



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



**NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y POSIBLES  
ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A  
TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA AUTOMOTRIZ  
DE VALENCIA, ESTADO CARABOBO, AÑO 2019**

**AUTOR: LCDA. JENIFER REMOLINA**

**TUTOR: DRA. YOLIMA FERNÁNDEZ**

**NAGUANAGUA, MAYO 2022**



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



**NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y POSIBLES  
ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A  
TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA AUTOMOTRIZ  
DE VALENCIA, ESTADO CARABOBO, AÑO 2019.**

**AUTOR: LCDA. JENIFER REMOLINA**

Trabajo presentado ante la Dirección de Postgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, para optar al grado de Magister en Toxicología Analítica.

**NAGUANAGUA, MAYO 2022**



## ACTA DE DISCUSIÓN DE TRABAJO DE GRADO

En atención a lo dispuesto en los Artículos 137, 138 y 139 del Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, quienes suscribimos como Jurado designado por el Consejo de Postgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud, de acuerdo a lo previsto en el Artículo 135 del citado Reglamento, para estudiar el Trabajo de Grado titulado:

### **NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y POSIBLES ALTERACIONES NEUROLOGICAS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA AUTOMOTRIZ DE VALENCIA, ESTADO CARABOBO. AÑO 2019.**

Presentado para optar al grado de **Magíster en Toxicología Analítica**, por el (la) aspirante:

**REMOLINA P., JENIFER C.**  
**C.I. V- 20445433**

Habiendo examinado el Trabajo presentado, bajo la tutoría del profesor(a): Yolima Fernández C.I. 13382234, decidimos que el mismo está **APROBADO** .

Acta que se expide en valencia, en fecha: **10/05/2022**

**Prof. Yolima Fernández (Pdte)**

C.I. 13382234

Fecha: 10-05-2022

**Prof. Yalitzia Aular**

C.I. 4.310.690

Fecha: 10/05/2022

TG: 86-21



**Prof. Aura Palencia**

C.I. 11.147.392

Fecha: 10-05-2022



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



**CONSTANCIA DE ACEPTACIÓN DEL TUTOR**

**NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y  
POSIBLES ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN INDIVIDUOS  
EXPUESTOS A TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA  
AUTOMOTRIZ DE VALENCIA, ESTADO CARABOBO, AÑO 2019.**

**TUTORA:** Dra. Yolima Fernández

Acepto la tutoría del presente trabajo según la condición en la Dirección de Postgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo.

---

**C.I: 13.382.234**

**NAGUANAGUA, MAYO 2022**



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



**CONSTANCIA DE APROBACIÓN DEL PROFESOR DE SEMINARIO**

**NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y  
POSIBLES ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN INDIVIDUOS  
EXPUESTOS A TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA  
AUTOMOTRIZ DE VALENCIA, ESTADO CARABOBO. AÑO 2019.**

Aprobado por la dirección de postgrado de la facultad de ciencias de la salud  
de la Universidad de Carabobo por:

**ASESORA:** Dra. Yolima Fernández. Profesora de Seminario de Investigación  
Toxicológica y Trabajo de Grado.

**C.I: 13.382.234**

**NAGUANAGUA, MAYO 2022**



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

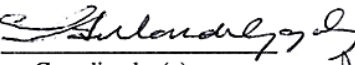
**ACTA DE APROBACIÓN DEL PROYECTO  
DE TRABAJO DE GRADO**

Los Miembros de la Comisión Coordinadora de la Maestría en: Toxicología Analítica, hacen constar que han leído el Proyecto de Trabajo de Grado, presentado por la ciudadana: **JENIFER REMOLINA**, cédula de identidad N° 20.445.433, para optar al título de Magíster en: **Toxicología Analítica**, cuyo título es: **“NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y POSIBLES ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA AUTOMOTRIZ DE VALENCIA, ESTADO CARABOBO. AÑO 2019”**, y que el mismo está **APROBADO** ya que reúne los requisitos de factibilidad, originalidad e interés que plantea la línea de investigación: Exposición a solventes en el ambiente ocupacional, establecida por esta Maestría. Igualmente, el mencionado Proyecto está enmarcado dentro de la normativa para la elaboración y presentación de los trabajos de grado para esta Maestría.

La profesora **YOLIMA FERNÁNDEZ**, C.I. N°: 13.382.234, aceptó la tutoría de éste trabajo.

En Valencia, a los seis días del mes de Mayo de Dos mil diecinueve

**Comisión Coordinadora:**

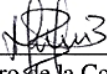
Prof.   
Coordinador(a)

Prof.   
Miembro de la Comisión

Prof.   
Miembro de la Comisión



Prof.   
Miembro de la Comisión

Prof.   
Miembro de la Comisión

## **DEDICATORIA**

A Dios padre todopoderoso, al hijo y al Espíritu santo, quien me da la fortaleza y perseverancia día a día, para asumir cada reto.

A mi ángel hermoso mi David Jesús, el príncipe de mamá, mis abuelos y mi padre que desde el cielo sé que me cuidan y siempre estarán conmigo, a ustedes les dedico este logro.

A mi Madre y hermana por apoyarme en cada decisión, con amor y constancia.

A mi esposo David, por ser la fuerza necesaria que necesitaba, por ser una gran fuente de inspiración y por demostrarme su amor en todo momento.

## AGRADECIMIENTOS

A Dios padre todopoderoso, por su infinita misericordia todos los días.

A la ilustre e insigne Universidad de Carabobo, por recibirme en sus aulas una vez más y permitirme formarme en este nuevo profesional.

Quiero expresar un especial agradecimiento a mi tutora, Dra. Yolima Fernández, por impulsarme a seguir y avanzar hacia el logro de esta meta.

A la Dra. Yalitz Aular, por creer en mí y por ser un gran ejemplo para seguir como profesional y como persona.

A mis profesores de la Maestría, por el cariño y conocimiento impartido durante mi formación.

Agradezco a los diferentes talleres visitados por todo el apoyo prestado, durante la recolección de las muestras, a sus trabajadores por ser atentos y prestarnos su colaboración durante la realización del trabajo.

Al Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC), por prestarme su espacio para la realización experimental del trabajo.

Igualmente, a todas aquellas personas que de una u otra manera colaboraron para la realización de esta investigación.



## INDICE

<b>TITULO</b>	<b>PAG</b>
Portada	ii
Constancia de aceptación del tutor	iii
Constancia de aprobación del profesor de seminario	iv
Acta de aprobación del proyecto	v
Veredicto	vi
Dedicatoria	vii
Agradecimiento	viii
Índice general	ix
Índice de tablas	xi
Índice de figuras	xii
Resumen	xiii
Abstract	xiv
<b>CAPÍTULO I: EL PROBLEMA</b>	
<b>1.1.Planteamiento del problema</b>	15
<b>1.2.Objetivos</b>	19
Objetivo general	19
Objetivo específicos	19
<b>1.3.Justificación</b>	20
<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO</b>	
<b>2.1. Antecedentes</b>	22
<b>2.2. Bases teóricas</b>	26
Tolueno : generalidades	26
Propiedades físico- químicas	27
Fuentes de exposición	27
Toxicocinética del tolueno	28
Límites de exposición	33
Toxicodinamia del tolueno	34
Estrés oxidativo	37
Peroxidación lipídica	38
Sistema antioxidante	40
Vitamina C	40
Catalasa	42
Intoxicación por tolueno	43
Intoxicación aguda	43
Intoxicación crónica	44
Sintomatología neurológica	44
<b>2.3. sistema de hipótesis</b>	45

<b>2.4. sistema de variables</b>	46
<b>2.5. Operacionalización de variables</b>	47
<b>2.6. definición de términos</b>	49
<b>CAPÍTULO III: MARCO METODOLOGICO</b>	
<b>3.1. Tipo de investigación</b>	51
<b>3.2. diseño de investigación</b>	51
<b>3.3. Población</b>	51
<b>3.4. Muestra</b>	52
<b>3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos</b>	53
<b>3.6. Procedimiento metodológico</b>	53
<b>3.7. Consideraciones Bioéticas</b>	54
<b>3.8. Toma de muestra</b>	55
<b>3.9. Análisis de las muestras</b>	57
3.9.1. Determinación de Ácido Hipúrico en orina NIOSH 8300	57
3.9.2. Determinación de creatinina	57
3.9.3 Determinación de Malondialdehido (MDA)	58
3.9.4. Determinación de Ácido ascórbico (vitamina C)	58
3.9.5. Determinación de Catalasa Eritrocitaria	59
3.9.6 Síntomas neurológicos y psicológicos	59
3.9.7 Análisis estadísticos	60
<b>CAPÍTULO IV: RESULTADOS</b>	61
<b>CAPÍTULO V: DISCUSIÓN</b>	75
<b>CAPÍTULO VI: CONCLUSIÓN</b>	81
<b>RECOMENDACIONES</b>	82
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	83
<b>ANEXOS</b>	89

## INDICE DE TABLAS

<b>N</b>	<b>DESCRIPCIÓN</b>	<b>PAG</b>
1	Distribución del grupo expuesto según el tiempo de exposición	61
2	Distribución del grupo expuesto según su cargo	62
3	Uso de equipos de protección personal	63
4	Distribución de la muestra en estudio según el habito	63
5	Signos y síntomas referidos por GE y GNE	64
6	Distribución de síntomas neurológicos y psicológicos referidos por el test PNF	65
7	Comparación de AH-O corregido y sin corregir, en individuos expuestos y no expuestos	66
8	Concentración de AH-O corregido y sin corregir según tiempo de exposición en el grupo expuesto.	67
9	Valores de Malondialdehido en individuos expuesto y no expuesto	68
10	Valores de MDA según el tiempo de exposición del grupo expuesto.	68
11	Niveles séricos de Vitamina C, en individuos expuestos y no expuestos.	69
12	Niveles séricos de Vitamina C según el tiempo de exposición del GE.	69
13	Actividad Catalasa eritrocitaria, en individuos expuesto y no expuesto.	70
14	Actividad Catalasa eritrocitaria según el tiempo de exposición del grupo expuesto.	71
15	Relación entre los niveles de AH-O corregidos y sin corregir, niveles de vitamina C, MDA, CAT y tiempo de exposición	72
16	Asociación entre el punto de corte del ácido hipúrico en orina y tiempo de exposición.	73
17	Asociación entre signos y síntomas y el punto de corte del AH en orina	74

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA 1.</b> Esquema del Metabolismo del Tolueno.....	30
<b>FIGURA 2.</b> Participación de las isozimas CYP.....	32
<b>FIGURA 3.</b> Daño Celular Mediado por Radicales Libres .....	37

# **NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y POSIBLES ALTERACIONES NEUROLÓGICAS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA AUTOMOTRIZ DE VALENCIA, ESTADO CARABOBO. AÑO 2019**

**Autor: Jenifer Remolina**

**Tutora: Dra. Yolima Fernández**

**Año: 2022**

## **RESUMEN**

Uno de los grupos más susceptibles a la acción tóxica del tolueno son los pintores de vehículos del sector informal, quienes trabajan sin adecuadas prácticas de seguridad laboral, lo que los predispone a la acción neurológica, mutagénica y cancerígena ocasionada por el tolueno. El objetivo del presente trabajo fue "Evaluar los niveles de ácido hipúrico, estatus antioxidante y posibles alteraciones neurológicas en individuos expuestos y no expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia estado Carabobo." Se trató de un estudio no experimental, descriptivo, correlacional y de corte transversal, donde se caracterizaron las condiciones de salud y trabajo de 51 individuos expuestos (GE), a la vez se comparó con un grupo de 40 trabajadores no expuestos (GNE). Se determinaron las concentraciones de ácido hipúrico en orina (AH-O) y los niveles de MDA, vitamina C y CAT como marcadores de estrés oxidativo. Se encontró que la concentración de AH-O del GE fue significativamente mayor en comparación con la del GNE (1,44 g/g de creatinina Vs 0,36 g/g de creatinina). Sin embargo, al correlacionar los parámetros Vitamina C, MDA, CAT, AH-O corregido y sin corregir, no se encontró una correlación estadísticamente significativa con el tiempo de exposición. En relación con los signos y síntomas neurológicos, se observó en el GE mayor prevalencia de dolor de cabeza (51 %) y hormigueo (17,65%), en comparación con el GNE. La determinación de AH-O y marcadores de estrés oxidativo permitió evaluar la exposición ocupacional al tolueno y el efecto de este sobre el mecanismo antioxidante de los trabajadores, presentándose una cierta correlación entre los parámetros en estudio.

**Palabras clave:** tolueno, exposición ocupacional, ácido hipúrico, estrés oxidativo, alteraciones neurológicas.

**HYPURIC ACID LEVELS, ANTIOXIDANT STATUS AND POSSIBLE  
NEUROLOGICAL ALTERATIONS IN INDIVIDUALS EXPOSED TO  
TOLUENE IN AUTOMOTIVE PAINTING WORKSHOPS IN VALENCIA,  
CARABOBO STATE. YEAR 2019**

**Author: Jenifer Remolina**

**Tutor: Dr. Yolima Fernández**

**Year 2022**

**ABSTRACT**

One of the groups most susceptible to the toxic action of toluene are vehicle painters in the informal sector, who work without adequate work safety practices, which predisposes them to the neurological, mutagenic and carcinogenic action caused by toluene. The objective of the present work was "To evaluate the levels of hippuric acid, antioxidant status and possible neurological alterations in individuals exposed and not exposed to toluene in automotive paint shops in Valencia, Carabobo state." It was a non-experimental, descriptive study, correlational and cross-sectional study, where the health and work conditions of 51 exposed individuals (EG) were characterized, and at the same time it was compared with a group of 40 unexposed workers (GNE). Concentrations of hippuric acid in urine (HA-O) and levels of MDA, vitamin C and CAT as markers of oxidative stress were determined. It was found that the HA-O concentration of the GE was significantly higher compared to that of the NSG (1.44 g/g creatinine vs. 0.36 g/g creatinine). However, when correlating the parameters Vitamin C, MDA, CAT, corrected and uncorrected AH-O, no statistically significant correlation was found with the exposure time. In relation to neurological signs and symptoms, a higher prevalence of headache (51%) and tingling (17.65%) was observed in the EG compared to the NG. The determination of AH-O and oxidative stress markers made it possible to evaluate occupational exposure to toluene and its effect on the antioxidant mechanism of workers, presenting a certain correlation between the parameters under study.

**Keywords:** toluene, occupational exposure, hippuric acid, oxidative stress, neurological disorders.

## CAPÍTULO I

### EL PROBLEMA

#### 1.1 Planteamiento del Problema

A raíz del enorme crecimiento y expansión industrial, los solventes orgánicos dentro de ellos el tolueno, han despertado un gran interés en diversos países del mundo ya que estas sustancias químicas son capaces de alterar no solo los ecosistemas, sino también la salud de los seres humanos. En diversas ocasiones la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha llamado la atención sobre la exposición a este tipo de sustancias químicas, del mismo modo la Organización Internacional del Trabajo (OIT) basada en sus estadísticas estima que cada año, a nivel mundial, dos millones de muertes son provocadas por el uso de este tipo de solvente, por lo que la salud ocupacional y la seguridad industrial conforman un binomio que procura la disminución de los riesgos laborales y la prevención de accidentes en el trabajo (Díaz y col, 2020). Los efectos de la exposición al tolueno dependerá de factores como la dosis, duración de la exposición, tipo de exposición y presencia de otras sustancias químicas, así como de las características y los hábitos de la persona (ATSDR, 2016).

El tolueno es un hidrocarburo aromático, líquido, incoloro; sus vapores son más densos que el aire, por lo que es más fácil de inhalar, se absorbe en el organismo principalmente a través del tracto respiratorio y, en menor proporción, a través de la piel, traspasa la membrana alveolar y se distribuye por los distintos tejidos en cantidades variables. Posteriormente, el tolueno es oxidado en su cadena lateral por los microsomas

hepáticos y el producto más importante de esta transformación, que representa aproximadamente un 68 % del tolueno absorbido, es el ácido hipúrico (AH), que aparece en la orina debido a la excreción renal. También pueden detectarse en la orina pequeñas cantidades de o-cresol (0,1 %) y p-cresol (1 %). La vida media biológica del AH es muy corta, del orden de 1 a 2 horas. La cantidad de tolueno retenida en el organismo está en función del porcentaje de grasa presente (OIT, 1998).

En la exposición aguda a este solvente se produce un síndrome de tipo narcótico, la intoxicación crónica conduce a encefalopatías que se presentan como un síndrome psico-orgánico debido a un envejecimiento precoz de funciones corticales, disfunción cerebelosa, daño en los nervios craneales, atrofia cortical y encefalopatía. Estas alteraciones derivan en sintomatología como alteraciones en la memoria, la concentración, aspectos cognitivos, pérdida de interés, apatía y falta de iniciativa, fatiga anormal, irritabilidad, cambios de humor y demencia, asimismo se incluyen alteraciones hepáticas, alteración del ciclo celular, muerte celular programada, alteraciones hematológicas, y estrés oxidativo de las enzimas (P450), (Cevallos P, 2021).

