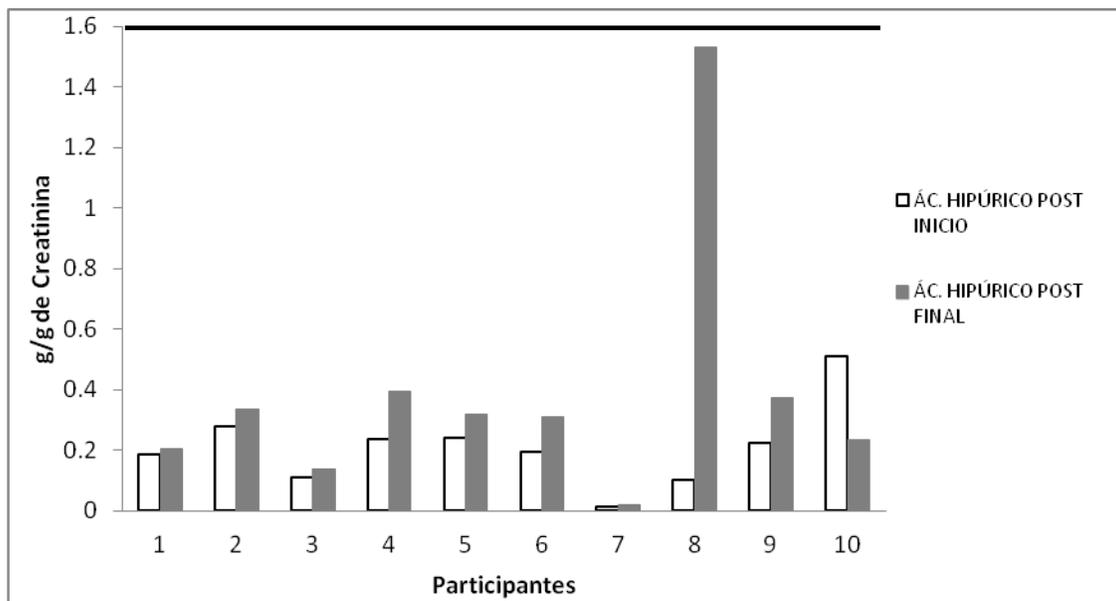
— Índice Biológico de Exposición a Tolueno para una jornada de 8 horas (1.6 g/g de creatinina).

Se determinó también el ácido Hipúrico un día después de que los participantes realizaron el protocolo de ejercicio (día 3).

Tabla 16. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 3

Participante	Ác. Hipúrico Post Inicio (g/g de creatinina)	Ác. Hipúrico Post Final (g/g de creatinina)
1	0.186771665	0.204920515
2	0.2796543	0.33412324
3	0.11078107	0.13686142
4	0.23598607	0.39431281
5	0.23973956	0.31634505
6	0.1949197	0.30923943
7	0.01081572	0.01967496
8	0.10105167	1.53074629
9	0.22226756	0.37395795
10	0.50825938	0.23219014

Figura 23. Ácido Hipúrico al inicio y al final de la jornada laboral en el día 3



— Índice Biológico de Exposición a Tolueno para una jornada de 8 horas.

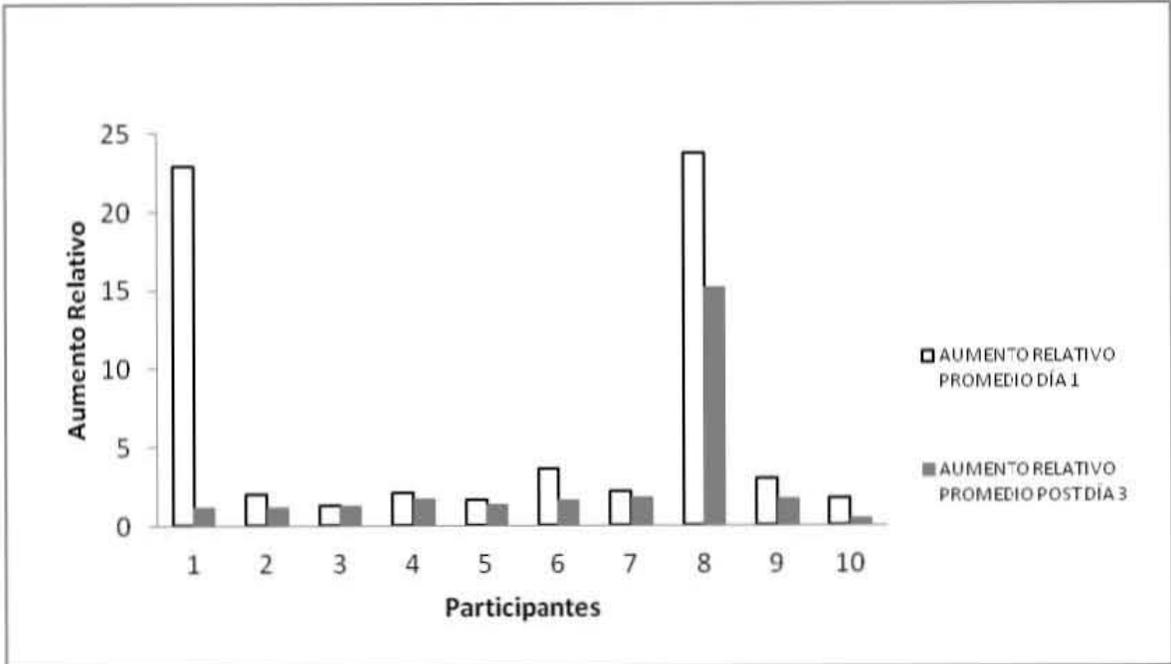
El Aumento Relativo es el cociente de la división del ácido Hipúrico obtenido al inicio de la jornada laboral entre la concentración del mismo al final de la jornada laboral; representa el número de veces más que aumentó el ácido Hipúrico con respecto a su basal observado el mismo día. Este cálculo se le realizó a los resultados del monitoreo biológico el día 1 y del día 3.

