

**BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO
Y PERFIL HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL
EN TRABAJADORES DE ESTACIONES DE SERVICIO
EN LA ZONA NORTE DE VALENCIA-VENEZUELA,
2012-2013.**



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA



**BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y PERFIL
HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL EN TRABAJADORES DE
ESTACIONES DE SERVICIO EN LA ZONA NORTE DE
VALENCIA-VENEZUELA, 2012-2013.**

AUTOR: LCDA. LILIANA E. TORRES M.

TUTOR: MSc. YALITZA AULAR

ASESOR METODOLÓGICO: MSc. YOLIMA FERNÁNDEZ
MSc. AURA PALENCIA

VALENCIA, OCTUBRE 2014



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA



**BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y PERFIL
HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL EN TRABAJADORES DE
ESTACIONES DE SERVICIO EN LA ZONA NORTE DE
VALENCIA-VENEZUELA, 2012-2013.**

AUTOR: LCDA. LILIANA E. TORRES M.

Trabajo presentado ante el Área de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo para optar el Título de Magister en Toxicología Analítica.

VALENCIA, OCTUBRE 2014

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

**BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y PERFIL
HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL EN TRABAJADORES
DE ESTACIONES DE SERVICIO EN LA ZONA NORTE DE
VALENCIA-VENEZUELA, 2012-2013.**

Aprobada en el Área de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo por
Yolima Fernández, Profesora del Seminario de Investigación y Trabajo de Grado.

CI: 13.382.234

Aprobada en el Área de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo por
Aura Palencia, Profesora del Seminario de Investigación y Trabajo de Grado.

CI: 11.147.392

VALENCIA, OCTUBRE 2014

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

CONSTANCIA DE ACEPTACIÓN DEL TUTOR

**BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y PERFIL
HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL EN TRABAJADORES
DE ESTACIONES DE SERVICIO EN LA ZONA NORTE DE
VALENCIA-VENEZUELA, 2012-2013.**

TUTOR: MSc. YALITZA AULAR

Acepto la tutoría del presente Trabajo según las condiciones del Área de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo

CI: 4.310.690

VALENCIA, OCTUBRE 2014

iv

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

VEREDICTO

Nosotros, miembros del jurado designado para la revisión y aprobación del trabajo de grado titulado **BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y PERFIL HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL EN TRABAJADORES DE ESTACIONES DE SERVICIO EN LA ZONA NORTE DE VALENCIA-VENEZUELA, 2012-2013**, presentado por la: **LCDA. LILIANA E. TORRES M.**, para optar al Título de Magister en Toxicología Analítica. Estimamos reúne los requisitos para ser considerado como:_____

Nombres, Apellidos, Cédula de Identidad y firma del Jurado.

PROF. DORIS NOBREGA **C.I: 12.604.470** _____

PROF. ALVES SARMIENTO **C.I: 7.058.750** _____

PROF. HAROLD GUEVARA **C.I: 7.078.962** _____

DEDICATORIA

A Dios por su Divina misericordia y a la Virgen, por bendecirme cada día con mis padres, por darme vida, salud, fortaleza y paciencia para la culminación, de una de las tantas metas anheladas en mi vida.

A mis Bellos padres Oti y Alí, por darme la vida, por ser mis ángeles guardianes y por siempre ser mi apoyo incondicional, por ayudarme, aconsejarme y en todo momento, guiarme e impulsarme a llevar a cabo mis estudios, lleno de sus bendiciones y amor. Son mi ejemplo a seguir lleno de superación, sembrando en mí, valores, respeto, humildad, fortaleza, buenos sentimientos y fe en Dios. Espero se sientan orgullosos de la persona que soy y de lo que he logrado hasta ahora. **LOS AMO.**

A mis Abuelos, que se que desde el cielo cuidan de mí cada día, dándome su protección y amor.

A la Vida por todo lo vivido, a pesar de las dificultades siempre hay una nueva oportunidad para seguir adelante y ser cada día mejor.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios y a la Virgen, por vivir y permitirme llevar a cabo la culminación de esta anhelada meta. A nuestra Ilustre *Alma Mater*, la Universidad de Carabobo, porque me ha permitido realizarme o formarme, académicamente y profesionalmente en sus aulas de estudio. También quiero dar las gracias, a todas aquellas personas, profesores, profesoras, compañeros de aula, colegas, secretarias, que de una u otra forma compartimos día a día en las aulas de la Maestría de Toxicología Analítica.

Agradecida, con la Prof. Yalitz Aular, por ser mi Tutora en dos oportunidades, brindándome su enseñanza, consejos, dedicación y profesionalismo. Así mismo agradezco a la Prof. Yolima Fernández, por brindarme su tiempo, apoyo, dedicación, profesionalismo y amistad. Gracias queridas profesoras, por su aporte incondicional, este trabajo también es de ustedes.

Un especial agradecimiento, a los trabajadores de las estaciones de servicio de PDVSA Valencia, que confiaron en mí y permitieron que se llevara a cabo la realización de este trabajo. Al Laboratorio Clínico César Sánchez Font, mi gran escuela de formación profesional, por permitirme realizar los análisis de sangre y al Laboratorio de Servicio de Análisis Físico-Químico, Microbiológicos y Toxicológicos en el Estado Aragua-Maracay, Sedicomvet por abrirme sus puertas y ayudarme a realizar las determinaciones de Benceno Urinario.

El que tiene paciencia Obtiene lo que desea

Gracias...

ÍNDICE GENERAL

PORTADA.....	i
TÍTULO.....	ii
CONSTANCIA DE APROBACIÓN DE LOS ASESORES.....	iii
CONSTANCIA DE ACEPTACIÓN DEL TUTOR.....	iv
VEREDICTO.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
CAPÍTULO I: EL PROBLEMA.....	pág.
1.1.-Planteamiento del problema.....	1
1.2.-Objetivos de la investigación	
Objetivo General.....	6
Objetivos Específicos.....	6
1.3.-Justificación de la investigación.....	7
CAPÍTULO II: FUNDAMENTOS TEÓRICOS	
2.1.-Antecedentes de la investigación.....	9
2.2.-Bases teóricas.....	13
2.2.1 Benceno.....	13
2.2.2 Gasolina.....	17
2.2.3 Estrés oxidativo.....	18
2.2.4 Malondialdehído(MDA).....	19
2.2.5 Vitamina C.....	20

2.3.-Sistema de variables.....	24
2.4.-Sistema de hipótesis.....	24
CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO	
3.1.-Diseño de investigación.....	25
3.2.-Tipo de investigación.....	25
3.3.-Población y Muestra.....	26
3.4.-Técnicas de recolección de información.....	27
3.5.-Toma de muestra.....	28
3.6.-Análisis de las Muestras.....	29
3.6.1 Determinación de BU.....	29
3.6.2 Determinación de MDA.....	30
3.6.3 Determinación de Vitamina C.....	32
3.6.4 Determinación de Pruebas Hematológicas.....	33
3.6.5 Determinación de Pruebas Bioquímicas.....	34
3.7.-Análisis Estadístico.....	39
CAPITULO IV: RESULTADOS.....	40
CAPITULO V: DISCUSIÓN.....	55
CAPITULO VI: CONCLUSIONES.....	61
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62
ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	TÍTULO	pág.
1	Distribución de la muestra de expuestos y no expuestos según sexo	40
2	Distribución del grupo expuesto según el tiempo de exposición	41
3	Distribución del grupo expuesto según la ocupación	42
4	Distribución porcentual de la muestra en estudio según hábitos tabáquicos y alcohólicos	43
5	Uso de Equipo de Protección del Personal en el Grupo Expuesto	44
6	Valores de Benceno urinario en los grupos de estudio.	44
7	Valores de BU de acuerdo a la ocupación	45
8	Valores de BU (ng/mL) de acuerdo Tiempo de Exposición.	46
9	Valores de Malondialdehído en los grupos de estudio	47
10	Niveles séricos de MDA y Tiempo de exposición en los grupos de estudio	47
11	Niveles séricos de vitamina C en los grupos de estudio	48
12	Perfil Hematológico en los grupos de estudio	49
13	Perfil Hepático y Renal en los grupos de estudio	50
14	Relación de los parámetros hematológicos, hepáticos y renal con los niveles séricos de vitamina C, malondialdehido y BU.	52
15	Relación de los parámetros, hematológicos, hepáticos y renales con el tiempo de exposición al benceno.	53
16	Relación Tiempo de Exposición, niveles de MDA, Vitamina C y Benceno en los individuos expuestos	54

BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y PERFIL HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL EN TRABAJADORES DE ESTACIONES DE SERVICIO EN LA ZONA NORTE DE VALENCIA-VENEZUELA, 2012-2013.

Autor: Lcda. Liliana E. Torres M.

Tutor: MSc. Yalitz Aular.

Año: 2014.

RESUMEN

El benceno, es un hidrocarburo aromático con alto riesgo toxicológico, utilizado como solvente en industrias químicas y como aditivo de la gasolina, razón por la cual el monitoreo biológico de los trabajadores expuestos a bajas concentraciones, es de gran importancia para prevenir intoxicaciones y daños a la salud. El objetivo fue evaluar los niveles de benceno urinario (BU) y su relación con el estrés oxidativo, perfil hematológico, hepático y renal en trabajadores de estaciones de servicio de la zona norte de Valencia-Venezuela 2012-2013. Se realizó un estudio descriptivo correlacional, transversal, de campo y diseño no experimental. Participaron 100 individuos de ambos sexos divididos en: expuestos (60 trabajadores) y no expuestos (40 individuos). El BU se determinó por cromatografía de gases acoplada a masas, en muestras de orina obtenidas al final de la jornada laboral, además, fueron analizados en sangre malondialdehído (MDA), vitamina C, perfil hematológico, hepático y renal por métodos colorimétricos. Se encontró que los valores de BU de 17 trabajadores del grupo expuesto (GE) aumentaban según su ocupación. Además, se observaron diferencias significativas entre la mediana de los valores de BU del GE que tenían hábito tabáquico y quiénes no. Los valores de MDA fueron significativamente más altos en el GE ($p < 0,001$), sin correlación con los valores de vitamina C, BU y tiempo de exposición. Los niveles de vitamina C estuvieron estadísticamente inferiores ($p = 0,040$) con respecto a los no expuestos. Los parámetros hematológicos, hepáticos y renales mostraron una tendencia al aumento en el GE pero dentro de los valores de referencia. En conclusión, los valores de BU y MDA fueron más altos en los trabajadores expuestos según la ocupación y el tiempo de exposición y los parámetros hematológicos, hepáticos y renales, a pesar de mostrar una tendencia al aumento, se mantuvieron dentro de los valores de referencia.

Palabras clave: Benceno, malondialdehído, exposición ocupacional, Perfil hematológico, hepático y renal.

URINARY BENZENE, OXIDATIVE STRESS AND HEMATOLOGY PROFILE, LIVER AND KIDNEY IN SERVICE STATION WORKERS IN THE NORTHERN VENEZUELA-VALENCIA, 2012-2013.

Author: Lcda. Liliana E. Torres M.

Tutor: MSc. Yalitzza Aular.

Year: 2014.

ABSTRACT

Benzene is an aromatic hydrocarbon with high toxicological risk chemical used as a solvent and as an additive in gasoline industries, why the biological monitoring of workers exposed to low concentrations, is of great importance to prevent poisoning and damage to health. The objective was to assess the levels of urinary benzene (UB) and its relation to oxidative stress, hematological, liver and kidney profile in workers of gas stations in the north of Valencia-Venezuela 2012-2013. A descriptive correlational, cross-sectional, field and non-experimental design study was made. They involved 100 individuals of both sexes divided into: exposed (60 workers) and not exposed (40 individuals). The UB was determined by gas chromatography coupled to mass in urine samples obtained at the end of the working day also were analyzed in blood malondialdehyde (MDA), vitamin C, hematological, liver and kidney profile by colorimetric methods. It was found that the 17 UB value workers exposed group (EG) increased by occupation. In addition, significant differences between the median values of EG UB smoking and who had not observed. MDA levels were significantly higher in the EG ($p < 0.001$), with no correlation with the values of vitamin C, UB and exposure time. Vitamin C levels were statistically lower ($p = 0.040$) compared to those not exposed. The hematological, hepatic and renal function showed a tendency to increase in the EG but within the reference values. In conclusion, the values of UB and MDA were higher in exposed workers by occupation exposure time and hematologic, hepatic and renal function, despite showing an increasing trend, remained within the reference values.

Key words: Benzene, malondialdehyde , occupational exposure, hematological, liver and renal profile.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del Problema

El benceno, es un hidrocarburo aromático monocíclico, componente del petróleo, de alto riesgo toxicológico, originado tanto en procesos naturales como en actividades humanas, usado como solvente en las industria química, petroquímica, refinación de petróleo, y empresas siderúrgicas. Además, se encuentra en el petróleo bruto, y en la gasolina sin plomo para aumentar su octanaje (Singh, Ram, Mishra, Shivastava, Saxena & Chowdhuri, 2010).

La población general se expone al benceno por el humo del cigarrillo y por la inhalación de aire contaminado, esto puede ocurrir principalmente en áreas de tráfico pesado, estaciones de servicio o industrias (Fonseca, 2010).

La exposición laboral a vapores de benceno ha quedado actualmente restringida a los procesos químicos industriales en los que el benceno se utiliza como reactivo, también se ha vinculado a ciertas operaciones en refinерías y estaciones de servicio en las que los trabajadores no aplican medidas de protección a la exposición durante la carga del carburante (INSHT, 2009).

Las principales rutas de exposición ocupacional al benceno las constituyen la inhalación y el contacto dérmico; el grado de absorción está determinado por el coeficiente de partición (aire/sangre, sangre/tejido). Una vez absorbido, es distribuido en tejidos con alto contenido lipídico como cerebro, médula ósea y tejido graso, o bien, en los órganos altamente irrigados como hígado, pulmón, riñón y bazo (Rojas, 2011).

Así mismo, es biotransformado en el hígado principalmente por la isoforma 2E1 del citocromo P450 (CYP2E1). Esta enzima permite la hidroxilación del anillo aromático del fenol, el cual se vuelve a hidroxilar para producir catecol e hidroquinona. Ambos compuestos se oxidan a benzoquinona y se conjugan con sulfato o ácido glucurónico. Otra vía de metabolización consiste en la apertura del anillo por parte del muconaldehído para formar ácido trans, trans-mucónico, que también es usado como biomarcador de exposición (Rojas, 2011).

Los efectos tóxicos del benceno incluyen, alteraciones hematológicas (anemia, leucemia y trombocitopenia o una combinación de éstas), alteraciones hepáticas y renales. El mecanismo de la hepatotoxicidad se debe al papel que cumple el hígado en el metabolismo de los xenobióticos y su vulnerabilidad a los agentes químicos. Solventes aromáticos como el benceno, una vez dentro del organismo, se distribuyen fácilmente, ya que son compuestos liposolubles, que atraviesan las membranas celulares y son absorbidos por los túbulos renales por su condición liposolubles y no hidrosolubles (Fernández y Oroño, 2001).

