

3963

rev

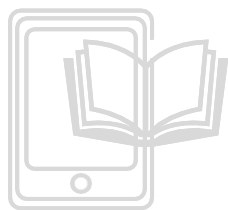
Plomo, Genotoxicidad y Salud Humana



Galo Cantos
Ramiro López

1999

6
232
CM



BASE LEGAL PARA DIGITALIZACIÓN DE LIBROS CON DERECHOS DE AUTOR

El Sistema Integrado de Bibliotecas de la Universidad Central del Ecuador, digitalizará su acervo bibliográfico siempre y cuando sea para fines educativos y de investigación. No se permite la reproducción y distribución para la comercialización directa e indirecta del mismo.

La digitalización del material bibliográfico se lo realiza de acuerdo al Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación Art. 212 numeral 9, Literal ii “(...) Una biblioteca o archivo podrá, además, realizar los siguientes actos (...) La reproducción electrónica y comunicación pública de obras de su colección para ser consultadas gratuita y simultáneamente hasta por un número razonable de usuarios, sólo en terminales de redes de la respectiva institución o para usuarios de esa institución bajo su control, en condiciones que garanticen que no se puedan hacer copias electrónicas de esas reproducciones” y literal vii “La reproducción, adaptación, traducción, transformación, arreglo, distribución y comunicación de una obra protegida por derechos de autor o una prestación protegida por derechos conexos, en uno o más formatos accesibles para el uso exclusivo de personas con discapacidad”.

Este material se considera un producto intelectual a favor de su autor; por tanto, la titularidad de sus derechos se encuentra protegida por el Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación. La violación a dichos derechos constituye un delito que será responsabilidad del usuario.

Este libro está disponible físicamente en:

BIBLIOTECA		PISO	
		ESTANTE	
		BANDEJA	
CONVENIO INTERINSTITUCIONAL		UNIVERSIDAD	



BASE LEGAL PARA DIGITALIZACIÓN DE LIBROS CON DERECHOS DE AUTOR



El Sistema Integrado de Bibliotecas de la Universidad Central del Ecuador, digitalizará su acervo bibliográfico siempre y cuando sea para fines educativos y de investigación. No se permite la reproducción y distribución para la comercialización directa e indirecta del mismo

La digitalización del material bibliográfico se lo realiza de acuerdo al Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación Art. 212 **numeral 9, Literal ii** “(...) Una biblioteca o archivo podrá, además, realizar los siguientes actos (...) La reproducción electrónica y comunicación pública de obras de su colección para ser consultadas gratuita y simultáneamente hasta por un número razonable de usuarios, sólo en terminales de redes de la respectiva institución o para usuarios de esa institución bajo su control, en condiciones que garanticen que no se puedan hacer copias electrónicas de esas reproducciones” y literal vii “La reproducción, adaptación, traducción, transformación, arreglo, distribución y comunicación de una obra protegida por derechos de autor o una prestación protegida por derechos conexos, en uno o más formatos accesibles para el uso exclusivo de personas con discapacidad”

Este material se considera un producto intelectual a favor de su autor; por tanto, la titularidad de sus derechos se encuentra protegida por el Código Orgánico De La Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación. La violación a dichos derechos constituye un delito que será responsabilidad del usuario.

3963

616

C232

UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
CENTRO DE BIOMEDICINA

SECRETARIA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA
(SENACYT)

FUNDACION NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGIA
(FUNDACYT)

PLOMO, GENOTOXICIDAD Y SALUD
HUMANA

Dr. Galo Oswaldo CANTOS OVIEDO. Biol.

Profesor Principal de la Cátedra de Genética
Director de la Unidad de Citogenética

Ramiro Iván LOPEZ PULLES. MD. MSc

Profesor Auxiliar de la Cátedra de Genética Humana
Subdirector de la Unidad de Citogenética

Médico Tratante del Instituto Nacional de Investigación Científica y Desarrollo
Tecnológico - MSP

Dr. Juan Leonardo LOBATO SANTILLAN. Biol.

Investigador en Citogenética

Dra. Martha ROMERO DE LA CADENA. Quim.

Profesora Principal de la Cátedra de Química Ambiental

Carlos Wladimir TORRES SERRANO. MD. MSc

Profesor Auxiliar de la Cátedra de Genética Humana
Investigador en Citogenética

Freddy Angelo NICOLALDE POZO. MD.

Profesor Auxiliar de la Cátedra de Genética Humana
Investigador en Citogenética



Para la edición de este trabajo se utilizó dos sistemas IBM compatible: Pentium MMX, una impresora Hewlett-Packard Laser Jet 5M. El software utilizado fue Microsoft Word 97 for Windows.

Diagramación y edición:

Centro de Biomedicina – Unidad de Epidemiología y Bioestadística

Klever SAENZ FLOR. MD

ksaenzf@hotmail.com

Quito-Ecuador 1998.

Copyright © 1998 Facultad de Ciencias Médicas. Centro de Biomedicina. U.C.E.

El software o los productos mencionados en el contenido de esta publicación son marcas comerciales y/o marcas registradas de sus respectivas compañías.

Ninguna parte de este libro puede ser reproducida, transmitida o impresa en ninguna forma o medio alguno, electrónico, mecánico, fotográficos o fotomecánico para uso público, sin el consentimiento escrito de los autores.

INDICE

INTRODUCCIÓN

Estructura de las cromosomas

PLOMO, GENOTOXICIDAD Y SALUD HUMANA

AUTORES:

Dr. Galo Oswaldo CANTOS OVIEDO. Biol.

Ramiro Iván LOPEZ PULLES. MD. MSc

Dr. Juan Leonardo LOBATO SANTILLAN. Biol.

Dra. Martha ROMERO DE LA CADENA. Quim.

Carlos Wladimir TORRES SERRANO. MD. MSc

Freddy Angelo NICOLALDE POZO. MD.

©Centro de Biomedicina, Universidad Central del Ecuador. Iquique y Sodiro s/n. Quito.

Telefax (593-2) 230764

Fax. (593-2) 526530

E - Mail: leestevez@hotmail.com

PLOMO, GENOTOXICIDAD
Y SALUD HUMANA



INDICE

INTRODUCCIÓN	1
Estructura de los cromosomas	4
Efectos del plomo en la salud humana	6
Daño cromosómico y pruebas citogenéticas	11
Aberraciones cromosómicas	12
Clasificación de las aberraciones cromosómicas estructurales	14
Aberraciones de número	15
Anomalías adicionales	15
Micronúcleos	16
Fragilidad cromosómica	17
Intercambio de cromátidas hermanas	18
Efectos del plomo en los cromosomas de animales y humanos	21
Síntesis de investigaciones en clastogénesis por plomo	23
UN MODELO DE TRABAJO EXPERIMENTAL	25
OBJETIVOS	25
MATERIAL Y MÉTODOS	25
RESULTADOS	30
DISCUSIÓN	35
BIBLIOGRAFÍA	41

INDICE

1	INTRODUCCION
4	Estructura de los cromosomas
6	Efectos del plomo en la salud humana
11	Daño cromosómico y pruebas citogenéticas
12	Aberciones cromosómicas
14	Clasificación de las aberraciones cromosómicas estructurales
15	Aberciones de número
15	Anomalías estructurales
16	Mitochondrias
17	Pragmática cromosómica
18	Interacción cromosómica
21	Efectos de la contaminación ambiental en la salud humana
23	Shuntaje de investigación
25	UN MODELO DE INVESTIGACION
25	OBJETIVO
25	MATERIALES Y METODOS
30	RESULTADOS
35	DISCUSION
41	BIBLIOGRAFIA



PRESENTACION

Desde la antigüedad, la ciencia en sentido estricto se la ha concebido como una búsqueda desinteresada de la verdad. Sin embargo de la finalidad cognoscitiva primaria de la actividad científica, sus logros trascienden éstas para dar lugar a las finalidades aplicativas. El saber elaborado bajo el rigor de la ciencia y de la técnica ofrece la posibilidad real de la utilización racional de la naturaleza para satisfacer las necesidades fundamentales del hombre. Las finalidades prácticas de la ciencia moderna en cuanto actividad humana, dependen de motivaciones personales, intereses, condicionamientos y de su propia inscripción dentro de un contexto de fines y valores.

Devolver a la ciencia lo que tiene de humano, ha sido la tarea realizada por el equipo de investigadores de la *Unidad de Citogenética Humana*, dirigida por Galo Cantos y Ramiro López, del *Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador*. En el aporte científico que hoy presentamos, se encuentra vigoroso y renovado conocimiento conjugado entre el saber objetivo y una fecunda actividad humana; elementos indispensables para la transformación social y sanitaria del país.

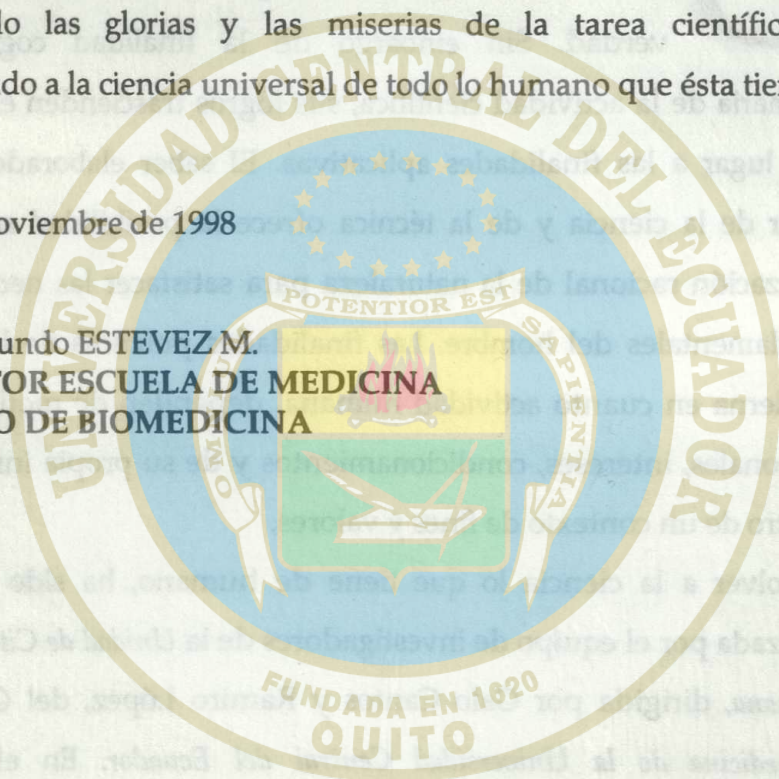
Proyectado desde el plano de las dotes de los investigadores y de su saber, la Universidad se sumerge en las aguas profundas y revueltas

del saber científico y la tecnología, para emerger airosa, llevando el conocimiento científico aplicado a la solución de ingentes y acuciantes problemas como el presente, en relación al efecto genotóxico del plomo en la población alto andina de La Victoria.

El Centro de Biomedicina de la Universidad, acerca una vez más la ciencia a las personas que menos la conocen y que más la necesitan, rebasando las glorias y las miserias de la tarea científica y repoblando a la ciencia universal de todo lo humano que ésta tiene.

Quito, noviembre de 1998

Dr. Edmundo ESTEVEZ M.
DIRECTOR ESCUELA DE MEDICINA
CENTRO DE BIOMEDICINA



ANALISIS DEL DAÑO CROMOSOMICO EN LINFOCITOS DE TRABAJADORES DE LA CERAMICA EXPUESTOS AL PLOMO. LA VICTORIA. COTOPAXI-ECUADOR.

RESUMEN

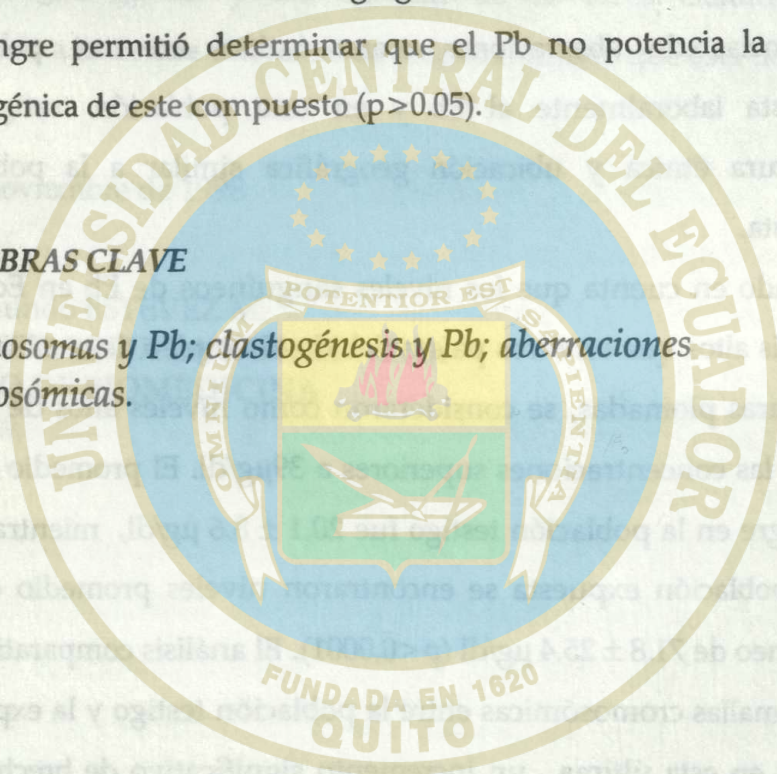
Se determinaron las concentraciones de Pb en sangre y las frecuencias de aberraciones cromosómicas en una población expuesta laboralmente al Pb y en una población testigo con estructura étnica y ubicación geográfica similar a la población expuesta.