En el día 1 se observa que 7 de los participantes presentó un Aumento Relativo superior a 2 (2 veces con respecto a su basal) e incluso 2 de estos mismos participantes tienen aumentos muy significativos (22.8989 y 23.7527); mientras que en el día 3 el Aumento Relativo se mantuvo constante en 9 de los participantes con una media de 2.7257 y sólo un participante reportó niveles altos.

Tabla 17. Aumento Relativo Promedio Día 1 y 3

Participante	Aumento Relativo	
	Promedio Día 1	Promedio Día 3
1	22.8989	1.1225
2	2.0127	1.1959
3	1.29	1.235
4	2.0868	1.6742
5	1.6466	1.3201
6	3.6388	1.5955
7	2.1521	1.7814
8	23.7527	15.1878
9	3.001	1.6879
10	1.7693	0.4567
Media	6.4248	2.7257

Figura 24. Aumento Relativo Promedio Día 1 y 3



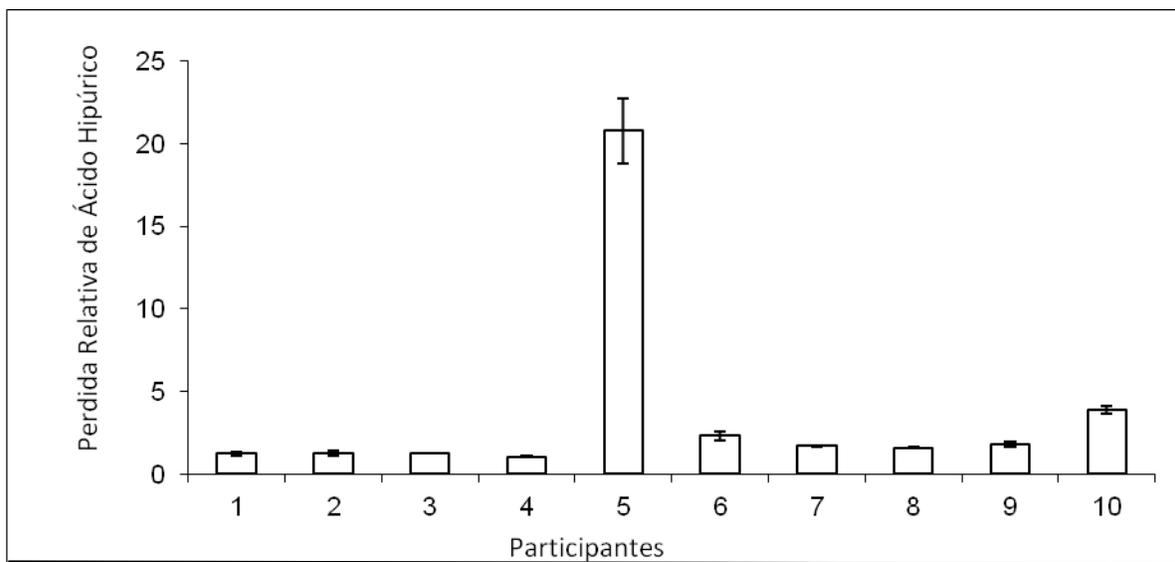
Posteriormente para saber si el ejercicio tuvo un efecto sobre la depuración de ácido Hipúrico se calculó la Pérdida Relativa que nos permite observar el efecto real ocasionado por la inducción de inflamación mediante ejercicio. Se determinó mediante la división del Aumento Relativo del día 1 entre el Aumento Relativo del día 3.

Se observa que 7 de los participantes muestran una Pérdida Relativa constante (entre 1 y 2 veces más) mientras que el resto de la muestra presentó resultados superiores a este rango.

Tabla 18. Pérdida Relativa de ácido Hipúrico por participante.

Participante	Pérdida Relativa
1	20.7716809
2	1.68418867
3	1.04493339
4	1.25003305
5	1.24788159
6	2.30006134
7	1.20953799
8	1.56546449
9	1.78266562
10	3.87161406

Figura 25. Pérdida relativa Promedio de ácido Hipúrico por participante.



12.7 Asociación de Variables

La asociación de estas variables con los niveles de ácido Hipúrico determinado en las orinas de final de jornada laboral del día 1 mostró resultados de P significativos contra antigüedad laboral, la categoría, la edad y el I.M.C, no así contra la planta y el hábito tabáquico.

Tabla 19. Correlación de variables contra ácido Hipúrico al Final de la Jornada Laboral del día 1

Variables	Ácido Hipúrico Final de Jornada Día 1
Planta	P = 0.212
Antigüedad	P < 0.001
Edad	P < 0.001
I.M.C.	P < 0.001
Tabaquismo	P = 0.246
Categoría	P = < 0.05

P calculada con Prueba T – Student

Al correlacionar el Monitoreo Ambiental del día 1 con el ácido Hipúrico obtenido de las orinas de final de cada participante al final de su jornada laboral el día 1 se encuentra un valor de P no significativo.

Tabla 20. Correlación entre Monitoreo Ambiental del día 1 con la cantidad de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 1

Ácido Hipúrico Final de Jornada Día 1	
Monitoreo Ambiental Día 1	P = 0.109

P calculada con Prueba T – Student

Al correlacionar el Monitoreo Ambiental del día 3 con el ácido Hipúrico obtenido de las orinas de final de cada participante al final de su jornada laboral el día 3 se encuentra un valor de P no significativo.

