

ANÁLISIS DEL DAÑO CROMOSÓMICO

EN LINFOCITOS *de trabajadores de la cerámica*

expuestos al plomo. La Victoria Cotopaxi-Ecuador, 1999

Cantos, Galo; López, Ramiro I.; Lobato, Leonardo;
Romero, Martha; Torres, Carlos*

1. INTRODUCCION

El hombre primitivo tenía una carga cien veces menor de lo que tiene el actual; en momias se estableció que era diez veces, en tanto que en el último imperio romano se encontró una alta cantidad de plomo muy similar a la que se encuentra actualmente en el hombre (Grand, 1975).

Es reconocido que una de las causas más importantes del desequilibrio ecológico inducido es la contaminación ambiental de origen humano, ya sea por metales pesados, plaguicidas, derivados de procesos petroquímicos, industria papelera, maderera, aditivos alimenticios, metalmecánica, aerosoles y otros que son eliminados en ambientes naturales y que causan un serio impacto en la salud y economía de la comunidad humana.

Uno de los elementos contaminantes más comunes es el plomo. Este metal ha sido utilizado desde el comienzo de la civilización, ya que una figura de plomo encontrada data de 3.800 años A.C. en Abydos. Fue probablemente usado en el antiguo Egipto entre 7.000 y 5.000 años A.C. (Niriagu, 1978). Igualmente, el plomo fue utilizado en el imperio romano y otras civilizaciones, en la fabricación de recipientes. Se especula que el declive de la civilización romana se debió a una intoxicación por plomo de sus miembros (Gillfillan, 1965).

El hombre primitivo tenía una carga cien veces menor de lo que tiene el actual; en momias se estableció que era diez veces, en tanto que en el último imperio romano se encontró una alta cantidad de plomo muy similar a la que se encuentra actualmente en el hombre (Grand, 1975).

El peligro que tenían las personas que trabajaban con plomo ya era conocido en el siglo XVII; 200 años después se ha

*Centro de Biomedicina. Facultad de Ciencias Médicas. Escuela de Biología. Facultad de Filosofía. Universidad Central del Ecuador.

Dirección: Universidad Central del Ecuador. Ciudad Universitaria. Teléfono 547212

Fax. (593-2)526530

E mail: cantos@interactive.net.ec

establecido que por contaminación ambiental toda la población tiene algo de plomo en sus tejidos. Se sabe que no existe un nivel seguro de exposición de plomo; existen evidencias recientes de que el plomo puede dañar la salud en forma de que antes era totalmente desconocida (OPS/OMS 1988).

En Ecuador, diversos sectores de la actividad artesanal e industrial utilizan el plomo como materia prima o producto intermedio en imprentas, editoriales, industrias caseras, artesanías de la cerámica, losa, porcelana, fabricación de herramientas como cuchillería, ferretería, fabricación de productos metálicos, maquinaria, aparatos y suministros eléctricos, construcción de material de transporte, fabricación de pinturas, producción de baterías, etc. (Charvet, 1988).

Según informes del laboratorio de higiene industrial del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS), en 1982 existían aproximadamente 833 industrias en el país, de las cuales 545 empresas utilizaban plomo y, de los trabajadores que se encontraban expuestos al mismo, el 53% estaban desprotegidos (Ortega, 1982).

En términos generales, se demuestra que la contaminación ambiental de los lugares de trabajo en las industrias que utilizan plomo, supera los límites considerados como permitidos.

Las denominadas industrias caseras artesanales son las más riesgosas en cuanto al contacto con el plomo, debido a las condiciones sanitarias deficientes y los procesos primitivos de tratamiento en fundición de plomo (Chavert, 1988).

En Ecuador se ha ubicado a la parroquia La Victoria, cantón Pujilí, provincia del Cotopaxi, localizada a 140 Km al sur de Quito como uno de los ecosistemas más afectados por la contaminación ambiental producida por la industria artesanal de la alfarería. Todo el ecosistema recibe el impacto de la quema de productos combustibles vegetales, de la combustión de llantas de caucho, combinados con gases de partículas de plomo, el mismo que se deposita en el suelo y en la superficie del agua por la acción de la gravedad y de la lluvia. Además se ha podido observar que los cultivos y los animales, se encuentran permanente y peligrosamente expuestos a la acción nociva del plomo.

Existen numerosos estudios citogenéticos efectuados en poblaciones contaminadas por Pb por causa laboral, en los cuales se demuestra la capacidad potencial de este agente para inducir aberraciones cromosómicas (Bauchinger et al 1977; Deknudt et al 1977b, Dalpra et al 1978; Sarto et al 1978; Hogstedt et al 1979; Forni et al 1980; Beckman et al 1982; Nordenson et al 1982; Garza - Chapa et al 1987). Sin embargo, los resultados

obtenidos distan de ser categóricos, ya que en algunas de estas publicaciones no se observa una correlación entre niveles de Pb y clastogénesis. Las causas del disenso pueden ser varias; en algunos casos puede deberse a diferencias metodológicas, en otros a factores nutricionales, y finalmente a niveles de Pb en sangre que no son excesivamente altos en los casos analizados (Bauchinger et al 1977; Bijlsma & De France 1978; Nordenson et al 1978).

El objetivo del presente trabajo, es analizar la frecuencia de aberraciones cromosómicas en la población de La Victoria con alta exposición al Pb de origen ocupacional. Se utilizó como testigo una población (11 de Noviembre), con la misma estructura étnica, similar ubicación geográfica y similares hábitos alimenticios y culturales que la población expuesta, siendo la ocupacional la única diferencia entre la población testigo y la expuesta.

2. MATERIAL Y METODOS

Caracterización de las poblaciones. La parroquia "La Victoria" está ubicada en una circunscripción geográfica del cantón Pujilí, provincia del Cotopaxi, República del Ecuador. Es parte de la región interandina, con un área de 20 Km², situada entre 78° 41' 41" longitud occidental y 0° 54' 53" latitud sur. Las temperaturas oscilan entre 12 y 18 grados centígrados, las precipitaciones entre 500 y 1.000 mm anuales. La altitud es de 2.648 metros sobre el nivel del mar. El suelo es erosionado y no apto para la agricultura.