Teniendo en cuenta que los niveles sanguíneos de Pb en Ecuador son más altos que en otros países debido al empleo de combustibles y pinturas plomadas, se consideraron como niveles altos de Pb en sangre las concentraciones superiores a $39\mu\text{g/dl}$. El promedio de Pb en sangre en la población testigo fue $20,1 \pm 8,6 \mu\text{g/dl}$, mientras que en la población expuesta se encontraron niveles promedio de Pb sanguíneo de $71,8 \pm 25,4 \mu\text{g/dl}$ ($p < 0,0001$). El análisis comparativo de las anomalías cromosómicas entre la población testigo y la expuesta mostró, en esta última, un incremento significativo de brechas de isocromátida, fragmentos acéntricos, cromosomas desespiralizados, y pulverizaciones cromosómicas. Estos resultados indican que la contaminación por Pb produce aberraciones cromosómicas,

probablemente mediante un mecanismo indirecto por bloqueo en la síntesis de ADN. La población expuesta también exhibió un incremento muy significativo de asociaciones cromosómicas satelitales (3 o más cromosomas asociados por adhesividad de satélites). El significado de este hallazgo no es claro, pero sugiere que la población expuesta podría tener un aumento en el riesgo de nacimientos con trisomías. El agregado de bleomicina a los cultivos de sangre permitió determinar que el Pb no potencia la acción clastogénica de este compuesto ($p > 0.05$).

PALABRAS CLAVE

Cromosomas y Pb; clastogénesis y Pb; aberraciones cromosómicas.



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

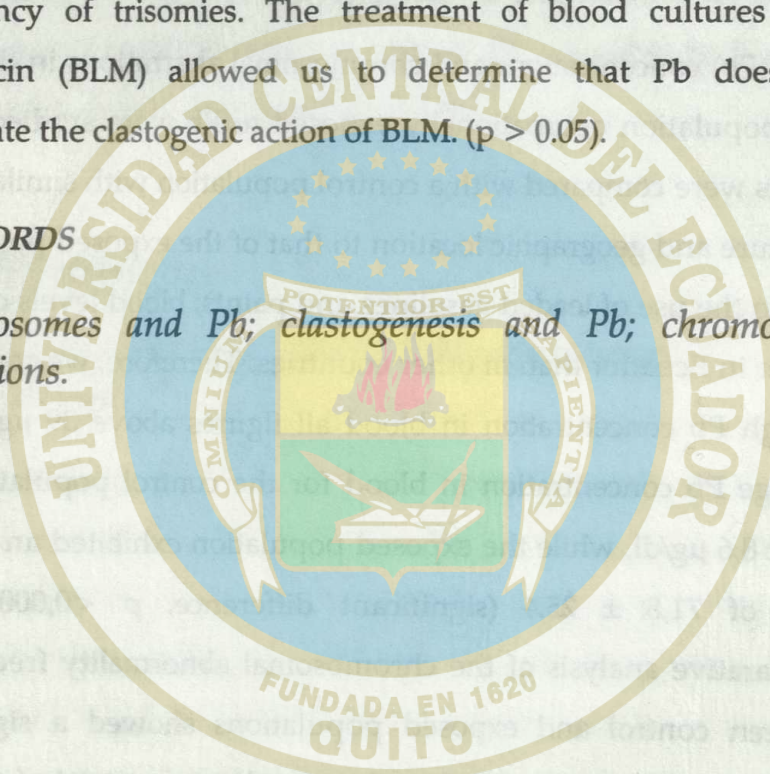
SUMMARY

Lead (Pb) concentrations and chromosomal aberrations in the blood of a population occupationally exposed to Pb were studied. These results were compared with a control population with similar ethnic structure and geographic location to that of the exposed population. Due to the use of leaded gasolines and paints, blood levels of Pb are higher in Ecuador than in other countries. Therefore, we considered as high Pb concentration in blood all figures above 39 $\mu\text{g/dl}$. The average Pb concentration in blood for the control population was $20,1 \pm 8,6 \mu\text{g/dl}$, while the exposed population exhibited an average level of $71,8 \pm 25,4$ (significant difference, $p < 0,0001$). The comparative analysis of the chromosomal abnormality frequencies between control and exposed populations showed a significant increase in the frequency of isochromatid gaps, acentric fragments and depiralized chromosomes in the exposed population. Chromosomal pulverizations were increased close to the level of significance. These results indicate that Pb induces chromosome

aberrations through an indirect mechanism resulting from DNA synthesis blockage. The exposed population also exhibited a significant increase in the association of chromosomal satellite regions (3 or more chromosomes associated by satellite adhesiveness). The meaning of this finding is not clear but it suggests that exposed population may have an increased risk of occurrence of trisomies. The treatment of blood cultures with bleomycin (BLM) allowed us to determine that Pb does not potentiate the clastogenic action of BLM. ($p > 0.05$).

KEY WORDS

Chromosomes and Pb; clastogenesis and Pb; chromosome aberrations.



INTRODUCCION

Durante mucho tiempo, el desarrollo ecológico fue armónico, la vida de un organismo en ese proceso estuvo subordinada a un todo y correspondía a los procesos químicos y biológicos que ocurrían a su alrededor.

Hasta el siglo XIX, el hombre no influyó sensiblemente en el desbalance del proceso de evolución de la situación ecológica. Es reconocido que una de las causas más importantes de la ruptura de la armonía y del desequilibrio ecológico inducido es la contaminación ambiental de origen humano, ya sea por metales pesados, plaguicidas, derivados de procesos petroquímicos, industria papelerá, maderera, aditivos alimenticios, metalmecánica, aerosoles y otros que son eliminados en ambientes naturales: aire, tierra, agua y que causan un serio impacto en la salud y economía de la comunidad humana.

En la actualidad en la biósfera se encuentra en forma constante cerca de un millón de compuestos químicos de carácter antropogénico y el número de ellos crece constantemente. En el mundo cada año se sintetizan casi 250000 sustancias químicas nuevas (CEPE 1989), de ellas alrededor de 70000 provienen de la industria y se incrementan aproximadamente 1000 por año.

Durante los últimos años el interés en la exposición ocupacional y las enfermedades por el trabajo ha aumentado. Una de las razones es la preocupación en la calidad del medio ambiente y ésto se traduce en estudios de contaminantes químicos industriales que afectan la salud de los trabajadores que son las primeras personas en mostrar efectos causados por exposiciones peligrosas. Una segunda razón es la expansión de la conciencia social, debido a que al existir

la información, los trabajadores pueden conocer los peligros de la exposición para su salud y reducir los riesgos (Basler 1987).

El avance de la industrialización de los países de América Latina implica un creciente riesgo para sus problemas con respecto a la exposición a agentes tóxicos que presentan propiedades mutagénicas, carcinogénicas y teratogénicas (UNESCO-ROSTLAC 1987).

En muchos casos la alteración de los ecosistemas desaparece en un plazo más o menos variable después de eliminada la contaminación. Sin embargo cuando los contaminantes son capaces de inducir alteración en el material hereditario, ésta persiste y se propaga a través del tiempo (Programa Regional de Desarrollo Científico 1980).

En años recientes se han evidenciado un sin número de agentes químicos que tienen un potencial efecto mutagénico sobre el hombre y la naturaleza (Hook 1982), lo que puede ser comprobado por las alteraciones a nivel del material genético (ADN) que afectan el metabolismo básico celular y que se refleja en los efectos sobre el recién nacido, arterioesclerosis y cáncer (DNH & DDE. 1986).

Uno de los elementos contaminantes más comunes es el plomo. Este metal ha sido utilizado desde el comienzo de la civilización, ya que una figura de plomo encontrada en Abydos data de 3800 años A.C. Fue probablemente usado en el antiguo Egipto entre 7000 y 5000 años A.C. (Niriagu 1978). Igualmente, el plomo fue utilizado en el Imperio Romano y otras civilizaciones, en la fabricación de recipientes. Se especula que el declive de la civilización romana se debió a una intoxicación por plomo de sus miembros (Gilfillan 1965).

El hombre primitivo tenía una carga cien veces menor de lo que tiene el actual; en momias se estableció que era diez veces, en tanto que en el último Imperio Romano se encontró una alta cantidad de

plomo muy similar a la que se encuentra en el hombre actualmente (Grand 1975).

El peligro que tenían las personas que trabajaban con plomo ya era conocido en el siglo XVII; 200 años después se ha establecido que por contaminación ambiental toda la población tiene algo de plomo en sus tejidos. Se sabe que no existe un nivel seguro de exposición de plomo; existen evidencias recientes de que el plomo puede dañar la salud en forma que antes era totalmente desconocida (OPS/OMS 1988).

La producción de plomo en el mundo es en realidad inmensurable. Solamente en USA. la cantidad de partículas de plomo que se emiten hacia la atmósfera es de 166000 toneladas métricas anuales lo cual está produciendo una contaminación de toda la biósfera que incluye aire, agua potable, alimentos e inclusive contaminación de la leche materna (OPS/OMS 1988).

El consumo de plomo en 1995 en los USA fue aproximadamente 1400000 toneladas métricas, utilizándose en la fabricación de baterías 1220000 toneladas métricas, municiones 62000 toneladas métricas y otros usos como construcción de botes, en aleación con otros metales, fabricación de cables, tubos, aditivos para la gasolina, soldaduras (Mineral Industry Surveys 1996),

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

Según los informes del Laboratorio de Higiene Industrial del Instituto Ecuatoriano de Seguridad Social (IESS), en 1982 existían aproximadamente 833 industrias en el país, de las cuales 545 empresas utilizaban plomo y, de los trabajadores que se encontraban expuestos al mismo, el 53% estaban desprotegidos (Ortega 1982); en otra evaluación del mismo Instituto en 1984 que valoró la exposición al plomo en la industria de las baterías, el 60% del personal poseía niveles anormales de plomo sérico y el 23% presentaba niveles críticos (IESS 1984).

El 51% de los trabajadores de las fábricas de baterías ya están afectados en su salud y el 11.4% presentan una respuesta orgánica crónica, igualmente se registraron valores altos de concentración de plomo urinario en el personal que labora en la industria gráfica (Lasso 1989).

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

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

ESTRUCTURA DE LOS CROMOSOMAS

El cromosoma posee la información necesaria para regular el funcionamiento celular, la diferenciación celular, la morfogénesis y la reproducción de los organismos. Cualquier cambio que ocurra en el cromosoma es la causa de mutación, variación y selección de los seres vivos.

La unidad estructural de los cromosomas se denomina fibra de cromatina, este término se usa para identificar a un complejo de macromoléculas, que constituyen el material cromosómico de la célula no mitótica o en interfase.

La fibra de cromatina y por ende los cromosomas de eucariotas están formados por la asociación de macromoléculas diferentes, tales como ADN, ARN, proteínas histónicas, proteínas no histónicas y pequeñas cantidades de lípidos, sales de calcio y magnesio. De todas estas sustancias, el ADN es el almacén de información genética, y por lo tanto, el componente estable del cromosoma. El ARN y las proteínas cromosómicas son moléculas que provienen de la actividad genética y están implicadas en la regulación de dicha actividad.

El grado de compactación de la fibra de cromatina varía de acuerdo al estado fisiológico del núcleo; éste aumenta a medida que la célula pasa de interfase a mitosis, explicando los diferentes aspectos que presentan los cromosomas en la división celular.

Para el estudio de la morfología cromosómica se utilizan técnicas de aplastamiento u otros procedimientos consistentes en dispersar el material objeto, cultivos celulares, tratamiento con soluciones hipotónicas y posterior fijación y coloración, lo que permite obtener células con su juego intacto de cromosomas. Los tejidos más apropiados para este estudio son: órganos sexuales (testículo, ovario), bazo, tubo digestivo, glándulas salivales, hemolinfa, sangre periférica, médula ósea.

El cromosoma en metafase de mitosis, alcanza el nivel máximo de condensamiento y el aspecto de su morfología es óptimo para su estudio.