Tabla 21. Correlación entre Monitoreo Ambiental del día 3 con la cantidad de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 3

Ácido Hipúrico Final de Jornada Día 3	
Monitoreo Ambiental Día 3	P = 0.064

P calculada con Prueba T – Student

Para demostrar si nuestros marcadores de inflamación están asociados con la edad de los participantes y la antigüedad laboral de los mismos se realizó el análisis estadístico mediante T de Student, siendo esta significativa para ambos marcadores con la edad y no así con la antigüedad donde sólo se encontró una significancia con PCR ($P < 0.05$).

Tabla 22. Correlación entre reactantes de la Fase Aguda de Inflamación, edad y antigüedad de los participantes.

Reactantes Fase Aguda Inflamación	Edad	Antigüedad
PCR	$P < 0.001$	$P < 0.05$
VSG	$P < 0.001$	$P = 0.453$

P calculada con Prueba T – Student

También se buscó la asociación entre la edad de los participantes, su antigüedad laboral y la categoría que ostentan cada uno de ellos con los valores obtenidos en el cálculo de Pérdida Relativa de ácido Hipúrico y se encontró que la categoría no fue un factor significativo ($P = 0.328$) mientras que la edad y la antigüedad si lo fueron.

Tabla 23. Asociación entre edad, antigüedad y categoría con Pérdida Relativa de ácido Hipúrico

Variables	Pérdida Relativa de ácido Hipúrico
Edad	$P < 0.001$
Antigüedad	$P < 0.05$
Categoría	$P = 0.328$

P calculada con Prueba T – Student

La correlación entre la Pérdida Relativa de ácido Hipúrico mostró resultados de P significativos contra antigüedad laboral y VSG; no así contra la Categoría y PCR.

Tabla 24. Correlación de variables contra Pérdida Relativa de ácido Hipúrico

Variables	Pérdida Relativa de ácido Hipúrico
PCR	$P = 0.119$
VSG	$P < 0.05$

P calculada con Prueba T – Student

12 DISCUSIÓN.

Los niveles de Tolueno encontrados en el monitoreo ambiental el día 1 fueron de 69.68 ppm en la planta U5 y de 99.51 ppm en la planta LG, ambos valores sobrepasan lo contemplado en la NOM-010-STPS-1999 (10) en la cual se indica un LMPE para una jornada de 8 horas de 50 ppm; este mismo patrón de resultados se obtuve en el monitoreo ambiental del día 3 (88.48 ppm en la planta U5 y 109.58 en la planta LG), esto puede estar relacionado con los años de antigüedad que tienen dichas plantas ya que los niveles más altos de Tolueno ambiental fueron los registrados en la planta Desparafinadoras más antigua de la Refinería. Sin embargo se recomienda realizar el monitoreo personal involucrando a más trabajadores como lo marca la norma.

Como observamos en este estudio, a pesar de incluir trabajadores de dos plantas Desparafinadoras no se observó una diferencia en la cantidad de ácido Hipúrico determinado al final de la jornada laboral, lo cual indica que el nivel de exposición a Tolueno es similar en ambas plantas; de igual manera no se encontró relación entre los niveles de Tolueno ambientales con los niveles de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral, lo cual coincide con lo publicado por Mercado, 2004 (13) donde señala que se absorbe entre el 40 y 60% del Tolueno inhalado y que depende del volumen minuto respiratorio, por lo que la actividad física afecta a la tasa de absorción de este compuesto. Esto también puede deberse a lo referido en ATSDR Toluene, 2000 (15) donde se menciona que un porcentaje del Tolueno

absorbido se elimina en aire espirado como Tolueno libre y menos del 2% del total de metabolitos del Tolueno se excretan en la bilis.

Tomando en cuenta las características antropométricas de nuestra muestra encontramos una correlación significativa para la edad ($P < 0.001$) con los niveles de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 1; siendo los participantes con mayor edad aquellos que presentaron mayores niveles de ácido Hipúrico, lo cual puede explicarse ya que se sabe que el factor edad puede tener cierta influencia sobre la integridad genómica de los individuos, debido fundamentalmente a que con el transcurso del tiempo se suelen ir acumulando lesiones en el ADN como consecuencia de fallos en los sistemas de reparación, lo cual quiere decir que la síntesis de CYP es más lenta (30) además que en este estudio el grupo de personas representa el 70% de la muestra; este mismo patrón también lo podemos observar en la antigüedad que tienen los participantes ($P < 0.001$) contra los niveles de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 1 donde encontramos que los participantes que referían una antigüedad mayor a 10 años presentaron una mayor cantidad de ácido Hipúrico; en este caso ambos datos están relacionados ya que aquellos participantes con mayor edad son también los que tienen mayor antigüedad laboral.

Otro dato significativo es el I.M.C. asociado a los niveles de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 1 ($P < 0.001$) lo cual concuerda con lo referido por

Mercado, 2004 (12) ya que la cantidad de Tolueno retenida en el organismo está en función del porcentaje de grasa presente; de esta manera, observamos que los participantes con mayor porcentaje de I.M.C. son aquellos que presentan menor cantidad de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día.

Otro antecedente laboral que arrojó resultados significativos con respecto a los niveles de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral del día 1 fue la categoría que ostentaba cada participante ($P < 0.05$), siendo los Ayudantes Especialistas y los Operarios especialistas los que presentaron mayores niveles de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral; esto coincide con el hecho que son los individuos que, por las actividades que realizan en el proceso de las plantas Desparafinadoras, son las que tienen mayor exposición al Tolueno además de representar al 90% del total de nuestra muestra.

