

Exposición no ocupacional a tolueno en diferentes escenarios de México

Lucía G. Pruneda-Alvarez, Tania Ruiz-Vera, Iván N. Pérez-Maldonado

Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Media

Universidad Autónoma de San Luis Potosí

San Luis Potosí, S. L. P.; México

[lucia.pruneda, tania.ruiz, ivan.perez]@uaslp.mx

Abstract— Large amounts of carcinogenic pollutants like toluene might be emitted from incomplete combustion reactions in both factories and biomass burning; common polluted scenarios in Mexico, toluene was evaluated in four different scenarios in Mexico in women during the period 2012-2013 with the biomarker of exposure hippuric acid in urine. The results showed for the rural area the highest levels compare with the others petrochemical-industrial, indigenous rural area, and bricked area. Although these women do not exceed the Biological Exposure Index from The American Conference of Governmental Industrial Hygienists and NOM-047-SSA1-2002, they presented values from occupationally exposed population and this due to the location of their homes and daily activities, and consequently the exposure is considered as a risk factor to health.

Keyword— *Urinary exposure biomarker, Toluene, Hippuric acid, indoor air pollution, HPLC*

Resumen— Grandes cantidades de contaminantes cancerígenos como el tolueno pueden emitirse a partir de reacciones de combustión incompleta, tanto en industrias y en la quema de biomasa, escenarios comunes en México, este contaminante fue evaluado en cuatro diferentes escenarios en mujeres, dentro del periodo 2012-2013 con el biomarcador de exposición urinario ácido hipúrico. Los resultados mostraron en los niveles más altos para la zona rural comparados con la zona industrial-petroquímica, zona rural indígena, y zona Ladrillera. Aunque los niveles de estas mujeres no rebasan el Índice de exposición biológica y la NOM-047-SSA1-2002, presentan niveles similares de población ocupacionalmente expuesta, debido a su localización y actividades diarias, considerando esta exposición como un factor de riesgo a la salud.

Palabras claves— *Biomarcador de exposición urinaria, Tolueno, Ácido Hipúrico, Contaminación de interiores, Cromatografía de líquidos..*

I. INTRODUCCIÓN

La personas pasamos hasta un 85-90% de nuestro tiempo en interiores (viviendas, lugar de trabajo, el coche y el transporte público, lugares públicos, entre otros), donde existen numerosas fuentes de emisión de distintos productos químicos, tales como compuestos orgánicos volátiles (COV); [1] [2]. Los COVs son considerados contaminantes de ambientes interiores [3]. La inhalación es la vía predominante de exposición debido a su volatilidad, y otra parte también es absorbida fácilmente a través de la piel [4]. La exposición prolongada a ciertos compuestos orgánicos volátiles puede aumentar el riesgo de ciertas enfermedades como: las leucemias, cáncer de vejiga, defectos de nacimiento y daño neurocognitivo [5], [6], [7].

Los niveles más altos de COVs pueden encontrarse en ciertos ambientes ocupacionales, tales como fábricas de pinturas, tintas, aerosoles, y combustibles. Sin embargo, estudios epidemiológicos sugieren que también existen estos compuestos en el aire interior y aunque se han encontrado concentraciones bajas se ha relacionado con la alteración en la función de las vías respiratorias, en particular el asma [5], cáncer de la nasofaringe [6], y posiblemente leucemia [7], Entre los COVs que se encuentran comúnmente en el interior son el benceno, tolueno, xileno (colectivamente llamados BTX) y formaldehído (FA) [8].