El cromosoma metafásico presenta la siguiente morfología básica:

Cromátidas. Cada cromosoma tiene dos cromátidas, una corresponde al cromosoma original y la otra es el cromosoma duplicado en el período S de la interfase del ciclo de la división celular.

Brazos. Son las dos partes del cromosoma, formadas por los segmentos de las dos cromátidas, que se unen en la constricción primaria. Se los identifica como el brazo corto "p" y el brazo largo "q".

Telómeros. Son los extremos de los brazos de los cromosomas, que presentan polaridad, característica que impide que otros segmentos cromosómicos puedan unirse al cromosoma directamente.

Constricción primaria- Centrómero: Es un estrechamiento que se presenta en las dos cromátidas. Es una zona menos teñida y de menor contenido de ADN que el resto de los brazos cromosómicos.

Las funciones del centrómero son: mantener asociadas a las dos cromátidas, la inserción de las fibras del huso y determinar la forma de los cromosomas metafásicos.

El número y la forma de los cromosomas son, generalmente, constantes para las células del mismo individuo y entre los individuos de una misma especie.

EFFECTOS DEL PLOMO EN LA SALUD HUMANA

Absorción y Metabolismo.- Las sales inorgánicas de plomo se absorben por ingestión o inhalación, mientras las sales orgánicas lo pueden hacer también a través de la piel. La absorción pulmonar varía con el volumen de ventilación pulmonar y el tamaño de las partículas, pudiendo absorberse las menores a una micra que alcancen los alveolos, 40-60% del plomo inhalado es retenido en los

pulmones, el resto pasa a la circulación. La absorción gastrointestinal es aproximadamente un 10% de la dosis ingerida, pero en los niños puede ser hasta de un 50% (Nogué 1996). Aumenta con la desnutrición, especialmente cuando existe déficit de hierro, calcio y zinc; paradójicamente, la lactasa que facilita la absorción del calcio, también favorece la absorción del plomo. Los adultos pueden ingerir hasta 100 ug/día de plomo a partir de la exposición procedente de los alimentos y el agua de consumo. Con estas concentraciones se puede producir un balance positivo de plomo dado que la excreción total diaria normalmente no supera los 80 ug/día. En los niños no se tolera más de 5 ug/Kg de peso corporal sin aumentar los depósitos corporales de plomo (Mahaffey 1990, Wyngaarden 1991, Isselbacher 1994, Nogué 1996).

Una vez absorbido, el plomo se distribuye por todo el organismo acumulándose en varios compartimentos. Así, en condiciones de equilibrio se puede encontrar en la sangre entre 5 y 10 % del plomo ingerido: el 95% de esta fracción está localizada en los eritrocitos. En los adultos un 80-90% es captado por dientes y tejido óseo incorporándose a los cristales de hidroxapatita donde permanece relativamente inactivo; en los niños, debido al crecimiento exponencial del sistema esquelético (en la primera infancia el esqueleto aumenta 40 veces su masa original), esta incorporación sumada al déficit de absorción de vitaminas C y D que se produce, determinan alteraciones en la dentición y el crecimiento óseo con aumento radiográfico de la placa metafisaria o de crecimiento de los huesos largos (las llamadas "líneas del plomo"). El resto (5%) se encuentra en los tejidos blandos principalmente riñones, hígado, aorta y cerebro. En los tejidos blandos y en la sangre, la vida media del plomo es de 24 a 40 días, en el hueso, de 10⁴ días (10 a 28 años)(Rabinowitz 1976, Gerhardsson 1993, Isselbacher 1994, Nogué 1996).

Se considera aceptable una concentración sanguínea de plomo inferior a 10 ug/dL, debido a que concentraciones tan bajas como 15 ug/dL determinan ya alteraciones bioquímicas o del desarrollo neurológico (Isselbacher 1994, Kimbrough 1994, Piomelli 1994, Rice 1996, Johnson 1998). Una vez en la sangre, el plomo se disuelve en el plasma y se une a la hemoglobina produciendo anemia hemolítica en el saturnismo agudo (con concentraciones mayores a 80 ug/dL); por otro lado, al alterar crónicamente la función de enzimas del ciclo de síntesis del hem: ácido delta-aminolevulínico sintetasa (ALAS), ácido delta-aminolevulínico deshidratasa (ALAD) y ferroquetalasa, permitiendo la acumulación de alfa protoporfirina libre de los hematíes y coproporfirina III que tienen efectos tóxicos, se reduce la síntesis de hemoglobina (anemia ferropénica-hiporregenerativa), produciéndose un círculo vicioso, pues el déficit de hierro aumenta 2 a 3 veces la absorción de plomo (Hammond 1977, Nestlé 1985, Moore and Goldberg 1985, Parera 1986, Albiano 1989, Haddad 1990, Nogué 1996).

La ruta de excreción principal son las heces (80-90%) y la orina (10%). Se excretan pequeñas cantidades en el pelo, las uñas, el sudor y la saliva. El plomo pasa a través de la placenta y de la barrera hematoencefálica y puede encontrarse en la leche humana (Enhart 1992, Isselbacher 1994, Saxena 1994, Needleman 1995, Bossano & Oviedo 1996).

Muchas biomoléculas interactúan con el plomo: lípidos, ácidos orgánicos, compuestos aromáticos, grupos sulfhidrilo de las proteínas. Es tóxico para las enzimas y ácidos nucleicos afectando a los tejidos en desarrollo y regeneración rápida más que a aquellos que tienen un recambio lento. Interfiere con el transporte del Ca^{+2} , la síntesis y liberación de neurotransmisores, la activación de la proteincinasa C, la agregación plaquetaria, la síntesis de anticuerpos, la resistencia a endotoxinas y en general, la función del sistema inmunológico de defensa, determinando aumento en la

susceptibilidad a las infecciones bacterianas, virales y parasitarias. En concentraciones elevadas altera la estructura terciaria de las proteínas intracelulares, desnaturalizándolas y causando muerte celular e inflamación tisular, pudiendo incluso, ser el asiento de enfermedades de tipo degenerativo-maligno (Gerber 1980, López 1992, Isselbacher 1994, Johnson 1998).

Toxicología Clínica.- Los efectos tóxicos del plomo son distintos en niños y adultos. En adultos el saturnismo se caracteriza por malestar general, dolor abdominal, anemia, enfermedad renal, confusión, cefalea, ataxia, pérdida de la memoria y neuropatía periférica con desmielinización de los axones neuronales que determina retardo en la conducción nerviosa, parestesias, paresias y parálisis de los músculos con su correspondiente atrofia (cuando afecta a músculos extensores se produce la "mano o pie péndulos o en garra"); a menudo existen también alteraciones en la función tiroidea, cardíaca, hepática y se ha descrito un tipo de gota saturnina, que es una forma de artritis producida por el acúmulo de ácido úrico en las articulaciones (por el daño renal) a lo que se suma acúmulo de guanina debido a la inhibición de la enzima guanina aminohidrolasa, también muy sensible al plomo, determinando dolor y tumefacción articular intensos. Estos síntomas se asocian con una elevación prolongada de las concentraciones de plomo por encima de 80-100 ug/dL de sangre. Existe una forma subclínica o asintomática que tiene que ver más con la exposición crónica y afecta sobre todo al sistema nervioso periférico y riñones, describiéndose además una asociación lineal entre hipertensión y concentraciones de plomo superiores a 30 ug/dL (Farkas 1978, Molina & Ballesteros 1982, Poor and Mituszova 1989, Nolan and Shaikh 1992, Isselbacher 1994, Bossano & Oviedo 1996, Nogué 1996, Navah 1996).

No hay información epidemiológica indicativa de los efectos del plomo sobre la fecundidad femenina o el desarrollo fetal "in útero",

pero en la bibliografía se mencionan a menudo partos de fetos muertos o prematuros, mayor tendencia a abortos espontáneos, y recién nacidos de bajo peso en mujeres que trabajan en la industria del plomo (Afap 1986, Fundación Natura 1987, Ernhart 1992, Anttila 1995). Además se ha constatado una incidencia más elevada de disfunción ovulatoria, principalmente ciclos anovulatorios y ciclos con anormalidad del cuerpo lúteo; en comparación con un grupo testigo (Fundación Natura 1987). Existen anormalidades en el volumen y la forma de los espermatozoides observándose astenospermia y teratospermia en trabajadores de baterías (Lancronjan 1975, Nordenson 1978), lo que sugiere la producción de mutaciones letales durante la espermatogénesis y posiblemente la ovogénesis, afectando la capacidad reproductiva del ser humano (Gerber 1980).

El saturnismo infantil se caracteriza a diferencia del adulto, por una grave encefalopatía que deja secuelas neurológicas irreversibles (Haddad 1990). En la forma aguda los síntomas reflejan el efecto directo de las concentraciones altas de plomo (80 ug/dL), así como las alteraciones graves de la síntesis de porfirinas y comprenden: malestar general, dolor abdominal, irritabilidad seguida de letargia, anorexia, palidez, ataxia y lenguaje incomprensible (Albiano 1989, Isselbacher 1994, Schonfeld 1995). En los casos graves las convulsiones, el coma y la muerte se deben a un intenso y generalizado edema cerebral y a la insuficiencia renal que por la destrucción de los túbulos renales, se produce (Isselbacher 1994, Schonfeld 1995).

La forma subclínica o crónica se asocia con 30 ug/dL o más de plomo, con o sin aumento de la protoporfirina eritrocitaria; es más peligrosa en los niños, puesto que, la carencia de síntomas retarda la solicitud de atención médica, agravando los efectos sobre el SNC: déficit intelectual, desórdenes selectivos de las funciones cognoscitivas, lenguaje, audición, motricidad y comportamiento (hiperactividad,

conducta criminal y otras anomalías de orden psiquiátrico); lo que depende de la edad y de la duración de la exposición. Estos últimos factores son más importantes que la magnitud misma de la concentración de plomo, por tanto es necesario evitar a toda costa la lesión en el feto y niño pequeño (Bellinger 1987, Baghurst 1992, Isselbacher 1994, Shannon 1996, American Medical Association 1996, Rice 1996, Counter 1997).

Indiscutiblemente, lo anteriormente expuesto se refleja en reducción de la capacidad productiva de los individuos, debido a la falta de rendimiento físico-intelectual con aumento de morbilidad (MSP de Chile 1975, Nestlé 1985).

DAÑO CROMOSOMICO Y PRUEBAS CITOGENETICAS

La exposición humana a productos químicos genotóxicos puede ser monitoreada mediante las pruebas que permiten determinar el daño cromosómico, con la mayor precisión posible: aberraciones cromosómicas estructurales, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en células somáticas, preferentemente en linfocitos periféricos.

Los linfocitos periféricos humanos son adecuados para los estudios citogenéticos por lo siguiente:

1. Están en la etapa de reposo del ciclo celular pudiendo analizarse las alteraciones cromosómicas mucho tiempo después de la exposición.
2. Son células de larga vida que permiten el análisis del daño cromosómico producido por exposiciones crónicas o dosis bajas. Los efectos de tales exposiciones no pueden ser analizados en animales de experimentación.

3. Se obtienen fácilmente y pueden lograrse metafases y micronúcleos empleándose métodos rutinarios.
4. Los daños acumulados pueden ser observados principalmente en los linfocitos T 1, porque el 90% tienen un tiempo de vida media de 3 años.
5. Las aberraciones cromosómicas por inducción permanecen constantes por años.

El proceso de producción de alteraciones cromosómicas determina primariamente la alteración del ácido desoxirribonucleico (ADN) de las cromátidas. Por tanto, el incremento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas en linfocitos periféricos observable "in vivo" indica la existencia de riesgo elevado de cáncer en una población expuesta (UNESCO-ROSTLAC 1987).

ABERRACIONES CROMOSOMICAS

Las alteraciones del material genético pueden ser espontáneas o inducidas. Mientras que las mutaciones espontáneas ocurren por causas endógenas, como por ejemplo errores en la replicación, las mutaciones inducidas se producen por la acción de agentes físicos (radiación solar, rayos cósmicos, sustancias radiactivas), químicos (gas mostaza, nitrosaminas, epóxidos de plaguicidas, pinturas, esmaltes, solventes, benceno y sus derivados, compuestos de metales pesados, anticancerígenos), biológicos (virus, bacterias), capaces de actuar directa o indirectamente sobre el ADN.

Las aberraciones cromosómicas estructurales son producidas por rupturas de las cadenas de polinucleótidos de ADN y recombinaciones de dichas rupturas, que la célula no repara ocasionándose cambios en la integridad y forma de los cromosomas visibles en los procesos reproductivos de la célula: mitosis, meiosis.

Los cambios numéricos son las heteroploidías, ocasionadas por el mal reparto de los cromosomas en la formación de los gametos y células somáticas en las que se altera el número de 46 cromosomas.