Debido a que sólo 3 de los participantes reportaron un consumo de tabaco positivo y su índice tabáquico fue relativamente bajo este hecho no mostro ninguna influencia con los niveles de ácido Hipúrico de final de jornada laboral; sin embargo, autores como Pérez B et al, 2007 (30) han demostrado una asociación directa entre los niveles de ácido Hipúrico y el consumo de tabaco encontrando un aumento de los niveles de excreción de ácido Hipúrico en un grupo de personas fumadoras con respecto a los no fumadores.

Al revisar los factores de confusión al análisis del ácido Hipúrico como lo son el consumo de alcohol, de carne y de medicamentos para los resultados obtenidos los días 1 y 3, no encontramos datos significativos ni correlaciones en aquellos casos en los que la cifra reportada de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral fue elevada; esto es contrario a lo mencionado por Aldazábal et al, 2005 (31) quien menciona que hay un aumento de los niveles de ácido Hipúrico en orina relacionados con la ingesta de alcohol, bebidas gaseosas, alimentos enlatados con conservantes a base de ácido benzoico o benzoato de Sodio, té negro, etc). Si bien es cierto que el Tolueno al metabolizarse a ácido hipúrico aumentan los niveles de éste último en orina, basándose en los factores de confusión ya referidos, algunos toxicólogos piensan que debería elevarse el umbral de medición del metabolito a 2.9 g/g creatinina como concentración máxima permisible en lugar de la actual de de 1.6 g/g de creatinina (31).

Para desarrollar el protocolo de ejercicio previamente fue necesario realizar una valoración física a los participantes, durante la cual se determino mediante el método de Cooper su Consumo máximo de Oxígeno (VO₂ max). Los resultados de esta valoración fueron superiores a 3.01 l/min en cada participante, con una media de 3.17 l/min y una D.E. de 0.13, coincidiendo esta y otras variables como el rango de edad, el sexo de los participantes, su I.M.C. con lo realizado por H. Bruunsgaard, et. al, 1997 (29) donde proponen un protocolo de ejercicio para personas sin entrenamiento físico y demuestran la presencia de inflamación. Dicho

protocolo de ejercicio fue el mismo que se aplicó a nuestra muestra, además de realizar la determinación de los niveles de PCR y VSG como reactantes de la fase aguda de inflamación. La media de estos valores fue de 6.93 y 11.3 respectivamente con lo cual se garantiza la presencia de un proceso inflamatoria inducido por el ejercicio realizado el día 2 de nuestro estudio ya que los niveles basales descritos en la literatura para PCR son de hasta 4.8 mg/l para personas del sexo masculino menores a 49 años y de menos de 15 mm/hora como valor basal de VSG (4).

A pesar que las Interleucinas son marcadores de inflamación más específicos decidimos realizar la determinación de VSG y PCR debido a que, a pesar de su baja especificidad diagnóstica, PCR es el marcador inflamatorio con más ventajas en la clínica, tales como su disponibilidad, reproducibilidad y fiabilidad. La cinética de sus niveles séricos se correlaciona bien con el estímulo inflamatorio, además que posterior a un estímulo inflamatorio agudo, la concentración de PCR aumenta rápidamente por encima de 0.5 mg/dl en las primeras 6 horas y alcanza un pico en 48 horas. En el caso de VSG es una medida indirecta de la concentración de proteínas de fase aguda; se eleva 48 horas luego de iniciarse el proceso inflamatorio y se normaliza 10 días después de haberse terminado (4).

Encontramos una correlación positiva entre los valores de PCR y la edad de los participantes, así como con los años de antigüedad ($P < 0.001$ y $P < 0.05$

respectivamente) de tal forma que aquellos sujetos con mayor edad y mayor tiempo de antigüedad laboral son los que presentaron mayores niveles de PCR y por ende mayor grado de inflamación. Este comportamiento no fue el mismo que se observó entre los valores de VSG y las mismas variables ya que sólo hubo una correlación significativa con respecto a la edad ($P < 0.001$).

Los valores encontrados de PCR no mostraron asociación en el nivel de Pérdida relativa de ácido Hipúrico, esto puede deberse al comportamiento de la vida media de esta proteína, ya que alcanza su pico máximo a las 48 horas después de iniciado el estímulo inflamatorio (4).

Después de realizar el protocolo de ejercicio se determinó a cada participante la concentración de ácido hipúrico en orina y se calculó la Pérdida Relativa de ácido Hipúrico, la cual nos permite observar el efecto real ocasionado por la inducción de inflamación mediante ejercicio. Encontramos una disminución de los niveles de ganancia de ácido hipúrico del día 3 con respecto a los reportados el día 1. Se demostró que esta variable tiene una correlación positiva con los niveles de VSG ($P < 0.05$) y con la categoría que ostentan los participantes ($P < 0.05$); es decir, que a mayor grado de inflamación demostrado por los niveles de VSG mayor es el grado de Pérdida Relativa de ácido Hipúrico, visto de otra manera esto significa que la presencia de un proceso inflamatorio inducido por ejercicio en nuestra muestra altera la biotransformación del Tolueno, lo cual se ve reflejado en una

cantidad menor de excreción en orina de su biomarcador de exposición (ácido Hipúrico). Podemos entonces pensar que se debe a que los mediadores de fase aguda de inflamación (IL 1, IL 6 y TNF- α) producen una disminución de los niveles del CYP 2E1 similar a lo observado en ratas (20). También puede deberse a que NF- κ B, activado por el estímulo inflamatorio, inhibe la expresión del Receptor Esteroide de Xenobióticos (SXR/PXR) y sus genes diana, y ya que este eje SXR / PXR-NF- κ B proporciona una explicación para la supresión de ARNm CYP hepáticas por estímulos inflamatorios, ocasionaría una alteración en el metabolismo del Tolueno (14).