El estrés oxidativo es un estado fisiológico de desbalance entre sustancias prooxidantes (radicales libres -RL- altamente reactivos) y los mecanismos de defensa antioxidantes del organismo, este desequilibrio puede darse por aumento en la producción de prooxidantes (RL) como por una deficiencia en los mecanismo celulares de defensa, originando daño en los componentes celulares , entre ellos, los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) de la membrana celular, efecto que se conoce como peroxidación lipídica. La destrucción de los AGP de la membrana junto con la formación de puentes disulfuro en las cadenas proteicas y la ruptura de estos, provoca



desmoronamiento de la estructura de la membrana que conduce a una pérdida de la permeabilidad y posteriormente a la muerte celular; el punto final de la peroxidación lipídica es la formación de hidroperóxidos de ácidos grasos y metabolitos derivados (Carvajal C, 2019).

Debido a la necesidad de mantener los RL dentro de niveles compatibles con la función celular normal, los organismos han desarrollado mecanismos antioxidantes. Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato. Dentro de estos podemos encontrar 2 tipos: antioxidantes tipo endógeno: catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, S-transferasas, tioredoxina-reductasas y sulfoci-metionina-reductasas. Tipo Exógenos: las vitaminas: E y C, los betacarotenos, los flavonoides y los licopenos, fitoestrógenos polifenoles, glutatión, ácido úrico, ubiquinol (Co-enzima Q), melatonina (Alomar M, 2018).

En este sentido, la catalasa es una enzima con una amplia distribución en el organismo humano que tiene una alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido nervioso y a nivel celular se localiza en: mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos); la misma presenta dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa, y también forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno. Del mismo modo la Vitamina C tiene una actividad antioxidante significativa ya que actúa como un destructor de cadenas de los radicales para los peróxidos y además cumple la función de agente sinergias junto con la vitamina E (Cano y col, 2001).

En Venezuela la Ley Orgánica de Prevención Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (LOPCYMAT, 2007), dicta las normas y lineamientos, que permiten garantizar a los trabajadores las condiciones de seguridad, salud y bienestar en el ambiente de trabajo. Adicionalmente, la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN, 2003), establece los requisitos mínimos de selección y uso de equipos de protección respiratorios, indicando el uso de máscaras con filtros para vapores orgánicos (Pacheco, Alí, Reyes, 2017).

No obstante, hoy en día la actividad industrial en el país ha estado en constante declinar por motivo de la crisis económica, esto ha llevado a muchas empresas a disminuir su inversión tanto en materiales, equipos así como también en la seguridad del trabajador al mermar aún más el uso de materiales de protección para las jornadas laborales y por lo tanto las condiciones de bienestar, salud y seguridad, poniendo en riesgo al trabajador.

Bajo este contexto, en la presente investigación se plantean las siguientes interrogantes: ¿Cuáles serán las concentraciones de ácido hipúrico presente en los individuos que laboran en talleres de pintura automotriz?, ¿Cuáles serán los niveles de malondialdehído (MDA) y antioxidantes como Vitamina C y actividad de catalasa eritrocitaria (CAT) en los individuos que laboran en talleres de pintura automotriz?, ¿Cuál será la relación entre los biomarcadores de exposición y el estatus antioxidante en los individuos que se encuentran expuestos a tolueno? y finalmente ¿Cual efecto producirá la exposición a tolueno sobre el S.N.C de los individuos que laboran en talleres de pintura automotriz de Valencia estado Carabobo?.

## **1.2. Objetivos de la Investigación**

### **1.2.1 Objetivo General:**

Evaluar los niveles de ácido hipúrico, estatus antioxidante y posibles alteraciones neurológicas en individuos expuestos y no expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia estado Carabobo.

### **1.2.2 Objetivo Específicos:**

- Caracterizar a los individuos de acuerdo con el tiempo de exposición al solvente, hábitos, uso de equipos de protección y antecedentes patológicos.
- Determinar los signos y síntomas neurológicos en los individuos expuestos y no expuestos al tolueno.
- Determinar los niveles de ácido hipúrico como biomarcador de exposición al tolueno en individuos expuestos y no expuestos.
- Determinar los niveles de malondialdehído (MDA), vitamina C y actividad de catalasa eritrocitaria, como marcadores de estrés oxidativo en individuos expuesto y no expuesto a tolueno.
- Comparar los signos y síntomas, los niveles de ácido hipúrico y marcadores de estrés oxidativo de los grupos de estudio.
- Relacionar los biomarcadores y los factores clínico-epidemiológicos en estudio.

### **1.3. Justificación**

Los solventes orgánicos (SO) representan un riesgo para la seguridad y la salud de los trabajadores, como resultado de la exposición ocupacional, provocando diversos efectos en la salud y con repercusión en la calidad de vida de la población trabajadora; existe literatura científica que evidencia la acción de los solventes orgánicos sobre el organismo de los trabajadores que se desenvuelven en diferentes actividades laborales. En la industria de manufactura de pintura automotriz, se usa una gran variedad de disolventes como materia prima, en la elaboración de lacas, barnices, resinas, bases color, entre otros. Siendo los más utilizados el benceno, xileno y el tolueno (BTX), entre otros (Giannuzzi L, 2018).

El tolueno es uno de los solventes más utilizados a nivel industrial, con propiedades toxicas que varían desde la irritación de mucosas oculares y tracto respiratorio a cefaleas y manifestaciones motoras, así como hepatotoxicidad, por lo que la exposición de trabajadores que lo utilizan debe ser limitada y monitoreada. La exposición al solvente puede ser evaluada por distintos biomarcadores, incluyendo al ácido hipúrico en orina (Díaz y col, 2020).

La exposición a tolueno durante la jornada laboral puede causar la aparición de síntomas como: ligera somnolencia y jaqueca, irritación en nariz, garganta y tracto respiratorio durante una exposición aguda, los efectos de una sobreexposición crónica (largo plazo) ocasionan enfermedades crónicas al pulmón como el asma ocupacional (ATSDR, 2016).

El disocianato de tolueno es uno de los principales componentes de las pinturas automotrices relacionados con la aparición del asma ocupacional, aunque se desconoce el mecanismo que induce a dicha patología, se han descrito mecanismos inmunológicos y no inmunológicos como los genéticos y estrés oxidativo que puede estar involucrado en su desarrollo (OIT, OMS, 2018).

La administración de seguridad y salud ocupacional (OSHA) determinó el nivel aceptable de exposición a tolueno en el lugar de trabajo siendo este de 200 ppm como un promedio ponderado por tiempo para un día de trabajo de 8 horas, niveles de 500 ppm, son considerados peligrosos para la vida y salud del trabajador, por tal razón los trabajadores deberán contar con equipos de protección adecuados incluso cuando los niveles de tolueno se encuentren dentro los niveles aceptables (McKeown, 2018).

Estudios han demostrado que la falta de control sobre el uso adecuado de medidas de seguridad correspondiente para el manejo de estos compuestos químicos, constituye el factor principal de riesgo para los SO Por otro lado, en Venezuela, la mayoría de los trabajos realizados evalúan los diferentes biomarcadores de exposición a los SO relacionando solo la exposición o no a dichos solventes y si cumplen o no con valores permisible de los mismos, por tal razón el presente estudio resulta relevante ya que evalúa la exposición, el efecto neurológico y el estatus antioxidante en individuos expuestos y no expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia-estado Carabobo , con ello se pretende aportar nuevos datos sobre la problemática en estudio en el contexto regional y además dichos datos podrían servir como base para el diseño de asesorías programadas que se enfoquen en mejorar las condiciones de trabajo asegurando un estado de confort y seguridad laboral.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEORICO

#### 2.1. Antecedentes de la Investigación

Los solventes orgánicos presentan una gran capacidad lipotrófica que les permite distribuirse en forma masiva afectando a los sistemas linfáticos, hematopoyéticos, hígado, riñones y el sistema nervioso central, causando alteraciones de la capacidad antioxidante del organismo, así como también alteración de la función neurológica de los trabajadores expuestos a dichas sustancias químicas. Algunas de las investigaciones que respaldan dicha información son las siguientes:

Palma, Briceño, Idrovo, Varona (2015), realizaron un estudio para evaluar la exposición a solventes orgánicos en pintores de carros de la ciudad de Bogotá. Para ello se determinaron las concentraciones de benceno, tolueno y xileno en el aire y sus metabolitos en muestras de orina de los trabajadores expuestos y no expuestos (ácido fenilmercaptúrico, ácido hipúrico, ácido orto y para-metilhipúrico), utilizando cromatografía de capa liquida de alta resolución acoplada a espectrometría de masas para la medición. Se encontraron correlaciones positivas entre el tolueno en el aire y el ácido hipúrico en la orina de los individuos expuestos. Los niveles de metabolitos en orina encontrados en el grupo de los expuestos, fueron de 886 mg/g de creatinina para el ácido hipúrico y 322 mg/g de creatinina para el ácido ortometilhipúrico; los niveles de ácido para-metilhipúrico fluctuaron entre no detectables y 1,620 mg/g de creatinina, encontrando niveles de ácido hipúrico por encima de los límites permisibles en 18 % de los trabajadores. En conclusión

los pintores de carros están expuestos a niveles altos de solventes orgánicos en sus sitios de trabajos y no tienen condiciones adecuadas de higiene y seguridad industrial para realizar sus labores.

Asimismo, en el 2015, Thetkathuek, Jaidee, Saowakhontha, Ekburanawat, analizaron los factores de exposición que pueden conducir a síntomas neurológicos y la concentración de ácido metil hipúrico y de ácido hipúrico en trabajadores expuestos a tolueno y xileno en dos fábricas de pintura en Tailandia oriental. La concentración de ácido hipúrico tuvo un valor medio de 575,23 mg /g de creatinina, al comparar estadísticamente dicha concentración entre el grupo expuesto y el grupo no expuesto, se encontró que la concentración era estadísticamente diferente ( $p$  valor  $<0.001$ ) siendo este mayor en el grupo de los trabajadores expuestos. Con respecto a los síntomas neurológicos, la mayoría de los trabajadores tenían parestesia facial, debilidad, neuropatía periférica, anosmia, hiposmia, cambio de gusto, mareos y entumecimiento (56,5%). En conclusión, la alta concentración de ácido hipúrico en los trabajadores expuesto y las alteraciones neurológicas manifestadas por estos es debida al impacto de no proporcionar equipos de protección personal durante la jornada laboral.

Por otra parte, Xiong L, Zhou H, Liang Z, Ma Q, Liang S, Peng, Z (2016); realizaron un estudio cuyo objetivo fue determinar los niveles de BTX en el aire y niveles séricos de superóxido dismutasa (T-SOD), glutatión (GSH), malondialdehído (MDA), en muestras de sangre extraída de 200 trabajadores de las áreas de reabastecimiento y 52 empleados de las áreas de oficina de estaciones de servicios de la ciudad de Nanning (China). Las concentraciones de BTX de muestras de aire en las áreas de reabastecimiento de combustible fueron significativamente más altas que los de

las muestras de aire recolectadas en las oficinas. Con respecto a la medición de los indicadores de estrés oxidativo, los niveles de T-SOD, GSH en trabajadores del área de reabastecimiento fueron relativamente disminuidos (42,97 U/mL y 6,91 mg/L) en comparación con los valores obtenidos en trabajadores del área de oficina (48,70 U/mL y 8,85 mg/L), mientras que el MDA alcanzó niveles superiores en trabajadores del área de reabastecimientos que los que están en las áreas de oficina (3,02 Umol/L vs 2,42 Umol/L). Concluyendo que la exposición a la acción de los BTX puede reducir la capacidad antioxidante de los trabajadores afectándose con mayor probabilidad los trabajadores expuestos directamente a la acción de los BTX como son aquellos que se encuentran en las áreas de reabastecimiento.

Mientras que en el 2017, Pacheco, Ali y Reyes, determinaron los niveles de fenol y ácido hipúrico en orina, como indicadores biológicos de exposición ocupacional a benceno y tolueno en trabajadores de talleres de latonería y pintura de la ciudad de Maracay (Venezuela). Los niveles de fenol corregido con creatinina para el grupo con exposición, estuvo en un rango de 90,23 a 102,34 mg/g-creatinina presentando diferencias estadísticamente significativas con respecto al Índice Biológico de Exposición (BEIs) adoptado por la American Conference of Governmental Industrial Hygienist de Estados Unidos (ACGIH 2016), (hasta 50 mg/g-creatinina). En cuanto, a los niveles de ácido hipúrico estos fueron mayores en el grupo de trabajadores expuestos (0,13 a 0,96 g de ácido hipúrico/g de creatinina) sin embargo dichos valores estuvieron por debajo del Índice Biológico de Exposición (hasta 1,60 g ácido hipúrico/g-creatinina) a pesar de laborar bajo malas condiciones.



En otro orden de idea, Sánchez B, Prado L, León S, González R, Preciado M, (2017) en su trabajo titulado: Trabajadores de la industria petrolera (Ecuador) y síntomas en el sistema nervioso por exposición a diferentes niveles de solventes, analizaron los síntomas en el sistema nervioso en trabajadores de la industria petrolera expuestos a diferentes niveles de solventes, encontrando que el 72% de los trabajadores encuestados se exponen a sustancias químicas en diferentes niveles, 32% de los trabajadores presentaron resultados alterados en el Test de Retención Visual de Benton que evalúa memoria visual, percepción y habilidades viso constructivas y en un 9% se obtuvo resultados positivos para presencia de síntomas en el sistema nervioso ( Cuestionario Sueco Q – 16). Concluyendo que si existen diferencias estadísticamente significativas en la presencia de síntomas en el sistema nervioso de los trabajadores de mayor exposición a solventes como tolueno, xileno, benceno y sus mezclas.

Al realizar la evaluación clínica neurológica los hallazgos clínicos más relevantes fueron: presencia del déficit de concentración 45%, déficit de memoria 49% y déficit de atención 31,37%. Los autores concluyeron que el escaso o casi nulo uso de equipo de protección personal por parte del grupo de trabajadores expuestos aunado a la poca ventilación en el área laboral, pudiera favorecer la presencia de signos y síntomas asociados a la alteración del sistema nervioso central por exposición de solventes como el tolueno.

Por último en 2018, Viza y Pintado, determinaron la concentración de ácido hipúrico (AH) como indicador de exposición a tolueno y su efecto a la salud de los trabajadores de imprentas en Lima-Perú. La metodología de la investigación fue tipo descriptivo transversal, cuantitativa, diseño experimental, la muestra estuvo conformada

por 30 trabajadores que laboran en el área de imprentas. Los resultados obtenidos del AH tuvieron una media de 0,71 g/L. estando por encima de los valores referenciales (0,10 g/L – 0,20 g/L); la concentración de AH encontrado se relacionó con los signos y síntomas que manifiestan los trabajadores de imprentas en un total de 73.3%, los signos y síntomas más frecuentes fueron: cefalea en 18%, problemas respiratorios 16%, ardor o picor en los ojos 13%. En conclusión, señalan que la concentración del AH como indicador de la exposición al tolueno se relaciona con el estado de salud de los trabajadores de las imprentas del centro comercial “Centro Lima”.

## **2.2 Bases Teóricas**

### **Tolueno**

#### **Generalidades**

- Nombre común: TOLUENO,
- Nombre químico: Metilbenceno,
- Sinónimos: Toluol, metil-benceno, fenil-metano.

Hidrocarburo aromático a partir del cual se obtienen derivados del benceno, ácido benzoico, fenol, caprolactama, sacarina, disocianato de tolueno (TDI) y trinitrotolueno (TNT). Químicamente se genera en el ciclo de hidrogenación del n-heptano en presencia de catalizadores y pasando por metilheptano. Además se obtiene como subproducto del etileno y propeno. El tolueno es un homólogo del benceno y se diferencia de este por la presencia de un grupo metilo, Esta pequeña diferencia estructural hace que el tolueno sea más liposoluble y menos volátil que el benceno, sus propiedades físico-químicas se detallan en la tabla 1 (ToxFAQs, 2017).

El tolueno se usa en la fabricación de pinturas, diluyentes de pinturas, barniz para las uñas, lacas, adhesivos, cauchos, imprenta, curtido de cueros, nylon y plástico; se añade a la gasolina junto a benceno y xileno para mejorar el octanaje. Este puede ser liberado al aire, el agua y el suelo en lugares donde se produce o usa. Datos de monitoreo del aire libre en los Estados Unidos demuestran que el tolueno está presente en niveles promedio de aproximadamente 1–35 partes por billón en volumen (ppbv). De acuerdo con la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) para el 2016, el tolueno es obtenido por el proceso de manufactura de la gasolina y de otros combustibles a partir del petróleo crudo y en la manufactura del coque a partir del carbón (ATSDR, 2016).