La población de "La Victoria", según los datos del último censo de 1990, tiene 2.698 habitantes, los cuales se encuentran concentrados 454 en el área urbana y 2.244 en el área rural. Comparando con el censo de 1982 en el que el número de habitantes era 2.545, se puede deducir que el incremento de la población es muy bajo, debido posiblemente a dos factores: la migración y la mortalidad.

La principal actividad económica ha sido y es, desde hace varias generaciones, el trabajo artesanal de la alfarería.

De la población económicamente activa, aproximadamente 900 trabajan en alfarería y cerámica; de ellos 850 utilizan el esmalte de plomo para el decorado o "vidriado" de las piezas. Siendo como es una actividad familiar, intervienen adultos, jóvenes y niños de los dos sexos.

Desde hace más de setenta años se incorporó la utilización del acetato de plomo, obtenido de la fundición de placas de baterías y pilas viejas, en forma de esmalte para barnizar y brillar las piezas de cerámica y tejas de barro. Esta actividad la efectúan sin protección de vestimenta adecuada, sin mascarillas y con las manos desprovistas de guantes. De tal manera que los alfareros de La Victoria absorben el plomo por vía respiratoria, epidérmica y digestiva.

Estos peligros del uso del plomo se ven potenciados por el proceso rudimentario utilizado en la actividad alfarera, por las condiciones socioeconómicas y de salubridad, por lo que es necesario conocer estas características.

La parroquia 11 de Noviembre está ubicada en una circunscripción geográfica del cantón Latacunga, provincia de Cotopaxi, República del Ecuador. Es parte de la región interandina con un área de 16 Km², situada entre 78° 40' 31 longitud occidental y 0° 54' 25 latitud sur. Está a una altura de 2.850 metros sobre el nivel del mar y es colindante con la parroquia La Victoria. Las temperaturas oscilan entre 11 y 18 grados centígrados y las precipitaciones entre 500 y 1.000 mm anuales. La parroquia 11 de Noviembre tiene 1.753 habitantes y la principal actividad económica es la agricultura, de subsistencia.

Las dos poblaciones "La Victoria y 11 de Noviembre", viven en ecosistemas similares, deficientes condiciones de salubridad y acceso mínimo a los servicios de salud y educación. Reflejan una situación precaria en el proceso productivo, tienen bajos ingresos y son considerados de pobreza crítica, los indicadores de morbimortalidad general e infantil son significativamente mayores al promedio nacional. La principal diferencia entre estas dos poblaciones es la ocupacional.

Desde 1991, se mantuvieron contactos personales con los pobladores de La Victoria y 11 de Noviembre con el fin de preparar la infraestructura de la experimentación. A partir de 1996, los investigadores participantes en el proyecto viajaron semanalmente a las poblaciones de La Victoria y 11 de Noviembre, mantuvieron conversaciones con los pobladores para explicarles las preguntas del formulario y los objetivos del proyecto. Se tuvo especial cuidado en no inducir respuestas dirigidas a las preguntas de la encuesta. Se obtuvieron muestras de sangre de un total de 41 voluntarios de La Victoria y 42 voluntarios de 11 de Noviembre. En algunos casos fallaron los cultivos de sangre y en otros casos no se pudieron determinar los niveles de Pb en sangre, por lo cual los resultados finales están basados sobre el análisis de 33 muestras de personas expuestas y 32 muestras testigo.

Extracción y cultivos de sangre.- A cada voluntario se le extrajeron 12 ml. de sangre total con jeringa descartable heparinizada (Liquemine®.- ROCHE 5000 U/ml). La muestra se trasladó al laboratorio para su procesamiento dentro de las 12 h de haber sido extraída. La sangre se dividió en 5 alícuotas a ser empleadas para dosaje de Pb, cultivos de linfocitos y análisis hematológico.

Los cultivos se iniciaron con el agregado de 1 ml de sangre total a 9 ml de medio de cultivo compuesto por 78% de RPMI 1640 (GIBCO-BRL), 20% de suero bovino fetal, 2% de Fitohemaglutinina (GIBCO-BRL) y antibióticos (penicilina 50U, estreptomina 0.0125U, anfotericina 0.0025 GIBCO-BRL). Los cultivos se incubaron a 37°C. Dos horas antes del sacrificio se los trató con Colcemid (SIGMA). La cosecha de células se efectuó a las 48 h. (20 casos) y 72 h., (todos los casos). Parte de los cultivos recibieron 20 µg/ml de BrdU y se los

sacrificó a las 72 h., con el fin de analizar la duración de ciclo celular y frecuencia de ICH. Tanto en los expuestos como en los testigos los sacrificios de 48 h. y los tratamientos con BrdU no produjeron mitosis, por consiguiente el análisis de aberraciones cromosómicas se efectuó con los cultivos sacrificados a 72 h. sin el agregado de BrdU. En todos los casos se efectuaron cultivos sin y con el agregado de bleomicina (BLM) (BLENOXANE®-BRISTOL) a una dosis de 2 $\mu\text{g}/\text{ml}$ desde el comienzo del cultivo hasta el momento del sacrificio (72h.). Los extendidos cromosómicos se efectuaron mediante la técnica de secado al aire.

Análisis de anomalías cromosómicas.- Se estudiaron 200 metafases por individuo, determinándose la frecuencia de aberraciones de cromátida, brecha ("gap") de mono e isocromátida y fracturas de cromátidas, intercambios de cromátida y la frecuencia de aberraciones cromosómicas (fragmentos cromosómicos acéntricos, dicéntricos, anillos). Además se determinó la frecuencia de metafases con desespiralización de cromátida o cromosoma (elongación alocíclica de un segmento de cromátida o cromosoma, o de uno o más cromosomas con mantenimiento de la condensación en el resto del complemento) y se determinó la frecuencia de metafases con rupturas múltiples mixtas de cromátida y cromosómicas y de metafases con pulverización cromosómica. Asimismo, se determinó la frecuencia de asociaciones satelitales múltiples (asociación de 3 o más cromosomas por adhesión de satélites) y de células poliploides (International System for Human Cytogenetics Nomenclature ISCN 1985).