Las lesiones no reparadas del ADN repercuten en la salud de los humanos de diferente forma en las células somáticas y en las germinales. Las microlesiones determinan cambios en las células somáticas y/o germinales produciendo enfermedades génicas; cuando las afectadas son las germinales transmitirán esta lesión a la descendencia. Las macrolesiones o aberraciones cromosómicas en las células somáticas ocasionan alteraciones en el control del ciclo celular determinando el apareamiento de cáncer; en las células germinales establecen una anómala distribución de los cromosomas originando gametos aneuploides fácilmente detectables al microscopio.

Las bases conceptuales de los ensayos citogenéticos o mediciones del daño cromosómico en células somáticas humanas representan los eventos iniciales en un proceso que puede ser eventualmente la manifestación de una enfermedad, por ello el control citogenético puede servir como indicador temprano para la prevención de aspectos adversos. La presencia de aberraciones cromosómicas puede señalar un problema potencial en la población pero la extrapolación de los riesgos en términos cuantitativos es extremadamente difícil. Es por esto que los cambios cromosómicos son indicadores de daños genéticos celulares en una población, que pueden ser utilizados para predecir potenciales efectos en la salud. La relevancia de encontrar estos daños cromosómicos en linfocitos se fundamenta en la importancia de saber que las exposiciones a agentes genotóxicos pueden causar daño en el material genético humano (Sorsa & Yager 1987, IMBICE 1980).

CLASIFICACION DE LAS ABERRACIONES CROMOSOMICAS ESTRUCTURALES

Las aberraciones cromosómicas estructurales, pueden ser clasificadas en base a definiciones y denominaciones precisas y universales de la siguiente manera: (Savage 1975, ISCN 1985)

ABERRACIONES DE CROMATIDA:

- ❖ **Brecha de Isocromátida "Gap Cromatídico" (gct):** es una región no coloreada o una lesión acromática de una cromátida simple en la cual hay una mínima desviación en la línea de la cromátida.
- ❖ **Ruptura Cromatídica (rct):** es una discontinuidad de una cromátida simple, en la cual hay una clara desviación en el alineamiento de la cromátida.
- ❖ **Intercambio cromatídico (ict):** es un reordenamiento anormal de cromátidas pareadas que originan figuras de cromátidas (trirradios, cuadrirradios, etc.)

ABERRACIONES CROMOSOMICAS:

- ❖ **Brecha Cromosómica "Gap Cromosómico" (gcs):** es una región no coloreada o una lesión acromática, en el mismo locus de las dos cromátidas de un cromosoma simple, en el cual hay un mínimo error en el alineamiento de las cromátidas. El término gap cromosómico es sinónimo de gap isolocus y gap isocromatídico.
- ❖ **Ruptura Cromosómica (rcs):** es una discontinuidad en el mismo locus en las dos cromátidas de un cromosoma simple, originando un fragmento acéntrico y un cromosoma

monocéntrico anormal. Son sinónimos los términos fractura isolocus y fractura isocromatídica. Los fragmentos presentan un desalineamiento evidente con relación a la cromátida.

- ❖ **Dicéntrico (dic):** es un cromosoma que tiene dos centrómeros y que resulta de un intercambio asimétrico.
- ❖ **Anillo (ani):** se forma como resultado de deleciones teloméricas en las dos regiones terminales del cromosoma y la subsecuente unión de las zonas terminales de los dos brazos del cromosoma.
- ❖ **Fragmento Cromosómico Acéntrico (ace):** son fragmentos cromosómicos alineados en forma paralela en los cuales no hay centrómero.

ABERRACIONES DE NUMERO

- ❖ **Poliploidía (pp):** es consecuencia de la endorreduplicación, en donde el número cromosómico es múltiplo del número haploide.
- ❖ **Aneuploidía:** es una alteración en la cual el número cromosómico se encuentra aumentado o disminuido en una cantidad diferente al número haploide, dando origen a monosomías, trisomías, tetrasomías, pentasomías, etc.

ANOMALIAS ADICIONALES

- ❖ **Desespirilización cromosómica (desp):** se refiere a la pérdida de continuidad del eje de las cromátidas, se asemeja a cromosomas electrizados.
- ❖ **Rupturas múltiples (rmul):** son múltiples alteraciones estructurales de cromátida o cromosoma, en la misma metafase.

- ❖ **Pulverización (pvz):** son uno o más cromosomas totalmente fragmentados o donde una célula contiene brechas cromosómicas o quiebras que no son normales, asociados con intercambios de manera que no pueden ser contados.
- ❖ **Asociación satélite (asosat):** es la unión entre sí de los cromosomas acrocéntricos por intermedio de un puente de cromatina.

MICRONUCLEOS

Los micronúcleos son aberraciones cromosómicas que se observan en forma de pequeñas masas de cromatina circulares u ovals, de bordes bien definidos por envolturas, que tienen la apariencia de núcleos pequeños ubicados en el citoplasma y cerca del núcleo principal, durante la interfase celular siguiente a la mitosis en que se produjo la acción de los clastógenos.

Se forman por fragmentos acéntricos originados por rupturas del cromosoma, que por carecer de centrómero no pueden migrar a los extremos celulares en anafase. También se forman por cromosomas enteros, rezagados y que no se incluyeron en los núcleos, por acción de mutágenos que alteran el citoesqueleto o los componentes del huso. Estos micronúcleos son de mayor tamaño que los originados por los fragmentos acéntricos.

Los investigadores han descrito y aplicado técnicas citogenéticas para detectar de manera simple y rápida el daño cromosómico y del huso mitótico, causado por agentes clastógenos, mediante la observación de micronúcleos de raíces de plantas, linfocitos de animales y humanos, eritrocitos de médula ósea de mamíferos, hígado y epitelio colónico de ratón (Evans 1959, Matter & Schmid 1971, Heddle 1976).

FRAGILIDAD CROMOSOMICA

El test de inducción de fragilidad cromosómica, es uno de los más sensibles para indicar probabilidad de malignidad en poblaciones de alto riesgo, la posibilidad de utilización de técnicas citogenéticas con adición de alquilantes radiomiméticos como aphidicolina, bleomicina, sirven como medidas de diagnóstico, ubicación de sitios frágiles, puntos calientes de daño clastogénico y localización de protooncogenes así como otros problemas que están lejos de ser aclarados (Gebhart 1987, Minden 1987, Phillips 1987).

La bleomicina, un antibiótico antitumoral soluble en agua derivado de los glicopéptidos, aislado del "*Streptomyces verticillus*", posee actividad: antimicrobiana, antiviral y antitumoral, actúa como un alquilante radiomimético (Vig & Lewis 1978), produciendo inhibición de la síntesis y ruptura de la cadena del ADN en cultivos celulares in vivo e in vitro (Umezawa et al 1966, Haidle et al 1972, Fujiwara & Kondo 1973), inhibición de la mitosis (Shirakawa et al 1971, Wheatley et al 1974, Berry et al 1985), no induce degradación significativa del ARN en células de mamíferos (Haidle et al 1972, Kuo 1981). La ruptura del ADN se produce preferentemente en las regiones ricas en timina, citosina, adenina, y guanina, teniendo más afección por los sitios en donde se encuentra G-C y G-T (Haidle et al 1972), ocasionándose liberación de bases (70% timina, 22% citosina, 8% adenina) (Sausville et al 1978), radicales libres e hidrolasas (Ishida & Takahashi 1975, Muller & Zahn 1977, Sausville et al 1978), degradación del nucleosoma, ruptura de las uniones fosfodiéster (Haidle et al 1972), destrucción de la desoxirribosa (Fisher 1985), inhibición de los precursores de ADN y de síntesis de proteínas (Fujiwara & Kondo 1973).

La droga utilizada en esta investigación es el Blenoxane que está constituida por una mezcla de bleomicina A2 (60-65%), bleomicina B2 (30%), dimetil bleomicina A2, glucosa, 3- O-carbomyl-D-manosa, 5- aminoácidos y una amina (Berry et al 1985) que produce muerte

celular, daño cromosómico y retardo del ciclo celular (Fisher 1985) debido a que su acción es semejante a muchos de los efectos moleculares y citológicos de las radiaciones ionizantes (Berry et al 1985, Scott. & Zampetti-Bossler 1985).

La BLM puede actuar directamente sobre el núcleo, alterando las membranas celular y nuclear, produciendo aberraciones cromosómicas en mitosis (Berry et al 1985) y en interfase en las regiones extendidas de cromatina (Kuo & Hsu 1978), produce hipertrofia de los organelos celulares (mitocondria, cuerpo de Golgi) e incrementa el volumen de las células multi nucleadas (Vig & Lewis 1978).

Está bien establecido que la BLM induce daño cromosómico (Ohama & Kadotani 1970), tipo dicéntricos, anillos (Kuo & Hsu 1978), condensación prematura cromosómica (Savage 1975, Sognier et al 1982), fragmentos acéntricos e intercambio cromatídico (Tamura et al 1975), pulverización cromosómica (Savage 1975), muerte celular (Vig & Lewis 1978); de los cromosomas lo más afectado es el brazo corto, especialmente en los cromosomas de los grupos A y D; mientras que el cromosoma 3 es el más resistente (Ohama & Kadotani 1970). Los efectos genotóxicos de la BLM pueden ser modificados cuantitativamente por componentes teólicas, cafeína, hipertermia y H₂O₂ (Larramendy et al 1989).

Las rupturas son de hasta 1020×10^8 bases (Berry et al 1985, Scott & Zampetti-Bossler 1985), la generación de aberraciones cromatídicas demuestran que la acción de la BLM no es S-dependiente (Dresp et al 1978).

INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS (ICH)

El intercambio de cromátidas hermanas (ICH) es una manifestación citológica de ruptura, intercambio de material genético y reparación

post-replicación de las cadenas de ADN en sitios aparentemente homólogos de las dos cromátidas de un mismo cromosoma (Kato 1977, Natarajan 1993).

Este fenómeno fue descubierto en 1958 por Herbert Taylor, estudiando los mecanismos y la cinética de la duplicación cromosómica, observando que los cromosomas y segmentos cromosómicos se replican de forma semiconservativa en diferentes momentos durante el período S de la interfase del ciclo celular. (Taylor 1958, Roodney 1992).

Los estudios de Taylor se basan en la marcación de los cromosomas empleando precursores radiactivos como la timidina tritiada (H^3 Tdr) que es un emisor de radiación beta que se incorpora a los cromosomas, permitiendo diferenciar a las cromátidas, por la presencia de modificación en la coloración de una cromátida, mientras la otra conserva la coloración original (Taylor 1958, Dulout 1997).

La técnica mas difundida es la que se basa en el uso de un análogo de la timidina como la 5-Bromo-2-desoxiuridina (BrdU), que permite la visualización de coloración diferencial en las cromátidas sustituidas. Cuando los cromosomas sustituidos con BrdU son posteriormente coloreados con bisbenzimidazole (Hoechst 33258) que se une al ADN en los pares de bases A-T, existe un "opacamiento" del brillo fluorescente normalmente observado cuando los cromosomas no sustituidos son teñidos con este colorante. El efecto "opacamiento" puede ser visualizado por microscopía fluorescente de las preparaciones cromosómicas fijadas o las mismas pueden ser posteriormente expuestas a fotólisis y teñidas con Giemsa (Perry & Wolff 1974, Latt 1981, Perry & Thompson 1984, Therman 1993).

La técnica puede aplicarse para detectar diferentes ciclos de replicación o para diferenciar entre replicaciones tempranas y tardías dentro de un mismo ciclo celular, esto se consigue cuando se añade la BrdU en pulsos al inicio o al final del ciclo. Sin embargo, cuando se expone a las células somáticas a dicha sustancia durante dos ciclos celulares completos, permite observar modificaciones de coloración entre las cromátidas de un mismo cromosoma (una cromátida es de color opaco y la otra coloreada) y los ICHs se pueden observar y contar con relativa facilidad (Therman 1993, Dulout 1997).

Los ICH son eficientemente inducidos por aquellos agentes que forman uniones covalentes al ADN o que interfieren con el metabolismo o reparación del mismo. La frecuencia basal de ICHs varía entre los individuos, resultando difícil establecer el apareamiento y frecuencia de ICHs espontáneos; se ha observado que los ICHs aumentan en humanos expuestos a genotóxicos, por ello el ICH sería el indicador más sensible de la actividad mutagénica que ocasionaría las quiebras cromosómicas (Therman 1993, Natarajan 1993).

Pese a que una amplia variedad de agentes químicos y físicos que causan aberraciones cromosómicas también dan origen al incremento en la frecuencia de ICHs, no existe relación entre la presencia de quiebras cromosómicas y la de ICHs, debido a que los ICHs ocurren a una distancia de 0.25 a 0.50 μm uno de otro (Dillehay et al 1989), mientras que la distancia entre los dos fragmentos de una ruptura cromosómica es siempre mucho mayor (Duncan & Evans 1983).