Apariencia	Incolora
Formula molecular	$C_7H_8$
Masa molar	92.1381 g/mol
Punto de fusión	-95 °C
Punto de ebullición	111 °C
Límite de explosividad	Superior, 7,1%, inferior 1,2% (concentración en aire)
Viscosidad	0.590 cP
Solubilidad	Prácticamente insoluble en agua, miscible en disolventes orgánicos

**Tabla 1.** Propiedades físico-químicas del tolueno. **Fuente:** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT) 2007

### Fuentes de exposición

- Fuentes involuntarias (65%), emisiones del motor de vehículos y aviones y las pérdidas durante las actividades de comercialización de gasolina, derrames y humo de cigarrillos.

- Procesos en los que se usa tolueno (curtido de cuero, imprentas, antidetonantes, deshidratante de alcoholes, desnaturalizante, preparación de carburantes, etc.)
- Generalmente no se detecta tolueno en alimentos o agua potable.

## **Toxicocinética**

### **Absorción**

El tolueno es capaz de penetrar en el cuerpo humano a través de tres vías como son: el aparato respiratorio, tracto digestivo y en menor proporción la piel, siendo el aparato respiratorio la principal vía de ingreso en los trabajadores por inhalación de vapores, se estima que la absorción pulmonar del vapor equivale al 40%-60% del total de la cantidad inhalada. La importancia de esta vía de entrada radica en la gran superficie de absorción de los alveolos pulmonares que expone al tóxico cerca de 80 m<sup>2</sup> y la débil barrera de protección de los alveolos, así como su íntimo contacto con el torrente circulatorio, por lo que el tolueno llegará con más rapidez a la sangre que por otras vías; su absorción puede ocurrir en la boca, el estómago y el intestino delgado. La cantidad de tolueno absorbido por cada órgano del tracto gastrointestinal depende del tiempo de contacto, el área de absorción y la partición entre la membrana lipídica y los lípidos del tracto gastrointestinal (Pérez y Miranda, 2014).

### **Distribución**

Se distribuye rápidamente en el organismo observando una mayor concentración en el tejido adiposo, seguido por medula ósea, glándulas suprarrenales, riñones, hígado, cerebro y sangre. Una vez absorbido es distribuido a los órganos favoreciendo aquellos con más contenido de lípidos, en este sentido su naturaleza lipófila le permite cruzar la

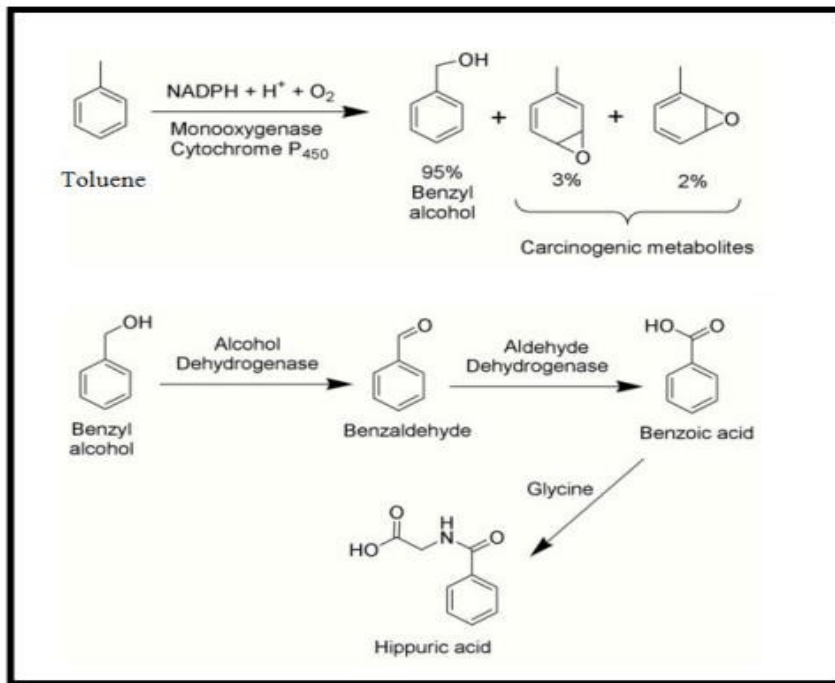
barrera hematoencefalica permitiéndole una alta penetración a nivel cerebral (Copaja, 2015).

El tolueno aparece asociado con la hemoglobina, se cree que dicho fenómeno es debido a que interactúa con el núcleo hidrofóbico de la hemoproteína, dicha interacción con los glóbulos rojos incrementa la cantidad de tolueno que puede ser transportado a las diferentes partes del cuerpo incluyendo el cerebro, ya que una vez que es absorbido este es distribuido a tejidos ricos en grasas y tejidos altamente vascularizados como el cerebro.

### **Metabolismo**

El tolueno es metabolizado en el hígado, debido a la alta concentración de CYP isoenzimas presente en este órgano. La fracción de tolueno que es retenida en el organismo (80%) es metabolizada en los microsomas hepáticos por el sistema monooxigenasas (citocromo P-450 o CYP isoenzima) la cual hidroxila al tolueno en su cadena lateral a alcohol bencílico (radical metilo pasa a carboxilo), el cual posteriormente por la acción de las enzimas alcohol-deshidrogenasa (ADH) y aldehído deshidrogenasa (AIDH) lo transforman en ácido benzoico que luego se conjuga con la glicina formando ácido hipúrico, el producto más importante de esta transformación que representan aproximadamente un 68% del tolueno absorbido que aparece en la orina debido a la excreción renal que suele producirse en los túbulos proximales.

La hidroxilación del anillo para formar orto-cresol (0,1%) o para-cresol (1%) representa menos del 5% del total de metabolitos formados (ATSDR, 2000).



**Figura 1.** Esquema del Metabolismo del Tolueno. **Fuente:** Klaassen y Watkins J. 2001

El paso limitante de la velocidad del metabolismo de tolueno es la conversión del alcohol bencílico por el citocromo P-450 en el hígado. Varias isoenzimas P450 están involucradas en el metabolismo siendo la CYP2E1 la más activa en la formación de alcohol bencílico y que puede ser inducida por la exposición repetida a tolueno.

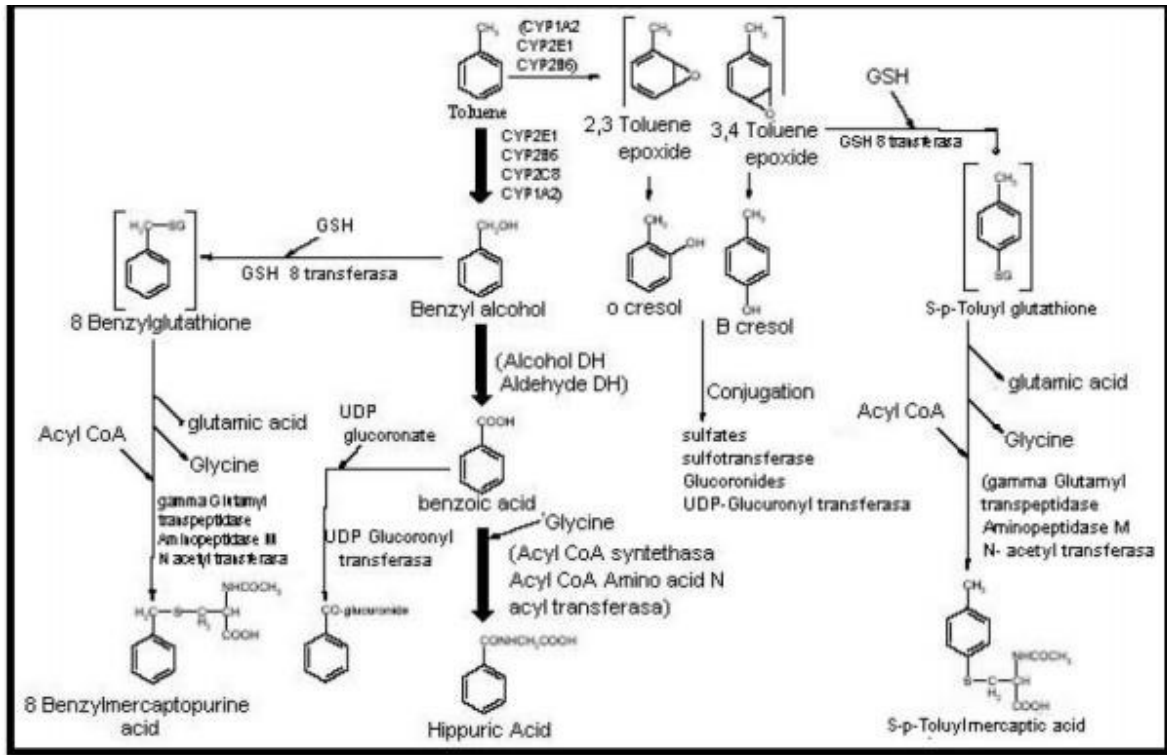
CYP2E1, en bajas concentraciones de tolueno, contribuye con la formación de alcohol bencílico y para-cresol; el CYP1A1/2 contribuye con la formación del ortocresol y para-cresol; y el CYP2B1/2 y el CYP2C11/6 (en altas concentraciones de tolueno) contribuye con la formación de alcohol bencílico, orto-cresol y para-cresol (ATSDR 2000).

Las actividades del CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A3, CYP3A4 y CYP3A5, son negativas en el metabolismo del tolueno. El CYP1A2 también está activo durante la formación de orto-cresol y para-cresol (22% y 35% del total de metabolitos).

El CYP2E1 y CYP2B6 catalizan la formación de para-cresol (11-12% del total de metabolitos).

Actualmente se piensa que el alcohol bencílico es convertido en ácido benzoico por las enzimas alcohol deshidrogenasa y aldehído deshidrogenasa, luego la formación del ácido hipúrico a partir del ácido benzoico es catalizada por las enzimas acil-CoA sintetasa y acil-CoA-aminoácido-N-acil-transferasa. La conjugación del ácido benzoico con el ácido glucurónico para formar benzoilglucurónido es catalizado por la enzima UDP glucuronil-transferasa.

La ingesta regular de etanol parece estimular el metabolismo oxidativo del tolueno, pero el poco consumo de etanol durante la exposición al tolueno inhibe la biotransformación del disolvente en ácido hipúrico y o-cresol y aumenta la fracción eliminada inmodificada en el aire espirado, sin embargo en recientes estudios realizados se ha llegado a la conclusión de que el consumo de etanol y el consumo de cigarrillos no influyen significativamente en el metabolismo del tolueno (Mendoza V, Vela J, 2016).



**Figura 2.** Participación de las isozimas CYP en el metabolismo del tolueno.

**Fuente:** Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR), 2000.

### Eliminación y excreción

El 20 % del tolueno absorbido por vía inhalatoria es exhalado sin metabolizar por esta misma vía, solo una pequeña proporción del tolueno metabolizado se excreta por la orina (0,06%, aproximadamente).

En las condiciones normales de exposición profesional, el ácido hipúrico es eliminado casi enteramente a las 24 horas de terminarse la exposición, la determinación de los niveles de ácido hipúrico en los trabajadores es un buen indicador biológico de exposición a tolueno, aunque puede sufrir alteraciones por consideraciones individuales y también se puede presentar que la orina de los trabajadores no expuestos puede contener



ácido hipúrico procedente de alimentos en especial frutas y hortalizas , además de aquellos alimentos que contienen conservantes como los benzoatos y ácido benzoico.

El ácido hipúrico excretado por la orina tiene una vida media biológica de unas 3 horas, el proceso de eliminación es alcanzado a las 18 horas de haber finalizado la jornada laboral; el Valor Límite Biológico de Exposición al tolueno (VLB), es de 1.6 g/g Creatinina, valor que fue propuesto por la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (ACGIH), en los Índices Biológicos de Exposición (Biological Exposure Indices, BEIs) del 2003 y que además resalta la norma COVENIN 2253:2001 en su tercera edición (Pérez y Miranda 2014).

### **Concentraciones Ambientales**

#### **Límites de Exposición Laboral**

**OSHA:** El PEL es de 200 ppm como promedio durante una jornada de 8 horas, de 300 ppm, que no debe excederse durante ningún periodo laboral de 15 minutos, y de 500 ppm como nivel de pico máximo por 10 minutos durante una jornada de 8 horas.

**NIOSH:** El REL es de 100 ppm como promedio durante una jornada de 10 horas y de 150 ppm, que nunca debe excederse durante ningún período de trabajo de 15 minutos.

**ACGIH:** El TLV es de 20 ppm como promedio durante una jornada de 8 horas (New Jersey Department of Health, 2017).

En Venezuela la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) en su tercera revisión sobre concentraciones ambientales permisibles de sustancias químicas en lugares de trabajo e índices biológicos de exposición establecen una concentración ambiental permisible (CAP) de 50 ppm ( $188\text{mg}/\text{m}^3$ ) durante 8 horas diarias y 40 horas semanales (absorción respiratoria) de exposición al tolueno (COVENIN, 2001).

### **Toxicodinamia**

El sistema nervioso central (SNC) al igual que el tejido adiposo, son los órganos dianas para la acción del tolueno debido a la acumulación de dicho hidrocarburo en los tejidos ricos en lípidos encontrándose en estos las concentraciones más altas de tolueno que en la sangre.

La exposición a tolueno causa tanto cambios reversibles como irreversibles sobre todo a nivel del SNC. Los efectos de la inhalación de este hidrocarburo en algunas enzimas específicas y en la unión del glutamato y el receptor GABA en el cerebro han sido bien estudiadas utilizando la actividad de las enzimas ácido glutámico descarboxilasa (GAD), colinacetiltransferasa (ChAT) amino ácido aromático descarboxilasa (AADC) como marcadores de pérdida permanente de actividad neuronal, mostrando reducción importante de las neuronas catecolaminérgicas después de exposición de 4 semanas a 250-1000 ppm de tolueno. También se ha encontrado proliferación de células gliales, un fenómeno frecuente en el daño al SNC. El tolueno a concentraciones  $< 100$  ppm puede producir alteraciones en los mecanismos dopaminérgicos del ganglio basal, llevando probablemente a cambios funcionales en la integridad senso-motora (Fonseca, Heredia, Navarrete 2010).

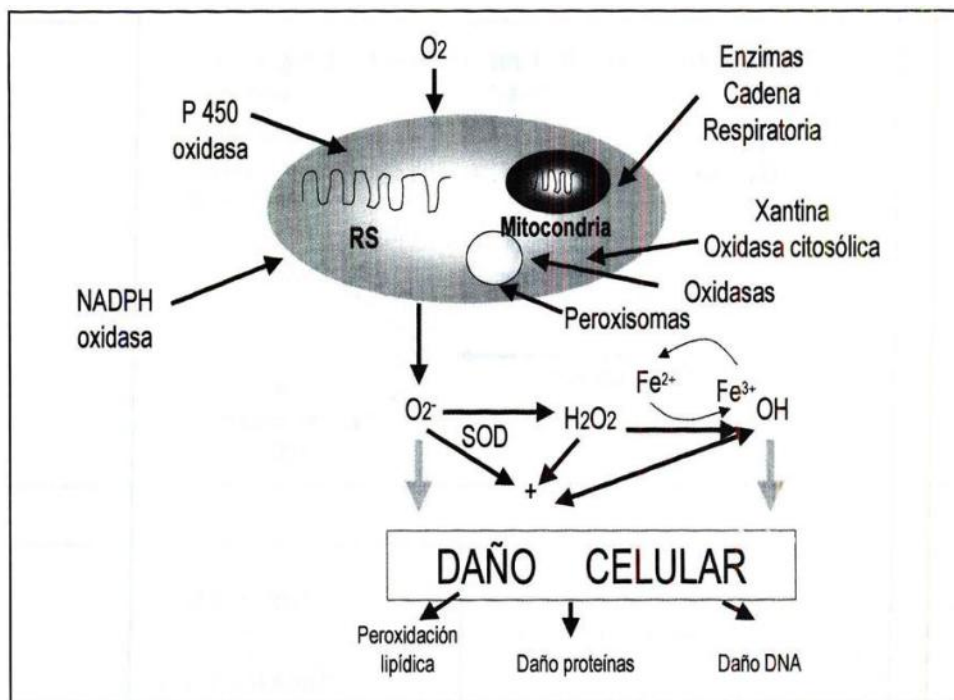
Estudios en personas expuestas a solventes tóxicos donde se aplicaron pruebas psicométricas y neuropsicológicas, reportaron alteraciones en la atención, percepción, memoria, fijación, calculo, abstracción y previsión, disminución del tiempo de reacción y trastornos de personalidad en trabajadores expuestos a tolueno (Pérez, Ostrosky, López, 2016). Las primeras ideas para explicar el mecanismo de los efectos neurotóxicos del tolueno se basaron en la hipótesis de los lípidos, que propuso que la perturbación de la bicapa lipídica daría como resultado proteínas de membranas disfuncionales. Estudios realizados en ratas han demostrado los efectos del tolueno en la fluidez de la membrana observando, que la administración in vivo de tolueno en ratas (1 g / kg) aumentó la fluidez de la membrana sinaptosomal, debida una interacción específica de tolueno-fosfolípido en sinaptosomas que resultó en una composición y fluidez de membrana alteradas. Los mismos autores mostraron más tarde que el tolueno aumentaba la metilación de fosfolípidos y estimulaba la actividad de adenosina trifosfatasa (ATPasa) de Na y K en sinaptosomas tanto in vivo como in vitro.