Pruebas estadísticas.- Se usó la prueba no paramétrica U de Mann Whitney, usándose como nivel de significado un alfa ≤ 0.05 . Para establecer la asociación de Pb y aberraciones cromosómicas se aplicaron las pruebas de correlación de Spearman y regresión lineal, así mismo para establecer la relación entre Pb y BLM como posibles factores aditivos o potenciadores de aberraciones cromosómicas se aplicó la prueba de análisis de la varianza factorial.

Dosaje de Pb.- La concentración de Pb en sangre se llevó a cabo mediante métodos de absorción atómica (Yeager et al 1971).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1988, estableció 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ como el nivel máximo aceptable de Pb en sangre. En Estados Unidos, el Centro de Testigos y Prevención de Enfermedades propuso en 1975 un nivel de tolerancia equivalente a 30 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de Pb en sangre y luego en 1985 y 1991 descendió estos niveles a 25 $\mu\text{g}/\text{dl}$ y 10 $\mu\text{g}/\text{dl}$ respectivamente. Los niveles más bajos para EEUU se deben a la prohibición del uso de gasolinas y pinturas con Pb. En Ecuador, el empleo de gasolinas y pinturas plomadas es aún ampliamente difundido. En consecuencia, el estudio de los niveles de Pb sanguíneo en Quito realizados por Bossano & Oviedo (1996), arrojaron cifras promedio de 14.4 a 28.2 $\mu\text{g}/\text{dl}$ de acuerdo al tipo de población estudiada. Debido a estos resultados, hemos resuelto aceptar la cifra de 40 $\mu\text{g}/\text{dl}$ propuesta por la OMS como el nivel de Pb aceptable que más se adapta a las condiciones del Ecuador.

3. RESULTADOS

Los dosajes de Pb en sangre muestran una diferencia altamente significativa entre los promedios de la población expuesta de La Victoria ($X = 71.8 \pm 25.4 \mu\text{g/dl}$), con relación a la población testigo de 11 de Noviembre ($X = 20.1 \pm 8.6 \mu\text{g/dl}$) (Cuadro 1). Los valores extremos de Pb sanguíneo en La Victoria fueron 40-139 $\mu\text{g/dl}$, y en 11 de Noviembre 6-39 $\mu\text{g/dl}$ (Figura 1).

El cuadro I muestra los resultados del análisis de anomalías cromosómicas. Ninguna de las aberraciones de cromátida mostraron diferencias significativas entre ambas poblaciones. De las aberraciones cromosómicas solamente mostraron diferencias significativas las brechas de isocromátida y los fragmentos acéntricos (Cuadro I). Asimismo, las desespiralizaciones cromosómicas y las asociaciones de satélites mostraron diferencias altamente significativas, en relación con los valores de la población testigo, mientras que las pulverizaciones cromosómicas estuvieron en el límite de significación (Cuadro I).

El análisis de la correlación entre las concentraciones de Pb y las aberraciones cromosómicas mostraron la ausencia de un fenómeno tipo dosis-respuesta. ($r = 0.02-0.24$)

El cuadro II muestra los resultados comparativos de las frecuencias de aberraciones cromosómicas inducidas por un tratamiento continuo con 2 $\mu\text{g/ml}$ de BLM durante los cultivos de linfocitos de donantes de La Victoria y 11 de Noviembre. Las pruebas estadísticas realizadas muestran que en ningún caso existió una potenciación entre la acción clastogénica del Pb y la BLM.

ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

4. DISCUSION

La IARC ("International Agency for Research in Cancer") ha clasificado a los compuestos inorgánicos de Pb como agentes carcinogénicos potenciales debido a que inducen tumores renales en ratas y ratones tratados con compuestos plúmbicos en diferentes condiciones experimentales (IARC 1980, 1987). En relación con la acción genotóxica del Pb los resultados no son totalmente consistentes. Así por ejemplo, el Pb da resultados negativos en el test de Ames con y sin activación metabólica, no induce síntesis de ADN a destiempo en células de roedores y tampoco produce transformación celular *in vitro* (Dunkel et al 1981, Sakai et al 1981, Haworth et al 1983). Opuestamente, se ha demostrado que el Pb induce aneuploidías en *Drosophila* y en *Mus musculus in vivo* (Ramel & Magnussen 1979, Nayak et al 1989), la aparición de micronúcleos *in vivo* (Jacquet et al 1977b) y anomalías espermáticas en ratones y humanos (Wyrobek & Bruce 1978). Sin embargo, estos estudios contrastan con otros en los cuales la inducción de micronúcleos y anomalías espermáticas por el Pb no pudo ser demostrada (Willems et al 1982).

Con respecto a las aberraciones cromosómicas inducidas por el Pb en cultivos de linfocitos humanos los resultados son también conflictivos. En tal sentido, es muy ilustrativo

el cuadro III, tomado y adaptado de la publicación de Winder & Bonin (1993). De acuerdo con estos datos, puede observarse que de un total de 24 estudios diferentes, 5 dieron resultados negativos y 19 observaron distintos tipos de aberraciones cromosómicas en cultivos de sangre de individuos expuestos al Pb. En 4 de las 19 publicaciones que informan clastogénesis se observó una correlación con la concentración de Pb en sangre, mientras que en las restantes 15 comunicaciones no aparece un efecto claro de tipo dosis-respuesta.

En general se acepta que la acción genotóxica del Pb no es directa sobre el ADN, sino indirecta mediante la alteración de los mecanismos de síntesis y reparación del ADN resultante de una modificación del funcionamiento de las polimerasas y ligasas (Hartwig 1995). Otro mecanismo posible de acción sería una alteración del uso mitótico por combinación del Pb con los grupos SH de los aminoácidos (Gerber et al 1980), y un eventual daño al ADN por la inducción de peróxido de hidrógeno durante el proceso fagocítico de los compuestos plúmbicos inorgánicos (Roy & Rossman 1992).