14 CONCLUSIONES.

Los niveles de Tolueno encontrados en el Ambiente en las Plantas Desparafinadoras (LG y U5) de la Refinería Ing. Antonio M. Amor sobrepasan el Límite Máximo Permisible (50 ppm) contemplado en la NOM-010-STPS-1999, “Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se manejen, transporten, procesen o almacenen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente labora” para una jornada laboral de 8 horas.

Los niveles de ácido Hipúrico en orina reportados al inicio de la jornada laboral los días 1 y 3 no exceden el índice de exposición biológica que establece la NOM-047-SSA1-2011 “Salud ambiental-Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas” (32).

La determinación de ácido Hipúrico al final de la jornada laboral el día 1 mostró que uno de los participantes excedió el índice de exposición biológica que establece la NOM-047-SSA1-2011 (1.6g/g de creatinina) (32).

Los niveles de Tolueno medido en el Ambiente laboral de ambas Plantas Desparafinadoras no tiene una relación significativa con el índice de ácido Hipúrico determinado al final de la jornada laboral los días 1 y 3 ya que a pesar de ser elevados solo un participante excedió el Índice de Exposición Biológica.

La cuantificación de los Reactantes de Fase Aguda de Inflamación (PCR y VSG) demostró que el protocolo de ejercicio seleccionado fue eficaz y logro elevar los valores de estos con respecto a los basales reportados en la literatura, afirmando así, la presencia de un proceso inflamatorio.

La presencia de un proceso inflamatorio inducido por ejercicio influye directamente en el metabolismo del Tolueno disminuyendo los niveles de excreción de ácido Hipúrico en orina.

15. BIBLIOGRAFÍA.

1. Patología estructural y funcional. Robbins y cotran. Octava ed. 2010. Elsevier España. Capítulo 2 Inflamación aguda y crónica, pag 44.
2. Inmunología para el médico general Inflamación Gloria Bertha Vega Robledo. Rev Fac Med UNAM Vol. 51 No. 5 Septiembre-Octubre, 2000
3. “Fisiología del ejercicio” J. López Chicarro, A. Fernández Vaquero. Ed. Médica Panamericana. 3ª edición. Pag 300 – 308.
4. Evaluación de la Inflamación en el Laboratorio. Luis Alonso González Naranjo, José Fernando Molina Restrepo. Revista Colombiana de Reumatología. Vol. 17 No. 1, Marzo 2010, pp. 35-47.
5. “Los inmunomoduladores frente a la inflamación y daño muscular originados por el ejercicio.” Córdova A. Apunts Med Esport. 2010. 10.1016/j.apunts.2010.06.002
6. “Vigilancia médica para los trabajadores expuestos a benceno, tolueno y xileno” Paola Andrea Fonseca Patiño. José Alejandro Heredia Villarroya. Diana Marcela Navarrete Tarquino.
7. “Xenobiotic-Metabolizing Enzymes Involved in Activation and Detoxification of Carcinogenic Polycyclic Aromatic Hydrocarbons”. Tsutomu Shimada. Drug Metab. Pharmacokinet. 21 (4): 257-276 (2006).
8. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Gestión editorial Chantal Dufresne, BA. OIT 1998.

9. "Tolueno "Fichas Internacionales de Seguridad Química. Instituto nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Ministerio de Trabajo y Asuntos Sociales España. 2005.
10. Norma Oficial Mexicana NOM-010-STPS-1999, Condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se manejen, transporten, procesen o almacenen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el medio ambiente laboral.
11. Hoja Informativo sobre Sustancias Peligrosas. "Tolueno". New Jersey Department of health and senior services.
12. Manual de Toxicología Industrial, Dr. Víctor Manuel Vázquez Zárate, Dr. José Encarnación Tudón Martínez, Dr. Francisco Antonio Mercado Calderón; Primera Edición, 2011, Petróleos Mexicanos.
13. Nuevos datos sobre la Toxicocinética del tolueno para el monitoreo biológico de la exposición ocupacional. Mercado, C. F. Revista Latino Americana de la Salud en el Trabajo. Vol. 4 (2). México. 2004
14. Aromatic Hydrocarbons Chap 99 In Clinical Toxicology. 802-812. Horowitz, R. (Ford M; Delaney, K, Ling L; Erickson T Eds). W.B Saunders. Philadelphia. 2001
15. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Toluene. Atlanta (GA): U.S. Department for health and human services; 2000.

16. Occupational Toluene Exposure Induces Cytochrome P450 2E1 mRNA Expression in Peripheral Lymphocytes. Ania Mendoza-Cantú, Environmental Health Perspectives. Volumen 114. número 4. Abril 2006.
17. Susceptibility to the ototoxic properties of toluene is species specific. Rickie R Davis. Et al. Hearing Research. Volume 166, Issues 1–2, Pages 24–32 April 2002,
18. Description: Metabolism of benzyl alcohol. Author: selfmade by ~K, 11 September 2005. Source: - Copyright: Public domain.
19. Enfermedades Profesionales Ocasionadas por el Tolueno; Secretaria de Salud Laboral. UGT de Catalunya, 2009.
20. Regulación del citocromo P-450 hepático en situaciones fisiopatológicas: Inflamación y regeneración hepática. María José Gómez-Lechón. Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid, España, 2004.
21. Citocromo p450 Biomarcador de Exposición Terapéutico-toxicológico Carcinogénico. Coutiño Rodríguez Elda María del Rocío, Purata Antonio, Hernández Cruz Pedro. Reb 29(2): 39-52, 2010.
22. Mutual repression between steroid and xenobiotic receptor and NF-κB signaling pathways links xenobiotic metabolism and inflammation, Changcheng Zhou, Michelle M. Tabb, Edward L. Nelson, Felix Grün, Suman Verma, Asal Sadatrafiei, Min Lin,³ Shyamali Mallick, Barry M. Forman, Kenneth E. Thummel, and Bruce Blumberg; The Journal of Clinical Investigation , Volume 116 Number 8 August 2006.
23. http://www.biocarta.com/pathfiles/h_nfkbPathway.asp