Las concentraciones de tolueno en aire son por lo general son bajas en ambientes habituales, y los niveles para zonas urbanas y suburbanas varían de entre 1.3 - 6.6 ppb. Las emisiones por parte de los vehículos de combustión interna son la fuente principal de tolueno que se queda en el aire del ambiente, con niveles fluctuantes en proporción al tráfico. El tolueno también es un contaminante muy común en interiores teniendo concentraciones promedio de 8 ppb, siendo mayores que las encontradas en el exterior [4]. Probablemente esto se debe a la liberación de tolueno por los productos domésticos comunes (pinturas, disolventes de pintura, adhesivos, esmalte de uñas, algunos productos de limpieza), humo del cigarrillo y por la quema de leña tanto en chimeneas o fogones [9]. Dado que las personas, pasan una gran parte del día en el interior, siendo las mujeres las que pasan más tiempo en sus hogares comparado con los demás integrantes de la familia, realizando diversas actividades domésticas, De acuerdo con la Encuesta Nacional sobre Uso del Tiempo 2009 [10], las mexicanas de 12 y más años de edad se dedican a diversas actividades; entre ellas, el trabajo doméstico ocupa el 23.6% de su tiempo. Teniendo en cuenta el porcentaje del tiempo que dedican las mujeres al hogar, en promedio 15 horas a la semana lo destinan en la preparación y servicios de alimentos para los miembros de la familia, y para el resto de los miembros familiares, invierten 4 horas.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es evaluar niveles en orina de ácido hipúrico como biomarcador de exposición a tolueno en diferentes escenarios no ocupacionales en mujeres mexicanas.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

A. Población de estudio

Fueron evaluados los niveles urinarios de ácido hipúrico en 67 mujeres sanas, con un promedio de 34 años de edad (15-51 años) dentro del periodo 2012-2013. Cuatro escenarios de exposición a tolueno fueron evaluados en la República: Zona industrial-petroquímica suburbana (ZONA A), para la comunidad de López Mateos, en Coatzacoalcos, Veracruz; Zona rural indígena (ZONA B), para las comunidades de Santa María Pícula y Cuatlamayán en la Huasteca Potosina; Zona Ladrillera (ZONA C), para la comunidad suburbana de Juventino Rosas, Guanajuato; Zona rural, del altiplano potosino para la comunidad de El Leoncito, Villa de Guadalupe, San Luis Potosí. (ZONA D) (Tabla I).

Todas las mujeres que participaron en este estudio contaban con un nivel socioeconómico similar (alta marginación) [11], para las zonas industrial-petroquímica y zona ladrillera, el gas LP se utiliza como la única fuente de combustible para cocinar, sus viviendas con muros, piso y techos de concreto, para las zonas rural indígena y zona rural (zona B y zona D), y utilizan la leña como fuente de energía para la cocción y para la calefacción de sus hogares, sus viviendas son viviendas tradicionales con muro y techo de madera, el piso es de piso de tierra; para las cuatro zonas, por lo general ocupan 60% de su tiempo dentro de sus hogares y alrededor de 5 horas diarias en la cocción de sus alimentos, todas las participantes han sido residentes de esa comunidad por más de 10 años, estos datos fueron obtenidos por medio de un encuesta realizada el día de la toma de muestra.

Las mujeres fumadoras, con inhalación pasivas al humo de cigarro y que consumieron alimentos que pueden interferir con el análisis de la muestra se excluyeron del estudio.

Tabla I. Características de las mujeres participantes

Características de las mujeres	ZONAS			
	ZONA A Zona industrial-petroquímica suburbana para la comunidad de López Mateos	ZONA B Zona rural indígena para las comunidades de Santa María Pícula y Cuatlamayán	ZONA C Zona Ladrillera para la comunidad suburbana de Juventino Rosas	ZONA D Zona rural, del altiplano potosino para la comunidad de El Leoncito
N	18	21	14	15
Edad (años) Media (rango)	33.3 (18–40)	32.5 (19–51)	36.2 (18–40)	30 (18–40)
Fumadoras (%)	0.0	0.0	0.0	0.0
Fumadoras pasivas (%)	16.6	19	20	0.0
Tiempo que pasan en la cocina (hrs)	3.5 (1.5–8.0)	5.15 (1.5–8.0)	2.8 (1.5–7.5)	3.6 (1.5–7.0)
Tipo de combustible (%)	94 Gas LP/6 Leña	85.5 Leña/14.5 Gas LP	100 Gas LP	100 Leña