Asimismo, el benceno puede causar la depresión del sistema nervioso central, alteraciones del ciclo celular, muerte celular programada y estrés oxidativo (Martínez y Cuevas, 2011).

El estrés oxidativo (EO), es causado por un desequilibrio entre la producción de especies oxidantes que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes generando una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos (Sánchez, Santiago, Vargas y Mendoza, 2004). Así la peroxidación lipídica es el daño oxidativo ocasionado particularmente por los radicales hidroxilo (OH^\cdot) sobre los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares. Inicialmente, un ácido graso se oxida por salida de un átomo de hidrógeno de un grupo metilo hacia el OH^\cdot que actúa como agente oxidante, produciendo

radical peróxido. Este a su vez repite el proceso en cadena hasta producir una afectación profunda de la estructura y función celular (Rodríguez, Fernández, Marrero, Aular, Moscoso y Peña, 2010).

Una de las maneras para medir el estrés oxidativo, es a través de los niveles de malondialdehído (MDA) en tejidos o fluidos humanos. La cuantificación sérica de MDA, resulta una medida bastante real del proceso de oxidación, especialmente peroxidación lipídica. Los radicales libres atacan a los ácidos grasos poliinsaturados de las membranas celulares y lipoproteínas transformándolos en ácidos grasos peroxidados, los cuales sufren un acortamiento de su cadena lateral liberando malondialdehído de tal manera que la concentración sérica de MDA, es proporcional a los ácidos grasos poliinsaturados oxidados y por lo tanto un buen indicador de peroxidación lipídica, EO y al mismo tiempo del daño celular como una medida acumulativa de este proceso (Sánchez y col., 2004).

En este sentido, Uzma, Kumar & Hazari (2010), señalan que la exposición ocupacional al benceno induce estrés oxidativo, por lo cual los trabajadores de estaciones de servicio pueden presentar niveles de especies reactivas del oxígeno (ROS) y MDA más elevados; así como también, glutatión (GSH) y superóxido dismutasa total (SOD-T) disminuidos, en comparación con individuos no expuestos.

En este orden de ideas, el organismo cuenta con un sistema antioxidante para protegerse de los riesgos que conlleva el estrés oxidativo y así contrarrestar los efectos deletéreos del mismo. Este sistema está constituido por antioxidantes endógenos: superóxido dismutasa, catalasa y glutatión peroxidasa, y exógenos provenientes de la dieta; betacarotenos, vitaminas A, E y C (Delgado, Betanzos y Sumaya, 2010). Entre los exógenos, la vitamina C (ácido ascórbico) es el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, que tiene capacidad de actuar como donante de electrones, disminuye la peroxidación lipídica, los niveles de O_2 , peróxido de

hidrógeno y mantiene estable los niveles de glutatión peroxidasa y vitamina E, (Chávez, Suárez , González, Núñez, Socarrás y Amel, 2001).

En Venezuela se han realizado pocos estudios que muestren alteraciones y patologías en trabajadores expuestos a solventes orgánicos mixtos (benceno, etilbenceno, tolueno y xileno) en la industria petroquímica y/o estaciones de servicio, donde además se hayan realizado determinaciones de benceno sin metabolizar en orina.

No obstante, Fernández y Oroño (2001), señalaron que la alteración de la función hepática en los trabajadores ocupacionalmente expuestos a solventes orgánicos mixtos en una industria petroquímica, puedan causar daño a concentraciones bajas y exposición prolongada. Así mismo algunos solventes, incluyendo el benceno, parecen ser débilmente hepatotóxicos, lo que se evidencia en los pocos reportes de toxicidad hepática de trabajadores expuestos. Además, algunos medicamentos, el consumo de tabaco y alcohol (el cual ha sido asociado al incremento de enzimas como la gamma-glutamilttransferasa GGT), también generan confusión acerca de la posible hepatotoxicidad.

En relación al monitoreo biológico de la exposición al benceno, se han utilizado como indicadores biológicos de exposición, metabolitos urinarios como el fenol, el ácido S-fenilmercaptúrico (SPMA) y el ácido t, t-mucónico (t,t-MA). Sin embargo en el caso del fenol, este ha perdido su significación al fijarse valores límites ambientales de benceno más bajos, así mismo, el SPMA y t,t-MA, a pesar de ser biomarcadores suficientemente sensibles y específicos para controlar exposiciones laborales a bajas concentraciones, pueden generar confusión en personas expuestas con hábito tabáquico.

Por otro lado, algunos autores han mostrado una estrecha relación entre la exposición a benceno y su excreción urinaria inalterada, por lo que es posible el

control biológico de personas expuestas a bajas concentraciones de este, por ser un indicador sensible y específico del benceno, que no proviene de fuentes distintas a su exposición (Periago y Prado, 2002); a pesar de no que han sido establecidos hasta la fecha valores de referencia (INSHT 2009).

Sobre la base de estos planteamientos, la presente investigación tiene como propósito evaluar los niveles de benceno urinario no metabolizado, malondialdehído, vitamina C y los perfiles hematológico, hepático y renal, en los trabajadores de estaciones de servicio y los posibles factores que pueden influir en dichos niveles según sus hábitos y estilo de vida.

1.2 Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Evaluar los niveles de benceno urinario, biomarcadores de estrés oxidativo, perfil hematológico, hepático y renal en trabajadores de estaciones de servicio en la zona norte de Valencia, 2012-2013.

Objetivos Específicos

- Caracterizar a la muestra en estudio según la edad, tiempo de exposición, ocupación, hábitos tabáquico, alcohólico, uso de medidas de protección personal, y antecedentes patológicos.
- Determinar los niveles urinarios de benceno en los trabajadores expuestos y no expuestos.
- Determinar los niveles séricos de malondialdehído y vitamina C en los grupos en estudio.
- Determinar perfil hematológico (Glóbulos blancos, Glóbulos rojos, Hemoglobina, Hematocrito, Plaquetas, Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media) en los trabajadores expuestos y no expuestos.
- Determinar perfil hepático (Transaminasa Glutámico Oxaloacético, Transaminasa Glutámico Pirúvico, Fosfatasa Alcalina, Gamma-glutamyl transferasa, Bilirrubina total, Bilirrubina directa, Bilirrubina indirecta) en los grupos expuesto y no expuesto.
- Determinar perfil renal (Urea y Creatinina) en los grupos expuesto y no expuesto.
- Comparar los niveles de benceno urinario, malondialdehído, vitamina C, perfil hematológico, hepático y renal de los grupos expuesto y no expuesto.
- Relacionar las variables: niveles de benceno urinario, malondialdehído, vitamina C, perfil hematológico, hepático, renal y tiempo de exposición.

1.3 Justificación de la Investigación

El benceno es una sustancia química extensamente usada. Se encuentra comúnmente en el ambiente, ya que los procesos industriales representan su principal fuente de exposición. Su inhalación y exposición prolongada, puede producir somnolencia, mareo, pérdida del conocimiento, efectos sobre la médula de los huesos, generando anemia y leucemia; así como alteraciones hepáticas y renales (ATSDR., 2007).

Por tal motivo, la salud de los trabajadores ha sido una preocupación creciente de muchos países y organizaciones internacionales, incluyendo la Organización Panamericana de la Salud - OPS (2000) y la Organización Mundial de la Salud - OMS (1997). Esta problemática, se centra en torno al benceno y sus derivados, los cuales se consideran peligrosos aún en bajas concentraciones. Estimaciones hechas en los Estados Unidos de América por el Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional – (NIOSH, 1984), sugieren que hay un gran número de exposiciones a derivados del benceno.

En este sentido, dicha situación plantea la prevención de enfermedades ocupacionales, lo que incluye realización de manera periódica de pruebas bioquímicas, aunque hay estudios que indican que los parámetros de laboratorio (hematológico y bioquímica sanguínea), no son modificados de manera significativa por la exposición crónica a solventes. De la misma manera, es esencial la utilización de métodos más específicos para la detección de las sustancias a las cuales está expuesto el trabajador. Tal es el caso del uso de biomarcadores que son una herramienta fundamental para la evaluación del riesgo asociado a la exposición a agentes tóxicos (Brizuela y Jiménez, 2010).

Además, para minimizar los daños causados por el estrés oxidativo, diversos estudios han sugerido que la vitamina C posee un efecto antioxidante, que es esencial para la biosíntesis de proteínas colágenas, carnitina, neurotransmisores y péptidos neuroendocrinos, y el control de la angiogénesis. Además de ser un poderoso antioxidante en sistemas biológicos, tanto *in vitro* como *in vivo*. Así mismo beneficios saludables le han sido atribuidos, tales como antiaterogénico, anticancerígeno, inmunorregulador, antiinflamatorio y neuroprotector. La vitamina C barre rápidamente especies reactivas del oxígeno del nitrógeno o de ambos y reduce los iones metálicos de transición en los sitios activos de enzimas biosintéticas específicas y puede por consiguiente, prevenir la oxidación biológica (García, García, Mejía, Clavijo, Hernández, Baéz y Cobos, 2006).

En Venezuela son pocos los estudios realizados en los cuales se ha determinado BU como biomarcador de exposición a benceno, razón por la cual, este trabajo aportará información relacionada con las condiciones de exposición de los trabajadores de estaciones de servicio, además permitirá detectar y evaluar la concentración de benceno en orina como marcador biológico de exposición laboral, así como los niveles séricos de malondialdehído, vitamina C, perfil hematológico, hepático y renal, y la relación de éstos con otros factores potencialmente influyentes como son la edad, área laboral, antecedentes ocupacionales, clínicos, toxicológicos, y estilos de vida (consumo de alcohol y hábito tabáquico) de los individuos incluidos en el estudio. Por otro lado, con la incorporación de antecedentes patológicos, ocupacionales y las pruebas de laboratorio en estudio se podrían generar estrategias oportunas que conlleven al mantenimiento de adecuadas condiciones de salud de los trabajadores y así contrarrestar los posibles efectos deletéreos causados por el solvente orgánico, así mismo contribuirá con nuevos datos enmarcados dentro de la línea toxicología ocupacional de la Maestría en Toxicología Analítica.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2. 1. -Antecedentes de la Investigación

Diferentes estudios han mostrado la relación existente entre la exposición ocupacional y no ocupacional del benceno y el estrés oxidativo, así como los efectos deletéreos en los sistemas hematológico, renal y hepático de los trabajadores. Uno de ellos fue el realizado por Periago y Prado (2002), quienes analizaron la evolución de la exposición laboral a través de marcadores de exposición en 31 trabajadores de estaciones de servicio, determinando la concentración de benceno en orina recogida al finalizar la jornada laboral, así como en ambiente laboral. Se encontró una relación significativa entre la concentración urinaria y ambiental de benceno, por lo cual, los autores concluyen que el benceno urinario, se puede utilizar como buen marcador de la exposición a benceno.

En Italia, Barbieri, Violante, Sabatini, Graziosi & Mattioli (2008) realizaron una investigación para evaluar la especificidad de benceno urinario sin metabolizar y ácido S-fenilmercaptúrico (SPMA) como biomarcadores de la exposición a niveles muy bajos de benceno, y su relación con los hábitos tabáquicos y alcohólicos, la exposición al monóxido de carbono (CO) y el índice de masa corporal en 114 policías urbanos. Los resultados muestran que los niveles urinarios del benceno en los no fumadores fue significativamente menor que en los grupos de fumadores moderados y los grandes fumadores. Por el contrario, los valores SPMA no discriminó la exposición resultante de los hábitos de fumar. Por otra parte, la concentración de benceno en orina, en los no fumadores parece estar correlacionada con la concentración de benceno del medio ambiente. En este sentido, los autores confirman que el benceno urinario es un marcador biológico específico y sensible a

bajos niveles de exposición al mismo, además afirman que el hábito de fumar influye significativamente en la excreción de benceno urinario.

[Lovreglio, Carrieri, Barbieri, Sabatini, Fracasso & Doria](#), (2011) en un estudio realizado, en la Universidad de Bari, Italia con el objetivo de analizar la influencia del humo del cigarrillo validando el benceno urinario como biomarcador de exposición a bajas y muy bajas concentraciones de este tóxico, se determinaron los niveles de ácido t, t-mucónico (t,t-MA), el ácido S-fenilmercaptúrico (SPMA) y benceno urinario en tres grupos de trabajadores (conductores de cisterna de combustible, trabajadores de las estaciones de servicio y grupo control); además se monitoreó el benceno en el ambiente a través de muestreadores personales pasivos.

Los resultados mostraron que la exposición ocupacional al benceno y las concentraciones urinarias de t,t-MA, SPMA y benceno fueron significativamente mayores en los conductores de cisterna de combustible que en los trabajadores de las estaciones de servicio y mayor en estos últimos que en los controles. Asimismo, se encontró que el tabaquismo estaba asociado con la excreción urinaria de t,t-MA, SPMA y benceno tanto en la exposición baja y muy baja al mismo. Los autores concluyen que para la exposición ocupacional a bajas concentraciones de benceno, el benceno urinario y SPMA tienen una validez comparable, mientras que para la exposición a concentraciones muy bajas de esta sustancia tóxica es mayor la validez de SPMA en comparación con la del benceno en orina. Por otro lado, señalan que el tabaquismo es un factor condicionante de la excreción de los biomarcadores de benceno, por lo cual para el análisis de la exposición laboral a éste, lo mejor es recomendar la abstención de fumar por lo menos en las primeras horas antes de la recolección de orina.

Recientemente, Fustinoni, Campo, Satta, Campagna, Ibbá & Tocco (2012) estudiaron la excreción urinaria de benceno y su relación con factores ambientales y estilo de vida, para ello se estudiaron 143 sujetos que incluían trabajadores de una

empresa petroquímica y la población a sus alrededores. Al respecto no se encontró diferencia significativa entre los valores de benceno urinario (BEN-U) de la población alrededor de la petroquímica y los trabajadores, sin embargo éstos últimos presentaron valores más elevados. Por otro lado la mediana de BEN-U fue de 2 a 14 veces mayor en fumadores en comparación con los no fumadores, por lo se puede concluir que el humo del tabaco tiene una influencia positiva en niveles de BEN-U.

Con respecto a la relación entre estrés oxidativo y exposición a benceno Uzma y col., (2010) realizaron una investigación donde determinaron los efectos adversos del benceno en trabajadores expuestos de India; para ello, seleccionaron 428 trabajadores expuestos al benceno en estaciones de servicio y 78 individuos no expuestos (control), determinaron la concentración de benceno, niveles de malondialdehído (MDA) y superóxido dismutasa (SOD) en dichos grupos; se observó aumento significativo en la concentración de MDA y benceno en la orina de los trabajadores en comparación con los controles. Además los niveles de SOD eran más bajos en los trabajadores en comparación con los controles. Esto podría indicar que la exposición ocupacional al benceno induce estrés oxidativo.