La población expuesta de La Victoria empleada en nuestra investigación tiene características peculiares. Las técnicas de alfarería artesanal empleadas por los pobladores se transmiten de generación a generación. Por tal motivo el tiempo de exposición al Pb se extiende desde el nacimiento hasta la muerte o hasta el momento que el poblador deja su hábitat. Durante la fabricación de las piezas de barro se contamina el aire con Pb mediante el humo resultante de la combustión de llantas de caucho en los hornos y los gases de la fundición del Pb proveniente de baterías de auto y pilas. Este Pb se deposita luego en el suelo y aguas contaminando las plantas y animales de consumo humano. Además, los artesanos utilizan sus propias manos para extender el barniz de plomo empleado para el abrillantamiento de las piezas de cerámica y tejas de barro. En consecuencia, la contaminación por Pb se produce por vía respiratoria digestiva y cutánea. El gráfico de barras (Figura 1) muestra los niveles de Pb en sangre de la población expuesta y de la población testigo. El promedio de Pb sanguíneo para ambas poblaciones es $71.8 \pm 25.4 \mu\text{g/dl}$ y $20.15 \pm 8.6 \mu\text{g/dl}$ respectivamente (Cuadro I). Comparando con los datos de Pb sanguíneo en el cuadro III, puede concluirse que los niveles de contaminación en la población analizada de La Victoria están entre los más altos de los informados hasta el momento.

El análisis de las anomalías de cromátida y cromosómicas muestra que la población de La Victoria presenta incrementos significativos de los brechas de isocromátida y cromosómicos y de los fragmentos acéntricos con relación a la población testigo de 11 de Noviembre. Con respecto a los fragmentos acéntricos, es conveniente hacer algunas consideraciones adicionales. El tiempo de sacrificio de nuestros cultivos fue 72 h. Por consiguiente, si la contaminación por Pb indujera un alargamiento del ciclo celular linfocitario en los casos expuestos pero no en los casos testigo, podría ocurrir que un porcentaje importante de las metafases testigo fueran segundas mitosis y que la disminución de acéntricos en los testigos se debiera a la pérdida de los fragmentos durante la división celular y no debido a una real acción clastogénica del Pb en los contaminados. Tanto los casos testigo como los

expuestos mostraron ausencia de mitosis en los cultivos sacrificados a 48 h. (ver Material y Métodos). Por lo tanto, en las condiciones de trabajo empleadas creemos que a las 72 h. La mayor parte de las metafases corresponde a primera mitosis y que el aumento de acéntricos en los expuestos indica daño cromosómico y no artefactos metodológicos. Existe otro dato que da sustento adicional a esta hipótesis. Durante la división celular no solamente se pierden parte de los acéntricos sino también parte de los cromosomas dicéntricos y de los cromosomas en anillo debido a dificultades en la segregación. Por consiguiente, de existir un incremento de segunda mitosis en los testigos, también debería haber una disminución de dicéntricos y anillos generando una diferencia significativa entre testigos y expuestos. Esta diferencia no se observa, lo cual indica que nuestras observaciones con los acéntricos son reales y no artefactuales.

La desespiralización cromosómica, los daños cromosómicos múltiples y la pulverización cromosómica tienen diversos orígenes. Sin embargo, una de las causas más importantes son las alteraciones en la síntesis de ADN. Cuando el retraso de la síntesis es limitado a una región cromosómica o a un cromosoma, el área afectada entra tardíamente al período G2 y a la mitosis y se muestra en la metafase con menor condensación (desespiralización). Un bloqueo de duplicación más extenso produce en la célula afectada la combinación de rupturas múltiples y reordenamientos tanto de tipo cromátida como cromosómico. Finalmente, en casos máximos de inhibición de síntesis se origina el fenómeno de pulverización cromosómica. El análisis de nuestros casos mostró aumentos significativos de desespiralización cromosómica en la población expuesta. Por otra parte la pulverización cromosómica también estuvo aumentada en los contaminados con Pb, aunque en este caso las pruebas estadísticas dieron una "p" cercana a la significación. Estos resultados dan apoyo adicional a la hipótesis de que la inhibición de la replicación cromosómica es uno de los mecanismos genotóxicos por Pb.

En este estudio se demostró un incremento significativo en la asociación de las regiones cromosómicas satelitales en los casos con contaminación plúmbica. Este fenómeno no puede considerarse una aberración cromosómica. Sin embargo, es bien conocido que la persistencia de la adhesividad satelital durante la meiosis femenina es una de las causales de trisomía del cromosoma 21 y del grupo 13-15. Por lo tanto, en el futuro será necesario efectuar un análisis epidemiológico en la población de La Victoria para determinar un eventual incremento en la frecuencia de trisomías.

Roy & Rossman (1992) han informado que el Pb a dosis bajas potencia la mutagenicidad inducida por las radiaciones UV y por el compuesto alquilante MNNG. Además estos mismos autores, han propuesto que el H₂O₂ generado durante la fagocitosis leucocítica del Pb puede ser causal de clastogénesis. La BLM es un antibiótico con estructura química planar que se intercala en el ADN y que induce daño cromosómico mediante dos tipos de acciones: liberación de radicales libres y bloqueo de la síntesis de ADN durante el período S (López-Larrazza et al 1990). Estas dos acciones clastogénicas son equivalentes a las acciones

clastogénicas del H_2O_2 y del MNNG/UV. En consecuencia, en todos los casos estudiados se realizaron cultivos de sangre con el agregado de $2 \mu\text{g/ml}$ de BLM con la finalidad de determinar si el Pb potenciaba el efecto clastogénico de la BLM. Los resultados muestran que las diferencias entre testigos y expuestos no son significativas, por lo cual se puede descartar el efecto de potenciación por la combinación de ambos compuestos.