Todas las participantes firmaron el consentimiento informado, se completó un cuestionario y se tomaron muestras de orina. El cuestionario incluía características como la edad, el peso, la altura y la exposición al humo de tabaco. Asimismo, con el cuestionario, se determinó las características de la vivienda y características sociodemográficas y ocupación de los miembros de la familia. También se realizó una encuesta que incluía la ingesta de alimentos ahumados y a la parrilla, el vino, el té verde, productos enlatados que hubiesen consumidos el día anterior a la toma de muestra de orina. Se pidió a las participantes hacer un ayuno de 12 horas previo a la toma de muestras y sólo consumir agua durante la misma cantidad de horas previas.

B. Toma de muestra de orina

Las muestras de orina fueron recolectadas por la mañana (la primera orina de la mañana), en botellas de plástico herméticas y estériles, posteriormente se almacenaron en el congelador a -20°C hasta el análisis. Para el análisis, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se tomó una alícuota de 1 ml aproximadamente de cada muestra para filtrarlas con filtros de $0.22\ \mu\text{m}$ en viales de vidrio ámbar para inyectar en el HPLC.

De la muestra original se tomó una alícuota de 1.6 ml para los análisis de creatinina urinaria por el método colorimétrico, que se realizó en el Laboratorio de Química Renal de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

C. Cuantificación de ácido hipúrico.

El principal metabolito del tolueno es el ácido hipúrico (AH) (la vida media de este metabolito es de aproximadamente 12 h), el producto final de la oxidación de la cadena lateral de tolueno. El metabolismo en humano comienza por la conversión de tolueno a alcohol bencílico, benzaldehído, y ácido benzoico, que es finalmente conjugado con glicina y se excreta en la orina como ácido hipúrico [12]. (FIG. 1). La cuantificación de AH se desarrolló de acuerdo al método NIOSH 83001 [13]. La muestra fue centrifugada a $3000\ \text{xg}$ y filtrada (membranas Millipore $0.22\ \mu\text{m}$ Ø). Para los datos de análisis la temperatura de la columna se fijó a 40°C , el flujo se ajustó a $1\ \text{ml/min}$, y la inyección volumen fue de $20\ \mu\text{l}$. El eluyente tenía las siguientes proporciones: 88:12 metanol /agua y ácido ascórbico 1%. Los datos fueron recolectados y procesados con el software HP ChemStation.

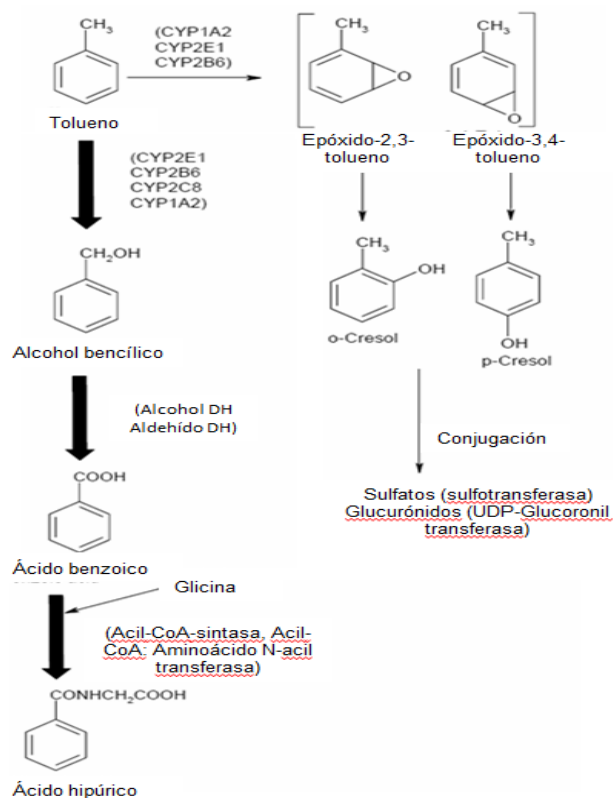


Fig. 1 Metabolismo en humanos de tolueno

Las concentraciones AH urinario se ajustaron la excreción urinaria de creatinina. La creatinina urinaria se determinó utilizando el método colorimétrico de Jaffe [14].