El significado biológico de los ICHs no está por tanto, definido. Pero, debido a que la constitución genética de la célula no cambia, el ICH no involucra un cambio en la morfología cromosómica y en consecuencia es fácilmente identificado (Stetka 1982).

EFFECTOS DEL PLOMO EN LOS CROMOSOMAS DE ANIMALES Y HUMANOS

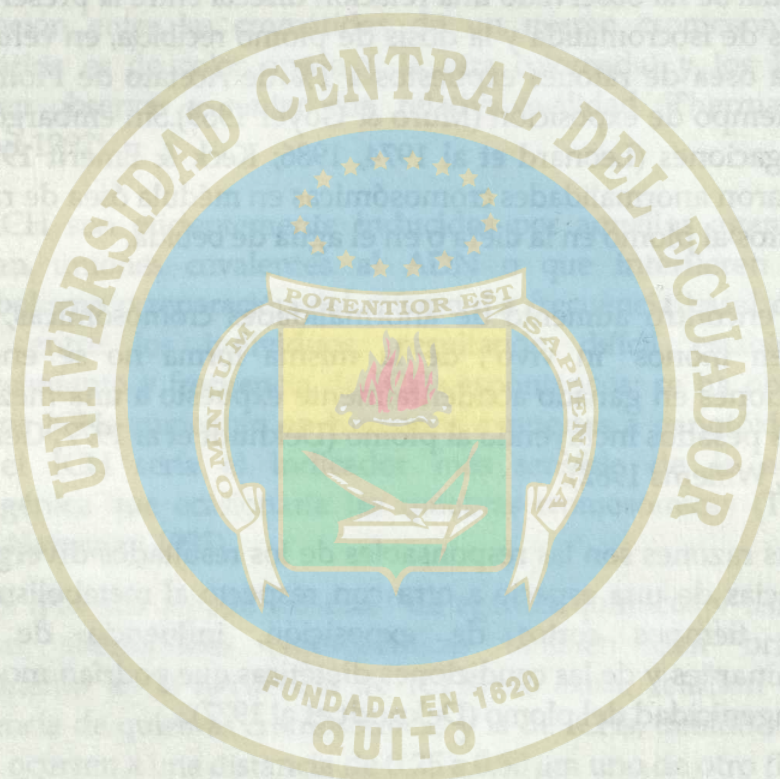
Existen varias publicaciones concernientes a la acción del plomo sobre parámetros fisiológicos en estudios utilizando modelos animales, pero la posible acción mutagénica de este metal es discutida. Se ha observado una relación directa entre la presencia de brechas de isocromátida y la dosis de plomo recibida, en células de médula ósea de ratones expuestos a 1% de Acetato de Plomo por largo tiempo de exposición (Muro & Goyer 1969). Sin embargo otras investigaciones (Leonard et al 1974, 1986; Keck & Emerit 1979) no observaron anomalías cromosómicas en médula ósea de ratones expuestos al plomo en la dieta o en el agua de bebida.

No se encontró aumento de anomalías cromosómicas, ni de ICHs en monos "in vivo", de la misma forma no se encontró aberraciones en ganado accidentalmente expuesto a una mezcla de metales pesados incluyendo al plomo (Deknudt et al 1977, Gerber et al 1980, Willems 1982).

Algunas razones son las responsables de los resultados divergentes: diferencias de una especie a otra con respecto al metabolismo del plomo, tiempos cortos de exposición, influencia de otros contaminantes y de las condiciones dietéticas que podrían modificar la mutagenicidad del plomo (Deknudt et al 1977).

Existen numerosos estudios citogenéticos efectuados en poblaciones contaminadas por Pb por causa laboral, en los cuales se demuestra la capacidad potencial de este agente para inducir aberraciones cromosómicas (Bauchinger et al 1977, Deknudt et al 1977, Dalpra et al 1978, Sarto et al 1978, Hogstedt et al 1979, Forni et al 1980, Beckman et al 1982, Nordenson et al 1982, Garza-Chapa et al 1987). Sin embargo, los resultados obtenidos distan de ser categóricos, debido a que en algunas de estas publicaciones no se observa una correlación entre niveles de Pb y clastogénesis. Las causas del

disenso pueden ser varias: diferencias metodológicas, factores nutricionales y que los niveles de Pb en sangre no son excesivamente altos en algunos de los casos analizados (Bauchinger et al 1977, Bijlsma & De France 1978, Nordenson et al 1978), como se demuestra en el cuadro I:



**CUADRO I:
ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN CULTIVOS DE SANGRE
DE INDIVIDUOS CONTAMINADOS CON PLOMO***

EXPOSICION	No.DE SUJETOS	NIVEL EN SANGRE (ug/dl)	CLASTOGENESIS	REFERENCIA
Hombres intoxicados con Pb	7		Negativo	Biscaldi et al 1969
Fábrica de Oxido de Plomo	8	62-89	Incremento de daño cromatídico y cromosómico, correlacionado con exposición	Schwanitz et al 1970
Policías de Tránsito	29	20-30	Negativo	Bauchinger et al 1972
Fábricas de Químicos	10	60-100	Rupturas y gaps cromatídicos	Gath y Thiess 1972
Trabajadores del Plomo	65	64	Rupturas cromatídicas y cromátidas desespiralizadas, intercambios cromosómicos dependientes de exposición	Forni y Secchi 1972
Manufactureros del Plomo	32	<59	Negativo	Schmid et al 1972
Trabajadores del Zinc	14		Aberraciones cromosómicas (existe la posibilidad de exposición de Zinc y Cadmio)	Deknuddt et al 1973
Soldadores de Barcos	35	40-120	Negativo (incremento en aberraciones cromatídicas en comparación con el grupo testigo)	O'Riordan & Evans, 1974
Trabajadores de desperdicio de metal	105	12-97	Anormalidades estructurales (gaps, rupturas, hiperploidades)	Schwanitz et al 1975
Hornos de baterías de Plomo	11	34-64	Incremento en exposición inicial de gaps y rupturas, en nuevos trabajadores	Forni et al 1976
Plantas esmaltadoras de Zinc	24	Promedio 19	Rupturas cromatídicas e intercambios	Bauchinger et al 1976

Continuación...

EXPOSICION	No.DE SUJETOS	NIVEL EN SANGRE (ug/dl)	CLASTOGENESIS	REFERENCIA
Ingesta voluntaria	9	Aproxima- damente 40	Negativo	Bijlsma & De France 1976
Fábricas de Oxido de Plomo	44	30-75	Aberraciones cromosómicas y cromatídicas correlacionado con larga exposición.	Garza-Chapa et al 1987
Fabricantes de baterías	23	44-95	Dicéntricos, anillos, fragmentos.	Deknadt et al 1977
Casos pediátricos			Negativo	Bauchinger et al 1977
				Hogstedt et al 1979
Fabricantes de baterías	20	53-100	Rupturas y fragmentos correlacionados con exposición	Sarto et al 1980
Trabajadores de esmalte	26	23-65	Gaps, aberraciones de cromátida y cromosoma con nivel de plomo en sangre	Nordensen et al, 1978
Fabricantes de Baterías	12	24-49	Aberraciones cromatídicas y cromosómicas	Forni et al 1980
Esmaltadores de Plomo	18	49	Aberraciones cromosómicas e Intercambio de cromátidas hermanas	Maeki-Paakkanen et al 1981
Trabajadores de esmalte			Aberraciones cromosómicas	Beckman, et al 1982
Trabajadores de esmalte			Negativo	Nordenson et al 1982
Fabricantes de baterías	10	56	Incremento de Intercambio de cromátidas hermanas	Grandjean et al 1983
Casos Pediátricos	19	30-63	Aberraciones cromatídicas y cromosómicas	Dalpra et al 1983
Fabricantes de baterías	19	64	Aberraciones cromosómicas	Al-Hakkuk et al 1986

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

UN MODELO DE TRABAJO EXPERIMENTAL

OBJETIVOS

- ❖ El objetivo del presente trabajo, es analizar la frecuencia de aberraciones cromosómicas en la población de La Victoria con alta exposición al Pb de origen ocupacional.
- ❖ Determinar si la intoxicación crónica por plomo potencia el riesgo de daño cromosómico por el agente radiomimético (Bleomicina).

MATERIAL Y METODOS

Caracterización de las poblaciones.

La Parroquia "La Victoria" está ubicada en una circunscripción geográfica del Cantón Pujilí, Provincia del Cotopaxi, República del Ecuador. Es parte de la región interandina, con un área de 20 Km², situada entre 78° 41' 41" longitud occidental y 0° 54' 53" latitud sur. Las temperaturas oscilan entre 12 y 18 grados centígrados, las precipitaciones entre 500 y 1000 mm anuales. La altitud es de 2648 metros sobre el nivel del mar. El suelo es erosionado y no apto para la agricultura. Es uno de los ecosistemas más afectados por la contaminación ambiental producida por la industria artesanal de la alfarería. Todo el ecosistema recibe el impacto de la quema de productos combustibles vegetales, de la combustión de llantas de caucho, combinados con gases de partículas de plomo, el mismo que se deposita en el suelo y en la superficie del agua por la acción de la gravedad y de la lluvia. Además se ha podido observar que los cultivos y los animales, se encuentran permanente y peligrosamente expuestos a la acción nociva del plomo.

La población de "La Victoria", según los datos del último censo de 1990, tiene 2698 habitantes, los cuales se encuentran concentrados 454 en el área urbana y 2244 en el área rural. Comparando con el censo de 1982 en el que el número de habitantes era 2545, se puede deducir que el incremento de la población es muy bajo, debido posiblemente a dos factores: la migración y la mortalidad.

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

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

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

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

Se utilizó como testigo a la población 11 de Noviembre, ubicada en una circunscripción geográfica del cantón Latacunga, Provincia de Cotopaxi. Es parte de la región interandina con un área de 16 Km², situada entre 78° 40' 31" longitud occidental y 0° 54' 25" latitud sur.

Está a una altura de 2850 metros sobre el nivel del mar y es colindante con la parroquia La Victoria. Las temperaturas oscilan entre 11 y 18 grados centígrados y las precipitaciones entre 500 y 1000 mm anuales. La parroquia 11 de Noviembre tiene 1753 habitantes y la principal actividad económica es la agricultura de subsistencia.

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

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

Extracción y Cultivos de Sangre.- A cada voluntario se le extrajeron 12 ml. de sangre total con jeringa descartable heparinizada (Liquemine®.- ROCHE 5000 U/ml). La muestra se trasladó al

laboratorio para su procesamiento dentro de las 12 h de haber sido extraída. La sangre se dividió en 5 alícuotas a ser empleadas para dosaje de Pb, cultivos de linfocitos y análisis hematológico.

Los cultivos se iniciaron con el agregado de 1ml de sangre total a 9ml de medio de cultivo compuesto por 78% de RPMI 1640 (GIBCO-BRL®), 20% de suero bovino fetal, 2% de Fitohemaglutinina (GIBCO-BRL®) y antibióticos (penicilina 50U, estreptomycin 0.0125U, anfotericina 0.0025U GIBCO-BRL®). Los cultivos se incubaron a 37°C. Dos horas antes del sacrificio se los trató con Colcemid (SIGMA®). La cosecha de células se efectuó a las 48 h. (20 casos) y 72 h. (todos los casos). Parte de los cultivos recibieron 20 µg/ml de BrdU y se los sacrificó a las 72 h., con el fin de analizar la duración de ciclo celular y frecuencia de ICH. Tanto en los expuestos como en los testigos los sacrificios de 48 h. y los tratamientos con BrdU no produjeron mitosis, por consiguiente el análisis de aberraciones cromosómicas se efectuó con los cultivos sacrificados a 72h. sin el agregado de BrdU. En todos los casos se efectuaron cultivos sin y con el agregado de bleomicina (BLM) (BLENOXANE®-BRISTOL) a una dosis de 2µg/ml desde el comienzo del cultivo hasta el momento del sacrificio (72h.). Los extendidos cromosómicos se efectuaron mediante la técnica de secado al aire.

Análisis de Aberraciones Cromosómicas.- Se estudiaron 200 metafases por individuo, determinándose la frecuencia de aberraciones de cromátida: brecha ("gap") de mono e isocromátida, fracturas de cromátida e intercambios de cromátida; y la frecuencia de aberraciones cromosómicas: fragmentos cromosómicos acéntricos, dicéntricos, anillos. Además se determinó la frecuencia de metafases con desespiralización de cromátida o cromosoma (elongación alocíclica de un segmento de cromátida o cromosoma, o de uno o más cromosomas con mantenimiento de la condensación en el resto del complemento) y se determinó la frecuencia de metafases con rupturas múltiples mixtas de cromátida y

cromosómicas y de metafases con pulverización cromosómica. Asimismo, se determinó la frecuencia de asociaciones satelitales múltiples (asociación de 3 o más cromosomas por adhesión de satélites) y de células poliploides (International System for Human Cytogenetics Nomenclature ISCN 1985).