Por otro lado, con relación a los parámetros hematológicos, Bogadi-Sare, Zavalic & Turk, (2003), evaluaron a trabajadores expuestos a benceno en una industria petroquímica en Zagreb, Croacia. Se aplicó una encuesta médica de rutina a los trabajadores expuestos al tóxico y se incluyeron pruebas hematológicas e inmunológicas. Los resultados mostraron que la exposición a concentraciones de benceno inferiores a 5 ppm no produce anormalidad de los niveles hematológicos, sin embargo la exposición acumulada al benceno por encima de 100 ppm-años, causó disminución de los índices: volumen corpuscular medio (VCM), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), segmentados neutrófilos. Finalmente, sugieren que los índices de sangre periférica, aunque no son lo suficientemente

sensibles para bajas concentraciones ambientales de benceno, siguen siendo los parámetros más adecuados para los programas de vigilancia de la salud, que se aplican a los trabajadores expuestos al benceno.

En este mismo orden de ideas, [Wiwanitkit, Suphan & Suwansaksri, \(2007\)](#), realizaron un estudio, con el fin de relacionar los efectos hematotóxicos ocasionados por el benceno, en 30 muestras de orina y sangre de trabajadores expuestos a benceno, encontrando una correlación significativa entre los valores de t, t- MA urinario y las alteraciones hematológicas en los glóbulos rojos, hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media, (HCM), hematocrito. Finalmente concluyen que fue frecuente encontrar anemia entre la población en estudio, por lo cual se recomienda estudiar otros parámetros sanguíneos para apoyar el mismo.

En un estudio similar realizado por [Pesatori, Garte, Popov, Georgieva, Panev & Bonzini, \(2009\)](#), con el objetivo de evaluar los efectos tempranos provocados por el benceno al sistema hematológico, a niveles bajos de exposición, se estudió una población de 153 trabajadores expuestos y 50 no expuestos, observándose que a pesar de no haber encontrado un efecto dosis-respuesta en las mediciones hematológicas, el conteo de eosinófilos estaba inversamente relacionado con la exposición a benceno solo en los fumadores, y que los basófilos estaban aumentados en aquellos trabajadores que presentaban mayor tiempo de exposición a niveles bajos de benceno.

Por otra parte, [Pérez, Bosia, Cantore, Chiera, Cocozzella & Adrover, \(2006\)](#) realizaron un estudio con la finalidad de determinar la presencia de hipertransaminasemia, como indicador bioquímico de daño hepático y la correlación de la hepatotoxicidad con la exposición ocupacional a hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno y xileno), en 167 trabajadores de una empresa petroquímica (95

expuestos y 72 no expuestos). Se observó que 27 trabajadores del grupo expuesto y 1 del grupo no expuesto presentaron transaminasas elevadas e imágenes ecográficas de hígado graso, el resto de los parámetros bioquímicos no mostró diferencias significativas entre los grupos. Para explicar esto los autores señalan que los resultados pueden ser debidos al papel que desempeña el hígado en el metabolismo de los xenobioticos, susceptibilidad a los agentes químicos y a la liposolubilidad de éstos para atravesar las membranas celulares, lo que ocasionaría daño hepático, pues el hígado puede ser más vulnerable a los hidrocarburos volátiles que la médula ósea.

2.2.-Bases Teóricas

2.2.1-Benceno

El benceno (C_6H_6) es un hidrocarburo aromático cíclico muy tóxico, un líquido incoloro de olor dulce utilizado como disolvente. Se evapora al aire rápidamente y es poco soluble en agua. Es altamente inflamable y se forma tanto de procesos naturales como de actividades humanas. Algunas industrias usan al benceno como materia prima para fabricar plásticos, resinas, nylon y otras fibras sintéticas. Además, se usa para manufacturar ciertos tipos de caucho, lubricantes, tinturas, detergentes, medicamentos y plaguicidas. Así mismo, los volcanes y los incendios forestales son fuentes naturales de benceno (ATSDR., 2007).

Por otra parte, el benceno puede encontrarse en combustibles como la gasolina, diesel y el humo de cigarrillo, por lo tanto los trabajadores de diversas industrias y la población en general están expuestos cotidianamente a estos compuestos (Rojas, 2011). Clínicamente, la intoxicación aguda produce efectos sobre el sistema nervioso central, cuyos síntomas en la exposición moderada-aguda, consisten en cefalea, euforia, ataxia, vértigos, náuseas-vómitos y opresión torácica. Si la exposición es más intensa o prolongada, causa disminución del nivel de conciencia, con visión borrosa, debilidad, temblor, taquipnea y arritmia. Si la exposición es más

persistente, en una segunda fase aparece anemia aplásica, que posteriormente afecta a la serie blanca y a las plaquetas, constituyendo una pancitopenia (Prieto y Yuste, 2010).

2.2.1.1-Toxicocinética del benceno

Las principales rutas de exposición ocupacional al benceno los constituyen, la inhalación y el contacto dérmico. Así mismo al ingresar en el organismo se distribuye especialmente por médula ósea, hígado, riñón, cerebro y tejido adiposo. Se metaboliza principalmente en el hígado y secundariamente en la medula ósea, generando metabolitos potencialmente activos responsables de su toxicidad (p-benzoquinona e hidroquinona) (figura 1). El resto se une a los glóbulos rojos y a lipoproteínas circulantes donde se transforma en epoxibenceno, éste en fenol y de éste se originan los sulfoconjugados (Fonseca, 2010).

El primer paso de su biotransformación, es en el citocromo P-450 (CYP2E1) donde ocurre la oxidación para formar óxido de benceno que tiene un proceso no enzimático para convertirse en fenol. El fenol se oxida en presencia del CYP2E1 a catecol o hidroquinona, que se oxidan en metabolitos reactivos 1,2- y 1,4-benzoquinona, respectivamente, que tienen un efecto tóxico sobre la médula ósea, los derivados fenólicos pueden ser metabolizados por la médula ósea generando mieloperoxidasas, este paso produce alteraciones al ADN como alteraciones mitóticas o translocaciones cromosómicas, la exposición ocupacional de personas con fenotipo que corresponde a un metabolismo rápido del CYP2E1 son más susceptibles de desarrollar toxicidad que aquellos que expresan el metabolismo CYP2E1 lento. Finalmente el benceno es eliminado inalterado en la orina (menos del 1%) y en el aire expirado en un 80 % (según la actividad física y la importancia del tejido adiposo), el benceno que es absorbido se excreta como fenol, ácido s-fenilmercaptúrico y ácido trans-trans mucónico siendo eliminado por vía renal en la orina aproximadamente a las 48 horas (Fonseca, 2010).

La excreción urinaria del benceno sin metabolizar parece un índice muy adecuado para la evaluación de exposiciones ambientales a bajos niveles de concentración y el uso de la técnica de microextracción en fase sólida (SPME) en combinación con el análisis mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas ofrece importantes ventajas para su determinación (Periago y Prado, 2002).

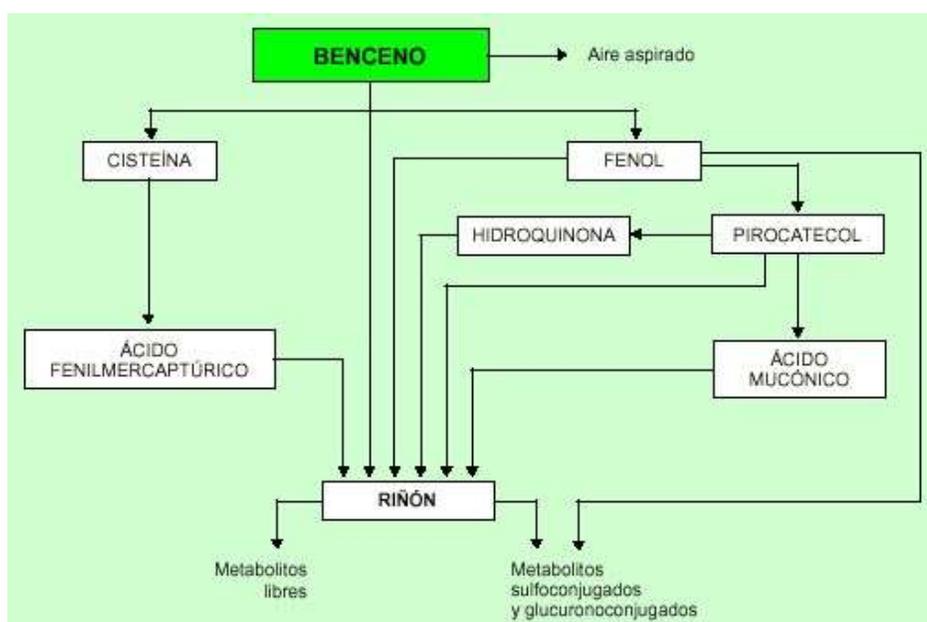


Figura 1. Metabolismo del Benceno. Fuente: INSHT, 2009.

2.2.1.2-Efectos sobre la Salud

2.2.1.3-Función Respiratoria

La exposición a benceno por vía respiratoria es aproximadamente el 50% de la cantidad inhalada, aunque esta disminuye al incrementar los niveles de exposición debido probablemente a la saturación del metabolismo y por lo tanto, la excreción de una mayor cantidad de benceno sin metabolizar. En este sentido, respirar niveles muy altos de benceno puede causar la muerte, niveles altos pueden causar vértigo,

somnolencia, tos, ronquera, cefalea, náuseas, convulsiones, pérdida del conocimiento, irritación bronquial, edema pulmonar, y neumonía (Fonseca, 2010).

2.2.1.4-Renal

Actualmente, se encuentra muy poca información sobre los efectos renales, pero puede producir congestión aguda de los riñones, en el análisis de orina se han observado presencia de proteínas, hematíes y urobilinógeno, así como algunos estudios han evidenciado tubulopatía proximal y distal (Fonseca, 2010).

2.2.1.5-Hematológicos

El benceno causa problemas en la sangre. Las personas expuestas durante largos períodos de tiempo pueden experimentar efectos perjudiciales en los tejidos que producen las células sanguíneas (hematopoyesis), especialmente la médula ósea. Estos efectos pueden trastornar la producción normal de sangre y provocar un decrecimiento en los componentes importantes de la sangre. La reducción en otros componentes puede causar sangrado excesivo (gingivorragia, epistaxis); astenia, palidez, leucemia y aplasia medular (IARC, 1982), la aplasia medular es el efecto más severo que causa la exposición a benceno y se presenta en dos fases, la primera se caracteriza por una hiperplasia (incremento en la producción de células sanguíneas), seguida de hipoplasia donde decrece la síntesis de células sanguíneas (Fonseca, 2010).

Los cambios hematológicos (anemia, leucopenia, leucocitosis) se deben probablemente a la exposición a benceno. La producción de sangre puede volver a la normalidad después de detener dicha exposición (Fonseca, 2010)

2.2.1.6-Hepáticos

Se han reportado casos de crecimiento de hígado en trabajadores expuestos de forma crónica. En este sentido se ha sugerido que puede tener un efecto hepatotóxico

por haberse encontrado un aumento de las transaminasas séricas y del urobilinógeno urinario en los trabajadores además se describen dos tipos de hepatotoxicidad, la primera es la inducida por hepatotoxinas que producen lesiones en todos los individuos expuestos por encima de una cierta concentración, se le denomina hepatotoxicidad intrínseca, dependiente de la dosis o predecible. Los agentes responsables de este tipo de toxicidad hepática requieren la activación metabólica y formación de metabolitos tóxicos (hepatotoxinas latentes) o interfieren directamente sobre organelos intracelulares como son las mitocondrias y el aparato de Golgi (hepatotoxinas activas), el segundo tipo de hepatotoxicidad es aquella no dependiente de la dosis o impredecible (idiosincrásica). Esta produce daño hepático sólo en algunos individuos sin que exista aparente correlación con la dosis administrada. De manera crónica puede producir Enfermedad Hepática Grasa no Alcohólica (EHNA), que se caracteriza por el depósito de lípidos intracelulares; la EHNA constituyó la condición más frecuentemente hallada en trabajadores de una industria petroquímica de Brasil (Fonseca, 2010).

2.2.2-Gasolina

Es una mezcla compleja y muy variable de compuestos, principalmente parafinas, olefinas, naftenos e hidrocarburos aromáticos, con un número de átomos de carbono que va de 4 a 12 y un punto de ebullición en el intervalo de 25 a 210 °C. El estudio de la exposición laboral de los trabajadores de estaciones de servicio a compuestos orgánicos volátiles (COV), se basa en el control principal de la exposición a vapores de gasolina, que por sus características y composición son los que están presentes en concentraciones más elevadas en el ambiente. Así mismo otros compuestos de interés de la gasolina desde el punto de vista toxicológico, son el metil ter-butil éter (MTBE) y el etil ter-butil éter (ETBE) utilizados como aditivos a unos niveles de concentración entre el 2 y 11 % con el objetivo de reemplazar el

plomo orgánico y el benceno como anti-detonante y así reducir la concentración de hidrocarburos aromáticos (NIOSH, 1984; INSHT, 2004).

Dentro de ellos el más importante, bajo el punto de vista toxicológico, es el benceno ya que está considerado como carcinógeno para el hombre por diversas organizaciones internacionales tales como la Agencia Internacional del cáncer (IARC), The American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) y la Comisión Maximal Arbeitsplatz- Konzentrationen (MAK). La concentración de benceno en las gasolinas es variable, porque dependen del tipo de crudo que se refine y del propio proceso del refinado. Sin embargo, en España desde enero del 2000 se ha limitado en la concentración máxima de benceno en la gasolina al 1% en volumen (Periago y Prado, 2002). Así mismo en Venezuela, el contenido de benceno en la gasolina reformada es de 3,75% p/p, según información verbal suministrada por el Laboratorio Industrial Refinería el Palito-Venezuela, 2014.

2.2.3-Estrés oxidativo (Eox)

El Eox se define como el desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies reactivas (ER) y radicales libres (RL) que provocan daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes (AOx); siendo los RL especies químicas que poseen en el último orbital un electrón no apareado, por lo que son capaces de extraer un electrón de las moléculas vecinas para completar su orbital, convirtiéndose en componentes altamente reactivos y oxidantes (Sánchez y col., 2004).

Tal es el caso de algunos compuestos intermedios inestables, llamados especies reactivas de oxígeno (EROs), los cuales son capaces de escapar de la mitocondria y producir daño sobre estructuras celulares, particularmente sobre

membranas, proteínas, lípidos y ADN. Así mismo el radical libre hidroxilo (OH^\cdot) provoca daño principalmente sobre el ADN, proteínas y lípidos induciendo la peroxidación lipídica y daño sobre la membrana capaz de estimular la respuesta inflamatoria (Andresen, Regueira & Leighton, 2006).