De acuerdo con nuestra condiciones de estudio, el límite de detección fue de 0,03 mg / l. Control de calidad fue certificado mediante un estándar certificado IRIS Clin Cal (Munich, Alemania) No. Cat. 9969. (5,1 mg / l de t, t-AM)], y la recuperación fue de 97%. Los límite de detección y límite de cuantificación bajo las condiciones desarrolladas, para el AH son, de 2 mg/L y 23 mg/L, respectivamente.

D. Análisis estadísticos

Para realizar el análisis estadístico de los datos, se utilizó el software Graph-Pad Prism versión 5.00 para Windows, (Graph-Pad Software, San Diego, California, EE.UU., www.graphpad.com), p= <0,05 fue considerado estadísticamente significativo. Se aplicaron las pruebas de homogeneidad de varianzas y normalidad (Shapiro-Wilk) para determinar la distribución de los datos y el tipo de tratamiento estadístico. Los datos no pasaron las pruebas de homogeneidad de varianza y normalidad por lo tanto se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis con prueba pos-hoc de Dunn.

III. RESULTADOS

Todas las mujeres de nuestro estudio tenían características similares (Tabla 1). Eran mujeres con una edad media de 29 años (rango 18-50). En promedio, las mujeres pasaron 5.5 h en la cocina y, 7.3 horas en su hogar en general.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda concentración de creatinina en el rango de 30-300 mg / dl para ser considerado una muestra representativa [15], es decir, no demasiado diluida o demasiado concentrada. En nuestro caso, las concentraciones de creatinina variaron 28.3 a 283.5 mg / dl, y todas las muestras se incluyeron en la evaluación estadística de los datos.

Los resultados de la exposición a AH por sitio se describen en la Tabla II, además del porcentaje de la población que excede el índice de exposición biológica (BEI) laboral y la Norma Mexicana NOM-047-SSA1-2002, [16] [17] puede observarse que la zona rural (Zona D) mostró un porcentaje mayor de exposición en comparación con las demás zonas.

TABLA II. Estadística descriptiva de los cuatro sitios para AH urinario, expresado en g/g creatinina

	ZONA A	ZONA B	ZONA C	ZONA D
N=	18	21	14	15
Mediana	0.29	0.36	0.33	0.71
Mínimo	0.03	0.02	0.1	0.19
25% Percentil	0.18	0.18	0.26	0.42
75% Percentil	0.95	0.61	0.6	0.87
Máximo	4.2	2.9	1.1	3
**Exceden BEI (%)	22.2	9.5	0	13.3

**BEI (ACGIH 2005) y Norma Oficial Mexicana NOM-047-SSA1-2002 = 1.6 g/g creatinina

Con la finalidad de observar de manera individual los valores obtenidos en cada sitio, se presentan los datos en la figura 2, donde además se indica con una línea el valor de BEI laboral.

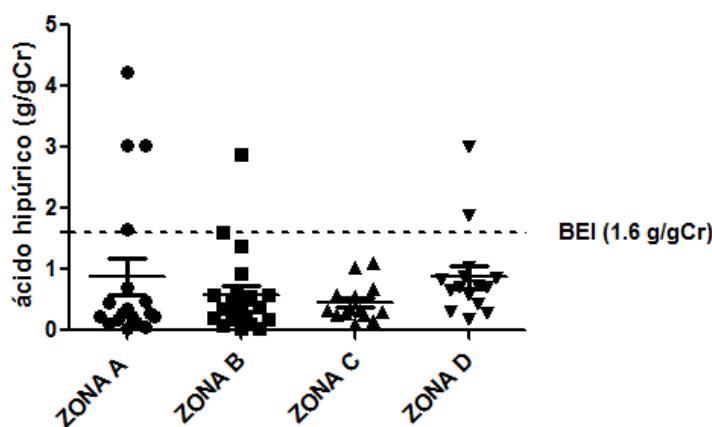


Fig. 2 Medianas de los valores de ácido hipúrico en (g/g creatinina) en las cuatro zonas.