24. Comité Mixto OIT/OMS sobre Higiene del Trabajo, tercer informe, ginebra 1957
25. Peña Carlos E., Carter Dean E., Ayala-Fierro Félix. Toxicología Ambiental Evaluación de Riesgos y Restauración Ambiental ©. The University of Arizona. 1996-2001
26. NORMA Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2010, Para el tratamiento integral del sobrepeso y la obesidad en criterios de exclusión
27. Obesidad en México: epidemiología y políticas de salud para su control y prevención Simón Barquera Cervera, Ismael Campos-Nonato, Rosalba Rojas y Juan Rivera Instituto Nacional de Salud Pública, Secretaría de Salud (SSA), México Gaceta Médica de México. 2010;146:397-407
28. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), Fourth Edition HIPPURIC and METHYL HIPPURIC ACIDS in urine 8301.
29. Exercise-induced increase in serum interleukin-6 in humans is related to muscle damage. H. Bruunsgaard, H. Galbo, J. Halkjaer-Kristensen. Journal of Physiology (1997), 499.3, pp. 833-841.
30. Biomonitorización de la exposición ocupacional a hidrocarburos. B. Pérez Cadahía, et al B. Mapfre N° 106 Segundo Trimestre 2007
31. Criterios para la Vigilancia Biológica en la Exposición Laboral al Tolueno. Carlos Aldazábal. Et al. Ciencia y Trabajo. Año 7 Número 17 Septiembre 2005.

32.NORMA Oficial Mexicana NOM-047-SSA1-2011, Salud ambiental-Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas.

16 ANEXOS.

 SUBDIRECCION DE SERVICIOS DE SALUD CENTRO DE SALUD EN EL TRABAJO LABORATORIO DE TOXICOLOGIA INDUSTRIAL	PROCEDIMIENTO PARA EFECTUAR EL MONITOREO BIOLOGICO DE LA EXPOSICION QUIMICA LABORAL (MBEQL)	Clave: Revisión: Fecha: 22 de Febrero del 2010 Hoja: 13 de 25
---	---	--



FORMATO MB-3

Hoja de Consentimiento Informado para el Monitoreo Biológico de la Exposición Química Laboral

El Laboratorio de Toxicología Industrial tiene, entre sus funciones, la de desarrollar análisis químicos para el Monitoreo Biológico de la Exposición Química Laboral, con objeto de proteger, conservar y vigilar la Salud en el Trabajo.

Yo,
Nombre: _____

Ficha: _____

Ext. Telefónica: _____

Centro de Trabajo: _____

Departamento: _____

Categoría: _____

Fecha: _____

Acepto participar voluntariamente en el Monitoreo Biológico de la Exposición a Agentes Químicos, para lo cual, estoy dispuesto a otorgar muestras de orina y/o sangre, cuando se me indique por los Servicios Multidisciplinarios de Salud en el Trabajo (SMST) de mi Centro de Trabajo.

Estoy informado de que las muestras de orina y/o sangre serán analizadas químicamente en el Laboratorio de Toxicología Industrial y que posteriormente, me será entregada la Hoja de Resultados por los Médicos de los SPMT para conocer si existe algún grado de exposición a los agentes químicos seleccionados y en su caso conocer las medidas adecuadas de control de la exposición.

Firma: _____ - 92 -

Instrucciones de Llenado: Este Formato deberá ser contestado con puño y letra del trabajador y firmado por cada trabajador que acepte participar en el MBEQL.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Nombre del paciente: _____ de _____ años de edad.

Con domicilio en: _____
_____ y N° de Ficha: _____

Nombre del representante legal, familiar o allegado: _____ de _____
años de edad.

Con domicilio en: _____
_____ y N° de Ficha: _____

En calidad de: _____

DECLARO

QUE EL(A) DOCTOR(A): José Miguel Istilart Ríos

Me ha explicado que es conveniente proceder en mi situación a:

Permitir la realización de toma de muestra de orina al inicio y al final de la jornada laboral para determinar la exposición a Hidrocarburos Aromaticos para la participación en el estudio denominado "La respuesta inflamatoria y sus posibles efectos sobre el metabolismo de los Hidrocarburos Aromáticos en trabajadores ocupacionalmente expuestos en una Refinería mexicana durante el mes de Mayo de 2013"

Todo acto médico diagnóstico o terapéutico, sea quirúrgico o no quirúrgico, lleva implícito una serie de complicaciones mayores o menores, a veces potencialmente serias, que incluyen cierto riesgo de mortalidad y que pueden requerir tratamientos complementarios, médicos o quirúrgicos, que aumenten su estancia hospitalaria. Dichas complicaciones unas veces son derivadas directamente de la propia técnica, pero otras dependerán del procedimiento, del estado previo del paciente y de los tratamientos que esté recibiendo o de las posibles anomalías anatómicas y/o de la utilización de los equipos médicos.