De esta manera, se han propuesto una gran variedad de marcadores biológicos para evaluar el estrés oxidativo, cuyos indicadores han sido desarrollados para determinar el daño mediado por RL o la generación de RL. Los lípidos son quizás los más susceptibles, específicamente los poli insaturados que son fácilmente oxidables. El proceso de oxidación de los lípidos es llamado lipoperoxidación o peroxidación lipídica y los productos de estas reacciones se denominan lipoperóxidos (LPO) (Sánchez y col., 2004).

2.2.4 –Malondialdehído(MDA)

La oxidación es un mecanismo químico utilizado por el organismo para producir y degradar sustancias, pero esta fundamentalmente ligado a la producción de energía. Como resulta obvio, el oxígeno está involucrado en tales mecanismos de oxidación, los cuales son controlados celosamente por el organismo, especialmente por el sistema antioxidante, por lo que debe haber un balance oxidación/antioxidación, que significa salud, así como alteraciones que significan enfermedad, daño tisular. El metabolismo oxidativo, es el mecanismo de mayor relevancia involucrado en la producción de energía en los animales superiores. La falta de control en este proceso conduce a una sobreproducción de radicales libres de oxígeno, los cuales pueden ocasionar daño a las estructuras celulares. El malondialdehído es un marcador de la peroxidación lipídica, cuya producción puede ser compensada por el óxido nítrico (NO), vitamina C y glutatión reducido (GSH) como integrante del sistema antioxidante del organismo (Elejalde, 2001).

2.2.5-Vitamina C

La vitamina C, conocida también como ácido ascórbico, es una γ -lactona hidrosoluble de seis carbonos. Su naturaleza ácida proviene de la ionización del oxhidrilo (OH) enólico del C-3, y la molécula existe como anión monovalente a pH fisiológico (Mahan & Escott-Stump, 2009).

Es lábil, ya que el oxígeno, los iones metálicos, el aumento del pH, el calor y la luz, la destruyen fácilmente. Su papel biológico principal es el de agente reductor en la hidroxilación de lisina y prolina en el procolágeno, sin esta hidroxilación, el procolágeno es incapaz de formar los enlaces cruzados normales necesarios para las fibrillas de colágeno, también se requiere de esta vitamina para la formación del hueso, ya que el tejido óseo contiene una matriz orgánica con colágeno así como una porción inorgánica calcificada. El colágeno es un componente de la sustancia basal que rodea a las paredes de los capilares, con lo que la carencia de vitamina C se asocia con fragilidad de los capilares. Así, la vitamina C es obviamente importante en el mantenimiento del tejido conjuntivo normal y para la curación de heridas, ya que el tejido conjuntivo es el primero en repararse (Devlin, 2008).

La vitamina C participa en reacciones de oxido-reducción, que incluye ácido L-ascórbico; el radical libre ácido monodeshidro-L ascórbico y ascorbato oxidado, el ácido deshidro-Lascórbico (ADA). Por consiguiente la vitamina C actúa como un antioxidante con muchos sistemas, como el radical libre α -tocoferol, el radical glutatión, los radicales peroxilo, el radical libre oxhidrilo, el superóxido y el de urato libre (figura 2) (Bowman & Russell, 2003).

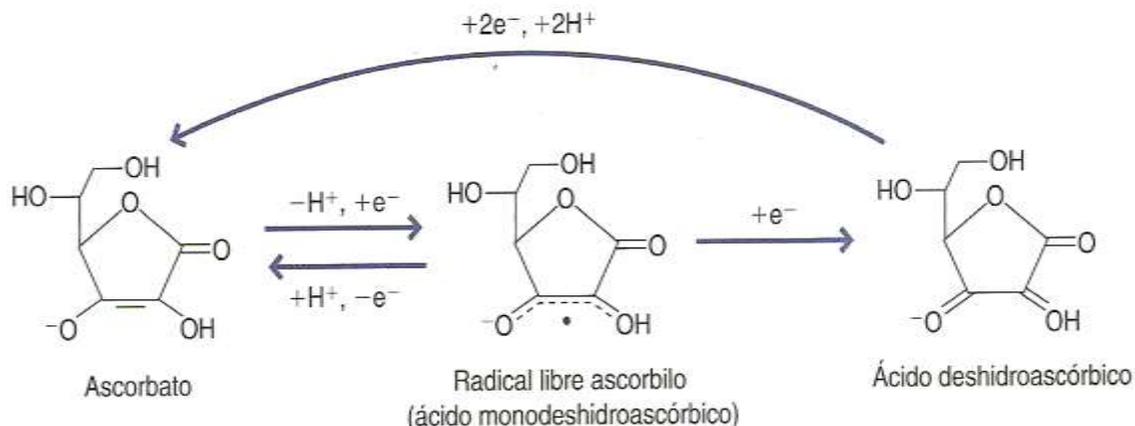


Figura 2. Sistema redox de la vitamina C. Fuente: (Mahan & Escott-Stump, 2009).

El ácido ascórbico funciona como agente reductor no enzimático, ayuda a la absorción del hierro al reducirlo a su estado ferroso en el estómago. Protege a la vitamina A, vitamina E y algunas vitaminas B de la oxidación. Además favorece la utilización de ácido fólico ayudando a la conversión del folato en tetrahidrofolato, por lo tanto la vitamina C es un antioxidante biológicamente importante. El National Research Council (NRC) señala recientemente que cantidades adecuadas de antioxidantes tales como β -caroteno y la vitamina C en la dieta pueden reducir el riesgo de cáncer (Devlin, 2008).

2.2.5.1-Farmacocinética

Se ha demostrado que la especie humana no puede biosintetizar el ácido ascórbico por lo tanto, lo absorben de la dieta mediante transporte activo y difusión pasiva. La forma oxidada de la vitamina C, ácido deshidroascórbico, se absorbe mejor que en la forma reducida, ascorbato, ó ácido ascórbico. La eficiencia de la absorción entérica de la vitamina es elevada (del 80% al 90%) con ingestas bajas, aunque

disminuye mucho con ingestas mayores de aproximadamente 1g/día (Mahan & col, Escott-Stump, 2009).

La vitamina C es transportada en el plasma en forma reducida (ácido ascórbico) en solución libre. Es captada por las células mediante un transportador de glucosa y un sistema específico de transporte activo. Estos dos sistemas introducen ácido deshidroascórbico en las células, donde se reduce rápidamente a ascorbato. El sistema de captación basado en el transportador de glucosa no es tan rápido como el sistema específico, pero es estimulado por la insulina e inhibido por la glucosa. La vitamina se concentra principalmente en forma de ácido deshidroascórbico en muchos órganos vitales, particularmente las suprarrenales, el encéfalo y el ojo (Mahan & Escott-Stump, 2009).

El ácido ascórbico es oxidado *in vivo* por dos pérdidas sucesivas de electrones únicos, formándose el radical libre (ácido monodeshidroascórbico). Este producto intermedio se puede oxidar aún más a ácido deshidroascórbico. Posteriormente el producto oxidado es sometido a una hidrólisis irreversible para dar ácido 2,3-diceto-1-gulónico, que se puede descarboxilar para dar dióxido de carbono y varios fragmentos de cinco átomos de carbono (Mahan & Escott-Stump, 2009).

2.2.5.2-Ingesta Dietética de referencia (IDR)

Las IDR de la vitamina C se expresan cuantitativamente en miligramos. Aunque la cantidad tan baja como 10 mg de vitamina C puede prevenir el escorbuto, este nivel no aporta reservas aceptables de la vitamina. Debido a la baja concentración de ácido ascórbico en el suero de fumadores, se ha recomendado que los fumadores aumenten su ingesta hasta al menos 100mg/día (Lykkesfeldt, Christen, Wallock, Chang, Jacob & Ames, 2000).

Fumar disminuye los niveles séricos de vitamina C. De hecho, las RDA (Recommended Dietary Allowance) del 2000 recomendaban a los fumadores el consumo de 110-125 mg de vitamina C diarios en lugar de los 75-90 mg que precisan los adultos no fumadores (Devlin, 2008).

2.2.5.3- Fuentes

La vitamina C se encuentra en tejidos vegetales y animales en forma de ácido ascórbico y ácido deshidroascórbico. Las mejores fuentes son frutas, verduras y vísceras, aunque el contenido real de ácido ascórbico de los alimentos puede variar con las concentraciones de crecimiento y el grado de madurez cuando se recolectan. La mayor parte de los alimentos congelados comerciales tienen un mayor contenido en ácido ascórbico que el de los alimentos frescos que han sido enviados por todo el país. El ácido ascórbico se destruye fácilmente mediante la oxidación y como es soluble en agua, con frecuencia es extraído y desechado en el agua de cocción. El bicarbonato sódico, que se añade para mantener y mejorar el color verde de las verduras cocidas, destruye la vitamina C (Mahan & Escott-Stump, 2009).

2.2.5.4-Efecto Antioxidante

El ácido ascórbico es uno de los principales antioxidantes hidrosolubles y por ello tiene la capacidad de destoxificar los radicales reactivos del plasma y del citoplasma y las mitocondrias celulares. La vitamina C ejerce un efecto neutral y modesto para atenuar la progresión de las enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo (Bowman & Russell, 2003).

En vista de que el ácido ascórbico es un antioxidante de particular eficacia en los sistemas fisiológicos, éste y los demás antioxidantes clásicos, vitamina E y β -caroteno han sido promocionados como anticancerosos. Diversos estudios epidemiológicos indican de modo uniforme que el riesgo de cáncer es inversamente

proporcional a un alto consumo de frutas y hortalizas ricas en vitamina C (Bowman & Russell, 2003).

2.3.-Sistema de Variables

2.3.1-Variable independiente

- Niveles de benceno urinario

2.3.2-VARIABLES dependientes

- Estrés oxidativo (niveles de MDA)
- Niveles de vitamina C
- Perfil hematológico, hepático y renal

2.3.3-VARIABLES Intervinientes:

- Estilo de vida
- Protección personal

2.4 -Sistema de Hipótesis

2.4.1-Hipótesis operacional

A mayores niveles de benceno, mayor será el estrés oxidativo y en consecuencia hay una disminución de los niveles de vitamina C y alteración del sistema hematológico, hepático y renal.

2.4.2-Hipótesis nula

Los niveles de benceno no generan estrés oxidativo, ni alteración de los niveles de vitamina C, el sistema hematológico, hepático y renal.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1.-Diseño de Investigación

El presente estudio estuvo enmarcado dentro del diseño no experimental; puesto que solo se observaron y registraron las variables involucradas dentro del estudio tal y como se dan en su contexto natural; no se manipula ninguna de las variables (Corral, Fuentes, Maldonado y Brito, 2011).

3.2.-Tipo de Investigación

El estudio fue de tipo descriptivo, debido a que este permitió buscar propiedades importantes y específicas de personas, grupos, comunidades o cualquier otro fenómeno sometiendo a un análisis evaluativo diferentes aspectos, dimensiones, componentes entre otros. Además, correlacional, ya que midió el grado de relación que existe entre dos o más variables en un mismo sujeto, específicamente se buscó la relación entre el benceno urinario, niveles séricos de MDA, vitamina C y el perfil hematológico, hepático y renal. Al mismo tiempo fue de corte transversal, debido a que se recolectaron los datos en un solo momento, en un tiempo único; y de campo, porque los datos fueron recolectados directamente donde ocurrió el fenómeno (Rodríguez, Ochoa y Pineda, 2010).

3.3.-Población

Estuvo conformada por 66 trabajadores de las cinco estaciones de servicio de la parroquia San José del Municipio Valencia, Estado Carabobo. La población puede estar referida a cualquier conjunto de elementos de los cuales se pretende indagar y conocer sus características, o una de ellas (Corral y col., 2011).

3.3.-Muestra

Para la selección de los participantes en el estudio, se realizó un muestreo no probabilístico intencional, teniendo en consideración que manifestaran voluntariamente su intención de participar en el estudio a través de un consentimiento informado (Anexo A) y que además debían cumplir con los siguientes criterios.

Criterios de Inclusión:

Trabajadores de ambos sexos, mayores de 18 años y que tuvieran más de 5 años trabajando en estaciones de servicio (Martins y Pereira, 2004).

Para los individuos sin exposición los criterios fueron los mismos, excepto tener contacto con el benceno.

Criterios de Exclusión:

Se excluyeron a las personas con menos de 5 años de exposición al benceno, así como aquellas personas que habían sufrido hepatitis, diabetes y enfermedades renales, además aquellas que cumplieran algún medicamento que pudieron interferir en los parámetros evaluados.

La muestra se conformó con la totalidad de la población; sin embargo, en virtud de que 2 trabajadores tenían antecedente de enfermedad hepática y 4 tenían

menos de 5 años en la estación de servicio, quedaron excluidos del estudio, quedando conformada finalmente la muestra por 60 trabajadores grupo expuesto (GE).

Además, se contó con un grupo de 40 individuos, no expuestos, trabajadores del laboratorio Clínico César Sánchez Font, Edo-Carabobo, con las mismas características de sexo y edad, que constituyen el grupo control (GC).

3.4.-Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

La técnica de recolección fue la encuesta, la cual fue aplicada a través de un cuestionario con preguntas abiertas y cerradas, realizada por la autora, previamente validado por el juicio de los expertos, con datos socio demográficos tales como: edad, sexo, tiempo de exposición, usos de equipos de protección personal, hábitos tabáquicos y alcohólicos, antecedentes patológicos (enfermedad hepática, hematológica, renal, hipertensión, diabetes) (Anexo B).

Procedimiento Metodológico:

Se citó previamente a todos los empleados que laboran en las estaciones de servicio, que cumplieron con los criterios de inclusión, para obtener el consentimiento informado de acuerdo a los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, establecido por el Ministerio del Poder Popular para la Ciencia Tecnología e Innovación (MCTI, 2010).

Así mismo las personas que accedieron a participar en la investigación, se les convocó un día para la toma de muestra sanguínea y de orina, se les notificó que dos días antes de la toma de muestra no debían ingerir alcohol.

3.5.-Toma de Muestra

Previo ayuno de 12 horas y cumpliendo con las reglas de asepsia y anti asepsia del pliegue braquial del antebrazo, se extrajo por medio de punción de la vena cefálica y basílica, 15 ml de sangre, al comienzo de la jornada de trabajo del último día de la jornada semanal según la ACGIH (2003), los cuales fueron distribuidos de la siguiente manera 4 ml en tubo con anticoagulante EDTA (tapa morada) para el análisis de hematología completa y plaquetas. El resto se colocó en 2 tubos sin anticoagulante (tapa roja), protegidos de la luz, para obtener el suero el cual se utilizó para las determinaciones de Transaminasa Glutámico Oxaloacético, Transaminasa Glutámico Pirúvico, Gamma-glutamyltransferasa, Fosfatasa Alcalina, Bilirrubina Total, Bilirrubina Directa, Bilirrubina Indirecta, urea y creatinina, así como las de MDA y vitamina C. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio en una cava refrigerada y se procesaron el mismo día de la extracción, para la determinación de vitamina C y MDA se separaron alícuotas de 2ml de suero en tubos eppendorf conservados -20 °C hasta el momento de su determinación.