IV. DISCUSIÓN

Con relación a los resultados obtenidos, las mujeres de las cuatro zonas mostraron una baja exposición a tolueno, siendo estos valores de concentraciones urinarias encontradas por debajo del BEI. En lo que concierne a la mediana de los valores se encontraron similares en las mujeres de zonas B y C, y siendo las de las zonas A y D que mostraron medianas mayores que las zonas anteriores y aunque no se encontraron diferencias significativas entre las cuatro zonas, la zona D muestra el valor más alto.

Es importante considerar a que la mayor fuente de liberación de tolueno es durante la producción, el transporte y el uso de la gasolina, que contiene alrededor de 5-7% en peso de tolueno, sin embargo cantidades importantes también son liberados en asociación con la producción, uso y eliminación de productos industriales y de consumo que contienen tolueno como por ejemplo el uso de gasolina para prender el fogón que sería el caso para la zona D donde el 100% de las mujeres utilizan el fogón para la cocción de alimentos y donde esta estufa “rústica” permanece encendido la mayor parte de día, con el uso diario de fogones, se espera un incremento en el tiempo de exposición y que los valores obtenidos de este metabolito sea representativo aunado al hecho de que ésta acumulación en el interior facilita la exposición crónica ya que los compuestos se pueden encontrar en suelos y demás superficies del hogar. [18].

Otro punto importante a considerar es que en estas zonas la exposición es continua, es decir crónica; para la zona A que se encuentra dentro de una área de producción de gasolina “Complejo Pajaritos” de Coatzacoalcos, Veracruz, se puede sugerir que cantidades de tolueno son liberadas en las descargas de aguas residuales, residuales industriales y en los desechos provenientes de refinerías, sin embargo los valores encontrados en este estudio no fueron los más altos comparados con las otras zonas en estudio.

El tolueno en la atmósfera es degradado por reacción con radicales hidroxilo, con una vida media de aproximadamente 13 horas. Tolueno en el suelo o el agua se volatiliza rápidamente al aire, y lo que queda es sujeto a la degradación microbiana. Como consecuencia de la volatilización y la degradación que ocurre en el aire, el suelo, y el agua, hay poca tendencia a que los niveles de tolueno se acumulen en el medio ambiente a través del tiempo disminuyendo así la exposición tanto en exteriores como interiores.

La ingesta de tolueno en los alimentos y el agua pueden contribuir sustancialmente en la presencia de tolueno en orina, pero podría explicarse por el hecho de que AH también es un metabolito de ácido benzoico y respectivas sales presentes en los alimentos y su valor basal en población en general suele ser alta, aunque para esta población se restringió la ingesta de productos enlatados y/o procesados también se tiene que tomar en cuenta la variación interindividual para metabolizar el tolueno por la familia del citocromo P450 (CYP) donde se encuentran cinco citocromos importantes CYP1A2, CYP2B6, CYP2E1, CYP2C8 y CYP1A1. Además la cantidad de tolueno retenida en el organismo está en función del porcentaje de grasa presente [19] [20].

Comparando nuestros valores con los realizados en otros biomonitoreos tenemos el de Roma-Torres y cols. en el 2006 [21], en donde se muestra una mediana de 0.56 g/gCre para personas ocupacionalmente expuestas de una fábrica de refinación de petróleo en España, siendo la mediana de la zona D que muestra valores por arriba de este dato (0.71 g/gCre) mostrando una exposición de tipo ocupacional, sin que sean estas mujeres trabajadoras de industrias relacionadas con el refinamiento del petróleo, y que su única fuente de exposición a este contaminante es la quema de biomasa que es una actividad no ocupacional.