Este trabajo permite concluir que la contaminación por Pb induce aberraciones cromosómicas en los pobladores de La Victoria y que este fenómeno podría ir acompañado de un aumento en el riesgo de mutagénesis, carcinogénesis y frecuencia de trisomías. Una forma simplista para disminuir este riesgo sería impedir los trabajos artesanales de alfarería con Pb en esta población. Una medida de este tipo fue implementada en Julio de 1997 por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Sin embargo, luego fue dejada sin efecto pues se tomó conciencia de que la prohibición de las tareas artesanales producirá una disminución del riesgo a largo plazo pero generará, en forma inmediata, una crisis económica y una disminución del nivel de vida de los pobladores. El uso de barnices plomados podría ser sustituido por los esmaltes sin Pb, en especial la frita L-9 en todas las técnicas de vidriados y decorados. Este método está en uso actualmente en la alfarería mexicana (Salinas 1997). Sin embargo, esta medida encarece la producción de tejas, piezas de alfarería y en consecuencia no es bien aceptada por los artesanos. Mediante acciones educacionales se podrían mejorar substancialmente los métodos de trabajo sin aumentar los costos de producción, disminuyendo así los riesgos de exposición al plomo. Finalmente, existen datos que indican que uno de los posibles mecanismos de daño celular por Pb y otros metales pesados es la disrupción de las señales de transducción celular calcio - dependiente (Pounds 1984, Hartwig 1994). Así mismo, en trabajos experimentales con ratones se ha podido demostrar un aumento de las anomalías esqueléticas en los fetos de madres con dietas deficitarias en Ca^{+2} tratadas con acetato de Pb (Jacquet & Gerber 1979). Por otra parte, existen datos experimentales con células de mamíferos en cultivo que demuestran que la vitamina C previene la acción clastogénica de las sales de cromato de plomo (Wise et al 1993). Estos resultados abren la posibilidad de investigar el agregado del Ca^{+2} y la vitamina C a la dieta como posibles factores preventivos de las acciones patológicas del Pb en humanos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el auspicio de las Facultades de Ciencias Médicas y Filosofía, la Coordinación General de Investigación de la Universidad Central del Ecuador, Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) y la Fundación para la Ciencia y Tecnología del Ecuador (FUNDACYT). Subsidio P-BID- 192.

Agradecemos al Dr. N.O. Bianchi la lectura crítica del manuscrito y a los doctores Jorge Sánchez y Esther Llerena, médicos rurales de las parroquias La Victoria y 11 de Noviembre, así como también al estudiante Angelo Nicolalde por su colaboración.

ANÁLISIS DEL DAÑO CROMOSÓMICO EN LINFOCITOS DE TRABAJADORES DE LA CERÁMICA EXPUESTOS AL PLOMO. LA VICTORIA. COTOPAXI-ECUADOR, 1997.

RESUMEN

Se determinaron las concentraciones de Pb en sangre y las frecuencias de aberraciones cromosómicas en una población expuesta laboralmente al Pb y en una población testigo con estructura étnica y ubicación geográfica similar a la población expuesta.

Teniendo en cuenta que los niveles sanguíneos de Pb en Ecuador son más altos que en otros países debido al empleo de combustibles y pinturas plomadas, se consideraron como niveles altos de Pb en sangre las concentraciones superiores a 39 $\mu\text{g/dl}$. El promedio de Pb en sangre en la población testigo fue $20,5 \pm 8,6 \mu\text{g/dl}$, mientras que en la población expuesta se encontraron niveles promedio de Pb sanguíneo de $71,8 \pm 25,4 \mu\text{g/dl}$ ($p < 0,0001$). El análisis comparativo de las anomalías cromosómicas entre la población testigo y la expuesta mostró, en esta última, un incremento significativo de brechas de isocromátida, fragmentos acéntricos y cromosomas desespiralizados, y pulverizaciones cromosómicas. Estos resultados indican que la contaminación por Pb produce aberraciones cromosómicas, probablemente mediante un mecanismo indirecto por bloqueo en la síntesis de ADN. La población expuesta también exhibió un incremento muy significativo de asociaciones cromosómicas satelitales (3 o más cromosomas asociados por adhesividad de satélites). El significado de este hallazgo no es claro, pero sugiere que la población expuesta podría tener un aumento en el riesgo de nacimientos con trisomías. El agregado de bleomicina a los cultivos de sangre permitió determinar que el Pb no potencia la acción clastogénica de este compuesto ($p > 0,05$).

PALABRAS CLAVE

Cromosomas y Ph; clastogénesis y Pb; aberraciones cromosómicas.

ANALYSIS OF CHROMOSOME DAMAGE IN LYMPHOCYTES OF CERAMIC INDUSTRY WORKERS EXPOSED TO LEAD. LA VICTORIA. COTOPAXI-ECUADOR, 1997.

SUMMARY

Lead (Pb) concentrations and chromosomal aberrations in the blood of a population occupationally exposed to Pb were studied. These results were compared with a control population with similar ethnic structure and geographic location to that of the exposed population. Due to the use of leaded gasolines and paints, blood levels of Pb are higher in Ecuador than in other countries. Therefore, we considered as high Pb concentration in

blood all figures above 39 llg/dl. The average Pb concentration in blood for the control population was $20,5 \pm 8,6 \mu\text{g/dl}$, while the exposed population exhibited an average level of $71,8 \pm 25,4$ (significant difference, $p < 0,0001$). The comparative analysis of the chromosomal abnormality frequencies between control and exposed populations showed a significant increase in the frequency of isochromatid gaps, acentric fragments and depiralized chromosomes in the exposed population. Chromosomal pulverizations were increased close to the level of significance. These results indicate that Pb induces chromosome aberrations through an indirect mechanism resulting from DNA synthesis blockage. The exposed population also exhibited a significant increase in the association of chromosomal satellite regions (3 or more chromosomes associated by satellite adhesiveness). The meaning of this finding is not clear but it suggests that exposed population may have an increased risk of occurrence of trisomies. The treatment of blood cultures with bleomycin (BLM) allowed us to determine that Pb does not potentiate the clastogenic action of BLM. ($p > 0.05$).

KEY WORDS

Chromosomes and Pb; clastogenesis and Pb; chromosome aberrations.

BIBLIOGRAFIA

Bauchinger M, Dresp J, Schmid E, Englert N, Krause CHR. Chromosome analyses of children after ecological lead exposure. *Mutat. Res.* 56: 75-80 (1977).