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

Dosaje de Pb.- La concentración de Pb en sangre se llevó a cabo mediante métodos de absorción atómica (Yeager et al 1971). La Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1988, estableció 40 μ g/dl como el nivel máximo aceptable de Pb en sangre. En Estados Unidos, el Centro de Testigos y Prevención de Enfermedades propuso en 1975 un nivel de tolerancia equivalente a 30 μ g/dl de Pb en sangre y luego en 1985 y 1991 descendió estos niveles a 25 μ g/dl y 10 μ g/dl respectivamente. Los niveles más bajos para EEUU se deben a la prohibición del uso de gasolinas y pinturas con Pb. En Ecuador, el empleo de gasolinas y pinturas plomadas es aún ampliamente difundido. En consecuencia, el estudio de los niveles de Pb sanguíneo en Quito realizados por Bossano & Oviedo (1996), arrojaron cifras promedio de 14.4 a 28.2 μ g/dl de acuerdo al tipo de población estudiada. Debido a estos resultados, hemos resuelto aceptar la cifra de 40 μ g/dl propuesta por la OMS como el nivel de Pb aceptable que más se adapta a las condiciones del Ecuador.

El cuadro II muestra los resultados de las pruebas estadísticas. Ninguna de las aberraciones cromosómicas mostró diferencias significativas entre los grupos.



RESULTADOS

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

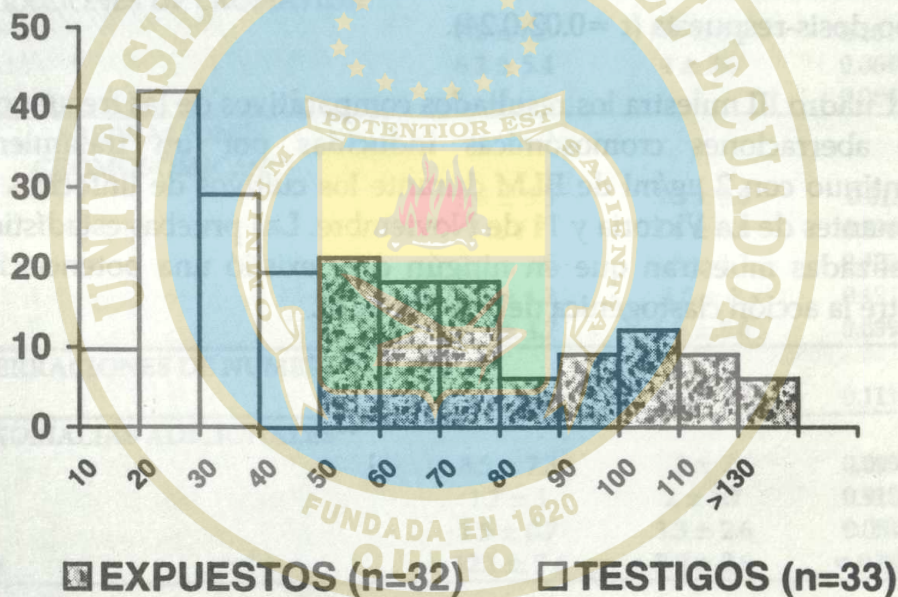


Figura 1.- Distribución de frecuencias de la concentración de plomo en la población de La Victoria y 11 de Noviembre.

El cuadro II muestra los resultados del análisis de anomalías cromosómicas. Ninguna de las aberraciones de cromátida mostraron diferencias significativas entre ambas poblaciones. De las

aberraciones cromosómicas solamente mostraron diferencias significativas las brechas de isocromátida y los fragmentos acéntricos. Asimismo, las desespiralizaciones cromosómicas y las asociaciones de satélites mostraron diferencias altamente significativas, en relación con los valores de la población testigo, mientras que las pulverizaciones cromosómicas estuvieron en el límite de significación.

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

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

CUADRO II

ANALISIS DEL DAÑO CROMOSOMICO EN MEDIO DE CULTIVO RPMI 1640

PLOMO*	CASOS		P
	EXPUESTOS (n = 33)	TESTIGOS (n=32)	
	X ± DS	X ± DS	
	71.8 ± 25.4	20.1 ± 8.6	< 0.0001
ABERRACIONES DE CROMATIDA**			
.gct	7.2 ± 6.5	5.1 ± 3.8	0.1614
.rct	6.2 ± 5.4	4 ± 3.6	0.0649
.ict	1	1	0.0643
ABERRACIONES CROMOSOMICAS**			
.gcs	5.8 ± 3.5	3.9 ± 3.6	0.013
.rcs	3 ± 1.7	2.6 ± 1.8	0.5908
.dic	2.5 ± 1.5	1.5 ± 1.1	0.4285
.ani	1.8 ± 1.2	1.5 ± 1	0.4914
.ace	7.9 ± 4.7	5.6 ± 5.6	0.0393
ABERRACIONES DE NUMERO**			
.pp	2.8 ± 2	4.7 ± 3.3	0.1119
ANOMALIAS ADICIONALES**			
.desp	8.5 ± 7.3	3 ± 2	0.0036
.rmul	1.7 ± 1	2 ± 1.7	0.9187
.pvz	1.5 ± 0.7	3.5 ± 2.6	0.0543
.asosat	12.1 ± 7.4	3.9 ± 3.6	< 0.0001

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

*ug/dl

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

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

	CASOS		P
	EXPUESTOS (n = 33)	TESTIGOS (n=32)	
PLOMO*	X ± DS 71.8 ± 25.4	X ± DS 20.1 ± 8.6	< 0.0001
ABERRACIONES DE CROMÁTIDA**			
.gct	8.1 ± 5.6	5.7 ± 3.7	0.0254
.rct	11 ± 12.9	6.8 ± 3.8	0.3892
.ict	1	2.1 ± 1.5	0.1325
ABERRACIONES CROMOSÓMICAS**			
.gcs	7.3 ± 4.9	7 ± 5.8	0.5938
.rcs	4.8 ± 4	5.3 ± 3.8	0.5366
.dic	4.1 ± 3.2	2.5 ± 2	0.0933
.ani	3 ± 2.9	2.1 ± 1.1	0.5399
.ace	19 ± 12.8	13.5 ± 11.6	0.0751
ABERRACIONES DE NÚMERO**			
.pp	3.1 ± 2	4.2 ± 3.8	0.4354
ANOMALIAS ADICIONALES**			
.desp	6.2 ± 4.8	3.6 ± 4.2	0.5725
.rmul	1.1 ± 0.9	2 ± 1.4	0.7278
.pvz	2.8 ± 2.7	4.1 ± 2.9	0.2033
.asosat	14.8 ± 11.2	10.3 ± 14.5	0.0356

X = promedio por cada 100 metafases / DS = desvío estándar
 *ug/dl

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

DISCUSION

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

Con respecto a las aberraciones cromosómicas inducidas por el Pb en cultivos de linfocitos humanos los resultados son también conflictivos. En tal sentido, es muy ilustrativo el cuadro I, tomado y adaptado de la publicación de Winder & Bonin (1993). De acuerdo con estos datos, puede observarse que de un total de 24 estudios diferentes, 5 dieron resultados negativos y 19 observaron distintos tipos de aberraciones cromosómicas en cultivos de sangre de individuos expuestos al Pb. En 4 de las 19 publicaciones que informan clastogénesis se observó una correlación con la concentración de Pb en sangre, mientras que en las restantes 15 comunicaciones no aparece un efecto claro de tipo dosis-respuesta.

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

La población expuesta de La Victoria empleada en nuestra investigación tiene características peculiares. Las técnicas de alfarería artesanal empleadas por los pobladores se transmiten de generación a generación. Por tal motivo el tiempo de exposición al Pb se extiende desde el nacimiento hasta la muerte o hasta el momento que el poblador deja su habitat. Durante la fabricación de las piezas de barro se contamina el aire con Pb mediante el humo resultante de la combustión de llantas de caucho en los hornos y los gases de la fundición del Pb proveniente de baterías de auto y pilas. Este Pb se deposita luego en el suelo y aguas contaminando las plantas y animales de consumo humano. Además, los artesanos utilizan sus propias manos para extender el barniz de plomo empleado para el abrillantamiento de las piezas de cerámica y tejas de barro. En consecuencia, la contaminación por Pb se produce por vía respiratoria digestiva y cutánea. El gráfico de barras (Figura1) muestra los niveles de Pb en sangre de la población expuesta y de la población testigo. El promedio de Pb sanguíneo para ambas poblaciones es $71.8 \pm 25.4 \mu\text{g/dl}$ y $20.15 \pm 8.6 \mu\text{g/dl}$ respectivamente (Cuadro II). Comparando con los datos de Pb sanguíneo en el Cuadro I, puede concluirse que los niveles de contaminación en la población analizada de La Victoria están entre los más altos de los informados hasta el momento.

El análisis de las anomalías de cromátida y cromosómicas muestra que la población de La Victoria presenta incrementos significativos de las brechas de isocromátida y cromosómicas y de los fragmentos acéntricos con relación a la población testigo de 11 de Noviembre. Con respecto a los fragmentos acéntricos, es conveniente hacer algunas consideraciones adicionales. El tiempo de sacrificio de nuestros cultivos fue 72 h. Por consiguiente, si la contaminación por Pb indujera un alargamiento del ciclo celular linfocitario en los casos expuestos pero no en los casos testigo, podría ocurrir que un porcentaje importante de las metafases testigo fueran segundas mitosis y que la disminución de acéntricos en los testigos se debiera a la pérdida de los fragmentos durante la división celular y no debido a una real acción clastogénica del Pb en los contaminados. Tanto los casos testigo como los expuestos mostraron ausencia de mitosis en los cultivos sacrificados a 48h. (ver Material y Métodos). Por lo tanto, en las condiciones de trabajo empleadas creemos que a las 72 h. la mayor parte de las metafases corresponde a primera mitosis y que el aumento de acéntricos en los expuestos indica daño cromosómico y no artefactos metodológicos. Existe otro dato que da sustento adicional a esta hipótesis. Durante la división celular no solamente se pierden parte de los acéntricos sino también parte de los cromosomas dicéntricos y de los cromosomas en anillo debido a dificultades en la segregación. Por consiguiente, de existir un incremento de segunda mitosis en los testigos, también debería haber una disminución de dicéntricos y anillos generando una diferencia significativa entre testigos y expuestos. Esta diferencia no se observa, lo cual indica que nuestras observaciones con los acéntricos son reales y no artefactuales.

La desespiralización cromosómica, los daños cromosómicos múltiples y la pulverización cromosómica tienen diversos orígenes. Sin embargo, una de las causas más importantes son las alteraciones en la síntesis de ADN. Cuando el retraso de la síntesis es limitado a una región cromosómica o a un cromosoma, el área afectada entra

tardíamente al período G2 y a la mitosis y se muestra en la metafase con menor condensación (desespiralización). Un bloqueo de duplicación más extenso produce en la célula afectada la combinación de rupturas múltiples y reordenamientos tanto de tipo cromátida como cromosómico. Finalmente, en casos máximos de inhibición de síntesis se origina el fenómeno de pulverización cromosómica. El análisis de nuestros casos mostró aumentos significativos de desespiralización cromosómica en la población expuesta. Por otra parte la pulverización cromosómica también estuvo aumentada en los contaminados con Pb, aunque en este caso las pruebas estadísticas dieron una "p" cercana a la significación. Estos resultados dan apoyo adicional a la hipótesis de que la inhibición de la replicación cromosómica es uno de los mecanismos genotóxicos del Pb.

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

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

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

Este trabajo permite concluir que la contaminación por Pb induce aberraciones cromosómicas en los pobladores de La Victoria y que este fenómeno podría ir acompañado de un aumento en el riesgo de mutagénesis, carcinogénesis y frecuencia de trisomías. Una forma simplista para disminuir este riesgo sería impedir los trabajos artesanales de alfarería con Pb en esta población. Una medida de este tipo fue implementada en Julio de 1997 por el Ministerio de Salud Pública del Ecuador. Sin embargo, luego fue dejada sin efecto pues se tomó conciencia de que la prohibición de las tareas artesanales producirá una disminución del riesgo a largo plazo pero generará, en forma inmediata, una crisis económica y una disminución del nivel de vida de los pobladores. El uso de barnices plomados podría ser sustituido por los esmaltes sin Pb, en especial la frita L-9 en todas las técnicas de vidriados y decorados. Este método está en uso actualmente en la alfarería mexicana (Salinas 1997). Sin embargo, esta medida encarece la producción de tejas, piezas de alfarería y en consecuencia no es bien aceptada por los artesanos. Mediante acciones educativas se podrían mejorar substancialmente los métodos de trabajo sin aumentar los costos de producción, disminuyendo así los riesgos de exposición al plomo. Finalmente, existen datos que indican que uno de los posibles mecanismos de daño celular por Pb y otros metales pesados es la interrupción de las señales de transducción celular calcio - dependientes (Pounds 1984, Hartwig 1994). Así mismo, en trabajos experimentales con ratones se ha podido demostrar un aumento de

las anomalías esqueléticas en los fetos de hembras con dietas deficitarias en Ca^{+2} tratadas con acetato de Pb (Jacquet & Gerber 1979). Por otra parte, existen datos experimentales con células de mamíferos en cultivo que demuestran que la vitamina C previene la acción clastogénica de las sales de cromato de plomo (Wise et al 1993). Estos resultados abren la posibilidad de investigar el agregado del Ca^{+2} y la vitamina C a la dieta como posibles factores preventivos de las acciones patológicas del Pb en humanos.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue realizado con el auspicio de la Facultad de Ciencias Médicas, la Coordinación General de Investigación de la Universidad Central del Ecuador, el Instituto Nacional de Investigación Científica y Desarrollo Tecnológico (ICT) del Ministerio de Salud Pública del Ecuador, la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología (SENACYT) y la Fundación para la Ciencia y Tecnología del Ecuador (FUNDACYT). Subsidio P-BID-192.