Los cambios en los lípidos de la membrana tienen un efecto sobre las fluctuaciones elásticas de la bicapa lipídica que influyen en la inserción de proteínas y los cambios conformacionales en la estructura de la proteína que son importantes para la función de las proteínas de la bicapa (Martínez, Alcaraz, Cárabez, Leo, 2011). Diferentes estudios realizados han demostrado el efecto oxidante del tolueno a través de: peroxidación lipídica, niveles de enzimas antioxidantes, depleción de Glutación y oxidación de proteínas y ADN. Algunos mecanismos que explican dichos efectos son los siguientes:

- El metabolismo oxidativo de benceno, tolueno, xileno, etanol, acetona y trimetilbenceno genera NADH citosólico. El NADH se oxida indirectamente por el transporte de electrones de las mitocondrias, esta condición que aumenta

el NADH mitocondrial y la presión reductora en la cadena de transporte de electrones, promueve la formación de  $O_2$  en la cadena de transporte de electrones.

- La producción de quinonas establece un ciclo redox inútil (radicales quinonas y semiquinonas), durante el cual se acumulan ROS citotóxicas.
- El metabolismo de los componentes del diluyente da como resultado la activación de isoformas de citocromo P450 como CYP2E1, que es propenso a la formación de radicales.
- Las exposiciones a sustancias tóxicas causan inflamación; en el caso del diluyente, la inhalación induce una respuesta inflamatoria en los pulmones. Una evidencia considerable respalda el papel de los mediadores inflamatorios liberados por los leucocitos fagocíticos y los macrófagos infiltrantes en la generación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno en el pulmón. Los macrófagos producen NO (óxido nítrico) a través de una forma inducible de la enzima, NO sintasa, esta enzima está regulada positivamente por mediadores inflamatorios tales como citoquinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). Además, la activación rápida y persistente del factor nuclear  $\kappa$ B (NF $\kappa$ B) en los macrófagos alveolares induce la expresión de una forma inducible de la enzima NO sintasa (iNOS) y el receptor de TNF- $\alpha$ , el  $O_2$  altamente reactivo (anión superóxido) es liberado por los leucocitos estimulados, incluidos los monocitos, los macrófagos y los leucocitos polimorfonucleares por acción de la NADPH oxidasa (Martínez y col, 2011).



**Figura 3.** Daño Celular Mediado por Radicales Libres **Fuente:** Gómez, 2001

### Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es definido convencionalmente como un desbalance entre la generación de especies reactivas y la defensa antioxidante, encargada de la remoción de dichas especie. Todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células, dicho entorno es preservado por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Un desbalances en este estado normal redox puede causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN.

Los radicales libres (RL) son átomos o grupo de átomos que tienen un electrón desapareado porque tienden a robar un electrón a las moléculas estables, con el fin de lograr su estabilidad electroquímica, ya que son conocidos como moléculas inestables, por

lo tanto reactivas. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye a las células (Salazar J, 2021).

Las ERO incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos, tanto inorgánicos como orgánicos, son generalmente moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada resultante del medio ambiente aeróbico y del anión radical superóxido el cual surge durante la respiración mitocondrial, estos desempeñan un importante papel en la señalización celular. Sin embargo, en épocas de estrés ambiental sus niveles pueden aumentar en gran manera, lo cual puede resultar en daños significativos a las estructuras celulares. Aproximadamente entre el 1% y 3% del oxígeno consumido por la mitocondria es convertido en ERO lo cual hace que dicha organela sea la responsable de generar el 90% de las ERO intracelulares. Sin embargo, existen otras fuentes endógenas de menor producción, entre las que se encuentran los peroxisomas, la activación de células fagocíticas y la acción de ciertos sistemas enzimáticos (Marotte, Zení, 2013).

### **Peroxidación Lipídica**

La peroxidación lipídica es un proceso metabólico que causa el deterioro oxidativo de lípidos por especies reactivas de oxígeno. Este proceso puede degradar los lípidos dentro de la membrana celular que lleva al daño de célula y eventual, muerte celular. El deterioro oxidativo es causado por especie altamente reactiva del radical libre (Salazar J, 2021).

La peroxidación lipídica es un proceso degenerativo que ocurre en condiciones de estrés oxidativo, dañando las membranas celulares, lipoproteínas y otras estructuras que contienen fosfolípidos insaturados, glucolípidos y colesterol. También la podemos definir como el daño oxidativo que se produce en los ácidos grasos poliinsaturados (AGP) a causa de un proceso autocatalítico incontrolable. Los AGP son las moléculas biológicas más susceptibles al estrés oxidativo; la peroxidación lipídica es el efecto más importante de los radicales libres sobre la célula, ya que la destrucción de los AGP de la membrana junto con la formación de puentes disulfuro en las cadenas proteicas y la ruptura de estas, provoca desmoronamiento de la estructura de la membrana que conduce a una pérdida de la permeabilidad y, posteriormente a la muerte celular (Giacopini M, 2016).

En la cadena de reacciones de los RL se pueden distinguir tres etapas esenciales: inicio, propagación y terminación. Una vez iniciado el proceso oxidativo, éste se propaga hasta que dos RL reaccionan entre sí, con lo que finaliza el proceso. Por tanto, un único evento de iniciación puede provocar la conversión de numerosas cadenas de AGP en hidroperóxidos lipídicos, lo que significa que la peroxidación lipídica puede ser amplificada hasta que se agote la disponibilidad de oxígeno y de cadenas de AGP no oxidadas.

El producto final de la peroxidación lipídica es la formación de hidroperóxidos de ácidos grasos y metabolitos derivados, algunos de ellos altamente tóxicos, como los aldehídos MDA y 4-hidroxinonenal. Se forman también dihidrocarburos como el pentano o el etano.

## **Sistema antioxidante**

El estrés oxidativo induce la oxidación de los lípidos, las proteínas y de ADN en las células y genera una respuesta de una variedad de sistemas de detoxificación celular como la superóxido dismutasa (SOD), glutatión peróxidasa (GPX) y glutatión (GSH), catalasa (Ortiz J, Medina M, 2020).

La función de las enzimas GPX es proteger la hemoglobina de los eritrocitos de una rotura oxidativa. La catalasa una enzima que se encuentra en organismos vivos y cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) en oxígeno y agua. Y la SOD cataliza la dismutación de superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno.

## **Vitamina C**

La vitamina C (ácido ascórbico), es el carotenoide más abundante en la naturaleza y el más importante para la dieta humana (Díaz y col, 2013).

La vitamina C es un potente antioxidante soluble en agua, actúa como mecanismo de defensa contra los radicales libres en la sangre completa y en el plasma; junto con la vitamina E y los beta-carotenos cumplen la función de antioxidantes tanto de una manera individual e incluso en algunos casos en forma sinérgica. Participa como protector en los procesos neoplásicos y en la regeneración de la vitamina E. El ácido ascórbico presente en una relación 2:1 (ascorbatos a nitritos), bloquea la formación de nitrosaminas, las cuales son consideradas sustancias cancerígenas. En este sentido algunos estudios han sugerido que el ácido ascórbico puede tener un efecto inhibitorio sobre la formación de nitrosaminas carcinogénica y así reducir la probabilidad de formación de tumores malignos.



Su papel básico es como antiescorbútico, adicionalmente, el ácido ascórbico tiene efectos profilácticos y terapéuticos en condiciones patológicas, tales como enfermedades infecciosas, deficiencias inmunológicas, aterosclerosis, enfermedades malignas, entre otros.

Por otra parte, el ácido ascórbico contribuye a la oxidación del hierro férrico no hem a hierro ferroso en el estómago y favorece así la absorción de este. Adicionalmente el ácido ascórbico ha sido relacionado con el metabolismo del colesterol, postulándose que regula la actividad de la enzima colesterol oxigenasa, la cual cataliza el paso de colesterol a ácidos biliares. Ha sido involucrada en el metabolismo y detoxificación de numerosas drogas y sustancias como el alcohol.

### **Farmacocinética**

Se ha demostrado que el ácido ascórbico en humanos es absorbido a nivel intestinal por un mecanismo de transporte activo saturable, dependiente de energía de sodio y de la dosis, así, la capacidad de absorción relativa se reduce cuando la ingesta del compuesto se incrementa y se estima que cuando se consumen 180 mg/día de ácido ascórbico, se absorbe aproximadamente un 70% y por lo tanto durante la absorción puede haber una pérdida de un 20% a dosis fisiológicas. El ácido ascórbico se encuentra en el plasma, en las células del organismo y se metaboliza a ácido dehidroascórbico, glucuronatos, sulfatos y oxalato. En humanos la principal ruta de eliminación es la excreción urinaria mediante los productos metabólicos del ácido ascórbico y como tal, cuanto mayor sea la dosis, mayor será la fracción excretada.

## **Niveles óptimos de vitamina C**

Las concentraciones recomendadas de vitamina C para cumplir su función antioxidante se encuentran entre 100 a 200 mg diarios para lograr concentraciones plasmáticas aproximadas de 0,9 y 1,0 mg/dl. Las concentraciones séricas de ácido ascórbico han sido consideradas una medida indirecta y estática del estado nutricional de vitamina C. Concentraciones séricas menores de 0,2 mg/dl, han sido asociadas con la aparición de signos clínicos de escorbuto.

La activación de los procesos de radicales libres subyace a efecto de muchas sustancias tóxicas como: etanol, tolueno, radiaciones, ionizantes, plomo y arseniato.

Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos.

## **Catalasa**

Se trata de una enzima ferroporfirínica intracelular, cuya localización principal es en los peroxisomas (80%) y el citosol de las células, aunque también está presente en las mitocondrias y otros orgánulos. La concentración de catalasa varía en las diferentes localizaciones celulares, y entre los distintos tejidos del organismo, siendo su concentración baja o ausente en plasma, en tanto que abunda y es muy activa tanto en hígado como a nivel eritrocitaria. Sin embargo, puede ser el antioxidante celular más importante cuando se libera al dañarse la célula por necrosis, ya que limita la extensión

del daño por RL. Ejerce su acción sobre el peróxido de hidrógeno de forma muy eficaz. La función de la CAT es doble: por un lado cataliza la descomposición de peróxidos de hidrógeno en agua y oxígeno, en tanto que también ejerce una función peroxidica, produciendo la oxidación de donadores de hidrógeno como el metano, los fenoles o el etanol (Varela M y col 2021).

## **Intoxicación por Tolueno**

### **Intoxicación Aguda**

Se produce por exposición a un ambiente con concentración de 100 ppm de tolueno, durante al menos 6 horas de exposición laboral.

La toxicidad aguda se da por la inhalación del hidrocarburo afectando el SNC, el efecto puede ser de tipo depresivo o excitatorio, con euforia, alucinaciones seguidas de ataxia, confusión, mareos, somnolencia, trastornos del habla, visión borrosa, disminución de la agudeza visual, disminución de la discriminación visual, temblores, depresión respiratoria, convulsiones, coma y en casos graves la muerte (Espinoza y Toribio, 2017).

Se han observado lesiones hepáticas y renales transitorias, así como irritación de las vías respiratorias que a veces ha causado neumonitis química. En casos de abuso agudo de tolueno se han observados efectos cardiotóxico como arritmias y taquicardia ventricular.

### **Intoxicación Crónica:**

La aspiración frecuente de vapor de tolueno a largo plazo ocasiona daños permanentes en el cerebro y a la vez disfunción del SNC, dentro de los efectos que se han

registrados en los casos de abusos destacan: atrofia de cerebro, cerebelo y tronco encefálico, ataxia descoordinación muscular, degeneración neuronal y desorden de personalidad. Los efectos por exposición crónica han sido clasificados en base a las dosis:

- A Dosis Altas: Efectos sub agudos (menos de 1 año). Produce: Dolor de cabeza anorexia, nauseas, mal sabor, incoordinación pérdida temporal de la memoria, palpitaciones, fatiga, debilidad, deterioro en el tiempo de reacción o posible depresión de la medula ósea (puede ser causado por contaminantes en el tolueno), posible macrocitosis y hepatomegalia.
- A Dosis Bajas: Efectos sub agudos (menos de 1 año). Por inhalación: EG anormal. Cambios en las glicoproteínas seromucoïdales y hepatoglobulinas del suero. Las pruebas de funcionamiento del hígado son normales.

### **Sintomatología Neurológica**

Falta de coordinación y de memoria, trastornos de ánimo, dificultad de concentración, déficit de memoria reciente, del periodo de atención y de la función motora o sensitiva, ataxia cerebelosa, temblor fino distal, síndrome orgánico cerebral y encefalopatía.

### **2.3. Sistema de Hipótesis**

#### **Hipótesis de Investigación (H<sub>I</sub>):**

- Las concentraciones de ácido hipúrico se encuentran elevadas en los individuos expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia estado, Carabobo, año 2019.

- El estatus antioxidante se encuentra alterado en los individuos expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia estado Carabobo, año 2019.
- La función neurológica se encuentra alterada en los individuos expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia, Estado Carabobo, año 2019.

**Hipótesis Nula ( $H_0$ ):**

- Las concentraciones de ácido hipúrico, no se encuentran alterados en individuos expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia, Estado Carabobo, año 2019.
- El estatus antioxidante, no se encuentra alterado en individuos expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia, Estado Carabobo, año 2019.
- La función neurológica, no se encuentra alterada en individuos expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia, Estado Carabobo, año 2019.

**2.4 Sistema de Variables**

- **Variables Dependientes:** Concentración de ácido hipúrico, estatus antioxidante y función neurológica.
- **Variables Independientes:** Exposición al Tolueno.

- **Variables Intervinientes:** Hábitos alcohólicos, alimenticios, nicotínicos (fumadores), antecedentes patológicos, y tiempo de exposición al Tolueno.

## 2.5 Operacionalización de las variables

Variable	Definición	Dimensiones	Indicadores	Índices
<b>Características clínico epidemiológicas</b>	Manifestaciones objetivas, Clínicamente fiables y presentadas frecuentemente en la población.	Tiempo Uso de equipos Alteraciones neurológicas	Encuesta Cuestionario de Síntomas Psicológicos Neurológicos (PNF)	Ítems de la encuesta El diagnóstico se da en términos de Discreto, Moderado y sobresaliente determinándose si es patológico o no.
<b>Exposición al tolueno</b>	Exposición ocupacional a un solvente aromático, que penetra en el organismo principalmente por inhalación, aunque la absorción cutánea es también posible.	Determinación de Acido hipúrico en orina. Método NIOSH 8300.	Espectrofotometría de UV-Visible	Ácido Hipúrico en Orina: 0,005-0,5 g/l o 1,5 g/g de Creatinina
<b>Peroxidación lipídica</b>	Degradación oxidativa de los lípidos. Los radicales libres capturan electrones de los lípidos en las membranas celulares.	Malondialdehído (MDA)	Método colorimétrico Cano y colaboradores	VR: 2 µmol/ml
<b>Sistema antioxidante</b>	Evaluación realizada para la determinación de los niveles de vitamina C y catalasa en sangre.	Vitamina C Catalasa	Método modificado de Roe y Kuether Método Espectrofotométrico Aebi	V.R: > 0.9 mg/dl (como antioxidante) VR:U/g Hb Comparados con el grupo de referencia.

## **2.6 Definición de términos**

**Acido hipúrico:** Es un metabolito derivado del tolueno, es de utilidad para confirmar intoxicación aguda o crónica del tolueno.

**Agente químico tóxico:** Cualquier agente químico que al ser absorbido es capaz de producir un efecto nocivo en un organismo vivo, desde el daño de sus funciones hasta la muerte.

**Antioxidante:** Molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.

**Creatinina:** Compuesto derivado del metabolismo de la creatina en el músculo esquelético y a partir de la ingesta de carne. Es libremente filtrada a través del glomérulo y no es absorbida ni metabolizada por el riñón.

**Efecto agudo:** Aquel de rápida aparición y curso (en las primeras 24 horas o en los primeros 14 días, según el tipo de estudio) producidos por una sola dosis o por una exposición a una sustancia o radiación.

**Efecto carcinogénico:** Capacidad de un agente de producir neoplasias, ésta transformación hace que determinados mecanismos o procesos que alteran el funcionamiento normal de las células, tanto en la proliferación como en la muerte celular, y que afectan a la reparación de las alteraciones y errores de los mecanismos implicados.

**Efecto crónico:** Son aquellos resultantes de una exposición crónica, o sea, exposición a pequeñas dosis, durante varios meses o años.