Bauchinger M, Schmid E, Schmidt D. Chromosomenanalyse bei Verkehrspolizisten mit arhohter Bleilast. *Mutat. Res.* 16: 407412 (1972).

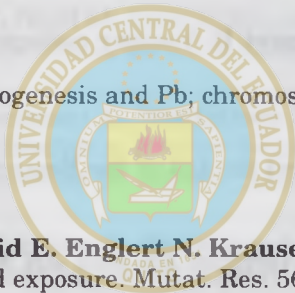
Beckman I, Nordenson I, Nordston J. Occupational and Environmmmental risk in and around a smelter in northern Sweden, VIII Three year follow up of chromosomal aberrations in workers espoused to lead. *Hereditas* 96: 261-264 (1982).

Bijlsma JB, De France GF. Citogenetic investigation in volunteers ingestion inorganic lead. *Int. Arch. Occup. Environm. Health* 38: 145-148 (1978).

Bossano F, Oviedo J. Contaminación por plomo. Comisión Asesora Ambiental de la Presidencia de la República.: 1-26(1996).

Charvet R . Plomo y contaminación. *Colibrí.* 64-71(1988).

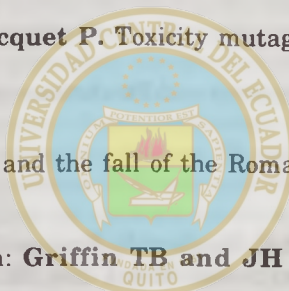
Dalpra L, Tibilletti G, Nocera L, Giuolotto V, Auriti V, Carnelli V, Simoni G. SCE analysis in children exposed to lead emission from a smelting plant. *Mutat. Res.* 120: 249-256 (1978).



ÁREA HISTÓRICA

DEL CENTRO DE FORMACIÓN INTEGRAL

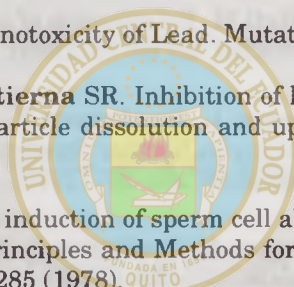
- Deknudt G, Manuel Y, Gerber, GB.** Chromosomal aberrations in workers professionally exposed to lead. *J. Toxicol. Environm. Health.* 3: 885-891(1977b).
- Dunkel VC, Pienta RJ, Sivak A, Traul, K.** Comparative transformation of Balb/3T3 cells, Syrian hamster embryo cells and Rauscher murine leukemia virus-infected Fischer 344 embryo cells to chemical carcinogens. *J. Natl. Cancer Inst.* 67: 13031315 (1981)
- Forni A, Sciame A, Bertazzi PA, Alessio L.** Chromosome and biochemical studies in women occupationally exposed to lead. *Arch. Environm. Health* 35: 139-146 (1980).
- Garza-Chapa R. Leal-Garza CH, Molina-Ballesteros G.** Chromosome analysis in subjects exposed professionally to lead contamination. *Arch. Invest. Med.* 8: 11-20 (1987).
- Gerber GB, Léonard A, Jacquet P.** Toxicity mutagenicity and teratogenicity of lead. *Mutat. Res.* 76: 115 141 (1980).
- Gilfillan SC.** Lead poisoning and the fall of the Roman empire. *J. Occup. Med.* 7: 53-60 (1965).
- Grand J.** Lead in Danes, in: **Griffin TB, and JH Knelson (Eds.),** Lead, Thieme, Stuttgart. 6-87 (1975).
- Hartwig A.** Current aspects in metal genotoxicity. *Biometals.* 8: 3-11 (1995).
- Hartwig A.** Role of DNA Repair Inhibition in Lead-and Cadmium induced Genotoxicity: A Review. *Environm Health Perspectives.* 102: 45-50 (1994).
- Haworth S. Lawlor T, Mortelmans K. Speck W. Zeiger E.** Salmonella mutagenicity test results for 250 chemicals. *Environm. Mol. Mutagen.* 5, Suppl. 1:3-142 (1983).
- Hogsted B. Kolning A-M, Mitelman F. Schutz A.** Correlation between blood lead and chromosomal aberrations. *Lancet* 2: 8136 (1979).
- I.A.R.C.** The evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans. Vol. 23 IARC Lyon: 1-210 (1980).
- I.A.R.C.** The evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans genetic and related effects: An updating of IARC monograph., Vols.1-42, International Agency for Research on Cancer, Lyon, France, Suppl. 6: 351354 (1987).



ÁREA HISTÓRICA
DEL CENTRO DE INFORMACIÓN INTEGRAL

- ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature Harden DG and Klinger HP (eds); published in collaboration with Cytogenet. Cell. Genet. (Karger Barel) VI: 66-69 (1985).
- Jacquet P. Gerber GB.** Teratogenic effects of lead in the mouse. *Biomed.* 30: 223-229 (1979).
- Jacquet P. Gerber GB , Maes J .** Biochemical studies in embryos after exposure of pregnant mice to dietary lead. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 18: 271(1977b).
- López-Larrazza D, De Luca JC, Bianchi NO.** The kinetics of DNA damage by bleomycin in mammalian cells. *Mutat. Res.* 232: 57-61(1990).
- Nayak BN, Ray M, Persaud TV, Nigli M.** Relationship of embryotoxicity and genotoxicity of lead nitrate in mice. *Exp. Pathol.* 36: 65-73 (1989).
- Nordenson I, Beckman G. B eckman L, Nordstrom S.** Occupational and Environmental risk in an around a Smelter in Norther Sweden, IV Chromosomal aberration in works exposed to lead. *Hereditas* 88: 263-267 (1978).
- Nordenson I, Nordstrom S. Sweins A, Beckman L.** Chromosomal aberration in lead-exposed workers. *Hereditas* 96: 265-268 (1982).
- Niriagu JO.** The biogeochemistry of lead in the Environment. Vol. 2, Elsevier Amsterdam. 1978.
- OPS/OMS.** Evaluación Epidemiológica de Riesgos Causados por Agentes Químico Ambientales. Ed. Limusa, México 1988: 485-529 .
- Ortega J.** Exposición potencial al plomo de una muestra de trabajadores. *Revist Seguridad Higiene y Medicina del Trabajo.* 3: 3 (1982).
- Pounds JG.** Effect of lead intoxication and calcium homeostasis and calcium-mediated ce functions: a review. *Neurotoxicology* 5: 295-322 (1984).
- Ramel C, Magnussen J.** Chemical induction of non-disjunction in *Drosophila*. *Environ Health. Perspect.* 31: 56-66 (1979).
- Roy NK, Rossman TG.** Mutagenesis and comutagenesis by lead compounds. *Mutat. Re* 98: 97-103 (1992).