Agradecemos al Dr. N.O. Bianchi la lectura crítica del manuscrito, a los doctores Jorge Sánchez y Esther Llerena, médicos rurales de las parroquias La Victoria y 11 de Noviembre y a la Dra. Bioquímica Mariela López, por su colaboración.

BIBLIOGRAFIA

1. Afap F. Chromosome Aberrations in Workers at a Storage Battery Plant in Iraq. *Mutat. Res.* 171:53-60 (1986).
2. Albiano N., Lombardo G. La Contaminación Ambiental por Plomo Como Causa de Enfermedad. *Rev. Hosp. Niños B. Aires.* 31(134):125-129 (1989).
3. American Medical Association (ed). Lead and Delinquency. *J. of the Am. Med. Asso.* 12(12):7 (1996).
4. Anttila A., Sallmen M. Effects of Parental Occupational Exposure to Lead and Others Metals on Spontaneous Abortion. *J. of Occup. And Envir. Med.* 37(8): 915-917 (1995).
5. Baghurst, et al. Environmental Exposure to Lead and Children's Intelligence at the Age of Seven Years. *N. Engl. J. Med.* 327:1279-84 (1992).
6. Basler A. Scientific Justification of Testing Chromosome Mutation and Regulatory. Requiriments for the Assessment Mutagenicity. Ed. Obe and Basler, Springer-Verlag, Berlin (1987).
7. Baunchinger M., Dresp J., Schmid E., Englert N., Krause C. Chromosome Analyses of Children After Ecological Lead Exposure. *Mutat. Res.* 56:75-80 (1977).
8. Baunchinger M., Schmid E., Schmidt D. Chromosomenanalyse Bei Verkehrspolizisten Mit Arhohter Bleilast. *Mutat. Res.* 16:407-412 (1972).
9. Beckman I., Nordenson I., Nordston J. Occupational and Environmental Risk in and Around a Smelter in Northern Sweden, VIII Three Year Follow up of Chromosomal Aberrations in Workers Espoused to Lead. *Hereditas* 96:261-264 (1982).
10. Bellinger D., et al. Longitudinal Analyses of Prenatal and Postnatal Lead Exposure and Early Cognitive Development. *New Eng. J. of Med.* 316(17):1037-43 (1987).
11. Berry D., et al. DNA Damage and Growth Inhibition in Cultured Human Cells by Bleomycin Congeners. *Biochem.* pp.3207-3214 (1985).

12. Bijlsma J., De France G. Cytogenetic Investigation in Volunteers Ingestion Inorganic Lead. *Int. Arch. Occup. Environm. Health* 38:145-148 (1978).
13. Bossano F., Oviedo J. Contaminación por Plomo. Comisión Asesora Ambiental de la Presidencia de la República. pp.1-26 (1996).
14. CEPE Informe Comisión Técnica Interinstitucional. pp 4 (1989).
15. Charvet R. Plomo y Contaminación. *Colibrí*. pp.64-71 (1988).
16. Counter A., et al. High Lead Exposure and Auditory Sensory-neural Function in Andean Children. *Environm. Health Perspect.* 105(5):522-26 (1997).
17. Dalpra L., Tibilietti G., Nocera L., Giuolotto V., Auriti V., Carnelli V., Simoni G. SCE Analysis in Children Exposed to Lead Emission from a Smelting Plant. *Mutat. Res.* 120:249-256 (1978).
18. Deknadt G., Manuel Y., (Gerber G. et al 1980). Chromosomal Aberrations in Workers Professionally Exposed to Lead. *J. Toxicol. Environm. Health.* 3:885-891 (1977).
19. Deknadt G., Colle A., Gerber G. Chromosomal Abnormalities in Lymphocytes from Monkeys Poisoned with Lead. *Mutat. Res.* 45:77-83 (1977).
20. Dillehay L., Jacobson-E., Kram J., Williams J. DNA Topoisomerases and Models of Sister Chromatid Exchange. *Mutat. Res.* 215:15-23 (1989).
21. DNH & W /DDE Environmental Contaminants: Guidelines of the use of Mutagenicity Tests. The Toxicological of Chemical Canada. pp.1-3 (1986).
22. Dresch J., Schmid E., Bauchinger M. The Cytogenetic Effect of Bleomycin on Peripheral Lymphocytes in Vivo and in Vitro. *Mutat. Res.* 56:341-343 (1978).
23. Dulout F., De Luca J., Scoane A. Mutaciones y Aberraciones Cromosómicas. Cuadernos de Genética. CIGEB. Universidad de la Plata. pp: 27-29 (1997).
24. Duncan A., Evans H. The Exchange Hypothesis for the Formation of Chromatid Aberrations: an Experimental Test Using Bleomycin. *Mutat. Res.* 107:307-313 (1983).
25. Dunkel V., Pienta R., Sivak A., Traul K. Comparative Transformation of Balb/3T3 Cells, Syrian Hamster Embryo Cells and Rauscher Murine Leukemia Virus-Infected Fischer 344 Embryo Cells to Chemical Carcinogens. *J. Natl. Cancer Inst.* 67:1303-1315 (1981).

26. Enhart C. A Critical Review of Low-Level Prenatal Lead Exposure in the Human: 2. Effects on the Developing Child. *Reprod. Toxicol.* 6:21-40 (1992).
27. Evans H., Neary G., Williamson F. The Relative Biological Efficiency of Single Doses of Fast Neutrons and Gamma-Rays on *Vicia Faba* Roots and the Effect of Oxygen. Part II: Chromosome Damage: The Production of Micronuclei. *Int. J. Rad. Biol.* 3:216-229 (1959).
28. Farkas W., Stanawitz T., Schneider M. Saturnine gout: Lead-induced Formation of Guanine Crystals. *Science* 199:786-787 (1978).
29. Fisher M., Kuroda R., Sakai T. Interaction of Bleomycin A2, with Deoxyribonucleic Acid: Unbinding and Inhibition of Bleomycin Induced DNA Breakage by Cationic Thimidazole Amides. Related to Bleomycin A2. *Biochem.* 24:3199-3207 (1985).
30. Forni A., Sciamè A., Bertazzi P., Alessio L. Chromosome and Biochemical Studies in Women Occupationally Exposed to Lead. *Arch. Environm. Health* 35:139-146 (1980).
31. Fujiwara Y., Kondo T. Strand Scission of HeLa Cell DNA by Bleomycin in Vitro and in Vivo. *Biochem. Pharmacol.* 22:323-533 (1973).
32. Fundación Natura. Cuantificación del Plomo en la Atmósfera del Centro de la Ciudad de Quito. pp 36-37, 43-53 (1987).
33. Garza-Chapa R., Leal-Garza C., Molina-Ballesteros G. Chromosome Analysis in Subjects Exposed Professionally to Lead Contamination. *Arch. Invest. Med.* 8:11-20 (1987).
34. Gebhart E. Cytogenetic Studies in Human Neoplasia. *Cytogenetics Basic and Applied Aspect.* Ed. Obe and Basler. Springer-Verlag. Berlin. pp 113-140 (1987).
35. Gerber G., Léonard A., Jacquet P. Toxicity Mutagenicity and Teratogenicity of Lead. *Mutat. Res.* 76:115-141 (1980).
36. Gerhardsson L., et al.. In Vivo Measurements of Lead in Bone in Long-term Exposed Lead Smelter Workers. *Arch. Of Environm. Health.* 48(3):147 (1993).
37. Gilfillan S. Lead Poisoning and the Fall of the Roman Empire. *J. Occup. Med.* 7:53-60 (1965).
38. Grand J. Lead in Danes. Griffin T. and Knelson J. (Eds.). *Lead.* Thieme. Stuttgart. 6-87 (1975).

39. Haddad L., Winchester J., Clinical Management of Poisoning and Drug Overdose. 2da edit. W.B. Saunders Company. pp: 234, 297-298 (1990).
40. Haidle C., Weiss K., Kuo M. Release of Free Bases from DNA After Reactions with Bleomycin. *Mol. Pharmacol.* 8:531-537 (1972).
41. Hammond P. Exposures of Humans to Lead. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 17:197-214 (1977).
42. Hartwig A. Current Aspects in Metal Genotoxicity. *Biometals.* 8:3-11 (1995).
43. Hartwig A. Role of DNA Repair Inhibition in Lead-and Cadmium Induced Genotoxicity: A Review. *Environm. Health Perspect.* 102:45-50 (1994).
44. Haworth S., Lawlor T., Mortelmans K., Speck W., Zeiger E. Salmonella Mutagenicity Test Results for 250 Chemicals. *Environm. Mol. Mutagen.* 5(Suppl. 1):3-142 (1983).
45. Heddle J. Measurement of Chromosomal Breakage in Cultured Cells by the Micronucleus Technique. In: *Mutation-Induced Chromosome Damage to Man* (eds Evans H., Lloyd D.). Edinburgh University Press. Edinburgh. pp:191-200 (1976).
46. Hogstedt B., Kolning A., Mitelman F., Schutz A. Correlation Between Blood Lead and Chromosomal Aberrations. *Lancet* 2:8136 (1979).
47. Hook E. Perspectives in Mutation Epidemiology (ICPEMC) *Mutat Res.* 99:373-382 (1982).
48. I.A.R.C. The Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. IARC Lyon. 23:1-210 (1980).
49. I.A.R.C. The Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans Genetic and Related Effects: An Updating of IARC Monograph. Vols.1-42. International Agency for Research on Cancer. Lyon. France. Suppl. 6:351-354 (1987).
50. IESS División de Riesgos del Trabajo, Prevención del Riesgo de Exposición a Plomo en Fábricas de Baterías. Laboratorio de Higiene Industrial LESS. (1984).
51. IMBICE. Detección de la Mutagenicidad de Contaminantes Ambientales. La Plata-Argentina (1980).

52. ISCN. An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Harden D. and Klinger H. (eds). Published in collaboration with Cytogenet. Cell. Genet. (Karger Bare1) VI:66-69 (1985).
53. Ishida R., Takahashi T. Increased DNA Chain Breakage by Combined Action of Bleomycin and Superoxide Radical. *Biochem. Biophys. Res Commun.* 66:1432-1438 (1975).
54. Isselbacher H., et al.- Harrison: Principios de Medicina Interna. Vol. II. 13a edición. Interamericana. pp:2841-42 (1994).
55. Jacquet P., Gerber G., Maes J. Biochemical Studies in Embryos After Exposure of Pregnant Mice to Dietary Lead. *Bull. Environm. Contam. Toxicol.* 18: 271 (1977b).
56. Jacquet P., Gerber G. Teratogenic Effects of Lead in the Mouse. *Biomed.* 30:223-229 (1979).
57. Johnson F. The Genetic Effects of Environmental Lead. *Reviews in Mutat. Res.* 410(2):123-140 (1998).
58. Kato H. Mechanisms of Sister Chromatid Exchanges and their Relation to the Production of Chromosomal Aberrations. *Chromosoma* 59:179-191 (1977).
59. Keck M., Emerit I. The Influence of Culture Medium Composition en the Incidence of Chromosomal Breakage. *Hum. Genet.* 50:277-283 (1979).
60. Kimbrough R., LeVois M., Webb D. Tratamiento de los Niños con Niveles de Plomo en Sangre Discretamente Elevados. *Pediatrics* (edición española). 37(2):83-90 (1994).
61. Kuo M., Hsu T. Biochemical and Cytological Studies of Bleomycin Actions on Chromatin and Chromosomes. *Chromosoma (Berl)*. 68:289-240 (1978).
62. Kuo M. Preferential Damage of Active Chromatin by Bleomycin. *Cancer Res.* 41:2439-2443 (1981).
63. Lancronjan T., Propesan H., Gavanecen O., Klepsch J., Serbanesce M. Reproductive Ability of Workmen Occupationally Exposed to Lead. *Arch. Environ. Health.* 30:396-401 (1975).