**Exposición:** Acción de “estar expuesto a una situación peligrosa o a vista de algo”.

**Peroxidación lipídica:** Es el proceso a través del cual los radicales libres capturan electrones de los lípidos en las membranas celulares.

**NIOSH:** Instituto Nacional para la Seguridad y la Salud Ocupacional

**Signos:** Los signos clínicos (también signos) son las manifestaciones objetivas, clínicamente fiables, y observadas en la exploración médica, es decir, en el examen físico del paciente.

**Síntomas:** Son los elementos subjetivos, señales percibidas únicamente por el paciente como, por ejemplo, el dolor, la debilidad y el mareo.

**Toxicidad:** se refiere a la capacidad o característica de una sustancia de causar daño o perjuicio en un órgano determinado, alterar los procesos bioquímicos o alterar un sistema enzimático.

**Toxicocinética:** Estudio cuantitativo de los procesos que experimenta, en función del tiempo, un xenobiótico en un organismo vivo.

**Toxicodinamia:** Estudio del mecanismo de acción de una sustancia por interacción molecular con los sistemas biológicos del organismo.



## CAPÍTULO III

### MARCO METODOLÓGICO

#### **3.1. Tipo de investigación**

Se llevó a cabo una investigación de tipo descriptiva, en el cual se expone el evento de forma detallada, es decir, como es y cómo se manifiesta determinado fenómeno, sus propiedades y características importantes. Además, fue de tipo correlacional, porque en él se especifican y relacionan los niveles de ácido hipúrico en orina, con los diferentes biomarcadores de efectos y factores clínicos-epidemiológicos, asociando de este modo variables mediante un patrón predecible en los trabajadores expuestos a tolueno (Hernández y col, 2018).

#### **3.2. Diseño de investigación**

El presente trabajo estuvo enmarcado dentro del diseño no experimental de corte transversal y de campo, puesto que solo se observan y registraron las variables involucradas en un tiempo determinado, dentro de su contexto natural, sin manipular ninguna variable del estudio (Arias J, 2021).

#### **3.3. Población**

Se define como el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones (Hernández y col, 2018). La población estuvo constituida por 58 trabajadores de 6 talleres de pintura automotriz ubicados en el sector La Florida, parroquia Miguel Peña del Municipio Valencia-Estado Carabobo.

### 3.4. Muestra

Subgrupo de la población del cual se recolectan los datos y debe ser representativo de esta (Hernández y col, 2018). En este caso la muestra estuvo constituida por todos los individuos de la población que cumplieron con los criterios de inclusión y que voluntariamente consintieron a participar en el estudio (Anexo A).

Los mismos fueron seleccionados a través de un muestreo no probabilístico intencional, siguiendo los criterios de inclusión y exclusión.

- **Criterios de inclusión:** Haber aceptado por medio de consentimiento informado participar en el estudio, mayor de 18 años con 1 año o más de exposición en el área.
- **Criterios de exclusión:** Trabajadores menores de edad, con menos de 1 año de exposición, con medicación de algún fármaco que pueda causar interferencias en los parámetros en estudios y con antecedentes personales de afecciones neurológicas.

Se seleccionaron 51 trabajadores que conformaron el grupo expuesto (GE), excluyendo de la población 7 trabajadores, 4 por tener poco tiempo de exposición al solvente, 2 por no entregar la muestra de orina y 1 por presentar afecciones neurológicas.

El grupo control o grupo no expuesto (GC) fue representado por 40 individuos con características de sexo, edad y hábitos personales, similares al GE, pero sin exposición conocida a solventes como el tolueno.

### **3.5. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos**

Todo proyecto de investigación requiere del uso de diversas técnicas que le permitan al investigador obtener toda la información o datos que requiere para el desarrollo del mismo. De acuerdo con lo antes señalado, la técnica que se utilizó para el desarrollo del presente trabajo fue la encuesta, empleando como instrumento un cuestionario (Anexo B) con preguntas abiertas y cerradas previamente validado por el juicio de los expertos a fin de obtener información sobre el estado físico, condiciones de trabajo, uso de equipo de seguridad y enfermedades. Además, se les aplicó un cuestionario de Síntomas Psicológicos Neurológicos (PNF) (Anexo C), creado en el Instituto de Medicina del Trabajo de Alemania y elaborado para Cuba en su versión 3, por Almirall y col (2002), en el cual se registraron los efectos neurotóxicos de las sustancias nocivas que se manifiestan a través de síntomas y estados no placenteros.

### **3.6. Procedimiento Metodológico**

En primera instancia se realizó una visita a cada uno de los talleres de pintura automotriz ubicados en el sector la Florida del sur de Valencia Edo. Carabobo, esto con el fin de realizar una visualización del área de trabajo y además solicitar el permiso respectivo para la realización de la investigación.

Una vez aprobado el ingreso a las instalaciones y acceso al personal que labora en las mismas, se impartieron charlas informativas a los trabajadores en donde se explicó de forma detallada el propósito del estudio y las precauciones que deberían tener en cuenta antes de la toma de la muestra, esto con el fin de disminuir los errores en las determinaciones (Albiano, 2010).

### **3.7. Consideraciones Bioéticas**

Se aseguró el cumplimiento de los principios bioéticos establecidos por los diferentes organismos, donde destacan la Asociación médica mundial en su declaración de Helsinki (1964) y el Código de Ética para la vida sobre investigación médica en humanos y normas bioéticas de la investigación (MPPCTII, 2011).

Dichos organismos establecen que los principios bioéticos como son, la beneficencia, el respeto por la autonomía, la no maleficencia y la justicia, representan los fundamentos de muchos de los comportamientos, responsabilidades y normas de la excelencia profesional, tanto a nivel asistencial como de investigación (Coronado y *col* 2018).

La Asociación médica mundial, en su declaración de Helsinki (1964), representa el documento internacional más importante de regulación de la investigación en seres humanos desde el código de Núremberg de 1947, en dicha declaración se presenta una propuesta, donde se establecen las pautas bioéticas para los profesionales médicos o científicos que realizan investigación en humanos, considerando dentro de sus principios generales: promover y asegurar el respeto a todos los seres humanos y proteger así su salud y sus derechos individuales, además estipula la obligatoriedad de obtener el consentimiento informado de los individuos participantes en la investigación.

Por otra parte, en el Código de Ética para la Vida, se establecen los lineamientos mínimos para orientar el desarrollo de la ciencia y la tecnología en el ámbito nacional, haciendo énfasis en el cumplimiento de los principios bioéticos y en la importancia del consentimiento informado dentro de la investigación (MPPCTII, 2011).

En el contexto legal, el Artículo 46 de la Constitución de la República Bolivariana de Venezuela señala explícitamente la necesidad del libre consentimiento de la persona para someterse a experimentos científicos. El consentimiento informado tiene como principal objetivo salvaguardar los derechos del (los) sujetos involucrados en el estudio, teniendo como condición básica la transparencia, a fin de que tanto los sujetos de estudio como los investigadores se vean beneficiados de los resultados parciales y finales del estudio en particular y de otros estudios que pudieran suceder.

De acuerdo con todo lo anteriormente expuesto, el presente estudio cumple con todos los parámetros y principios bioéticos establecidos por los diferentes organismos pertinentes, durante la ejecución de este se citó previamente a los trabajadores de los talleres de pintura automotriz, quienes cumplieron con los criterios de inclusión, para obtener el consentimiento informado.

### **3.8 Toma de Muestra**

Una vez obtenido el consentimiento de los trabajadores, se les convocó, el último día de la semana al comienzo de la jornada laboral para la toma de muestra sanguínea y de orina, según lo establecido por la ACGIH 2003, a la vez se les notificó que dos días antes de la toma de muestra no debían ingerir alcohol.

- **Muestra de sangre venosa:** Previo ayuno de 12 horas y cumpliendo con las reglas de asepsia y anti asepsia, se extrajeron por medio de punción de la vena cefálica y basílica del pliegue braquial del antebrazo, 12 mL de sangre, al comienzo de la jornada de trabajo del último día de la jornada semanal según parámetros establecidos por la ACGIH (2003), estos fueron distribuidos de la siguiente manera: 4 mL en tubo con anticoagulante heparina

para el análisis de la actividad de catalasa eritrocitaria (CAT). 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 MDA y vitamina C. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio en una cava refrigerada y una vez en el laboratorio se separaron por centrifugación a 2500-3000 rpm (revoluciones por minuto) 5 a 10 minutos, el suero y el plasma obtenido fue separado en alícuotas en tubo eppendorf y se conservaron a -20 °C hasta el momento de su determinación.

La determinación de CAT se llevó a cabo el mismo día de la toma de las muestras, quedando las pruebas de MDA y VC pendientes para ser procesadas en un lapso no mayor a una semana.

- **Muestras de orina:** El mismo día de la toma de muestra sanguínea se solicitaron las muestras de orinas una vez finalizada la jornada laboral, se recolectaron 50 mL a 100 mL de orina en un envase de polietileno que contenía 100 mg de cristales de timol, estas se codificaron y se refrigeraron a 4 °C hasta el momento de su análisis, el cual se realizó antes de las 24 horas de recolectadas las muestras. En el caso de las muestras control se colectaron muestras de orina de personas no expuestas y se manejaron en las mismas condiciones que el grupo de expuestos.

### **3.9. Análisis de las muestras**

#### **3.9.1 Determinación de ácido hipúrico en orina, método NIOSH 8300:**

El ácido hipúrico presente en las muestras de orina (producto del metabolismo del tolueno en orina) forma con el cloruro de sulfonilbenceno un complejo coloreado, la lectura

de la absorbancia en el espectro de absorción visible a 410 nm del complejo coloreado que se formó fue directamente proporcional a la concentración de ácido hipúrico de las muestras. (NIOSH 1994).

### **3.9.2 Determinación de creatinina:**

Para reportar la concentración de AH-O, se corrigieron las concentraciones de AH-O con la creatinina, ya que esta sustancia se filtra a nivel del glomérulo y no se secreta ni se reabsorbe en los túbulos renales, y es por ello que lo usamos como factor de corrección, lo que posibilita la eliminación de la variabilidad interindividual en la velocidad de producción de orina (Pérez, 2007; Albiano, 2010).

Se determinó la concentración de creatinina presente en la muestra de orina mediante el método colorimétrico de Jaffe (kit comercial de Biogamma®), en el cual la creatinina reacciona con el ácido pícrico en solución alcalina, formando un tautómero de Picrato de creatinina, cuya intensidad fue proporcional a la concentración de creatinina presente en las muestras y esta fue medida espectrofotométricamente a 510 nm, en un analizador químico semi-automatizado Rayto- RT 1904-C.

### **3.9.3 Determinación de malondialdehído (MDA):**

Se utilizó la técnica de peroxidación de lípidos, por la metodología TBARS (sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico) descrita por Cano y col 2001 y modificada por Márquez y col, 2003, la cual se basa en la medición de los radicales libres (per oxidación de lípidos) presentes en el 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 espectrofotómetro UV-VIS marca OMEGA IV, durante la reacción a 532 nm. El valor obtenido se constató con una curva de calibración previamente desarrollada y reportado en unidades  $\mu\text{mol/L}$  de sustancias reactivas al ácido tiobarbiturico. Siendo los valores referenciales en el adulto sano hasta 2  $\mu\text{moles/L}$  (Cano, Bermúdez, Sulbaran, Morales, Medina, Amell, 2001; Márquez, Parra, Mendoza y Ramírez, 2003).

#### **3.9.4 Determinación de ácido ascórbico (Vitamina C):**

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

El ácido ascórbico del suero se oxido 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 transformó rápidamente en ácido 2,3 dicetogulónico, que se une a la 2,4 dinitrofenilhidrazina (DNFH) formando una hidrazona de color pardo, la cual sufre un rearrreglo molecular en presencia del ácido sulfúrico, dando un compuesto rojo cuya absorbancia (Abs) se comparó con patrones adecuados del ácido ascórbico sometidos al mismo tratamiento (Roe, Kuether, Zimler, 1947).

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



### **3.9.5 Actividad de catalasa eritrocitaria:**

Fue realizada por el método descrito por Aebi (1984), el cual se basó en la determinación de la constante de velocidad (k), para la descomposición de peróxido de hidrógeno, mediante la cuantificación del cambio de absorbancia a 240nm, por minuto.

Se colocaron 250  $\mu$ L de peróxido de hidrógeno 10 mM en una microcelda, se adicionaron 5  $\mu$ L del homogenizado y 45  $\mu$ L de Buffer fosfatos 50 mM pH 7,0. Se midieron inmediatamente el cambio de absorbancia a 240 nm, durante 30 seg. Las actividades se expresaron como k (s<sup>-1</sup>) por mg de proteína (Aebi ,1984).

### **3.9.6 Síntomas Neurológicos y Psicológicos (PNF):**

Los posibles efectos neurotóxicos productos de las exposición a solventes por parte de los trabajadores fueron registrados haciendo uso del cuestionario de síntomas neurológicos y psicológicos (PNF), el cual fue creado en el Instituto de Medicina del Trabajo de Alemania; elaborado para Cuba en su versión 3, por Almirall y col (1987), con el fin de estudiar los sistemas funcionales de organización de la actividad psíquica del sistema nervioso central (SNC) y el estado de salud de trabajadores expuestos a solventes. Incluye las siguientes esferas de investigación: inestabilidad psiconeurovegetativa (PN), síntomas neurológicos (N), astenia (A), irritabilidad (I), y déficit de concentración y memoria (K). Posee 38 ítems cuyas respuestas fluctúan desde “nunca” (1), “rara veces” (2), hasta “muy a menudo”. La respuesta “nunca” recibe la puntuación de 0, “raras veces” 1, y “muy a menudo”2.

Para la calificación se realizó la suma de los puntos obtenidos en los ítems de cada escala tomado por separado. Siempre que N sea Moderado o Sobresaliente se debe investigar Neurológicamente al trabajador (Moreno J, 2008).

### **3.9.7 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 programa estadístico de software libre PAST v.4.03. Las variables presentaron una distribución normal o paramétrica, se compararon mediante t student (muestras independientes), análisis de varianza (ANOVA) y tukey como post hoc. Aquellas variables con distribución no paramétrica se compararon empleando la U de Mann Whitney y Kruskal Wallis. La relación entre las variables se determinó a través de la prueba de correlación de Spearman y la asociación con el uso de Chi<sup>2</sup> de pearson o test exacto de fisher. Empleando un nivel de significancia del 95%.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS

La muestra estuvo conformada por un total de 91 individuos de sexo masculino, divididos en 2 grupos: uno de 51 trabajadores expuestos (GE) con valores promedio de edad de  $41,93 \pm 10,50$  años y un grupo no expuesto (NE) conformado por 40 individuos sin exposición alguna a solventes, cuyo promedio de edad fue de  $36,05 \pm 16,19$  años.

La distribución del GE según el tiempo de exposición se muestra en la tabla 1, evidenciándose que el mayor porcentaje estuvo representado por los trabajadores que tenían entre 1 a 10 años de exposición en al área de pintura automotriz (48,30%), seguido por el grupo de trabajadores que se ubican en el rango de 11 a 20 años de exposición en la misma área (27,60%) (Tabla 1).

**Tabla 1.** Distribución del grupo expuesto según el tiempo de exposición.

<b>Tiempo de exposición (años)</b>	<b>f</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
<b>1 a 10</b>	25	48,30
<b>11 a 20</b>	18	27,60
<b>&gt; 20</b>	12	24,10
<b>Total</b>	<b>51</b>	<b>100</b>

**Fuente:** datos de la investigación, **f:** frecuencia.

En la tabla 2 se muestra la distribución del GE de acuerdo con el cargo que desempeñaban dentro de los talleres, observándose que el mayor porcentaje (45,10%)

eran trabajadores que se encargaban de realizar tareas mixtas (latonería y pintura), seguido por aquellos trabajadores que se desempeñaban solo como pintores (35,29%).

**Tabla 2.** Distribución del grupo expuesto según su cargo.

<b>Cargo</b>	<b>(f)</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
<b>Latonero</b>	3	5,88
<b>Mecánico</b>	7	13,73
<b>Pintor</b>	18	35,29
<b>Mixto (latonería y pintura)</b>	23	45,10
<b>Total</b>	51	100

**Fuente:** datos de la investigación. **f:** frecuencia

En lo concerniente al uso de equipos de seguridad durante la jornada laboral, se observó que un 64,71% de los trabajadores afirmaron usar botas de seguridad durante la jornada laboral, seguido de un 62,75% que usaban lentes de seguridad y casi la mitad (49,02%) reconoció usar máscara de vapores, siendo estos los implementos de seguridad mayormente usados por los trabajadores (Tabla 3).