Estudios realizados en zonas suburbanas como la de nuestra zona A y C tenemos el estudio realizado por Siqueira y Paiva en 2002 [22], en la ciudad de Alfenas, un área urbana situada en la región sur del estado de Minas Gerais, Brasil, mostraron una mediana de 0.15 g/gCr, aunque si se compara con las de nuestro estudio son 3 veces más grandes las concentraciones en nuestro estudio, ya que influye la

cercanía de sus viviendas a una industria petroquímica y ladrillera aumentando así sus valores de exposición a tolueno[23].

Además es importante mencionar que adicional a las diferencias geográficas y culturales entre las poblaciones consideradas para este estudio, puede existir variabilidad en la susceptibilidad a la toxicidad del tolueno.

V. CONCLUSIONES

Aunque no es posible establecer cada una de las fuentes identificadas para tolueno en los resultados, pudo observarse a través de este estudio que las mujeres presentaron concentraciones más altas de metabolitos urinarios, en comparación de personas ocupacionalmente expuestas y gran medida se debe a la ubicación de sus viviendas, y usos y costumbres de la población así como el uso de estufas tradicionales.

Puesto que en los escenarios estudiados son complejos debido la existencia de mezclas de contaminantes, provenientes de diversas fuentes aunado a diferentes rutas de exposición, [24] [25], también es de gran importancia considerar las interacciones que pudieran ocurrir con la presencia de otros contaminantes entre los que podemos encontrar, el benceno, compuestos orgánicos persistentes, hidrocarburos aromáticos policíclicos por mencionar algunos, aunque se encuentren en concentraciones seguras, no se deben de descartar esta exposición como factores de riesgo.

Para darle continuidad y énfasis a este estudio será necesaria la evaluación de un biomarcador de efecto para evaluar posibles alteraciones que puedan presentar esta población. Esta exposición constante a mezcla de contaminantes derivada de actividades cotidianas se suma a la susceptibilidad de los individuos afectados, por lo tanto debe ser el tolueno debe ser considerado tóxico prioritarios que ponen en riesgo la salud de las mujeres en edad reproductiva y a sus familias en México.

REFERENCIAS

- [1] Dales R, Liu L, Wheeler AJ, Gilbert NL. 2008. "Quality of indoor residential air and health". *CMAJ* 179:147–152.
- [2] Herberth G, Gubelt R, Roder S, Kramer U, Schins RP, Diez U, Borte M, Heinrich J, Wichmann HE, Herbarth O, Lehmann I. 2009. "Increase of inflammatory markers after indoor renovation activities: The LISA birth cohort study". *Pediatr Allergy Immunol* 20:563–570.
- [3] Fan Z, Liyo P, Weschler C, Fiedler N, Kipen H, Zhang J. 2003. "Ozone-initiated reactions with mixtures of volatile organic compounds under simulated indoor conditions". *Environ Sci Technol* 37:1811–1821.
- [4] ATSDR. "Toxicological profile for toluene". 2000. Available from <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp56.html> (Accesado Mayo 25, 2014).
- [5] Rumchev KB, Spickett JT, Bulsara MK, Phillips MR, Stick, SM. 2002. "Domestic exposure to formaldehyde significantly increases the risk of asthma in young children". *Eur Respir J* 20:403–408.
- [6] Vaughan TL, Stewart PA, Teschke K, Lynch CF, Swanson GM, Lyon JL, Berwick M. 2000. "Occupational exposure to formaldehyde and wood dust and nasopharyngeal carcinoma". *Occup Environ Med* 57:376–384.
- [7] Zhang L, Freeman LE, Nakamura J, Hecht SS, Vandenberg JJ, Smith MT, Sonawane BR. 2010. Formaldehyde and leukemia: Epidemiology, potential mechanisms, and implications for risk assessment. *Environ Mol Mutagen* 51:181–191.
- [8] Kotzias D. 2005. "Indoor air and human exposure assessment--Needs and approaches". *Exp Toxicol Pathol* 57:5–7.