Entre las complicaciones que pueden surgir en la toma de muestra de sangre venosa periférica se encuentran:

Sangrado excesivo, hematoma e infección.

He comprendido las explicaciones que se me han facilitado en un lenguaje claro y sencillo, y el médico que me ha atendido me ha permitido realizar todas las observaciones y me ha aclarado todas las dudas que le he planteado.

También comprendo que, en cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puedo revocar el consentimiento que ahora presto.

1 de 2

Por ello, manifiesto que estoy satisfecho con la información recibida y que comprendo el alcance y los riesgos del tratamiento. Del mismo modo designo a _____ para que exclusivamente reciba información sobre mi estado de salud, diagnóstico, tratamiento y/o pronóstico

Y en tales condiciones

C O N S I E N T O

En que se me realice: _____

Me reservo expresamente el derecho a revocar mi consentimiento en cualquier momento antes de que el procedimiento objeto de este documento sea una realidad.

En México, D.F., a los _____ del mes de _____ de 20_____.

NOMBRE Y FIRMA DEL MEDICO TRATANTE

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE

NOMBRE Y FIRMA TESTIGO

NOMBRE Y FIRMA TESTIGO

Este apartado deberá llenarse en caso de que el paciente revoque el Consentimiento

Nombre del paciente: _____ de _____ años de edad.

Con domicilio en: _____ y N° de Ficha: _____

Nombre del representante legal, familiar o allegado: _____ de _____ años de edad.

Con domicilio en: _____ y N° de Ficha: _____

En calidad de: _____

Revoco el consentimiento prestado en fecha _____ y no deseo proseguir el tratamiento, que doy con esta fecha por finalizado, eximiendo de toda responsabilidad médico-legal al médico tratante y a la Institución.

En México, D.F., a los _____ del mes de _____ de 20_____.

NOMBRE Y FIRMA DEL MEDICO TRATANTE

NOMBRE Y FIRMA DEL PACIENTE

Centro de trabajo: REFINERIA SALAMANCA SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/>	Número de historia clínica :
--	------------------------------

I. Información general

1. Nombre del trabajador:			
2. Género:	<input type="checkbox"/> MASCULINO	<input type="checkbox"/> FEMENINO	
3. Edad:			
4. Lugar de nacimiento:			
5. Lugar de residencia (años):			
6. Habita en zona industrial:		<input type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO
7. Material de construcción de la vivienda: CONCRETO		OTRO:	
8. Escolaridad: PRIMARIA		PREPARATORIA	LICENCIATURA
9. Estado civil: CASADO		UNION	
10. Religión: CATOLICO	OTRO		
11. Pasatiempos : NO	SI		

II. Antecedentes laborales

12.1 Nombre de cada uno de los lugares donde ha trabajado:	
12.1.1	
12.1.2	
12.1.3	
12.1.4	
12.1.5	

12.2 Actividad que desarrollaba o productos que laboraba en cada uno de los lugares donde ha trabajado:				
Centro	Desde-hasta (Tiempo)	Puesto de trabajo	Descripción de la tarea	Materiales y/o Sustancias que manipulaba
12.2.1	AÑOS MESES			
12.2.2	AÑOS MESES			
12.2.3	AÑOS MESES			
12.2.4	AÑOS MESES			
12.2.5	AÑOS MESES			

12.3 Durante la realización de los mismos ¿sufrió alguna enfermedad profesional y/o algún accidente de trabajo? SI _____ NO _____
12.3.1 ¿Cuándo ? (mes, año)
12.3.2 ¿Cuáles fueron sus consecuencias? (I.T, I.P.P, I.P.T)
Trabajo actual
12.4.1. Número total de años que lleva trabajando:
12.4.2 Categoría actual:
12.4.3 Área laboral:
12.4.4 Puesto:
12.4.5 Labor que desempeña (qué hace y cómo lo hace):
12.4.6 Antigüedad en el puesto actual:
12.4.7 Horas diarias de trabajo:
12.4.5 Tiempo para el traslado de su centro de trabajo y viceversa:
12.4.6 Tipo de transporte que emplea:

Condiciones del trabajo actual

12.5 Condiciones riesgosas (describir el por qué lo considera)

12.5.1 Toxicidad:

12.5.2 Nocturnidad

12.5.3 Peligrosidad:

12.5.4 Alturas SI _____ NO _____

12.5.5 Otras (especificar)

12.5.6 Emplea equipo de protección personal (especificar)

12.5.7 Se le realizan exámenes médicos periódicos: SI ____ NO ____

12.5.8 Se baña y cambia de ropa en su centro de trabajo, de ser necesario SI ____ NO ____

12.5.9 Dispone y puede acceder a servicios sanitarios en buenas condiciones SI ____ NO ____

III. ANTECEDENTES HEREDITARIOS Y FAMILIARES

13. Mencione si alguien de su familia (padres y hermanos) ha padecido o padeció las siguientes enfermedades:

Patología	Sí	No	Parentesco
13.1 Hipertensión arterial			
13.2 Diabetes Mellitus			
13.3 Obesidad			
13.4 Dislipidemias			
13.5 Alteraciones psiquiátricas			
13.6 Enfermedades neurológicas			
13.7 Alteraciones cardíacas			
13.8 Cáncer			
13.9 Otras (especificar)			
13.10 Pulmonares (asma, fibrosis, enfisema, TB, cáncer, alergias, colagenopatías)			

IV. ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

14. ¿Padece usted alguna de las siguientes enfermedades?