**Tabla 3.** Uso de equipos de protección del personal expuesto.

<b>Equipo</b>	<b>Si f (%)</b>	<b>No f (%)</b>
<b>Orejas</b>	5 (9,80)	46 (90,20)
<b>Casco</b>	7 (13,73)	44 (86,27)
<b>Guantes de seguridad</b>	16 (31,37)	35 (68,63)
<b>Braga</b>	19 (37,25)	32 (62,75)
<b>Mascara de seguridad</b>	25 (49,02)	26 (50,98)
<b>Lentes</b>	32 (62,75)	19 (37,25)
<b>Botas</b>	33 (64,71)	18 (35,29)

**Fuente:** datos de la investigación. **f:** frecuencia

Con respecto al hábito tabáquico y alcohólico de ambos grupos, se pudo observar que un alto porcentaje de los individuos manifestaron no fumar, GE (86,27%) y GNE (95,0%); sin embargo, ambos grupos coincidieron en consumir alcohol solo algunas veces (GE: 60,79% y GNE: 87,50%) (Tabla 4).

**Tabla 4.** Distribución de la muestra en estudio según el hábito.

<b>Hábito</b>		<b>Expuestos</b>		<b>No expuestos</b>	
		<b>f</b>	<b>%</b>	<b>f</b>	<b>%</b>
<b>Tabaco</b>	<b>Si</b>	7	13,73	2	5,0
	<b>No</b>	44	86,27	38	95,0
<b>Total</b>		<b>51</b>	<b>100</b>	<b>40</b>	<b>100</b>
<b>Alcohol</b>	<b>A veces</b>	31	60,79	35	87,50
	<b>Frecuente</b>	4	7,84	5	12,50
	<b>No consume</b>	16	31,37	0	0
<b>Total</b>		<b>51</b>	<b>100</b>	<b>40</b>	<b>100</b>

**Fuente:** datos de la investigación **f:** frecuencia.

En relación a los signos y síntomas neurológicos, se observó en el GE mayor prevalencia de dolor de cabeza (51,00 %) y hormigueo (17,65%), en comparación con el GNE, a excepción de la sensación de hormigueo la cual fue mayor en este último grupo (22,50%) (Tabla 5).

**Tabla 5.** Signos y síntomas referidos por GE y GNE

Síntomas		Expuestos		No expuestos	
		f	(%)	f	(%)
<b>Pérdida de memoria</b>	<b>Si</b>	4	7,84	2	05,00
	<b>No</b>	47	92,16	38	95,00
<b>Dificultad para concentrarse</b>	<b>Si</b>	7	13,73	11	27,50
	<b>No</b>	44	86,27	29	72,50
<b>Dificultad para seguir instrucciones</b>	<b>Si</b>	7	13,73	15	37,50
	<b>No</b>	44	86,27	25	62,50
<b>Hormigueo</b>	<b>Si</b>	9	17,65	9	22,50
	<b>No</b>	42	82,35	31	77,50
<b>Dolor de cabeza</b>	<b>Si</b>	26	51,00	13	32,50
	<b>No</b>	25	49,02	27	67,50

**Fuente:** Datos de la investigación

Del mismo modo en la tabla 6 se evidencian los síntomas neurológicos y psicológicos referidos por los individuos de estudio al momento de la aplicación del test PNF, observándose que el 90,20% del GE manifestó padecer de astenia (discreta) una vez finalizada su jornada laboral, a la vez se observó una mayor prevalencia de la categoría inestabilidad psiconeurovegetativa de 82,35% en el GE y 85,00% en el GNE, dicha categoría engloba signos y síntomas como: cefaleas, vértigo, trastorno del sueño, debilidad, cansancio, agotamiento, sensación de frío o calor y sequedad en la boca.

**Tabla 6.** Distribución de síntomas neurológicos y psicológicos referidos por el test PNF.

Categoría		Expuestos		No expuestos	
		f	%	f	%
<b>Inestabilidad psiconeurovegetativa</b>	D	42	82,35	34	85,00
	M	9	17,65	4	10,00
	S	0	0	2	5,00
<b>Astenia</b>	D	46	90,20	36	90,00
	M	5	9,80	2	5,00
	S	0	0	2	5,00
<b>Irritabilidad</b>	D	51	100	40	100
	M	0	0	0	0
	S	0	0	0	0
<b>Falta de concentración</b>	D	40	78,43	33	82,50
	M	7	13,73	7	17,50
	S	4	7,84	0	0

**Fuente:** Datos de la investigación; D: discreto, M: moderado, S: sobresaliente

En la tabla 7 se muestra la mediana, mínimo y máximo, de las concentraciones de AH-O, donde se encontró que la mediana de concentración de AH-O (**g/g de creatinina**) del GE fue mayor a la del GNE (1,44 g/g de creatinina Vs 0,36 g/g de creatinina). Al aplicar la U de Mann-Whitney para muestras independientes la diferencia fue estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ).

**Tabla 7.** Comparación de AH-O corregido y sin corregir, en individuos expuestos y no expuestos.

<b>Grupo</b>	<b>AH-O g/L</b>		<b>AH-O g/g de creatinina</b>	
	<b>Mediana</b>	<b>Min – Máx</b>	<b>Mediana</b>	<b>Min – Máx</b>
<b>Expuesto</b>	3,87	1,81 – 8,38	1,44	0,52 – 2,90
<b>No expuesto</b>	0,91	0,36 – 1,80	0,36	0,14 – 0,70
<b>p</b>	<b>0,0001*</b>		<b>0,0001*</b>	

Prueba: U de Mann-Whitney: \* p<0,001

Min: mínimo; Máx: máximo.

Fuente: Datos de la investigación.

Al comparar los niveles de ácido hipúrico corregido y sin corregir según el tiempo de exposición en el GE, se pudo observar que los individuos ubicados en la categoría de > 20 años de exposición dentro de los talleres de pinturas automotriz, presentan mayores concentraciones de AH-O, obteniendo una mediana de 4,81 **g/L** en la prueba sin corregir y 1,66 **g/g de creatinina** en la prueba corregida. Seguido se ubican los individuos de 11 a 20 años de labor dentro de los talleres (3,75 **g/L** en la prueba sin corregir y 1,35 **g/g de creatinina** en la prueba corregida). No obstante, al aplicar la prueba: Kruskal Wallis, no se encontró diferencias estadísticamente significativas entre los valores de AH-O según los rangos de tiempo exposición (Tabla 8).



**Tabla 8.** Concentración de AH-O corregido y sin corregir según tiempo de exposición en el grupo expuesto.

Tiempo de exposición Años	AH-O g/L		AH-O en g/g de creatinina	
	Mediana	Min - Máx	Mediana	Min - Máx
<b>1 a 10</b> (n=25)	3,56	1,88 - 8,38	1,32	0,51 - 2,57
<b>11 a 20</b> (n=18)	3,75	1,86 - 7,39	1,35	0,53 - 2,53
<b>&gt;20</b> (n=12)	4,81	1,81 - 5,66	1,66	0,68 - 2,90
<b>p*</b>	0,530		0,385	

\* Prueba: Kruskal Wallis :  $p > 0,05$

Por otra parte, los valores de MDA en los grupos en estudio fueron superiores en el GE con relación al GNE ( $2,09 \pm 0,58$   $\mu\text{moles/L}$  Vs  $1,25 \pm 0,70$   $\mu\text{moles/L}$  respectivamente), y al comparar las medias de ambos grupos mediante la t de student para muestras independientes se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,001$ ), (Tabla 9).

**Tabla 9.** Valores de Malondialdehído en individuos expuesto y no expuesto.

	Malondialdehído ( $\mu\text{moles/L}$ ) Grupo		
	Media $\pm$ DE	Mediana	Min-Máx
<b>Expuesto (n=51)</b>	$2,09 \pm 0,58$	2,06	1,08-2,97
<b>No Expuesto (n=40)</b>	$1,25 \pm 0,70$	1,15	0,13-2,80
<b>p</b>	0,001*		

T-de Student para muestras independientes: \*  $p < 0,001$

Fuente: Datos de la investigación.

Al distribuir los valores de MDA del GE, de acuerdo al tiempo de exposición, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ( $p=0,597$ ), sin embargo, se observó que los trabajadores que tienen más de 20 años de exposición presentaron los valores más altos de MDA (Tabla 10).

**Tabla 10.** Valores de MDA según el tiempo de exposición del grupo expuesto.

<b>Tiempo de exposición (Años)</b>	<b>Media <math>\pm</math> DE</b>	<b>Min-Máx</b>
<b>1-10</b> (n=25)	1,91 $\pm$ 0,66	1,08- 2,79
<b>11-20</b> (n=18)	2,10 $\pm$ 0,49	1,30- 2,97
<b>&gt;20</b> (n=12)	2,22 $\pm$ 0,66	1,34 - 2,95
<b>P</b>	0,597	

Prueba: ANOVA,  $p>0,05$

DE: Desviación estándar

Fuente: Datos de la investigación

En lo que respecta a los valores de Vitamina C de los grupos en estudio se observó que la media de dichos valores fue significativamente menor ( $p<0,012$ ) en los trabajadores expuestos en comparación con los no expuestos (Tabla 11).

**Tabla 11.** Niveles séricos de Vitamina C, en individuos expuestos y no expuestos.

<b>Grupo</b>	<b>Niveles de Vitamina C (mg/dl)</b>		
	<b>Media ± DE</b>	<b>Mediana</b>	<b>Min-Máx</b>
<b>Expuesto (n=51)</b>	1,01±0,44	1,05	0,08-1,80
<b>No Expuesto (n=40)</b>	1,33±0,43	1,16	0,53-2,24
<b>p</b>	0,012*		

T-de Student para muestras independientes: \*p< 0,05 Fuente:  
Datos de la investigación.

Al comparar los niveles séricos de vitamina C de acuerdo al tiempo de exposición se obtuvo un valor de p=0,557; no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos involucrados en el estudio, sin embargo se observó una mayor concentración entre el grupo con tiempo de exposición de 1 a 10 años (Tabla 12).

**Tabla 12.** Niveles séricos de Vitamina C según el tiempo de exposición del GE.

<b>Tiempo de exposición (Años)</b>	<b>Media ± DE</b>	<b>Min-Máx.</b>
<b>1-10</b> (n=25)	1,11 ± 0,42	0,50 - 1,70
<b>11-20</b> (n=18)	1,09 ± 0,18	0,91- 1,26
<b>&gt;20</b> (n=12)	1,07 ± 0,13	0,88- 1,24
<b>p</b>	0,557	

Prueba: ANOVA, p>0,05  
DE: Desviación estándar  
Fuente: Datos de la investigación

En cuanto a la actividad catalasa eritrocitaria (CAT), se encontró una mayor actividad de esta enzima en el GE (55,21 **mmol min/mg prot<sup>-1</sup>**) con respecto al GNE (22,61 **mmol min/mg prot<sup>-1</sup>**), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0,01$ ) (Tabla 13).

**Tabla 13.** Actividad Catalasa eritrocitaria, en individuos expuesto y no expuesto.

<b>Grupo</b>	<b>Catalasa (CAT mmol min/mg prot<sup>-1</sup>) Grupo</b>	
	<b>Mediana</b>	<b>Min-Máx</b>
<b>Expuesto (n=51)</b>	55,21	7,94 - 130,42
<b>No Expuesto (n=40)</b>	22,61	10,65 - 125,63
<b>p</b>	0,002*	

Prueba: U de Mann-Whitney: \*  $p < 0,01$

Min: mínimo; Máx: máximo.

Fuente: Datos de la investigación.

Con relación a la CAT, no se obtuvo diferencias estadísticamente significativas ( $p = 0,492$ ) entre los rangos de tiempos de exposición, sin embargo, se observó una mayor actividad de esta enzima en los trabajadores que tienen más de 20 años de exposición al solvente (71,42 **mmol min/mg prot<sup>-1</sup>**) (Tabla 14).

**Tabla 14.** Actividad Catalasa eritrocitaria según el tiempo de exposición del grupo expuesto.

<b>Tiempo de exposición (Años)</b>	<b>Mediana</b>	<b>Min-Máx.</b>
<b>1-10</b> (n=25)	43,88	14,25 – 77,37
<b>11-20</b> (n=18)	55,04	7,94 - 130,42
<b>&gt;20</b> (n=12)	71,42	19,43 - 120,29
<b>p</b>	0,492	

\* Prueba: Kruskal Wallis :  $p > 0,05$

Min: mínimo; Máx: máximo.

Fuente: Datos de la investigación.

Por otra parte, al correlacionar los parámetros Vitamina C, MDA, CAT, AH-O corregido y sin corregir, no se encontró una correlación estadísticamente significativa con el tiempo de exposición. Además, al relacionar las variables sin tomar en cuenta el tiempo de exposición, solo se encontró relación inversa estadísticamente significativa ( $r=0,384$ ,  $p 0,040$ ) entre vitamina C y la CAT. Y aunque no fue significativa se observa cierta tendencia de relación positiva entre AH/CRE g/g y los valores de MDA ( $r 0,362$ ,  $p 0,053$ ) (Tabla 15).

**Tabla 15.** Relación entre los niveles de AH-O corregidos y sin corregir, niveles de vitamina C, MDA, CAT y tiempo de exposición.

		AH g/L	AH/CRE g/g	Vit C	CAT	MDA	Antigüedad
AH g/L	r	1	0,804**	0,135	0,094	0,212	0,014
	p	0	0,000	0,484	0,627	0,270	0,942
AH/CRE g/g	r	0,804**	1	0,239	0,060	<b>0,362</b>	0,108
	p	0,000		0,213	0,756	<b>0,053</b>	0,578
Vit C	r	0,135	0,239	1	-0,384*	0,002	0,141
	p	0,484	0,213		0,040	0,993	0,466
CAT	r	0,094	0,060	<b>-0,384*</b>	1	0,145	0,122
	p	0,627	0,756	<b>0,040</b>		0,452	0,527
MDA	r	0,212	0,362	0,002	0,145	1	0,068
	p	0,270	0,053	0,993	0,452		0,725
Antigüedad	r	0,014	0,108	0,141	0,122	0,068	1
	p	0,942	0,578	0,466	0,527	0,725	

\*coeficiente de correlación Spearman,  $p < 0,05$

Fuente: datos de la investigación

Posteriormente, al asociar el punto de corte del ácido hipúrico en orina establecido por los organismos OIT, 2007; ATSDR, 2007; ACGHI, 2008, con el tiempo de exposición, no se observó asociación significativa entre estas variables en el GE (Tabla 16).

**Tabla 16.** Asociación entre el punto de corte del ácido hipúrico en orina y tiempo de exposición.

Tiempo de exposición (años)	Concentración de AH-O en g/g de creatinina				Total f (%)	P
	≤ 1,6		> 1,6			
	f	(%)	f	(%)		
<b>1-10</b> (n=25)	16	31,03	9	17,24	25 (48,27)	
<b>11-20</b> (n=18)	14	20,69	4	6,89	18 (27,58)	0,429
<b>&gt;20</b> (n=12)	5	10,34	7	13,79	12 (24,13)	

Prueba de Chi<sup>2</sup> f: frecuencia.

Fuente: datos de la investigación

Por último, al asociar la presencia de los signos y síntomas neurológicos en el grupo expuesto con el punto de corte del ácido hipúrico en orina, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre las variables en estudio, sin embargo, se observó que el 100% de los individuos manifestaron tener dificultad para seguir instrucciones, siendo este el signo más destacados a concentraciones menores de 1,6g/g de creatinina AH-O (Tabla 17).

**Tabla 17.** Asociación entre signos y síntomas y el punto de corte del AH en orina

Signo y síntomas	Concentración de AH-O en g/g de creatinina				p	
	≤ 1,6		> 1,6			
	f	(%)	f	(%)		
Pérdida de memoria	Si	2	50,0	2	50,2	<b>0,623</b>
	No	30	63,2	17	36,8	
Dificultad para concentrarse	Si	5	71,14	2	28,6	0,507
	No	26	59,00	18	41,0	
Dificultad para seguir instrucciones	Si	7	100	0	0	0,129
	No	25	56,8	19	43,2	
Hormigueo	Si	7	77,8	2	22,2	0,356
	No	24	57,1	18	42,9	
Dolor de cabeza	Si	14	53,8	12	46,2	0,268
	No	18	72,0	7	28,0	



## **CAPÍTULO V**

### **DISCUSIÓN**

El uso ampliado de los solventes orgánicos en la industria de pintura automotriz, ha sido asociado con una serie de efectos nocivos sobre la salud de los trabajadores, entre los cuales destacan neurotoxicidad y cáncer; los trabajadores día a día están expuestos a una compleja mezcla de solventes orgánicos, los cuales incluye químicos como: tolueno, xileno y benceno principalmente, siendo la biomonitorización de los trabajadores expuestos de gran importancia, ya que por medio de esto se pueden identificar efectos biológicos tempranos, contribuyendo de tal forma a la prevención de complicaciones crónicas asociadas a la exposición.