Recolección de la Muestra de Orina

Se colectaron aproximadamente 50 ml de orina de cada trabajador, en un envase de polietileno estéril, al final de la jornada semanal (el mismo día de la toma de muestra de sangre), como lo recomienda la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales de Estados Unidos ACGIH (2003) para la determinación de benceno sin metabolizar. Estas fueron cubiertas con papel parafilm y se conservaron a 4 °C hasta su análisis, que no debió exceder de dos semanas después de su recolección (INSHT, 2004).

3.6.-Análisis de las Muestras

Determinación de los niveles de Benceno Urinario (BU):

La determinación de (BU) en orina parcial se realizó en SEDICOMVET Laboratorio de Servicio de Análisis Físico-Químico, Microbiológicos y Toxicológicos en el Estado Aragua-Maracay. Se determinó por el método de Cromatografía de Gas (Cromatógrafo de Gas/Masa con detector FID) (Anexo D). El standard (AccuStandard[®], Inc.) utilizado fue Chlorobenzene 108-90-7 100 (GC/FID). (Anexo C), concentración 2000 µg/mL, 2.0 mg/mL en MeOH.

El método de Cromatografía de Gas, se fundamenta en que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte. A diferencia de los otros tipos de cromatografía, la fase móvil no interactúa con las moléculas del analito; su única función es la de transportar el analito a través de la columna. Se siguió la metodología (INSHT, 2009) empleada por Periago y Prado (2002).

Tratamiento de la muestra:

Una vez en el laboratorio y de una forma inmediata se trasvasó 1 ml de orina a un vial de 1,5 ml provisto de un tapón hermético con un sellador. Esta operación se realizó en un área cuya atmósfera estuviera libre de disolventes, luego se colocó en un ultrasonido (Elma E 30H Elmasonic[®]) a calentamiento y agitación por 10min. Posteriormente se colocaron dichas muestras en el carrusel del equipo y se trabajó bajo las siguientes condiciones.

La determinación de benceno se realizó, siguiendo las condiciones analíticas descritas por (Periago y Prado, 2002).

Equipo	HP 5973
Inyector	Agilent Technologies 7683B Series
Gas	He, 1,2mL/min
Columna	HP1 MS, 50 m x 0,25mm x 1 µm
Horno	40 °C, 2min 40 °C-100 °C a 8 ^a C/min
Detector	FID, 200 °C MS HP5973. EL-AT-005

Límite de Detección de Benceno en Orina: 0.013 ng/mL (INSHT,2009).

Determinación de los niveles de Malondialdehído (MDA):

Se utilizó la técnica de peroxidación de lípidos, por la metodología de TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico). Se realizó según método estandarizado por Cano, Bermúdez, Sulbarán, Morales, Medina y Amell (2001) y modificada en la clínica de dislipidemias por Márquez, Parra, Mendoza y Ramírez, (2003) en el Departamento de Farmacología, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo.

La metodología se basa en la medición de los radicales libres (peroxidación de lípidos) presentes en suero generado de la reacción con ácido tiobarbitúrico (TBA) y sustancias reactantes, el cual es observado una vez realizada la extracción de la capa lipídica como un cromógeno rosa en el sobrenadante, la intensidad del color es directamente proporcional a la concentración, la cual fue medida en un espectrofotómetro UV-VIS marca OMEGA IV durante la reacción a 532 nm.

Protocolo para determinar TBARS en plasma.

REACTIVOS	BLANCO	PATRÓN	MUESTRA
H ₂ O desmineralizada(mL)	0,200	-----	-----
Patrón (mL)	-----	0,200	-----
Sobrenadante (mL)	-----	-----	0,200
TBA 0.67 %(mL)	0,200	0,200	0,200
SDS 8,1 % (μL)	27	27	27
Mezclar, llevar a baño de agua hirviente por 10 min. Enfriar en hielo, leer a 532 nm TBA: ácido tiobarbitúrico. SDS: sodio dodecil sulfato			

La concentración de ácido tiobarbitúrico (TBARS) en la muestra analizada se obtuvo a través de una curva de calibración multiplicando por el factor de dilución de la muestra (1/3). Para la construcción de dicha curva se preparó una solución madre de 1,1,3,3 tetrametoxipropano (TMP) 0,01M, una solución intermedia de TMP (125 nmol/mL) y patrones de trabajo.

Curva de calibración de TBARS en plasma

Patrón de trabajo	Concentración equivalente (nmol/mL)	Volumen de solución intermedia de TMP(μL)	Volumen de agua desmineralizada (mL)
1	0,625	10	1,990
2	1,25	20	1,980
3	2,5	40	1,960
4	5	80	1,920
5	10	160	1,840
6	25	400	1,60

Curva de calibración de TBARS.

Se toman 13,5 μL de un patrón de Malondialdehído y se disuelven en 986,5 μL de agua destilada, se mezclan y será la solución madre, de allí se preparan diluciones tomando 500 μL, hasta llegar a 0,25 de dilución, para la curva se toman

las últimas 8 diluciones que corresponden a 0,25 0,5 1,2 4, 8, 16 y 32 de MDA y se construyó la curva, la cual obtuvo un coeficiente de 0,99.

Valor de Referencia de MDA es hasta 2 nmol/mL.

Determinación del Ácido Ascórbico (Vitamina C)

La vitamina sérica se determinó por una modificación de un método desarrollado por Roe, Kuether & Zimler (1946), el cual mide vitamina C total y cuyo fundamento es el siguiente:

El ácido ascórbico del suero se oxida a ácido deshidroascórbico por acción del cobre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$). En un pH ácido, el ácido deshidroascórbico se transforma rápidamente en ácido dicetogulónico, que se une a la 2,4 dinitrofenilhidrazona (DNFH) para formar una hidrazona de color pardo, esta a su vez sufre un rearrreglo molecular en presencia del ácido sulfúrico (H_2SO_4), dando un compuesto rojo cuya absorbancia se compara con patrones adecuados del ácido ascórbico sometidos al mismo tratamiento.

La determinación sérica del ácido ascórbico por este método sigue la ley de Lambert y Beer, por lo tanto, la representación gráfica de la absorbancia contra la concentración debe resultar una línea recta. La determinación de esta recta se realizó mediante la preparación de patrones y su posterior lectura.

Técnica

Se colocó en un tubo de ensayo 2 ml de ácido tricloroacético (TCA) al 10 % más 0,5 ml de suero. Se agitó fuertemente y centrifugó a 3000 r.p.m por 10 minutos, luego se extrajo el sobrenadante. La extracción se realizó el mismo día de la toma de muestra y el sobrenadante se mantuvo en nevera por una semana hasta el momento de la realización de la técnica, la cual se describe a continuación:

Se prepararon los siguientes tubos:

	BLANCO	STANDARD	PACIENTE
SOBRENADANTE			1,5 ml
TCA 10 %	1,5 ml		
PATRON 1mg %		1,5 ml	
2,4 DNFH	0,5 ml	0,5 ml	0,5 ml
MEZCLAR. INCUBAR A 60 °C DURANTE UNA HORA			
H₂SO₄ 65%	2,5 ml	2,5 ml	2,5 ml

El ácido sulfúrico al 65 % estaba frío y se agregó lentamente a cada tubo, luego se dejó reposar los tubos a temperatura ambiente por 20 min, para leer a 520 nm. Valor de referencia mayor a 0,9mg/dL como antioxidante

Determinación de Pruebas Hematológicas

Las determinaciones hematológicas se realizaron en un analizador automatizado de hematología BECKMAN COULTER® LH750 (2010). El principio Coulter hace referencia al uso de un campo eléctrico para contar y dimensionar partículas que se encuentran en suspensión en un líquido conductor. El principio Coulter tiene su principal aplicación en los Contadores Coulter®, que son instrumentos diseñados para realizar una tarea específica tal como el recuento de células sanguíneas. Se hizo la determinación de:

Contaje Glóbulos blancos: **Valor de Referencia:** 3,60-10,00 x 10³ µl.

Contaje de Glóbulos rojos: **Valor de Referencia:** 3,5-6,00 x 10⁶ µl.

Hemoglobina: **Valor de Referencia: Mujeres:** 12,00-14,00 gr/dL.

Hombres: 14,00-18,00 gr/dL.

Hematocrito: **Valor de Referencia:** 42,00-52,00 %

Plaquetas: **Valor de Referencia:** 130-430 x 10³ µl.

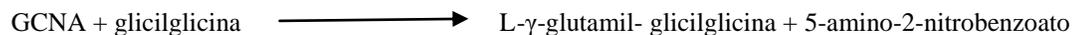
Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM) **Valor de Referencia:** 32,00-36,00 gr/dL

Determinación de Pruebas Bioquímicas

Las determinaciones bioquímicas se realizaron en un analizador automatizado de química clínica marca Dimension®. Siemens. (2008). Dimension® clinical chemistry system.

Determinación de γ -glutamyl transferasa (GGT):

El método GGT utilizado en el sistema de química clínica Dimension® se fundamenta en que la γ -glutamyl transferasa cataliza la transferencia de la porción de glutamyl-3-carboxi-4-nitranilida (GCNA) para formar glicilglicina liberando 5-amino-2-nitrobenzoato que se absorbe a 405 nm. Este cambio es proporcional a la actividad de γ -glutamyl transferasa y se mide utilizando la técnica de tasa biocromática (405, 600 nm).

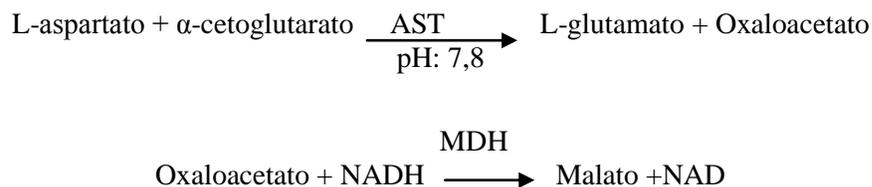


Valor de Referencia: 15-73 U/l

Determinación de Aspartato- Aminotransferasa (AST) ó (TGO):

El método de AST usado en el sistema de química clínica Dimension®, se fundamenta en que la Aspartato Aminotransferasa (AST) cataliza la transaminación del L-aspartato a α -cetoglutarato, que forma L-glutamato y oxaloacetato. El

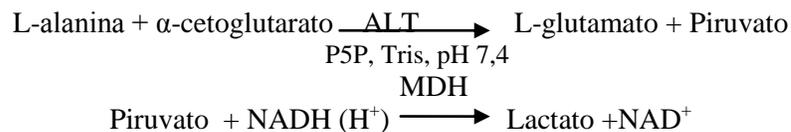
oxaloacetato formado se reduce a malato mediante la malato deshidrogenasa (MDH) con la oxidación simultánea de nicotinamida adenina dinucleótido reducido (NADH). El cambio de la absorbancia con el tiempo debido a la conversión de NADH en NAD es directamente proporcional a la actividad de la AST y se mide mediante la técnica de tasa bicromática (340, 700 nm).



Valor de Referencia: 14 – 36 U/l

Determinación de Alanina- Aminotransferasa (ALT) ó (TGP):

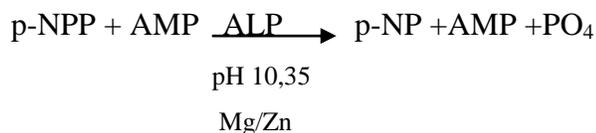
El método de ALT utilizado en el sistema de química clínica Dimension®, se fundamenta en que la Alanina Aminotransferasa (ALT) cataliza la transaminación del L-alanina a α -cetogluturato (α -KG), que forma L-glutamato y piruvato. El piruvato que se forma se reduce a lactato mediante la lactato deshidrogenasa (LDH) con la oxidación simultánea de nicotinamida-adenina dinucleótido reducido (NADH). El cambio de la absorbancia es directamente proporcional a la actividad de la ALT y se mide mediante una técnica de tasa bicromática (340, 700 nm).



Valor de Referencia: 9 – 52 U/l

Determinación de Fosfatasa Alcalina (ALP):

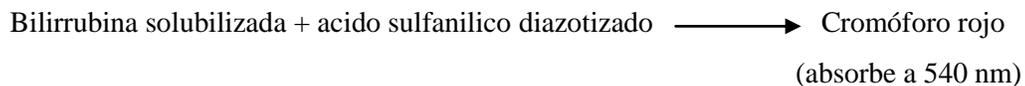
El método de ALP utilizado en el sistema de química clínica Dimension®, se fundamenta en que la fosfatasa alcalina cataliza la transfosforilación del p-nitrofenilfosfato (p-NPP) a p-nitrofenol (p-NP) en presencia del tampón de transfosforilación, 2 amino-2 metil-1propanol (AMP). La reacción se mejora mediante el uso de iones de magnesio y cinc. El cambio de absorbancia a 405 nm debido a la formación de p-NP es directamente proporcional a la actividad de ALP, ya que los demás reactantes están presentes en cantidades que no afectan a la tasa y se mide utilizando una técnica de tasa bicromática (405, 510nm).



Valor de Referencia: 38-126 U/l

Determinación de Bilirrubina Total (TBIL):

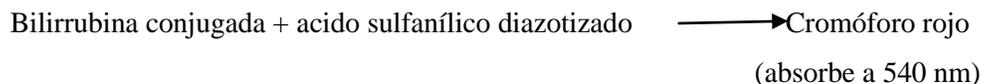
El método de TBIL utilizado en el sistema de química clínica Dimensión®, se fundamenta en que el ácido sulfanílico diazotizado se forma mediante la combinación de nitrito de sodio y ácido sulfanílico en un pH bajo. La bilirrubina (no conjugada) de la muestra se solubiliza en una dilución de cafeína/benzoato/acetato/EDTA. Después de la adición del ácido diazotizado, la bilirrubina solubilizada, incluidas (biliproteína –bilirrubina covalentemente ligada a la albúmina), se transforma en diazobilirrubina, un cromoforo rojo que representa la bilirrubina total que absorbe a 540nm y se mide mediante una técnica de punto final bicromática (540, 700 nm).