- Sakai K, Muata N, Chiba K, Yamane Y.** Effect of copper administration on the incorporation of [3H] thymidine into the liver DNA of rats stimulated by dimethyl nitrosamine and diethylnitrosamine. *Carcinogenesis* 2: 1261-1266 (1981)
- Salinas, E.** México: País pionero en la eliminación del plomo en la alfarería. *Oficios Artesanos*. 7-10 (1997).
- Sarto F, Stella M, Acqua A.** Cytogenic studies in 20 workers occupationally exposed to lead, *Med. Lav.* 69: 172-180 (1978).
- Willems MI, Schepper GG, Wibowo AAE, Immel HR, Dietrich AJJ, Eielhmis RL.** Absence of an effect of lead acetate on sperm morphology, sister chromatid exchange or on micro-nuclei formation in rabbits. *Arch. Toxicol.* 50 149-157(1982).
- Winder C, Bonin T.** The Genotoxicity of Lead. *Mutat. Res.* 285: 117- 124 (1993).
- Wise JP, Orestein JM, Patierna SR.** Inhibition of lead chromate clastogenesis by ascorbate: relationship to particle dissolution and uptake. *Carcinogenesis* 14 (3): 429-434 (1993).
- Wyrobek AJ, Bruce R.** The induction of sperm cell abnormalities in mice and humans. In: *Chemical mutagens Principles and Methods for their Detection*. Vol. 5 A Hollaender Ed. Plenum. N.Y. 257-285 (1978).
- Yeager D, Cholok J, Henderson EW.** Determination of lead in biological and related material by atomic absorption spectrophotometer. *Environm. Sci. Technol.* 5: 1020 (1971).

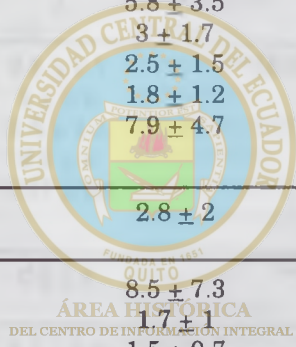


ÁREA HISTÓRICA

CUADRO I

ANALISIS DEL DAÑO CROMOSOMICO EN MEDIO DE CULTIVO
RPMI 1640

PLOMO*	CASOS		p
	EXPUESTOS (n=33)	TESTIGOS (n=32)	
	X ± DS 71.8 ± 25.4	X ± DS 20.15 ± 8.6	<0.0001
ABERRACIONES DE CROMATIDA**			
.get	7.2 ± 6.5	5.1 ± 3.8	0.1614
.rct	6.2 ± 5.4	4 ± 3.6	0.0649
.ict	1	1	0.0643
ABERRACIONES CROMOSOMICAS**			
.gcs	5.8 ± 3.5	3.9 ± 3.6	0.013
.rcs	3 ± 1.7	2.6 ± 1.8	0.5908
.dic	2.5 ± 1.5	1.5 ± 1.1	0.4285
.ani	1.8 ± 1.2	1.5 ± 1	0.4914
.ace	7.9 ± 4.7	5.6 ± 5.6	0.0393
ABERRACIONES DE NUMERO**			
.pp	2.8 ± 2	4.7 ± 3.3	0.1119
ANOMALIAS ADICIONALES**			
.desp	8.5 ± 7.3	3 ± 2	0.0036
.rmul	1.7 ± 1	2 ± 1.7	0.9187
.pvz	1.5 ± 0.7	3.5 ± 2.6	0.0543
.asosat	12.1 ± 7.4	3.9 ± 3.6	<0.0001



X = promedio por cada 100 metafases / DS= desvío estándar

* ug/dl

** **gct** (brecha de isocromátida) / **rct** (ruptura de cromátida) / **ict** (intercambio de cromátida) / **gcs** (brecha cromosómica) / **rcs** (ruptura cromosómica) / **dic** (dicéntrico) / **ani** (anillo) / **ace** (fragmento acéntrico) / **pp** (poliploidia) / **desp** (desespirilización cromosómica) / **rmul** (rupturas múltiples) / **pvz** (pulverización) / **asosat** (asociación satelital)

CUADRO II

ANÁLISIS DEL DAÑO CROMOSÓMICO EN MEDIO DE CULTIVO
RPMI 1640 CON BLEOMICINA (2ug/ml)

PLOMO*	CASOS		p
	EXPUESTOS (n=33)	TESTIGOS (n=32)	
	X ± DS	X ± DS	
	71.8 ± 25.4	20.15 ± 8.6	<0.0001
ABERRACIONES DE CROMÁTIDA**			
.get	8.1 ± 5.6	5.7 ± 3.7	0.0254
.ret	11 ± 12.9	6.8 ± 3.8	0.3892
.ict	1	2.1 ± 1.5	0.1325
ABERRACIONES CROMOSÓMICAS**			
.gcs	7.3 ± 4.9	7 ± 5.8	0.5938
.rcs	4.8 ± 4	5.3 ± 3.8	0.5366
.dic	4.1 ± 3.2	2.5 ± 2	0.0933
.ani	3 ± 2.9	2.1 ± 1.1	0.5399
.ace	19 ± 12.8	13.5 ± 11.6	0.0751
ABERRACIONES DE NUMERO**			
.pp	3.1 ± 2	4.2 ± 3.83	0.4354
ANOMALIAS ADICIONALES**			
.desp	6.2 ± 4.8	3.6 ± 4.2	0.5725
.rmul	1.1 ± 0.9	2 ± 1.4	0.7278
.pvz	2.8 ± 2.7	4.1 ± 2.9	0.2033
.asosat	14.8 ± 11.2	10.3 ± 14.5	0.0356