En este sentido, en el presente estudio se evaluaron los niveles de ácido hipúrico, estatus antioxidante y posibles alteraciones neurológicas en individuos expuestos y no expuestos a tolueno en talleres de pintura automotriz de Valencia, Edo Carabobo, año 2019. Participaron 91 individuos de sexo masculino, divididos en 2 grupos: uno de 51 trabajadores expuestos (GE) y un grupo no expuesto (GNE) conformado por 40 individuos sin exposición alguna a solventes, con un promedio de edad comprendido entre 20 y 60 años, encontrando dentro del GE que el mayor porcentaje de trabajadores se dedicaban a tareas mixtas 45,10% ( latonería y pintura), parámetro que coincide con lo reportado por Varona M, Ibáñez M, y col (2020), quienes caracterizaron la susceptibilidad poblacional y evaluaron los efectos genotóxico debidos a la exposición a solventes orgánicos, encontrando que el mayor grupo de trabajadores expuestos se desempeñaban por largos periodos en el área de pintura.

Cabe destacar que la actividad de los talleres de pintura automotriz implica la exposición directa a solventes, por lo que es necesario el uso de distintos equipos de seguridad y de higiene para asegurar así el bienestar del trabajador; los equipos de protección personal (EPP's) son todos aquellos dispositivos, accesorios y vestimentas que debe emplear el trabajador para protegerse contra los riesgos, durante este estudio observamos que solo un pequeño grupo de trabajadores afirmaban usar equipos de seguridad, siendo los más comunes las botas de seguridad 64,71%, seguido de los lentes de seguridad y por último máscara de vapores. Estos datos contrastan con el estudio realizado por Viza y Pintado (2018) cuyo objetivo fue determinar la concentración de ácido hipúrico como indicador a la exposición de tolueno y como afecta la salud de los trabajadores de imprentas del centro comercial “Centro Lima”, donde observaron que el porcentaje del uso de medidas de protección de los trabajadores encuestados, era de 0%, es decir, los trabajadores expuestos no usaban guantes, lentes, uniforme, mascarilla y otros.

El uso de los EPP's es una alternativa en el caso que no se pueda eliminar completamente los riesgos en un área laboral. Es importante destacar que los EPP's no evitan completamente el riesgo o accidente que pueda ocurrir, pero aumenta la posibilidad de impedir por completo o parcialmente las lesiones ocasionadas dependiendo de su buen uso y manejo (Paz M, Tinta E, Luque P, y col, 2020).

La mayoría de los talleres de pintura que fueron visitados pertenecían al sector informal, razón por la cual alguno de sus trabajadores no seguía los protocolos de bioseguridad para realizar su labor, poniéndose en riesgo de que dichas sustancias

puedan penetrar fácilmente en su organismo afectando los diferentes órganos y sistemas.

Con respecto al hábito tabáquico un alto porcentaje de los trabajadores expuestos y no expuestos afirmaron no ser fumadores, parámetro que resulta ser igual al reportado por Varona M, y col (2020) donde 31% del GE y 48% GNE, afirmaban no haber fumado nunca.

La manifestación de síntomas neurológicos como el dolor de cabeza y el hormigueo, así como el cansancio en el trabajo, han sido asociadas a la exposición a solventes. Las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos expuestos y no expuestos, fueron relacionadas con algunos síntomas incluidos en el cuestionario PNF como inestabilidad psiconeurovegetativa, astenia, irritabilidad y falta de concentración, donde se observó una prevalencia de más de 3 síntomas neurológicos y psicológicos en el GE donde destacan: dolor de cabeza 51%, hormigueo 17,65%, irritabilidad 100% y astenia 90,20%; lo que sugiere riesgo de neurotoxicidad.

Para el monitoreo biológico del tolueno se utilizó como Biomarcador de exposición la determinación de Ácido Hipúrico en orina (AH-O), a través del método 8300 aprobado por la NIOSH (2003), encontrando diferencias significativas en cuanto a la concentración de AH-O del GE con respecto al GNE, lo que demuestra que los trabajadores estaban expuestos al uso de solventes orgánicos.

Deus T, Oliveira J, Meira F, Rodríguez V, Carvalho A, Da Cunha L (2020), quienes desarrollaron y validaron un método bioanalítico para la cuantificación de biomarcadores COV en muestras de orina de trabajadores de la Universidad Federal de

Goiás (UFG), encontraron niveles de ácido hipúrico cerca o por encima de los valores de referencia.

Con el fin de evaluar el estatus antioxidante de los trabajadores se les determinaron distintos biomarcadores de efectos como: MDA, vitamina C y CAT.

Los valores de MDA obtenidos en esta investigación fueron mayores en el GE con relación al GNE ( $2,09 \pm 0,58$   $\mu$ moles/L Vs  $1,25 \pm 0,70$   $\mu$ moles/L respectivamente), a la vez se pudo observar que los trabajadores con más de 20 años de exposición al tolueno presentaban los valores más altos de MDA, lo cual sugiere que a mayor tiempo de exposición mayor es la probabilidad de desarrollar metabolitos de degradación; aunque el MDA no es el único parámetro que mide el desequilibrio entre los radicales libres, sí es uno de los marcadores de estrés oxidativo más utilizados en la actualidad. Resultados similares fueron reportados por Torres L y col 2017, quienes en su estudio sobre "Benceno urinario, estrés oxidativo, perfil hematológico, hepático y renal en trabajadores de estaciones de servicio". Encontraron niveles de MDA 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.

Asimismo, los valores de catalasa (CAT), fueron mayor en el GE (55,21 mmol min/mg prot-1) con respecto al GNE (22,61 mmol min/mg prot-1), observando una mayor actividad de esta enzima en los trabajadores que tienen más de 20 años de exposición al solvente. De tal manera podemos concluir que existe una buena actividad enzimática en el organismo de los trabajadores expuesto crónicamente al uso del solvente.

Por su parte, Londoño E, Martínez F, Carvajal S, García F, Hoyos L, 2019, realizaron una evaluación del daño oxidativo y por metilación del ADN de pintores expuestos ocupacionalmente a solventes orgánicos y pintura, encontrando también que la exposición a solventes orgánicos y pinturas se asoció con el aumento de las lesiones oxidativas del ADN de los linfocitos de pintores de automóviles. Estos datos respaldan la hipótesis de que el estrés oxidativo tendría un papel relevante en los efectos biológicos causados por los solventes orgánicos como causa principal o secundaria en la etiología de las enfermedades neurodegenerativas y el cáncer.

En cuanto a los niveles de vitamina C, aunque no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos, se observó una mayor concentración en el grupo de 1 a 10 años de exposición, lo que quiere decir que la exposición aguda al solvente puede disminuir los valores de dicho marcador, debido a que la Vit C se consume para contrarrestar el efecto de la exposición al tolueno, existe la necesidad de aumentar la administración de antioxidantes exógenos para mantener los niveles y asegurar así una buena defensa antioxidante.

Un punto importante de resaltar es que al momento de relacionar las variables sin tomar en cuenta el tiempo de exposición, solo se encontró una relación inversa estadísticamente significativa ( $r=0,384$ ,  $p=0,040$ ) entre Vit C y la CAT. Y aunque no fue significativa se observa cierta tendencia de relación positiva entre AH/CRE g/g y los valores de MDA. Estos resultados aunque no son del todo concluyentes, alertan sobre el potencial que tiene el tolueno de generar estrés oxidativo y daño neurológico en los trabajadores de talleres de pintura automotriz, así como también el riesgo de desarrollar enfermedades crónicas como el cáncer y neurodegenerativas.

Aunque el presente estudio proporciona una evidencia del efecto producido por la exposición a tolueno en los trabajadores de talleres de pintura automotriz, se sugiere para investigaciones futuras medir los niveles de exposición ambiental y relacionarlos con los biomarcadores de exposición biológica y con biomarcadores de efectos, con el fin de obtener una mayor precisión del evento toxicológico.

## CAPITULO VI

### CONCLUSIONES

- La mayoría de los trabajadores expuestos directamente al tolueno se dedicaban a tareas mixtas, es decir, tanto a la latonería como pintura, durante su jornada laboral.
- La mayoría de los talleres encuestados, no contaban con estructuras y medidas adecuadas para el ejercicio de dicha labor, además, el uso de equipos de seguridad en los trabajadores fue escasa, favoreciendo de tal manera la aparición de diferentes signos y síntomas asociados a la exposición al tolueno.
- En relación, a los signos y síntomas presentados por los trabajadores, se observó que la mayoría afirmó presentar: dolores de cabeza, mareos, irritabilidad y astenia después de culminada su jornada laboral.
- Se encontraron diferencias significativas en cuanto a la concentración de AH-O del GE con respecto al GNE, lo que demuestra que los trabajadores estaban expuestos al uso de solventes orgánicos.
- Se observaron mayores valores de MDA en trabajadores con más de 20 años de exposición, lo que nos permite concordar con la hipótesis de que a mayor tiempo de exposición de los trabajadores al solvente, mayor es la probabilidad de aparición de ROS.
- Mayor actividad de la enzima catalasa en los trabajadores que tienen más de 20 años de exposición al solvente.
- Se acepta la Hipótesis de la Investigación.

## **CAPITULO VII**

### **RECOMENDACIONES**

- Realizar campañas informativas a los trabajadores sobre el buen uso de equipos de seguridad durante la jornada laboral, enseñándoles a prevenir la aparición de afecciones que puedan afectar su salud.
- Dar a conocer en los diferentes talleres de pintura automotriz la importancia de realizar monitoreo biológico constante de sus trabajadores. A través de la determinación de diferentes metabolitos y evaluaciones neurológicas, para contribuir a una mejor calidad de vida del trabajador.
- Planificar futuras investigaciones con mayor número de participantes, en donde se pueda realizar monitoreo ambiental del lugar y relacionar dichas variables.



## REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aebi H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 105 (1): 12112
- Argüelles S, García S, Maldonado M, Machado A, Ayala A. Do the serum oxidative stress biomarkers provide a reasonable index of the general oxidative stress status? *Biochim Biophys Acta.* 2004 Nov 1;1674(3):251–9.
- American Conference of Governmental Industrial Hygienists. 2003. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2012. Disponible en: <https://www.acgih.org/>
- Alomar M (2018). Antioxidantes: captadores de radicales libres o sinónimo de salud. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : [www.soamer.com](http://www.soamer.com)
- Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR), (2016). Resúmenes de Salud Pública - Benceno (Benzene). *Division of Toxicology and Human Health Sciences*
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Toluene Atlanta (GA): U.S. Department for health and human services. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.html>
- Albiano N. (2010). *Criterios para el monitoreo de la salud de los trabajadores expuestos a sustancias peligrosas.* Toxicología Laboral Argentina, Ed, SRT p 91-98. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2012. Disponible en: [http://biblioteca.srt.gob.ar/Publicaciones/2011/Toxicologia\\_Laboral.pdf](http://biblioteca.srt.gob.ar/Publicaciones/2011/Toxicologia_Laboral.pdf)
- Almirall P, Castillo N, Mayor J (2002). El PNF Como Técnica para la Evaluación Subjetiva en Neurotoxicología, Un Estudio Sobre Su Validez en Relación con las Alteraciones Neurológicas, Neurofisiológicas y Cognitivas. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*; 3(12):40-4.
- Almirall, P. (2007). Evaluación Neuroconductual y Estado de Salud en Trabajadores de Salones de Operaciones. La Habana, Cuba: Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores.
- Almirall, P. (2001). Neurotoxicología. Apuntes teóricos y aplicaciones prácticas. Ministerio de Salud Pública. Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores (INSAT). La Habana, Cuba. pp: 22-33, 44-64, 129-133.
- Arias J (2021). Diseño y metodología de la investigación. Depósito legal de la biblioteca

- nacional del Perú. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : [https://www.researchgate.net/publication/352157132\\_DISENO\\_Y\\_METODOLOGIA\\_DE\\_LA\\_INVESTIGACION](https://www.researchgate.net/publication/352157132_DISENO_Y_METODOLOGIA_DE_LA_INVESTIGACION)
- Asociación Médica Mundial (2011). Declaración de Helsinki de la AMM – Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : <https://www.wma.net/es/polices-post/declaracion-de-helsinki-de-la-amm-principios-eticos-para-las-investigaciones-medicas-en-seres-humanos/>
- Cano C, Bermúdez V, Sulbaran G, Morales R, Medina M, Amell A. (2001). Influencia de la edad y el sexo en el balance oxidación / antioxidación. *Arch. Ven. Farm. y Terp.* 20 (1): 63-68.
- Caro, J., Gallego, M. & Montero, R. (2009). Diferentes metodologías para la evaluación de riesgos originados por compuestos orgánicos volátiles (VOCs) en ambientes laborales. *Seguridad y Medio Ambiente*, 113(1), 20-36.
- Carvajal C (2019). Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Med. leg. Costa Rica* [online]. 2019, vol.36, n.1, pp.91-100. ISSN 2215-5287.
- Cevallos P (2021). Efectos neurotóxicos en trabajadores con exposición a gases volátiles de combustibles en islas de despacho de los terminales santo domingo, ambato, Riobamba de la empresa pública petroecuador. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2021. Disponible en : <https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/4389/1/Cevallos%20Alegro%20C3%ADa%20Pablo%20Hugo.pdf>
- Código de Ética para la Vida, (2011). Fondo Nacional De Ciencia, Tecnología e Innovación. República Bolivariana de Venezuela.
- Copaja M (2015). Inocuidad de los juguetes: Análisis de Tolueno. *Labs y Technological Services*. Centro Tecnológico Químico, Chile.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN) (2003). Concentraciones ambientales permisibles de sustancias químicas en lugares de trabajo e índices biológicos de exposición (Tercera edición) 2253:2001.
- Coronados Valladares, Y., Semino García, L., Alba Gelabert, C., & Andrade González, J. (2019). Principales dilemas bioéticos en personas con discapacidad. *Revista Cubana de Medicina Física y Rehabilitación*, 10(2). [Documento en línea].

Consultada      Noviembre      2019.      Disponible      en      :  
<http://www.revrehabilitacion.sld.cu/index.php/reh/article/view/304>

Da Costa B, Miranda I, Figueredo J. (2015). Tolueno. Facultad de Farmacia de la Universidad de Porto.

Díaz G, Pizarro E, (2013). Estrés Oxidativo. Cuando el equilibrio se pierde. *Revista motricidad y persona*. 13(2013):45-60.

Díaz J, Suarez S, Santiago R, Bizarro E (2020). Accidentes laborales en el Perú: Análisis de la realidad a partir de datos estadísticos. *Revista Venezolana de Gerencia*; 25(89): 312-329

Espinoza A, Toribio J (2017). Estandarización e Implementación de un Método Analítico para Determinación de Ácido Hipúrico en Orina por Espectrofotometría Ultravioleta Visible. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima- Perú.

Fassiano A, Ríos de Molina M, Juárez A. (2013). Biomarcadores, Señal de Alerta de Contaminación Ambiental. Aplicación del estrés oxidativo. 22(131):8-12.

Fonseca P, Heredia J y Navarrete D (2010). Vigilancia Médica para los Trabajadores Expuestos a Benceno, Tolueno y Xileno. Tesis postgrado. Universidad Colegio Mayor de Nuestra Señora del Rosario. Bogotá Colombia.

Giacopini M (2016). La peroxidación lipídica y enfermedades crónicas degenerativas. *Tribuna del Investigador*; 17(1): 171-188.

Giannuzzi L, Ortega F, Ventosi E. (2018). Principios generales de la toxicología, Universidad Nacional de La Plata. Facultad de Ciencias Exactas. [Documento en line]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en :  
<https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/112476>

Hernández-Sampieri, R. & Mendoza, C (2018). Metodología de la investigación. Las rutas cuantitativa, cualitativa y mixta, Ciudad de México, México: Editorial Mc Graw Hill Education, , 714 p.

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (2007). Documentación Toxicológica para el Establecimiento del Límite de Exposición Profesional del Tolueno. *Documentación Límites de Exposición Profesional*. 39(2): 1-11.

Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (2007). Documento en line]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en :

<https://alc.com.ve/wp-content/uploads/2013/10/Ley-Organica-Prevencion-Condiciones-Medio-Ambiente-Trabajo.pdf>

- Londoño E, Martínez F, Carvajal S, García F, Hoyos L. 2019. Evaluación del daño oxidativo y por metilación del ADN de pintores expuestos ocupacionalmente a solventes orgánicos y pintura. *Biomédica* 2019;39: 464-77.
- Macedo-Márquez A, (2012). La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 15 (2): 97-103.
- McKeown, N. (2018). Toluene Toxicity: Background, Pathophysiology, Epidemiology. Medscape. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : <https://emedicine.medscape.com/article/818939-clinical#b5>
- Martínez M, Alcaraz Y, Cárabez A y Leo G (2011). Oxidative Stress Effects of Thinner Inhalation. *Indian Journal of Occupational e Enviromental Medicine*.3 (15):8792
- Marotte C, Zeni S, (2013). Especies Reactivas de Oxígeno y su Efecto Sobre la Actividad de las Células Óseas. *Acta Bioquím Clín Latinoam* 47 (4): 661-674.
- Moreno J (2008). Alteraciones comportamentales y de personalidad debido a la exposición ocupacional a mercurio en un grupo de mineros del oro de la región del bagre Antioquia. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en: [https://repository.ces.edu.co/bitstream/handle/10946/2359/alteraciones\\_comportamiento\\_personalidad.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repository.ces.edu.co/bitstream/handle/10946/2359/alteraciones_comportamiento_personalidad.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM), 4th ed. Hippuric Acid In Urine: Method 8300. U.S. Department of Health and Human Services; 1994. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : <https://www.cdc.gov/niosh/docs/2003-154/pdfs/8300.pdf>
- Organización Mundial de la Salud (2013). Ambientes de trabajo saludables: un modelo para la acción para empleadores, trabajadores, autoridades normativas y profesionales. Ginebra (Suiza).
- Organización Mundial de la Salud (2017). Protección de la salud de los trabajadores
- Organización Internacional del Trabajo (OIT). (2014). La seguridad y la salud en el uso de productos químicos en el trabajo. Ginebra (Suiza).