Valor de Referencia: 0,8-1,3 mg/dL

Determinación de Bilirrubina Directa (DBIL):

El método DBIL utilizado en el sistema de química clínica Dimensión®, se fundamenta en que el ácido sulfanílico diazotizado se forma mediante la combinación de nitrito de sodio y ácido sulfanílico en un pH bajo. La muestra se diluye en 0,05M de HCL. Se toma una lectura en blanco para eliminar interferencias de pigmentos no procedentes de la bilirrubina. Con la adición de ácido sulfanílico diazotizado, la bilirrubina conjugada se convierte en diazobilirrubina, un cromóforo rojo que absorbe a 540 nm y se mide utilizando una técnica de punto final bicromática (540, 700 nm).



Valor de Referencia: 0,0-0,3 mg/dL

Determinación de Creatinina (CREA):

Fundamento: En presencia de una base fuerte como NaOH, el picrato reacciona con la creatinina para formar un cromóforo rojo. La velocidad de aumento de absorbancia a 510 nm debido a la formación de este cromóforo es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra y se mide utilizando una técnica de tasa bicromática (510, 600 nm).

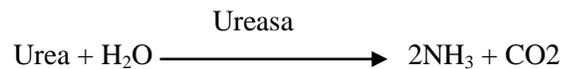


(absorbancia a 510 nm)

Valor de Referencia: 0,7 – 1,2 mg/dL

Determinación de Nitrógeno Ureico (BUN):

Fundamento: La ureasa hidroliza específicamente la urea para formar amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco lo utiliza la enzima glutamato deshidrogenasa (GLDH) para aminor reductivamente el α -cetoglutarato (α -KG), con la oxidación simultánea de di nucleótido de nicotinamida y adenina reducido (NADH). El cambio de la absorbancia a 340 nm, debido a la desaparición de NADH, es directamente proporcional a la concentración de BUN en la muestra y se mide utilizando una técnica de tasa bicromática (340,383 nm).



Valor de Referencia: 19 – 43 mg/dL

3.7-Análisis Estadístico

Los resultados obtenidos en la investigación se presentaron como media +/-Desviación Estándar, mediana, máximos y mínimos, valores absolutos y porcentajes. Fueron analizados estadísticamente utilizando el paquete estadístico libre PASTv.2.04. Las variables con distribución normal se compararon mediante t student (muestras independientes) y las que no se aplicó la prueba U Mann-Whitney. Para comparar 3 o más grupos se empleó la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis; la relación entre las variables se determinó a través de la pruebas de correlación de Pearson o el coeficiente de Spearman. Empleando un nivel de significancia del 95% (Hammer & Harper, 2001).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

La muestra estuvo conformada por cien (100) individuos de ambos de sexos divididos en 2 grupos: expuesto constituido por 60 trabajadores de estaciones de servicios con promedio de edad de $40,57 \pm 11,90$ años, y no expuesto conformado por 40 individuos sin exposición alguna a benceno cuyo promedio de edad fue de $39,38 \pm 13,53$ años.

En la tabla 1 se muestra la distribución de los grupos de acuerdo al sexo, y se observa que el grupo expuesto y no expuesto estuvo integrado en su mayoría por el género masculino.

Tabla 1. Distribución de la muestra de expuestos y no expuestos según sexo

Sexo	Expuestos (%) Frecuencia n=60	No Expuestos (%) Frecuencia n=40
Femenino	6 (10,0)	16 (40,0)
Masculino	54 (90,0)	24 (60,0)

Con relación al tiempo de exposición, se evidenció que el mayor porcentaje estuvo en el rango de 6 a 15 años y seguido de 16 a 25 años (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución del grupo expuesto según el tiempo de exposición.

Tiempo (años)	(n)	Porcentaje (%)
0-5	3	5,0
6-15	42	70,0
16-25	13	21,67
>25	2	3,33
Total	60	100

Con respecto a la ocupación que desempeñan los trabajadores expuestos, se observó que el mayor porcentaje correspondió al bombero de gasolina en la estación de servicio, seguido por dueños, encargados, caucheros, personal de limpieza y en menor porcentaje secretarías y vendedores (Tabla 3).

Tabla 3. Distribución del grupo expuesto según la ocupación.

Cargo Laboral	(n)	Porcentaje %
Bomberos	42	70,0
Dueños	5	8,3
Encargado	4	6,7
Caucheros	3	5,0
Limpieza	3	5,0
Secretaria	2	3,3
Vendedor	1	1,7
Total	60	100

En cuanto a los hábitos tabáquicos y alcohólicos de los grupos expuesto y no expuesto se encontró en ambos un alto porcentaje de los individuos manifestó no fumar; no obstante, más del 60% reportó consumir alcohol (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución porcentual de la muestra en estudio según hábitos tabáquicos y alcohólicos.

		Expuestos (n=60)	No Expuestos (n=40)
Habitudo Tabáquico	Sí	16 (26,7 %)	8 (20,0 %)
	No	44 (73,3 %)	32 (80,0 %)
Habitudo Alcohólico	Sí	39 (65,0 %)	25 (62,5 %)
	No	21 (35,0 %)	15 (37,5 %)
Total		60 (100%)	40 (100%)

En la tabla 5 se observan los resultados del uso de equipo de protección personal en el grupo expuesto, destacándose que la mayoría solo hace uso de bragas y botas de seguridad para desempeñar su labor.

En la tabla 6, se muestran los valores obtenidos del benceno urinario (BU) en el grupo expuesto, cabe destacar que de los 60 trabajadores, solo en 17 fue detectado dicho solvente en orina, mientras que en el grupo no expuesto no se detectaron valores.

Tabla 5. Uso de Equipo de Protección Personal en el Grupo Expuesto.

Equipo de Protección	Sí (%)	No (%)
Bragas	39 (65)	21 (35)
Guantes	0 (0)	60 (100)
Botas de Seguridad	43 (71,7)	17 (28,3)
Lentes	0 (0)	60 (100)
Mascaras	1 (1,7)	59 (98,3)

Tabla 6. Valores de Benceno urinario (ng/mL) en los grupos de estudio.

Grupo	Benceno urinario (ng/mL)		
	X ± DE	Mediana	Mín-Máx
Expuestos (n=17*)	22,86 ± 18,46	20,10	1,55 - 62,8
No Expuestos (n=40)	ND**	ND**	ND**

*Con niveles de benceno en orina.

** No detectado

Límite de Detección de Benceno en Orina: 0.013 ng/mL (INSHT,2009).

Al comparar los valores de BU según el hábito tabáquico se encontró una concentración de BU significativamente mayor ($p= 0,038$) en fumadores del grupo expuesto en comparación con los no fumadores de dicho grupo (28,5 ng/mL [n=4] vs 9,5 ng/mL [n=13], respectivamente). Al comparar los valores de BU de los trabajadores según su ocupación, se pudo observar que los que tenían exposición directa al solvente como bomberos, caucheros, dueños y encargados presentaron niveles más altos en comparación con los que no la tenían. Sin embargo no se encontró diferencia estadísticamente significativa de benceno urinario según la ocupación (Tabla7).

Tabla 7. Valores de BU ng/mL de acuerdo a la ocupación

Ocupación	Mediana (ng/mL)	p
Bombero	33,6	
Cauchero	23,5	
Dueños	20,65	
Encargado	7,75	0,291
Limpieza	ND	
Vendedor	ND	
Secretaria	ND	

Test Kruskal Wallis

Límite de Detección de Benceno en Orina: 0.013 ng/mL (INSHT,2009).

Al distribuir los valores de BU de acuerdo al tiempo de exposición no se encontraron diferencias significativas entre las medianas de los grupos. Sin embargo, se pudo observar una tendencia al aumento, es decir, a mayor tiempo de exposición, más presencia de benceno urinario (Tabla8).

Tabla 8. Valores de BU (ng/mL) de acuerdo Tiempo de Exposición.

Tiempo de exposición (años)	(n=17)	Mediana (ng/mL)	P
0-5	(2)	4,8	
6-15	(10)	14,4	0,258
16-25	(3)	28,6	
>25	(2)	38,6	

Test Kruskal Wallis

Con respecto a los valores de MDA en los grupos en estudio, se encontraron valores de MDA superiores en el grupo expuesto con relación al grupo no expuesto (2,63 ng/mL vs. 2,04 ng/mL). Además, al comparar las medianas de los grupos se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) Tabla 9.

Tabla 9. Valores de Malondialdehido en los grupos de estudio.

Grupo	Malondialdehido (ng/ml)			
	X ± DE	Mediana	Min-Máx	p
Expuestos (n=60)	2,91±1,19	2,63	0,18-5,63	
No Expuestos (n=40)	2,06±0,50	2,04	0,87-2,89	0,000*

*Test U Mann Whitney p<0,001

Al distribuir la concentración de MDA de los trabajadores del grupo expuesto de acuerdo al tiempo de exposición no se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los subgrupos. (p=0,770). Sin embargo, se observó que el grupo con mayor tiempo de exposición (>25 años de exposición) presentó los valores más altos de MDA (Tabla 10).

Tabla 10. Niveles séricos de MDA y Tiempo de exposición en los grupos de estudio.

Tiempo de exposición	X ± DE	Mediana	p
0-5	2,78 ± 1,01	2,36	
6-15	2,90 ± 1,25	2,62	0,770
16-25	3,09 ± 1,10	2,64	
>25	3,15 ± 1,08	2,95	

Test Kruskal Wallis

En la tabla 11 se muestran los valores de Vitamina C de los grupos en estudio, observándose que la media de dichos valores fue significativamente menor ($p=0,040$) en los trabajadores expuestos en comparación con los no expuestos.

Tabla 11. Niveles séricos de vitamina C en los grupos de estudio.

Niveles de Vitamina C (mg/dL)				
Grupo	X ± DE	Mediana	Min-Máx	p
Expuesto =60)	1,16 ±0,65	1,00	0,3-2,60	
No Expuestos (n=40)	1,38 ±0,58	1,30	0,5-2,70	0,004*

Prueba T de Student * $p < 0,05$

En cuanto a los parámetros hematológicos de los grupos en estudio se observó, que los valores de media están dentro del rango de referencia, sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre ellas (Tabla 12).

Tabla 12. Perfil Hematológico en los grupos de estudio.

Parámetro	Grupo Expuesto (n=60)			Grupo No Expuesto(n=40)			p
	X	DE	Min-Máx	X	DE	Min-Máx	
Hemoglobina (g/dL)	15,15	1,02	12,5 -17,6	15,24	0,85	13,6 -16,7	0,748
Hematocrito (%)	45,42	2,87	39- 52	45,00	2,36	41- 48	0,594
Hematíes (mm ³)	4,95	0,25	3,49 -5,95	4,97	0,41	4,46-5,30	0,818
Glóbulos Blancos (mm ³)	7,49	1,76	3,9-7,000	7,07	1,76	4,70- 12,90	0,251
Plaquetas (mm ³)	262,38	54,04	168- 411	268,69	76,99	178 - 472	0,144

Prueba T-Student para muestras independientes

Los valores de los parámetros bioquímicos de los grupos en estudio se observaron dentro del rango de referencia, con valores significativamente más altos en los expuestos con respecto a los no expuestos ($p < 0,05$), a excepción de los niveles de GGT y BT (Tabla13).

Tabla 13. Perfil Hepático y Renal en los grupos de estudio.

Parámetros	Grupo Expuesto n=60			V.R	Grupo No Expuesto n=40			p
	X	Med	Min-Máx		X	Med	Min-Máx	
TGO U/L	27,97	25,50	15-64	14-36 U/l	21,93	21,00	13-43	0,001** Δ
TGP U/L	52,77	48,5	16-137	9-52 U/l	32,92	27,50	15-132	0,000*♣
ALKP U/L	98,32	95,00	63-166	38-126 U/l	85,7	77,5	47-172	0,027*♣
GGT U/L	50,92	34,5	11-531	15-73 U/l	37,65	33,5	13-175	0,400 Δ
Bilirrubina Total mg/dL	0,7138	0,5800	0,29-1,54	0,8-1,3 mg/dL	0,6255	0,5850	0,20-1,37	0,408 Δ
Bilirrubina Indirecta mg/dL	0,4172	0,5000	0,24-0,32	0,0-0,81 mg/dL	0,5530	0,3750	0,13-0,87	0,002 Δ
Bilirrubina Directa mg/dL	0,1608	0,0700	0,03-0,89	0,0-0,3 mg/dL	0,2083	0,1900	0,05-0,82	0,000*** Δ
Creatinina mg/dL	1,01	1,0000	0,70-1,30	0,7-1,2 mg/dL	0,8475	0,9000	0,50-1,20	0,000*** Δ
Urea mg/dL	31,30	30,0	19-49	19-43 mg/dL	28,35	28,00	14-45	0,032*♣

V.R Valores de Referencia

♣ T-Student para muestras independientes

Δ Prueba U Mann Whitney

*p <0,05 **0,01 ***0,001

Por otra parte, al correlacionar los niveles de vitamina C, MDA y BU, con los parámetros hematológicos, hepáticos y renales, solo se encontró un coeficiente de correlación positiva y estadísticamente significativo con los parámetros ALKP, GGT y urea, con el MDA (Tabla14).

Al relacionar el tiempo de exposición a benceno del grupo expuesto, con los parámetros hematológicos, hepáticos y renales, no se encontró correlación estadísticamente significativa, excepto en los valores de urea, GGT y ALKP ($p < 0,05$) (Tabla15).

Tabla 14. Relación de los parámetros hematológicos, hepáticos y renales con los niveles séricos de vitamina C, malondialdehído y BU.

		Vitamina C	MDA	BU
Hemoglobina	r	0,017	-0,131	-0,039
	p	0,898	0,317	0,870
Hematocrito	r	-0,100	-0,132	0,010
	p	0,449	0,314	0,967
Hematíes	r	-0,081	-0,172	0,076
	p	0,540	0,190	0,750
Glóbulos Blancos	r	-0,049	0,125	-0,412
	p	0,710	0,341	0,071
Plaquetas	r	-0,047	0,270*	0,190
	p	0,720	0,067	0,423
₁ TGO	r	-0,037	-0,113	-0,094
	p	0,781	0,392	0,694
₂ TGP	r	-0,218	0,151	0,215
	p	0,094	0,251	0,362
₃ GGT	r	-0,298*	0,389	0,373
	p	0,021	0,002*	0,106
₄ ALKP	r	-0,105	0,333	-0,009
	p	0,427	0,009*	0,970
Bilirrubina Total	r	0,191	0,047	-0,381
	p	0,144	0,722	0,098
Bilirrubina Directa	r	0,311*	-0,125	-0,336
	p	0,016	0,340	0,148
Bilirrubina Indirecta	r	-0,067	0,163	-0,342
	p	0,612	0,213	0,140
Creatinina	r	-0,330*	-0,121	0,470*
	p	0,070	0,359	0,036
Urea	r	0,012	0,821	0,017
	p	0,925	0,030*	0,944

*p <0,05. Prueba Coeficiente de Spearman. ₁Transaminasa Glutámico Oxaloacético, ₂Transaminasa Glutámico Pirúvico, ₃Gamma Glutamyl Transpectidasa. ₄ Fosfatasa Alcalina.