- [9] U.S. Environmental Protection Agency. Integrated Risk Information System (IRIS) on Toluene. National Center for Environmental Assessment, Office of Research and Development, Washington, DC. 2005.
- [10] INEGI. “Encuesta Nacional sobre Uso del Tiempo” (ENUT). 2009.
- [11] INEGI. Regiones Socioeconómicas de México. www.inegi.org.mx. 2010
- [12] Duydu Y, Süzen S., Erdem N., Uysal H., Vural N. Validation of Hippuric Acid as a Biomarker of Toluene Exposure Bull. Environ. Contam. Toxicol. (1999) 63:1-8 1999 Springer-Verlag New York Inc.
- [13] National Institute for Occupational Safety and Health Hippuric and methyl hippuric acids in urine. Method 8301. Manual of analytical methods, (2003) .
- [14] Taussky, H.H. A micro-colorimetric determination of creatinine in urine by the Jaffe’s reaction, J. Biol. Chem. (1954), 208, 853–861.
- [15] World Health Organization) Biological Monitoring of Chemical Exposure in the Workplace, Geneva, (1996) WHO/HPR/OCH/96.1.
- [16] ACGIH. “Threshold Limit Values for Chemical Substances and Physical Agents and Biological Exposure Indices, Cincinnati, American Conference of Government Industrial Hygienists”. (2005).
- [17] NOM-047-SSA1-2002 Norma Oficial Mexicana.” Salud ambiental- Índices biológicos de exposición para el personal ocupacionalmente expuesto a sustancias químicas”. <http://www.dof.gob.mx/documentos/3757/SALUD/SALUD.htm>. Accessed 20 Sept 2011.
- [18] Environmental Protection Agency. “Questions About Your Community: Residential Wood Combustion” EPA. Last updated on 8/4/2014. RECUPERADO El 5 de junio de 2014
- [19] Nakajima, T; Wang RS, Elovaara E, Gonzalez FJ, Gelboin HV, Raunio H, Pelkonen O, Vainio H, Aoyama T (1997-02-07). "Toluene metabolism by cDNA-expressed human hepatic cytochrome P450". Biochemical Pharmacology 53 (3): 271.
- [20] Tassaneeyakul, W; Birkett DJ, Edwards JW, Veronese ME, Tassaneeyakul W, Tukey RH, Miners JO (1996). "Human cytochrome P450 isoform specificity in the regioselective metabolism of toluene and o-, m- and p-xylene".
- [21] Roma-Torres, J., Teixeira, J.P., Silva, S., Laffon, B., Cunha, L.M., Mendez, J. and Mayan, O. (2006) Evaluation of genotoxicity in a group of workers from a petroleum refinery aromatics plant, Mutat. Res., 604, 19–27.
- [22] Siqueira ME, Paiva MJ (2002) Hippuric acid in urine: reference values. Rev Salud Publica 36:6.
- [23] Secretaria de Salud de México (SSA) (2002) “Programa de Acción: Salud Ambiental”, Primera Edición 970-721-064-8. <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL7103.pdf> ACCESADO 27/05/2013.
- [24] Pelallo-Martínez NA, Batres-Esquivel L., Carrizales-Yañez L., Díaz Barriga-Martínez F. Genotoxic and Hematological Effects in Children Exposed to a Chemical Mixture in a Petrochemical Area in Mexico.
- [25] Pruneda-Álvarez LG, Pérez-Vázquez FJ, Salgado-Bustamante M, Martínez-Salinas RI, Pelallo-Martínez NA, Pérez-Maldonado IN. “Exposure to indoor air pollutants (polycyclic aromatic hydrocarbons, toluene, benzene) in Mexican indigenous women”. Indoor Air. 2012 Apr;22(2):140-7.