64. Larramendy M., López-Larraz D., Vidal-Rioja L., Bianchi N. Effect of the Metal Chelating Agent o-Phenanthroline on the DNA and Chromosome Damage Induced by Bleomycin in Chinese Hamster Ovary Cells. *Cancer Res.* 49:6583-6586 (1989).
65. Lasso M. Plomo el Veneno de Cada Día. Periódico HOY. Agosto 26 pp 8-6 (1989).
66. Latt S. Sister Chromatid Exchange Formation. *Annu. Rev. Genet.* 15:11-55 (1981).
67. Leonard A., Deknut G., Debackere M. Cytogenetic Investigations en Leucocytes of Cattle Intoxicated with Heavy Metals. *Toxicology.* 2:269-273 (1974).
68. López J., De la Peña A., Baños G. Efecto del Plomo y Cadmio Sobre la Agregación Plaquetaria. *Arch. Inst. Cardiol. Méx.* 62:317-324 (1992).
69. López-Larraz D., De Luca J., Bianchi N. The Kinetics of DNA Damage by Bleomycin in Mammalian Cells. *Mutat. Res.* 232:57-61 (1990).
70. Mahaffey K. Environmental Lead Toxicity: Nutrition as a Component of Intervention. *Environ. Health Perspect.* 89:75-78 (1990).
71. Matter B., Schmid W. Trenimon-Induced Chromosome Damage In Bone-Marrow Cells of Six Mammalian Species Evaluated by the Micronucleus Test. *Mut. Res.* 12:417-425 (1971).
72. Minden M. *Oncogenes In the Basic Science of Oncology.* Ed I.F. Tannock, Pergamenon Press. New York. pp 72-88 (1987).
73. **Mineral Industry Surveys Lead**, Monthly. US Department of the Interior. US Geological Survey. Minerals Information. April. Reston, Virginia. (1996).
74. Molina-Ballesteros G., et al. Concentración de Plomo en Sangre de Niños de Familias Alfareras. *Bol. Of. Sanit. Panam.* 92(1):33-39 (1982).
75. Moore M., Goldberg A. Health Implications of the Hematopoietic Effects of Lead. Mahaffey K. (Ed.). *Dietary and Environmental Lead: Human Health Effects.* Elsevier. Amsterdam. pp:260-314 (1985).
76. Muller W., Zahn R. Bleomycin an Antibiotic that Removes Thymins from Double Stranded DNA. *Prog. Nucleic. Acid Res. Mol. Biol.* 40:21-57 (1977).
77. Muro L., Goyer R. Chromosome Damage in Experimental Lead Poisoning. *Arch Pathd.* 87:660-663 (1969).

78. Natarajan A. Mechanism for Induction of Mutations and Chromosome Alterations. *Environ. Health Perspect.* (Suppl. 3):225-29 (1993).
79. Navah U., et al. Relationship of Blood Levels of Lead to Blood Pressure in Battery Workers. *Arch. Of Environm. Health.* 51(4):324-325 (1996).
80. Nayak B., Ray M., Persaud T., Nigli M. Relationship of Embryotoxicity and Genotoxicity of Lead Nitrate in Mice. *Exp. Pathol.* 36:65-73 (1989).
81. Needleman H. Behavioral Toxicology. *Environ. Health Perspect.* 00:77-79 (1995).
82. Nestlé Nutrition. Departamento de Productos Infantiles y Dietéticos. Inedeca S.A. "Plomo". pp 3-28. Septiembre (1985).
83. Niriagu J. The Biogeochemistry of Lead in the Environment. Vol. 2. Elsevier. Amsterdam. (1978).
84. Nogué S., Sanz-Gallén P. Saturnismo. *Interconsulta.* 7(4):136-141 (1996).
85. Nolan C., Shaikh Z. Lead Nephrotoxicity and Associated Disorders: Biochemical Mechanisms. *Toxicol.* 73:127-147 (1992).
86. Nordenson I., Beckman G., Beckman L., Nordstrom S. Occupational and Environmental Risk in an Around a Smelter in Norther Sweden, IV Chromosomal Aberration in Works Exposed to Lead. *Hereditas* 88:263-267 (1978).
87. Nordenson I., Nordstrom S., Sweins A., Beckman L. Chromosomal Aberration in Lead-Exposed Workers. *Hereditas* 96:265-268 (1982).
88. Ohama K., Kadotani T. Cytological Effects of Bleomycin on Cultured Human Leukocytes. *J. Hum. Genet.* 14:293-297 (1970).
89. OPS/OMS. Evaluación Epidemiológica de Riesgos Causados por Agentes Químicos Ambientales. Ed. Limusa. México pp:485-529 (1988).
90. Ortega J. Exposición Potencial al Plomo de una Muestra de Trabajadores. *Revista Seguridad, Higiene y Medicina del Trabajo.* 3:3 (1982).
91. Parera V., et al. The Saturnism, a Toxic Acute Porphyria, is a Toxogenetic Disease. *Acta Bioq. Clin. Latinoam.* 20(3):345-353 (1986).
92. Perry P., Wolf S. Cytological Detection of Mutagen-Carcinogen Exposure by Sister Chromatid Exchange. *Nature (London).* 251:121-125 (1974).

93. Perry P., Thomson E. The Methodology of Sister Chromatid Exchanges. Handbook of Mutagenicity Test Procedure. 24:494-529 (1984).
94. Phillips R. The Genetic Basis of Cancer, Ed. Tannock, Pergamon Press. New York. pp 24-51 (1987).
95. Piomelli S. Intoxicación Infantil por Plomo en la Década de 1990. Pediatrics (edición española). 37(3):148-150 (1994).
96. Poor G., Mituszova M. Saturnine Gout. Baillieres Clin. Rheumatol. 3:51-61 (1989).
97. Pounds J. Effect of Lead Intoxication and Calcium Homeostasis and Calcium-Mediated Cell Functions: A Review. Neurotoxicol. 5:295-322 (1984).
98. Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Proyecto Argentino. Detección de la Acción Mutagénica de los Contaminantes Ambientales. pp 2 (1980).
99. Rabinowitz M., Wetheril G., Kapple J. Kinetic Analysis of Lead Metabolism in Healthy Humans. J. Clin. Invest. 58:260-270 (1976).
100. Ramel C., Magnussen J. Chemical Induction of Non-Disjunction in Drosophila. Environm. Health. Perspect. 31:56-66 (1979).
101. República de Chile. Ministerio de Salud. Manual de Toxicología Ocupacional. Santiago-Chile. pp 13-15 (1979).
102. Rice D. Behavioral Effects of Lead: Commonalties Between Experimental and Epidemiologic Data. Environ. Health Perspect. 104 (Suppl. 2):337-351 (1996).
103. Roodney D., Czepulkowski B. Human Cytogenetics: A Practical Approach. Vol. I. 2ª edit. Oxford University Press. p:106 (1992).
104. Roy N., Rossman T. Mutagenesis and Comutagenesis by Lead Compounds. Mutat. Res. 98:97-103 (1992).
105. Sakai K., Muata N., Chiba K., Yamane Y. Effect of Copper Administration on the Incorporation of [3H] Thymidine Into the Liver DNA of Rats Stimulated by Dimethyl Nitrosamine and Diethylnitrosamine. Carcinogenesis 2:1261-1266 (1981).
106. Salinas E. México: País Pionero en la Eliminación del Plomo en la Alfarería. Oficios Artesanos. pp 7-10 (1997).

107. Sarto F., Stella M., Acqua A. Cytogenic Studies in 20 Workers Occupationally Exposed to Lead. *Med. Lav.* 69:172-180 (1978).
108. Sausville E., Stein R., Peijach J., Horwitz S. Properties and Products of the Degradation of DNA by Bleomycin and Iron (II). *Biochem.* 17:2746-2754 (1978).
109. Savage J. Clasification and Relation Hips of Induced Chromosomal Structure Changes. *J. of Med. Genet.* 21:103-122 (1975).
110. Saxena D., et al. Blood and Placental Lead Levels in an Indian City: a Preliminary Report. *Arch. Of Environm. Health.* 49(2):106-115 (1994).
111. Schonfeld D., Needham D. Plomo: Una Perspectiva Real. *Contemporary Pediatrics.* 3(1):3-27 (1995).
112. Scott D., Zampetti-Bossler F. The Relations Ships Between Chromosome Damage Cell Cycle Delay and Cell Killing Induced by Bleomycin of X Ray. *Mutat. Res.* 151:83-88 (1985).
113. Shannon M., Graef J. Lead Intoxication in Children with Pervasive Developmental Disorders. *J. of Toxicol.: Clin. Toxicol.* 34(2):177-185 (1996).
114. Shirakawa I., et al. Reaction of Bleomycin with DNA Strand Scission of DNA in the Absence of Sulfhydryl or Peroxide Compound. *J. Antibiotic.* 24:761-766 (1971).
115. Sognier M., Hittelman N., Pollard M. The Relation Ship Between DNA and Chromosome Damage After Bleomycin Tratament: Dosis Response Measuraments. *Mutat. Res.* 93:149-159 (1982).
116. Sorsa M., Yager J. Cytogenetic Surveillance of Ocupational Exposures. *Cytogenetics Basic and Applied Aspects.* Ed. Obe and Basler. Springer-Verlag. Berlin. pp 345-355 (1987).
117. Stetka Jr D. Operative and Non Operative Mechanisms of Sister Chromatids Exchange. *Sister Chromatid Exchange.* AA Sandberg ed. Alan R. Liss. Inc. NY. 99-114 (1982).
118. Tamura H., Sugiyama Y., Sugahara T. Bleomycin Induced Chromosome Aberrations in Cultured Human Lymphocytes at Various Cell Phases. *Acta Obstet. Gynecol. Jap.* 22:120 (1975).
119. Taylor J. Sister Chromatid Exchanges in Tritium Labeled Chromosomes. *Genetics.* 43:515-529 (1958).

120. Therman E., Susman M., Human Chromosomes. 3ª edit. Springer-Verlag. pp:42, 128,129 (1993).
121. Umezawa H., Maeda K., Takeuchi T., Okami Y. New Antibiotics Bleomycin. A & B. J. Antibiot. (Ser. A) 19:200-209 (1966).
122. UNESCO-ROSTLAC. Proyecto Sistema Interamericano de Genética Toxicológica. Montevideo-Uruguay. (1987).
123. Vig B., Lewis R. Genetic Toxicology of Bleomycin. Mutat. Res. 55:125-145 (1978).
124. Wheatley D., Mueller G., Kajiwarra K. Anti-Mitotic Activity of Bleomycin: Time of Action in the Mammalian Cell Cycle. Br J Cancer. 29:117-131 (1974).
125. Willems M., Schepper G., Wibowo A., Immel H., Dietrich A., Eielhmis R. Absence of an Effect of Lead Acetate on Sperm Morphology, Sister Chromatid Exchange or on Micronuclei Formation in Rabbits. Arch. Toxicol. 50:149-157 (1982).
126. Winder C. Bonin T. The Genotoxicity of Lead. Mutat Res 285:117-124 (1993)
127. Wise J., Orestein J., Patierna S.. Inhibition of Lead Chromate Clastogenesis by Ascorbate: Relationship to Particle Dissolution and Uptake. Carcinogenesis 14 (3):429-434 (1993).
128. Wyngaarden J., Smith LL. Cecil: Tratado de Medicina Interna. Vol. II. 18a edición. Interamericana. pp:2644-47 (1991).
129. Wyrobek A., Bruce R. The Induction of Sperm Cell Abnormalities in Mice and Humans. Chemical Mutagens: Principles and Methods for Their Detection. Vol. 5. A Hollaender. Ed. Plenum. N.Y. 257-285 (1978).
130. Yeager D., Cholok J., Henderson E. Determination of Lead in Biological and Related Material by Atomic Absorption Spectrophotometer. Environm. Sci. Technol. 5:1020 (1971).



Esta edición que consta de 200 ejemplares
especialmente seleccionados para la
distribución de los cursos de la
Universidad Central del Ecuador al ser
el primer libro de la biblioteca y registro de la
biblioteca universitaria de la Universidad Central del Ecuador.
Lima.



Esta edición que consta de 500 ejemplares en papel bond, se terminó de imprimir el 15 de enero de 1999, siendo Rector de la Universidad Central del Ecuador, el señor Ing. Víctor Hugo Olalla Proaño, y Regente de la Editorial Universitaria el señor César Viteri Herrera.

3963

Cantos, Galo, te, al

Plom o Genotoxicidad
y Salud Humana

FECHA

PRESTADO A

3963

Cantos, galo, et, al
Plomo Genotoxicidad y Salud
Humana

FUNDADA EN 1620
QUITO