- 14.1 Diabetes Mellitus _____ 11.1.1 ¿Desde cuándo? (años) _____
- 14.2 Hipertensión Arterial _____ 11.2.1 ¿Desde cuándo? (años) _____
- 14.3 Obesidad _____
- 14.4 Dislipidemias _____
- 14.5 Alteraciones psiquiátricas _____
- 14.6 Enfermedades neurológicas _____
- 14.7 Enfermedades cardíacas _____
- 14.8 Cáncer _____
- 14.9 Alergias (alimentarias, medicamentosas) _____
- 14.10 Pulmonar (asma, fibrosis, enfisema, TB, cáncer, alergias, colagenopatías) _____
- 14.11 Alteraciones visuales _____
- 14.12 Alteraciones auditivas _____
- 14.13 Otras _____
- 14.14 Fracturas, luxaciones _____
- 14.15 Cirugías previas _____
- 14.16 Fuma o fuma NO ___ SI ___ 14.16.1 Tiempo(años) ___ : 14.16.2 Cantidad al día: ___
- 14.17 Consume o consumió alcohol NO ___ SI ___ 14.17.1 Tiempo (años) _____
- 14.18.1 Frecuencia _____
- 14.19 ¿Consume medicamentos de forma cotidiana NO ___ SI ___ 14.20 ¿Cuáles? _____

V. PADECIMIENTO ACTUAL

ASINTOMÁTICO SI: ___ NO: ___

VI. SOMATOMETRIA

12. PESO ___ KG 13. TALLA ___ MTS 14. IMC ___ SOBREPESO ___ OBESIDAD ___ I ___ II ___ III

15. FRECUENCIA CARDIACA ___ 16. FRECUENCIA RESPIRATORIA ___



FORMATO MB-6
Cuestionario para Identificar Factores de Confusión

Nombre del encuestador		Fecha	
Nombre del Trabajador encuestado		Fecha	
Sexo Masculino () Femenino ()	Edad	Peso	Estatura
I. M. C.			
Jornada			
Organismo Subsidiario			
Centro de Trabajo			
Planta de Trabajo			
Departamento			
1.- ¿Fuma Usted?			
	A) Si	B) No (pasar a pregunta 7)	
2.- ¿Cuántos cigarrillos fuma usted al día?			
A) De 1 a 5 cigarrillos	B) De 6 a 10 cigarrillos	C) De 10 a 20 cigarrillos	D) Más de 20
3.- ¿Fumó usted el día de hoy antes de ingresar al trabajo?			
	A) Si	B) No	
4.- ¿Cuántos cigarrillos?			
A) De 1 a 5 cigarrillos	B) De 6 a 10 cigarrillos	C) De 10 a 20 cigarrillos	D) Más de 20
5.- ¿Fumó usted el día de ayer o el día de antes de ayer o hace 3 días?			
	A) Si	B) No	
6.- ¿Cuántos cigarrillos fumó el día de ayer?			
A) De 1 a 5 cigarrillos	B) De 6 a 10 cigarrillos	C) De 10 a 20 cigarrillos	D) Más de 20
7.- ¿Estuvo usted expuesto al humo del tabaco el día de ayer o el día de antes de ayer o hace 3 días (Tabaquismo Pasivo)?			
	A) Si	B) No	
8.- ¿Fuma alguien de su familia?			
A) Esposa	B) Hijos	C) U otro familiar que viva en su casa.	

9.- ¿Cuántos cigarrillos al día?			
A) De 4 a 5 cigarrillos	B) De 6 a 10 cigarrillos	C) De 10 a 20 cigarrillos	D) Más de 20
10.- ¿Estuvo usted el día de <u>ayer</u> , antes de ayer o hace 3 días en alguna reunión, fiesta familiar o lugar donde fumaban?			
A) Sí		B) No	
11.- ¿Era un lugar cerrado (sin ventanas, sin puertas)?			
A) Sí		B) No	
12.- ¿Está usted actualmente tomando algún medicamento?			
A) Sí		B) No	
13.- ¿Especifique?			
14.- ¿Cada cuánto está Ud. tomando dicho(s) medicamentos?			
15.- ¿Desde cuándo está Ud. tomando dicho(s) medicamentos?			
16.- ¿Comió Ud. el día de ayer o de hoy carnes rojas?			
17.- ¿En qué tipo de platillo las ingirió? ¿Bisteces, hamburguesas, filetes?			
18.- ¿Cuántos bisteces, hamburguesas o filetes comió Ud?			
19.- ¿Cuándo ingirió dichas carnes rojas?			
A) En la comida de ayer		B) En la cena de ayer.	C) En el desayuno o en la comida de hoy
20.- ¿Ingió Ud. el día de ayer o de hoy alguna bebida alcohólica?			
21.- ¿Qué tipo de bebida?			
A) Cerveza	B) Ron	C) Tequila	D) Otro(s)
22.- ¿Cuál fue la cantidad aproximada de cervezas y/o de copes que Ud. ingirió?			
23.- ¿Ingió Usted en las últimas 24 horas bebidas light que contienen fenilalanina?			
24.- ¿Recibió Usted alguna inyección de benzatcili en la últimas 24 horas?			
25.- ¿Ingió Usted en las últimas 24 horas Paracetamol (Tempra, <u>Colistapox</u> , etc.)?			
<p>_____</p> <p>Nombre y Firma del Encuestado</p>		<p>_____</p> <p>Nombre y Firma del Encuestador</p>	

Instrucciones de Llenado: Este Cuestionario de Interferencias Metabólicas debe ser llenado al inicio de la jornada de trabajo por el encuestador que designen los SMST. Tanto el trabajador encuestado como el encuestador deben escribir su nombre y firmar en el espacio designado.