Tabla 15. Relación de los parámetros, hematológicos, hepáticos y renales con el tiempo de exposición al benceno.

	Tiempo de Exposición		
	r	P	
Hematológicos	Hemoglobina (g/dl)	- 0,235	0,070
	Hematocrito (%)	0,256	0,056
	Glóbulos Blancos (mm³)	0,053	0,689
	Plaquetas (mm³)	0,135	0,305
Hepáticos	₁TGO U/L	0,010	0,938
	₂TGP U/L	0,012	0,927
	₃ALKP U/L	0,257	0,048*
	₄GGT U/L	0,327	0,011*
	Bilirrubina Total mg/dL	0,904	0,016
	Bilirrubina Directa mg/dL	0,125	0,342
	Bilirrubina Indirecta mg/dL	0,036	0,785
Renales	Creatinina mg/dL	0,155	0,238
	Urea mg/dL	0,287	0,026*

*p <0,05. Prueba Coeficiente de Spearman. ₁Transaminasa Glutámico Oxaloacético, ₂Transaminasa Glutámico Pirúvico, ₃Fosfatasa Alcalina, ₄Gamma Glutamil Transpectidasa.

Finalmente, al aplicar la prueba de correlación de Spearman a los valores Vitamina C, MDA, BU y el tiempo de exposición no se encontró correlación significativa entre dichos parámetros (Tabla 16).

Tabla 16. Relación Tiempo de Exposición, niveles de MDA, Vitamina C y Benceno en los individuos expuestos.

		Tiempo de Exposición	Vitamina C	Benceno	MDA
Tiempo de Exposición	r	1,000	0,110	0,312	0,073
	p	.	0,404	0,180	0,578
Vitamina C	r	0,110	1,000	-0,328	-0,084
	p	0,404	.	0,158	0,526
Benceno	r	0,312	-0,328	1,000	-0,280
	p	0,180	0,158	.	0,232
MDA	r	0,073	-0,084	-0,280	1,000
	p	0,578	0,526	0,232	.

n=17

Prueba coeficiente de Spearman.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

La operación de dispensar gasolina en estaciones de servicio, puede incrementar notablemente el riesgo de exposición laboral de los operarios que realizan la misma, especialmente en el caso del benceno que desde el punto de vista toxicológico es el componente más importante de la gasolina.

En el presente estudio, se determinó benceno urinario, estrés oxidativo y perfil hematológico, hepático y renal en trabajadores de estaciones de servicio en la zona norte de Valencia-Venezuela 2012-2013, en el cual participaron 100 individuos de ambos sexos distribuidos en 2 grupos (60 expuestos y 40 no expuestos). Se observó que en cinco estaciones de servicio de PDVSA Valencia, la población expuesta estuvo comprendida por 54 hombres y 6 mujeres. Coincidiendo con lo reportado por Periago y Prado (2002), quienes analizaron la exposición laboral a BU en 16 gasolineras a 31 trabajadores (21 hombres y 10 mujeres) y, la mayor parte también eran del sexo masculino.

Para el monitoreo biológico de la exposición a benceno se han utilizado como biomarcadores metabolitos urinarios tales como el ácido trans, trans – mucónico y el ácido-S- fenilmercaptúrico, así como la concentración de benceno en sangre. Posteriormente se han propuesto la determinación de benceno no metabolizado en

orina, como herramienta alternativa para determinar la dosis interna de benceno con resultados satisfactorios (Waidyanatha, Rothman, Fustinoni, Smith, Hayes & Bechtold, (2001) y Periago y Prado (2002). en la presente investigación, utilizando el BU como biomarcador, este no fue detectado en el grupo no expuesto y solo se detectó en 17 trabajadores de los 60 del grupo expuesto. No obstante, se observó que los valores de BU de los 17 trabajadores expuestos aumentaban según el grado de exposición de cada ocupación, lo cual sugiere que a mayor contacto directo con el solvente, mayor es la posibilidad de excretar BU (bomberos, caucheros, dueños y encargados). Coincidiendo con lo reportado por Lovreglio y col., (2011) en un estudio realizado en Italia para determinar el BU en tres grupos de trabajadores (conductores de cisternas de combustible, trabajadores de las estaciones de servicio y grupo control), los cuales encontraron valores significativamente mayores en los conductores de cisterna de combustible que en los trabajadores de las estaciones de servicio y mayor en estos últimos que en los controles, lo cual sugiere que a mayor contacto directo con el solvente, mayor es la posibilidad de excretarlo en orina sin metabolizar.

Además, en este estudio se encontró una diferencia significativa entre los valores de mediana de BU de los trabajadores expuestos que tenían hábito tabáquico con respecto a quienes no tenían este hábito, a pesar que el número de fumadores del grupo expuesto es bajo (26,7%), lo que está en concordancia con lo encontrado por

Barbieri y col (2008), en un estudio donde evaluaron la especificidad del BU sin metabolizar como biomarcador de exposición, y su relación con el hábito tabáquico; evidenciando los resultados que los niveles urinarios de benceno en los no fumadores fueron significativamente menores que en los fumadores, confirmando que el hábito de fumar influye en la excreción de benceno urinario (Barbieri y col., 2008; Fustinoni y col., 2012).

El MDA como marcador de peroxidación lipídica y estrés oxidativo y la vitamina C por su potencial antioxidante, pueden contribuir al monitoreo de exposición y estado de salud de los trabajadores expuestos a solventes. En este orden de ideas, los valores de MDA, en esta investigación, se encontraron estadísticamente superiores ($p < 0,001$) en el grupo expuesto con relación al grupo no expuesto; además el grupo con mayor tiempo de exposición, presentó los valores más altos de MDA. Resultados similares fueron reportados por Uzma y col., (2010) en una investigación donde participaron 428 trabajadores de India expuestos al benceno en estaciones de servicio y 78 individuos no expuestos, observándose un aumento significativo de la concentración de MDA de los trabajadores en comparación con los no expuestos; sin diferencia significativa en relación al tiempo de exposición. En contraste en el presente estudio sí se observó.

Así mismo, los valores de vitamina C, aunque se encuentran dentro de los rangos considerados como antioxidantes, se observaron bajos en el grupo expuesto

con respecto al no expuesto, lo que sugiere la necesidad de aumentar la administración de antioxidantes para contrarrestar los efectos de las ERO.

Con relación a los parámetros hematológicos de los grupos en estudio se observó, que la media de los valores está dentro del rango de referencia, sin diferencias significativas entre ellos. En contraste, Wiwanitkit y col., (2007) en un estudio en trabajadores expuestos a benceno mostraron efectos hematotóxico (alteraciones en los glóbulos rojos, hemoglobina, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (HCM) y hematocrito). Así mismo Bogadi y col., (2003) quienes evaluaron trabajadores expuestos a benceno, aunque en una industria petroquímica, encontraron disminución en los índices de volumen corpuscular medio (VCM), y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM).

Es conocido que los hidrocarburos y en particular el benceno pueden provocar hepatotoxicidad, por ello resulta de interés evaluar los marcadores hepáticos en trabajadores expuestos en industrias petroquímicas o estaciones de servicio (Galbraith, 2010).

En este sentido, en el presente estudio, los resultados de los parámetros bioquímicos se encontraron significativamente más altos en los trabajadores expuestos con relación a los no expuestos ($p < 0,05$), sin embargo se mantuvieron dentro de los rangos de referencia en ambos grupos en estudio; a diferencia de lo

reportado por Pérez y col., (2006) quienes realizaron un estudio con la finalidad de determinar hipertransaminasemia como indicador bioquímico de daño hepático por la exposición ocupacional a hidrocarburos aromáticos (benceno, tolueno, xileno) en 167 trabajadores de una empresa petroquímica (95 expuestos y 72 no expuestos), dando como resultado que presentaron transaminasas elevadas.

Por otro lado, al correlacionar los parámetros hematológicos, hepáticos y renales con el tiempo de exposición al benceno y las variables vitamina C, MDA y BU, no se observó correlación significativa, excepto en Urea, GGT y ALKP con el tiempo de exposición y los parámetros ALKP y urea con el MDA, sin embargo, a pesar de mostrarse elevados los valores están dentro del rango de referencia.

Los datos de esta investigación no mostraron correlación entre los valores Vitamina C, MDA, BU y el tiempo de exposición, no obstante, se observaron valores más altos de BU en los trabajadores expuestos según la ocupación y el tiempo de exposición, a pesar que estos no fueron significativos y los valores de los parámetros hematológicos, hepáticos y renales aunque estuvieron dentro de los valores de referencia muestran una tendencia al aumento en los trabajadores expuestos. Además, los valores de MDA (como indicador de daño oxidativo) y la vitamina C (como antioxidante) fueron inversamente proporcionales sugiriendo un potencial daño oxidativo y los valores de vitamina C, aunque en el rango de antioxidante fue más bajo en el grupo expuesto, lo que evidencia la necesidad, de ingesta de

antioxidantes para contrarrestar los efectos deletéreos de las ERO así como del monitoreo periódico de los biomarcadores de exposición que permitan verificar el estado de salud de los trabajadores expuestos al benceno y asegurar que los parámetros de riesgo estén dentro de los valores de referencia.

Finalmente, tomando en consideración que el BU sin metabolizar es un indicador muy específico ya que no puede provenir de fuentes distintas a la exposición a benceno, a pesar que en la actualidad no es utilizado como control biológico de la exposición a bajas concentraciones del mismo, se justifica planificar futuros estudios que correlacionen los valores de BU con el monitoreo ambiental.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

- ✓ Solo en 17 de 60 trabajadores del grupo expuesto fue detectado BU.
- ✓ Los valores de BU de los trabajadores expuestos con el tiempo de exposición y la ocupación, no se observó correlación estadísticamente significativa. Sin embargo, los niveles de BU estuvieron más altos en los trabajadores expuestos fumadores que en los no fumadores.
- ✓ Los valores de MDA fueron significativamente más altos en el grupo expuesto y los valores de vitamina C están en el rango antioxidante, sin embargo éstos fueron más bajos en el GE, lo que reflejan un posible daño oxidativo.
- ✓ Entre los valores de Vitamina C, MDA, BU y el tiempo de exposición del grupo estudiado. No se encontró correlación significativa.
- ✓ Los parámetros hematológicos, hepáticos y renales, están dentro del rango de referencia.

BIBLIOGRÁFICAS

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) 2007. *Reseña Toxicológica del Benceno*. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicio Humano de los EE.UU., Servicio de Salud Pública.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) 2003, TLVs, BEIs. *Threshold limits values for chemical substances and physical agents. Biological exposure indices*. Cincinnati:
- Andresen, M., Regueira, T., Leighton, F. (2006). Estrés oxidativo en el paciente crítico. *Revista Médica Chile*, 134:649-656.
- Barbieri, A., Violante, F., Sabatini, L., Graziosi, F., Mattioli, S. (2008). Urinary biomarkers and low-level environmental benzene concentration: assessing occupational and general exposure. *Chemosphere*, 74(1):64-9.
- Beckman Coulter® (2010). *COULTER LH 750 Hematology Analyzer*. Disponible en: <https://www.beckmancoulter.com/> [Consulta: 2010, Enero 8].
- Bogadi-Sare, A., Zavalic, M., Turk, R. (2003). Utility of a routine medical surveillance program with benzene exposed workers. *American Journal of Industrial Medicine*, 44(5), 467- 473.
- Bowman, B. & Russell, R. (2003). *Conocimientos Actuales Sobre Nutricion.*/(8^a ed.)Washington, D.C: Organización Panamericana de la Salud e Instituto Internacional de Ciencias de la Vida
- Brizuela, J. y Jiménez, Y. (2010). Niveles urinarios de fenol y ácido hipúrico en trabajadores de una empresa de pintura automotriz. *Salud de los trabajadores*, 18(2): 107-115.

- Cano, C., Bermúdez, V., Sulbarán, G., Morales, R., Medina, M., Amell, A, et al. (2001). Influencia de la edad y el sexo en el balance oxidación / antioxidación. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 20 (1): 63-68.
- Chavéz J, Suárez G, Gonzáles Z, Núñez R, Socarrás E, Amel A, et al. (2001). Determinación de malondialdehído y óxido nítrico en individuos fumadores. *Medicina Interna (Caracas)*; 17(2): 111-115.
- Corral, Y., Fuentes, N., Maldonado, C., Brito, N. (2011). *ALgunos Tópicos y Normas Generales Aplicables a la Elaboración de Proyectos y Trabajos de Grado y Ascenso*. Caracas: Fondo Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador (FEDUPEL).
- Delgado, L., Betanzos, G., Sumaya, M. T. (2010). Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. *Red de revista científica de america latina, el caribe, españa y portugal*, 50: 10-15.
- Devlin, T. (2008). *Bioquímica*. (4^a.ed.).Barcelona España: Reverté.
- Draper H, Squires E, Mah H, Wu J, Agarwal S, Hadley M.(1993). *A comparative evaluation for thiobarbituric acid methods for the determination of malondialdehyde in biological materials*. *Free Radical Biology & Medicine*. 15: 353-363.
- Elejalde, J. (2001). *Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes*. *Anales de medicina interna*, 18(6):326-335
- Fernández, J., Oroño, A. (2001). Función hepática de trabajadores ocupacionalmente expuestos a solventes orgánicos mixtos en una Industria Petroquímica *Investigación Clínica*, 42(2): 87-107.
- Fonseca, P. H. (2010). *Vigilancia medica para los trabajadores expuestos a Benceno, Tolueno y Xileno*. [Trabajo en línea]. Trabajo de grado no publicado.

Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario, Colombia.

Disponible:

<http://repository.urosario.edu.co/bitstream/10336/1737/1/52088171.pdf>.

[Consulta: 2010, Enero 8].

Fustinoni, S., Campo, L., Satta, G., Campagna, M., Ibba, A., Tocco, MG., et al. (2012). *Environmental and lifestyle factors affect benzene uptake biomonitoring of residents near a petrochemical plant*. *Environment International*. 39(1):2-7.

Galbraith, D. (2010). Benzene and human health: A historical review and appraisal of associations with various diseases. *Critical Reviews in Toxicology* , 40 Suppl 2:1-46.

García, G., García, A., Mejía, O., Clavijo, D., Hernández, S., Báez, S., Cobos, C.(2006). Aspectos bioclínicos y patobiológicos de la vitamina C en la especie humana. *CES Medicina*, 20 (2): 53-72.

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). (2009). Evaluación de la exposición a benceno: control ambiental y biológico. [Documento en línea]. España. Disponible en: http://www.insht.es/Inshtweb/Contenidos/.../NTP/Ficheros/.../ntp_486.pdf ... [Consulta: 2010, Enero 8].