- Organización Internacional del Trabajo (OIT). (1998). *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo*. Madrid (España).
- Pacheco F, Alí N, Reyes A (2017). Niveles de Fenol y Ácido Hipúrico en Trabajadores de Talleres de Latonería y Pintura, Maracay, Venezuela. *Saber*, Universidad de Oriente, Venezuela. 29: 512-516.
- Palma M, Briceño L, Idrovo A, Varona M (2015). Evaluación de la exposición a solventes orgánicos en pintores de carros de la ciudad de Bogotá. *Biomédica* 35(2):66-76.
- Paz M, Tinta E, Luque García P, Mollo T, Fernández E, Zuñiga M, Lara M, García F, Paz S, Martínez R (2020). Guía de uso de equipos de protección personal. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : <https://www.asuss.gob.bo/wp-content/uploads/2021/12/01-Guia-de-Uso-EPP-Caja-Nacional-de-Salud-2020.pdf>
- Pérez I, Ostrosky F, López A (2016). Alteraciones Cognitivas por Exposición a Disolventes Industriales en Trabajadores Mexicanos. *Archivos en Medicina Familiar*. 18(2):31-40.
- Pérez L, Miranda V. (2014). *Determinación de Fenoles, Acido Hipúrico y Acido Metilhipúrico en Orina como Indicadores Biológicos de Exposición al Benceno, Tolueno y Xileno en Trabajadores Expuestos en una Fábrica de Caucho en Lima Metropolitana*. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Tesis de grado).
- Roe J, Kuether C, Zimler R (1947). *The distribution of ascorbic acid in the blood*. Department of biochemistry, school of medicine, George Washington University. Washington, DC.
- Sánchez B, Prado L, León S, González R (2017). Trabajadores de la industria petrolera (Ecuador) y síntomas en el sistema nervioso, por exposición a diferentes niveles de solventes. [Documento en línea]. Consultada Noviembre 2019. Disponible en : <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=76954>
- Thetkathuek A, Jaidee W, Saowakhontha S, Ekburanawat W. (2015). Neuropsychological Symptoms among Workers Exposed to Toluene and Xylene in Two Paint Manufacturing Factories in Eastern Thailand. *Advances in Preventive Medicine*. 2015: 1-10.
- Varela Caamiña, María Peregrina, Blanco Anaya, Paloma, & Díaz de Bustamante, Joaquín. (2021). ¿Por qué paran las reacciones? Diseñar experimentos para indagar

la interacción enzima-sustrato. *Educación química*, 32(2), 74-87.

Varona M, Ibañez M, Briceño L, Herrera D, Chuairé L, Martínez M, Sánchez M, Palma R, Groot H (2020). Biomarcadores de susceptibilidad y efecto en pintores de carros expuestos a solventes orgánicos. *Colomb. Med.* ; 51 (1): 15-26

Viza S, Pintado M. (2018). *Determinación de la concentración de ácido hipúrico en orina como indicador de exposición al tolueno y la relación con la salud en trabajadores de imprentas del centro comercial Centro Lima*". [Tesis de Grado]. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima-Perú.

Xiong L, Zhou H, Liang Z, Ma Q, Liang S, Peng, Z (2016). Oxidative Stress and Genotoxicity of Long-Term Occupational Exposure to Low Levels of BTEX in Gas Station Workers. *International Journal Environmental Research and Public Health* ;13(12):1212.

## ANEXO A



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



### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Por medio del presente consentimiento le extendemos la invitación a participar en calidad de voluntario en el trabajo de grado llevado a cabo por la Lcda. Jenifer Carolina Remolina Palencia, C.I. 20.445.433, aspirante al título de Magister en Toxicología Analítica, bajo la tutoría de la Dra. Yolima Fernández C.I: 13.382.234, el cual lleva por título **“NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y POSIBLES ALTERACIONES NEUROLOGICAS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA AUTOMOTRIZ DE VALENCIA ESTADO CARABOBO. AÑO 2019”**

#### **Introducción:**

El desarrollo industrial mundial ha promovido no sólo afectaciones a los ecosistemas sino también a la salud, razón por la cual la Organización Mundial de la Salud (OMS) llama la atención sobre el daño a la salud causado por la exposición a factores de riesgo en los lugares de trabajo destacando entre ellos los riesgos, físicos, químicos y biológicos. Los solventes orgánicos (SO) comúnmente utilizado en la industria representan uno de los riesgos químicos para la seguridad y la salud de los trabajadores, afectando la calidad de vida de la población trabajadora; por lo que resulta de gran importancia realizar el monitoreo biológico de los trabajadores que manipulan este tipo de compuestos químicos, con el fin de que se establezcan medidas de control y seguridad para el uso de los mismos.

Los pintores de talleres automotrices no escapan de esta problemática ya que día a día viven expuestos al efecto nocivo de estos compuestos los cuales pueden generar a largo plazo afecciones en distintos órganos y sistemas del individuo.

En el presente trabajo pretendemos evaluar la situación actual de los trabajadores de talleres de pintura automotriz de Valencia Estado Carabobo, que están expuestos a Tolueno durante la realización de su jornada laboral, esto con el fin de proporcionar información actualizada y fidedigna de la problemática en cuestión.

**Objetivo General:**

Evaluar los niveles de ácido hipúrico, estatus antioxidante y posibles alteraciones neurológicas en individuos expuestos y no expuestos a tolueno en una empresa de pintura automotriz de Valencia estado Carabobo.

**Metodologías y Procedimientos:**

Una vez que el participante manifieste a través de este consentimiento su participación en el estudio:

- Deberá responder una encuesta previamente validada por expertos, la cual contendrá una serie de preguntas acerca de datos socio- epidemiológicos, hábitos, estilo de vida y antecedentes patológicos, además se le aplicara un test de determinación de posibles afecciones neurológicas.
- Se citara el día \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_, a la hora \_\_\_\_\_, durante 1 hora aproximadamente para responder tales preguntas.
- Se obtendrá una muestra de sangre y de orina del participante una vez finalizada la jornada laboral de la semana, esto con el fin de realizar determinaciones como: ácido hipúrico, malondialdehído (MDA), vitamina C, catalasa eritrocitaria y tioles. Las muestras serán almacenadas en nevera a -4 °C hasta su procesamiento en el Laboratorio de Toxicología y Farmacología de la Escuela de Bioanálisis. Las muestras/datos obtenidos estarán codificados, es decir tendrán un código que hace que los/las participantes permanezcan anónimos. Solo los investigadores tendrán acceso a relacionar dicho código con su identidad, si hiciera falta. Al término de la investigación todas las muestras serán desechadas siguiendo los protocolos de bioseguridad para ello.
- Las encuestas y datos obtenidos durante la investigación, serán conservados en físico por los investigadores por un máximo de diez años después de su recolección, luego de los cuales se podrá proceder a su descarte. Los datos en digital serán conservados por un máximo de veinte años, luego de los cuales se podrá proceder a su descarte.

**Beneficios del Estudio:**

- Compromiso de informar sobre los resultados que surjan durante la investigación que representen algún beneficio para el paciente.
- El autor asume totalmente los costos económicos de la investigación, por lo que no ocasionara ningún gasto por parte del participante.
- Los datos derivados del presente trabajo serán usados para la presentación del trabajo de grado y a la vez será presentado en eventos de carácter científico. Asimismo una vez aprobado podrá ser publicado en alguna revista de origen nacional o internacional.

**Riesgos:** El estudio tiene un bajo riesgo para los/las participantes, en términos de la integridad física, psicológica y moral. Solo se hará una invasión mínima con el uso de una inyectadora para extracción de 10 mL de sangre venosa, aplicando procedimientos rutinarios y bajo supervisión de licenciados en Bioanálisis. La extracción de sangre no conlleva más molestias que un simple pinchazo en la vena del



brazo. A veces, muy raramente, le puede ocasionar un pequeño hematoma o una leve inflamación que remitirán en pocos días. La muestra de sangre venosa permitirá realizar los análisis de laboratorio previstos en el presente proyecto de investigación. Si luego de realizar los análisis existieran incongruencias entre los datos/resultados o insuficiente volumen de la muestra de sangre, el equipo de investigadores contactara con posterioridad al participante a fin de recabar nuevos datos u obtener una nueva muestra de sangre.

**Confidencialidad del paciente:**

La información obtenida a través de su participación durante el estudio será estrictamente confidencial y de uso exclusivo para la investigación. Tales datos solo podrán ser auditados en cualquier etapa de la investigación por la comisión coordinadora de la Maestría en Toxicología Analítica y la Comisión de Bioética y Bioseguridad de la Facultad de Ciencias de la Salud. En cada una de estas instancias se velará por mantener la estricta confidencialidad y privacidad de los/las participantes.

Los datos de identificación de los participantes se manejaran como códigos alfa-numéricos, para así garantizar la confidencialidad e intimidad de todos los participantes.

**Código ID del participante:**

**Participación y/o retiro voluntario:**

Su participación será totalmente voluntaria, usted decidirá si participa o no hacerlo o puede dejar este estudio en cualquier momento (sin dar ninguna razón) y sin consecuencias negativas para usted, solo debe participar al investigador.

**Firmas del Consentimiento:**

Estimado voluntario, por favor lea esta sección cuidadosamente y si está de acuerdo por favor firme en la parte inferior de la hoja:

- a) Se me han proporcionado los detalles de la investigación y su propósito. Asimismo he leído y comprendido la información de este “Consentimiento Informado”, también se me ha dado la oportunidad de realizar preguntas y todas ellas han sido respondidas. Además puedo consultar cualquier duda sobre la investigación con la Lcda. Jenifer Remolina a través de su teléfono: 0414-9598520/ 0416 -8422955.
- b) Comprendo que soy libre de aceptar o rechazar participar el estudio. Mi participación en este estudio es voluntaria y no seré sancionado si me niego a participar o decido retirarme en cualquier momento.
- c) Entiendo que mi participación no conlleva ningún costo económico, ni riesgo para mi persona.
- e) Estoy de acuerdo que los datos recopilados serán usados para los fines del trabajo de grado correspondiente, su presentación en eventos científicos y publicación en revistas científicas; Pero la identidad personal no podrá ser revelada.
- f) Recibiré una copia firmada de este “Consentimiento Informado”.

**Nombre** \_\_\_\_\_ **del** \_\_\_\_\_ **Participante:**

C.I: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Dirección: \_\_\_\_\_

Fecha: Día \_\_\_\_\_ Mes \_\_\_\_\_ Año \_\_\_\_\_

Hora: \_\_\_\_\_ **Nombre del Testigo 1:**

C.I: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Fecha: Día \_\_\_\_\_ Mes \_\_\_\_\_ Año \_\_\_\_\_

Hora: \_\_\_\_\_

**Nombre del Testigo 2:**

C.I: \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Fecha: Día \_\_\_\_\_ Mes \_\_\_\_\_ Año \_\_\_\_\_

Hora: \_\_\_\_\_

**Nombre del Investigador:**

C.I. \_\_\_\_\_ Firma: \_\_\_\_\_

**Institución Responsable:** Universidad de Carabobo. Facultad de Ciencias de la Salud

**Número de registro institucional:** \_\_\_\_\_

Otorgado por Comités Éticos en Investigación biomédica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, cuya finalidad es velar por la calidad de la investigación en sujetos humanos y garantizar su protección.

## ANEXO B



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



### CUESTIONARIO

**Título del trabajo: “NIVELES DE ÁCIDO HIPÚRICO, ESTATUS ANTIOXIDANTE Y POSIBLES ALTERACIONES NEUROLOGICAS EN INDIVIDUOS EXPUESTOS A TOLUENO EN TALLERES DE PINTURA AUTOMOTRIZ DE VALENCIA ESTADO CARABOBO. AÑO 2019”**

<b>Fecha:</b>	<b>Edad:</b>	<b>C.I:</b>
<b>Nombre:</b>	<b>Apellido:</b>	<b>Sexo:</b>

**Se agradece responder cada una de estas preguntas con la mayor sinceridad.**

#### **Estudio Socio-Epidemiológico:**

1. ¿cuánto tiempo lleva laborando en la empresa?

Días \_\_\_\_\_ Meses \_\_\_\_\_ Años \_\_\_\_\_

2. ¿cuantos días labora en la semana? (duración de la jornada laboral semanal)

Días \_\_\_\_\_ Desde \_\_\_\_\_ Hasta \_\_\_\_\_

3. ¿Cuántas horas trabaja diariamente? (duración de la jornada laboral por día)

4. ¿Utiliza implementos de seguridad durante el desarrollo de su jornada laboral?

<b>Equipo de Protección</b>	<b>Si</b>	<b>No (justifique su respuesta)</b>
<b>Braga manga larga</b>		
<b>Mascara para vapores orgánicos</b>		

<b>Lentes</b>		
<b>Guantes</b>		
<b>Botas de seguridad</b>		
<b>Casco de seguridad</b>		
<b>Orejeras</b>		

### **Hábitos y Antecedentes Patológicos**

#### **Hábitos**

5.- ¿Usted fuma?

No

Sí, ¿desde hace cuánto tiempo? \_\_\_\_\_

6.- ¿Consume licor?

Frecuentemente

A veces

Socialmente

Nunca

7.- ¿Consume usted regularmente algún medicamento?

No

Sí, ¿Cuáles? \_\_\_\_\_

¿Desde hace cuánto tiempo? \_\_\_\_\_

<b>Antecedentes Patológicos y Síntomas:</b>	<b>Si</b>	<b>No</b>
¿Ha tenido problema con los riñones?		
¿Ha sufrido pérdida de memoria?		
¿Presenta dificultad para concentrarse?		
¿Tiene dificultad para seguir instrucciones?		
¿Ha sentido hormigueo en alguna parte de su cuerpo?		
¿Ha tenido dolor de cabeza?		

## ANEXO C



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



#### Cuestionario de Síntomas Psicológicos Neurológicos (PNF)

<b>Nombre:</b>	<b>Apellido:</b>	<b>Edad:</b>
<b>C.I.:</b>	<b>Sexo:</b>	<b>Tiempo laborando:</b>

El presente cuestionario ha sido elaborado con el propósito de registrar sus malestares y dolencias. Señale con una cruz en la columna que corresponde, con qué frecuencia ha sentido esos malestares y dolencias últimamente. Si en alguna frase aparece más de un malestar, márquela aunque haya sentido uno solo de ellos.

Preguntas	Nunca o raramente	Algunas veces	Frecuentemente	Muy frecuentemente
1. Mareos, vómitos				
2. Dolores de cabeza.				
3. No tener ánimo para nada				
4. Gases, estreñimiento y diarrea				
5. No poder controlarse cuando esta bravo, siente rabia				
6. Vahídos, vértigos				
7. Distraerse fácilmente				
8. Pérdida de la fuerza muscular				
9. No tener ánimo para trabajar				
10. Tener dificultad para recordar cosas sencillas				

11. Perturbaciones del equilibrio				
12. Aumento de la necesidad de dormir				
13. Sentirse hastiado de todo				
14. Ahogos, falla de aire				
15. Perder la paciencia y ponerse furioso				
16. Cansarse fácilmente				
17. Dificultad para recordar los nombres				
18. Sentir inseguridad al caminar o al hacer otros movimientos				
19. No tener interés por nada				
20. Falla de memoria				
21. Sentir hormigueo o entorpecimiento en manos brazos y piernas				
22. Sudar con facilidad				
23. Lentitud en los movimiento o en las reacciones del cuerpo				
24. Sentir llenura, sentir un peso en el estomago				
25. Sentirse irritado con pequeñeces				
26. Sentir molestia en el pecho				
27. Estar distraído				

28. Dificultad en las relaciones íntimas				
29. No tener energía				
30. Tener sensaciones de frío o calor				
31. Dolores en las articulaciones y pesadez en las extremidades				
32. Dificultad para conciliar el sueño o despertar varias veces en la noche				
33. No querer saber de nadie				
34. Sentir debilidad, cansancio, agotamiento				
35. Disgustarse demasiado rápido con las personas				
36. Sentir resequead en la boca o salivar mucho				
37. Tener dificultad para concentrarse				
38. Sentir temblores en brazos, piernas y todo el cuerpo.				