X = promedio por cada 100 metafases / DS= desvío estandar

* ug/dl

** **get** (brecha de isocromátida) / **ret** (ruptura de cromátida) / **ict** (intercambio de cromátida) / **gcs** (brecha cromosómica) / **rcs** (ruptura cromosómica) / **dic** (dicéntrico) / **ani** (anillo) / **ace** (fragmento acéntrico) / **pp** (poliploidia) / **desp** (desespiralización cromosómica) / **rmul** (rupturas múltiples) / **pvz** (pulverización) / **asosat** (asociación satelital)

CUADRO III

ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN CULTIVOS DE SANGRE DE INDIVIDUOS CONTAMINADOS CON PLOMO*

EXPOSICION	NUMERO DE SUJETOS	NIVEL EN SANGRE (ug/dl)	CLASTOGENESIS	REFERENCIA
Hombres intoxicados con Pb	7		Negativo	Biscaldi et al 1969
Fábrica de Oxido de Plomo	8	62-89	Incremento de daño cromatídico y cromosómico, correlacionado con exposición	Schwanitz et al 1970
Policías de Tránsito	29	20-30	Negativo	Bauchinger et al 1972
Fábricas de Químicos	10	60-100	Rupturas y gaps cromatídicos	Gath y Thiess 1972
Trabajadores del Plomo	65	64	Rupturas cromatídicas y cromátidas desespiralizadas, intercambios cromosómicos dependientes de exposición	Forni y Secchi 1972
Manufactureros del Plomo	32	<59	Negativo	Schmid et al 1972
Trabajadores del Zinc	14		Aberraciones cromosómicas (existe la posibilidad de exposición de Zinc y Cadmio)	Deknudt et al 1973
Soldadores de Barcos	35	40-120	Negativo (incremento en aberraciones cromatídicas en comparación con el grupo testigo)	O'Riordan & Evans, 1974
Trabajadores de desperdicio de metal	105	12-97	Anormalidades estructurales (gaps, rupturas, hiperploidias)	Schwanitz et al 1975
Hornos de baterías de Plomo	11	34-64	Incremento en exposición inicial de gaps y rupturas, en nuevos trabajadores	Forni et al 1976

Sigue...

...

Plantas esmaltadoras de Zinc	24	Promedio 19	Rupturas cromáticas e intercambios	Bauchinger et al 1976
Ingesta voluntaria	9	Aproximadamente 40	Negativo	Bijlsma & De France 1976
Fábricas de Oxido de Plomo	44	30-75	Aberraciones cromosómicas y cromáticas correlacionado con larga exposición.	Garza-Chpa et al 1977
Fabricantes de baterías	23	44-95	Dicéntricos, anillos, fragmentos.	Deknudt et al 1997
Casos pediátricos			Negativo	Bauchinger et al 1977 Hogstedt et al 1979
Fabricantes de baterías	20	53-100	Rupturas y fragmentos correlacionados con exposición	Sarto et al 1980
Trabajadores de esmalte	26	23-65	Gaps, aberraciones de cromátida y cromosoma con nivel de plomo en sangre	Nordensen et al, 1978
Fabricantes de baterías	12	24-49	Aberraciones cromáticas y cromosómicas	Forni et al 1980
Esmaltadores de Plomo	18	49	Aberraciones cromosómicas e Intercambio de cromátidas hermanas	Maeki-Paakkanen et al 1981
Trabajadores de esmalte			Aberraciones cromosómicas	Beckman, et al 1982
Trabajadores de esmalte	10	56	Negativo	Nordenson et al 1982
Fabricadores de baterías			Incremento de Intercambio de cromátidas hermanas	Grandjean et al 1983
Casos pediátricos	19	30-63	Aberraciones cromáticas y cromosómicas	Dalpra et al 1983
Fabricadores de baterías	19	64	Aberraciones cromosómicas	Al-Hakkuk et al 1986

*Modificado de Winder C. & Bonin T. (1993)

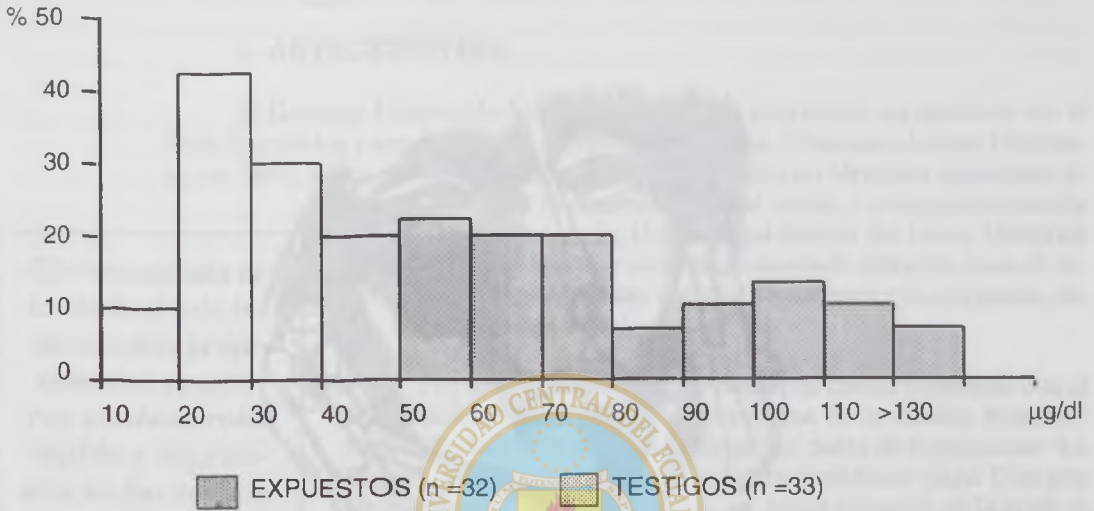


FIGURA 1.- Distribución de frecuencias de la concentración de plomo en la población de La Victoria y 11 de Noviembre.