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT). (2004). *Riesgos higiénicos de los trabajadores de estaciones de servicio*. [Documento en línea]. España. Disponible en: <http://www.insht.es/InshtWeb/Contenidos/Documentacion/FichasTecnicas/NTP/Ficheros/752a783/ntp%20775.pdf> . [Consulta: 2010, Enero 8].

International Agency for Research on Cancer (IARC). (1982). *Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, Suppl. 4,

Chemicals, Industrial Processes and Industries Associated with Cancer in Humans (IARC Monographs, Volumes 1 to 29).

Laboratorio Industrial Refinería el Palito-Venezuela (PDVSA), entrevista personal, octubre 15, 2014.

[Lovreglio, P.](#), [Carrieri, M.](#), [Barbieri, A.](#), [Sabatini, L.](#), [Fracasso, M.](#), [Doria, D.](#), et al. (2011). Applicability of urinary benzene to biological monitoring of occupational and environmental exposure to very low benzene concentrations. *Giornale Italiano di Medicina del Lavoro ed Ergonomia*, 33(1): 41- 46.

Lykkesfeldt, J., Christen, S., Wallock, L., Chang, H., Jacob, R., Ames, B. (2000). Ascorbate is depleted by smoking and repleted by moderate supplementation: a study in male smokers and nonsmokers with matched dietary antioxidant intakes. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71:530 - 536.

Mahan, L. & Escott-Stump, S. (2009). *Krause Dietoterapia*. (12.^a ed.) Barcelona España: Gea Consultoría Editorial, S.L.L.

Márquez, N., Parra, M., Mendoza, F., Ramírez, Y. (2003). Estrés oxidativo en pacientes con diagnóstico de síndrome coronario agudo que ingresan a la unidad de cuidados coronarios de la Ciudad Hospitalaria Dr. Enrique Tejera, en el periodo Enero-Mayo del 2003: TEG-UCV [Trabajo de Grado]. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Medicina, Caracas -Venezuela.

Martínez, A. y Cuevas, M. (2011). *Producción de BTX en México usos, toxicología y análisis*. *Revista académica de investigación*, [Trabajo en línea]. Trabajo no publicado. Universidad Veracruzana, Facultad de Ciencias Químicas, Veracruz, México. Disponible: <http://www.eumed.net/rev/tlatemoani/05/mtcd.htm> [Consulta: 2011, Marzo 5].

- Martins, I. y Pereira, M. (2004). Trans, Trans-Muconic Acid in urine samples collected in three periods from benzene handling workers in a Brazilian refinery. *Revista Brasileira Ciências, Farmacéutica*, 40(2):197-202.
- Ministerio del Poder Popular para Ciencia, Tecnología e Innovación (MCTI). (2010). *Código de Ética para la Vida*. Caracas: Fondo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación. Caracas; 24-28.
- National Institute for Occupational Safety and Health (NIOSH). (1984). Centers disease Control. Hippuric and methyl hipuric, acid in urine. *Manual of Analytical Methods*. 4th. edition. Atlanta.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (1997). Health and Environment in Sustainable Development - Five Years the Earth Summit. WHO/EGH/97 (original en inglés). Geneva. Cap. 1. [Documento en línea]. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_EHG_97.12_eng.pdf. [Consulta: 2010, Enero 8].
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2000). Salud de los trabajadores en la región de las Américas. *Documento del 41er Consejo Directivo Resolución*, N CD41.R13. [Documento en línea]. Washington, DC: Autor. Disponible en: <http://devserver.paho.org:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1411/CD41.R13sp.pdf?sequence=2>
- [Pérez, C.](#), [Bosia, JD.](#), [Cantore, MS.](#), [Chiera, A.](#), [Coccozzella, DR.](#), [Adrover, R.](#), et al. (2006). Daño hepático en trabajadores expuestos a hidrocarburos. *Gastroenterología y hepatología*, 29(6):334-337.

- Periago, J. y Prado, C. (2002). Análisis de la evolución en la exposición laboral a benceno en estaciones de servicio marcadores ambientales y biológicos. *Revista de toxicología*, 19(3): 97-114.
- [Pesatori, A.](#), [Garte, S.](#), [Popov, T.](#), [Georgieva, T.](#), [Panev, T.](#), [Bonzini, M.](#), et al. (2009). Early effects of low benzene exposure on blood cell counts in Bulgarian petrochemical workers. *La Medicina de Lavoro*, 100 (2):83-90.
- Prieto, J. y Yuste, J. (2010). *Balcells. La clínica y el laboratorio interpretación de análisis y pruebas funcionales exploración de los síndromes cuadros biológicos de las enfermedades.*(21.^a edición). Barcelona, España: Elsevier España, S.L.
- Rodríguez, M., Fernández, Y., Marrero, S., Aular, Y., Moscoso, M., Peña, K., et al. (2010). Capacidad respiratoria, niveles de Vitamina C y Malonilaldehído en estudiantes de bioanálisis fumadores y no fumadores. *Revista del Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel"*, 41(1): 7-13.
- Rodríguez, Y., Ochoa, N., Pineda, M. (2010). *La experiencia de Investigar. Recomendaciones precisas para realizar una investigación y no morir en el intento.*(3^{era} ed).Valencia. Universidad de Carabobo.
- Roe, J., Kuether, C., Zimler, R. (1946). The distribution of ascorbic acid in the blood. Department of biochemistry, school of medicine, George Washington University. Washington, DC.
- Rojas, M. (2011). *Toxicología Ambiental y Ocupacional*. Valencia: Dirección de medios y publicaciones de la Universidad de Carabobo.
- Sánchez, M., Santiago, E., Vargas, L., Mendoza, V. (2004). Propuesta de un constructo para evaluar integralmente el estrés oxidativo. *Bioquímica*, 29(3): 81-90.

Siemens. (2008). Dimension® clinical chemistry system.

Singh, M., Ram, K., Mishra, M., Shivastava, M., Saxena, D., Chowdhuri, D. (2010). Effects of co-exposure of benzene, toluene and xylene to *Drosophila melanogaster*: alteration in hsp70, hsp60, hsp83, hsp26, ROS gene and oxidative stress markers. *Chemosphere*, 79(5):577-87.

Uzma, N., Kumar, B., Hazari, M. (2010). Exposure to benzene induces oxidative stress, alters the immune response and expression of p53 gasoline filling workers. *American Journal of Industrial Medicine*, 53 (12):1264-1270.

Waidyanatha, S., Rothman, N., Fustinoni, S., Smith, M.T., Hayes, R.B., Bechtold, W. (2001). Urinary benzene as a biomarker of exposure. *Carcinogenesis*, 22 (2): 279-86.

Wiwanitkit, V., Suphan, S., Suwansaksri, J. (2007). A correlative study on red blood cell parameters and urine trans, trans-muconic acid in subjects with occupational benzene exposure. *Toxicology Pathology*, 35: 268-269.

ANEXOS



ANEXO (A)
UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA



CONSENTIMIENTO INFORMADO

La Lcda. Liliana E. Torres M, C.I: 14.463.425, llevará a cabo un estudio titulado **“BENCENO URINARIO, ESTRÉS OXIDATIVO Y PERFIL HEMATOLÓGICO, HEPÁTICO Y RENAL EN TRABAJADORES DE ESTACIONES DE SERVICIO EN LA ZONA NORTE DE VALENCIA-VENEZUELA, 2012-2013”**, cuyo objetivo es Evaluar los niveles de benceno urinario, biomarcadores de estrés oxidativo, perfil hematológico, hepático y renal en trabajadores de estaciones de servicio en la zona norte de Valencia, 2012

Su participación en el estudio consistirá en la toma de una muestra sanguínea y de orina a fin de realizar los análisis necesarios para poder determinar los niveles de benceno urinario, niveles séricos de malondialdehído, niveles séricos de vitamina C, perfil hematológico hepático y renal respectivamente, esta toma de muestra no será dolorosas y no le causará ningún problema. Además de esto, deberá responder un cuestionario estructurado con una serie de preguntas que serán útiles para la investigación. Es necesario resaltar que la participación es voluntaria, y no recibirá compensación económica por la misma, asimismo la información obtenida a través de su participación es estrictamente confidencial y de uso exclusivo en la investigación.

Autorización: Yo, _____ voluntariamente consiento participar en dicha investigación. Se me ha explicado que dicho estudio no conllevará riesgo alguno, que no recibiré compensación económica y que los datos obtenidos en dicha investigación serán empleados de manera confidencial.

Firma: _____ C.I: _____ Fecha: ____ / ____ / ____

ANEXO (B)
UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA

Valencia, _____ de 2013

ENCUESTA

NOMBRES Y APELLIDOS:

EDAD _____ SEXO: M () F ()

PROCEDENCIA _____

1. TIEMPO EN EL QUE USTED SE HA DEDICADO A ESTA OCUPACIÓN

2. TIEMPO LABORANDO EN LA EMPRESA:

DÍAS (), MESES (), AÑOS ()

3. DURACIÓN DE LA JORNADA LABORAL _____ HORAS
DIARIAS

4. TIEMPO DE EXPOSICIÓN / DÍA _____
SEMANAL _____

5. USO DE EQUIPOS DE PROTECCIÓN PERSONAL:

EQUIPOS DE PROTECCIÓN	SÍ	NO
ROPA ADECUADA (BRAGA)		
GUANTES		
BOTAS DE SEGURIDAD		
LENTES DE SEGURIDAD		
MASCARA		

HÁBITOS / ANTECEDENTES:

6. HÁBITO TABÁQUICO: CIGARRILLOS: _____

TABACO: _____

7. CUÁNTOS DIARIOS?

0-4 _____ 5-9 _____ 10-14 _____ 15 - 20 _____ MAS DE 20 _____

8. HÁBITOS ALCHÓLICOS:

DIARIOS: _____ CUANTOS: 1 COPA (), 2 COPAS ()

SEMANAL: _____ CUANTOS: 1 COPA (), 2 COPAS ()

EVENTUAL: _____ CUANTOS: 1 COPA (), 2 COPAS ()

9. INGIERE ALGÚN MEDICAMENTO ACTUALMENTE

NO: _____ SÍ: _____ ¿CUÁLES? _____

10. ANTECEDENTES PATOLÓGICOS:

HA PRESENTADO ALGUNA DE ESTAS ENFERMEDADES EN LOS
ULTIMOS 6 MESES.

HEPÁTICOS: HEPATITIS _____

RENALES _____ INFECCIONES URINARIAS _____

HEMATOLÓGICOS: ANEMIAS _____

OTRAS ENFERMEDADES: DIABETES _____

HIPERTENSIÓN _____ OTRAS _____ ESPECIFIQUE _____

ANEXO (C)

PO Box 100, CT 06513
USA



AccuStandard® Inc.

1000
Tel: (800) 541-4511
www.AccuStandard.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

CATALOG NO: ASM-084
DESCRIPTION: Volatile Compounds VII
LOT: 212011249
SOLVENT: Methanol

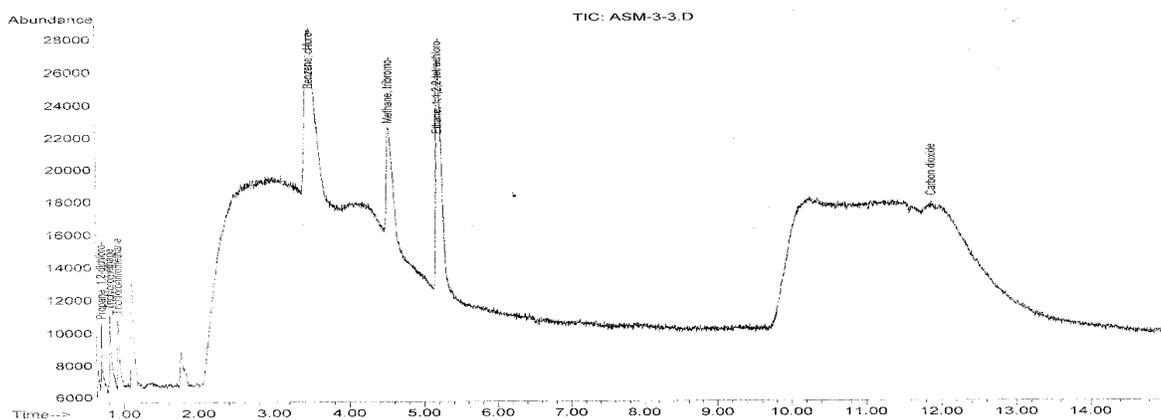
EXPIRATION: Jan 25, 2014
DATE CERTIFIED: Jan 25, 2012
SAMPLE SIZE: 1 mL
STORAGE CONDITION: Ambient
HAZARDS: HIGHLY FLAMMABLE

Refer to the MSDS for additional safety information

- X Included on ISO/IEC 17025 Scope of Accreditation
- X Included on ISO Guide 34 Scope of Accreditation

Component	Cas Number	Purity % (GC/FID)	Prepared Concentration ¹ (µg/mL)	Certified Analyte Concentration ² (µg/mL)
Bromoform	75-25-2	99.6	2001	1993
Carbon tetrachloride	56-23-5	100	2001	2001
Chlorobenzene	108-90-7	100	2000	2000
Chloroethene	75-00-3	99.7	2000	1994
Chloroform	67-66-3	100	2002	2002
1,1-Dichloroethane	75-34-3	99.6	2002	1994
1,1-Dichloroethene	75-35-4	99	2001	1981
1,2-Dichloropropane	78-87-5	99.5	2001	1991
Methylene chloride	75-09-2	99.9	2001	1999
1,1,1,2-Tetrachloroethane	79-34-5	98.3	2001	1967
1,1,2-Trichloroethane	79-00-5	98.7	2001	1975
Trichloroethene	79-01-6	100	2003	2003

File: J:\NCHMS\2013\Agosto\B\ASM-3-3.D
 Operator: Bruce Bui
 Acquired: 11 Aug 2013 22:52 using AcqMethod COV.M
 Method: ENCEMETHO
 Sample Name: 100 µl/ml methanol 100 %
 Inj. Port: 1
 Inj. Volume: 2



12 Components

1. All weights are traceable through NIST, Test No. 822-275872-11
 2. Certified Analyte Concentration = Purity x Prepared Concentration. The uncertainty associated with the gravimetric values reported on this certificate is ±0.24%. The CRM Uncertainty calculated for this product is ±5%. These values are the expanded uncertainty and represent an estimated standard deviation equal to the positive square root of the total variation of the uncertainty of components. A normal distribution is assumed and a coverage factor of 1.96 is chosen using approximately a 95% confidence level.
 3. A product with a suffix (-1A, -2B, etc. or -01, -02, etc.) on its label has had its expiration date extended and is identical to the same lot# without the suffix.

For use in routine laboratory analysis.

Certified by: *[Signature]*
 Bruce Bui, Analyst

ANEXO (D)
(Cromatógrafo de Gas/Masa con detector FID)

