

# **UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**E. A. P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

## **Determinación de ácido hipúrico en orina como indicador de exposición al tolueno en trabajadores de imprentas en los distritos de la provincia de Lima**

**TESIS**

para optar al título profesional de Químico Farmacéutico

**AUTORAS**

Rosmery junes olivera

Cristina lizbet lookuy avendaño

**ASESOR**

José Alfonso Apestequia Infantes

**Lima-Perú**

**2009**

*A Dios, mi padre celestial, por ser la luz que guía mi camino, por darme la fortaleza necesaria para avanzar y levantarme si tropiezo y por estar a mi lado siempre.*

*A mis padres Pedro y Susana, por su notable ejemplo de vida, por brindarme su amor, por su apoyo y dedicación en todo momento para el logro de mis metas.*

*A mí querido hermano Gregory, por su amistad, apoyo, comprensión y por confiar en mí, en todo momento.*

*A mi amiga y co-autora Cristina por su perseverancia en lograr nuestro objetivo.*

**ROSMERY**

*A Dios y la Virgen por ser mi protección y quienes guían cada una de las decisiones que tomo a diario.*

*A mis padres Luis y Amada por haberme dado la vida, por su apoyo, esfuerzo y comprensión en cada momento de mi vida.*

*A mis hermanos Lester y Luis por su preocupación constante, su cariño y amistad desinteresada.*

*A mi amiga y coautora Rosmery por su perseverancia, dedicación y esmero para el logro de nuestro objetivo, la presente tesis.*

**CRISTINA**

*Deseamos agradecer al jurado evaluador y calificador, por sus comentarios y sugerencias.*

- *Mg. Norma Angélica Carlos Casas*
- *Dr. Moisés García Ortiz*
- *Dr. Juan Manuel Parreño Tipian*
- *Mg. Elena Benavides Rivera*

*Agradecemos a nuestro asesor Mg. José Alfonso Apesteguía Infantes y co-asesor Q.F. Tox. Jesús Víctor Lizano Gutiérrez, por brindarnos sus comentarios, sugerencias y continuo apoyo a lo largo de la realización del presente trabajo.*

***ROSMERY Y CRISTINA***

*Deseamos agradecer a nuestro amigo y  
compañero de estudios Edwin Durand, por su  
apoyo incondicional en la realización del  
presente trabajo.*

*Agradecemos de todo corazón al Mg. César  
Fuertes Ruiton, por la ayuda brindada.*

***ROSMERY Y CRISTINA***

## **INDICE**

**ABREVIATURAS**

**RESUMEN**

**SUMMARY**

**INTRODUCCIÓN**

**HIPOTÉISIS**

**OBJETIVOS**

### **I. GENERALIDADES**

1.1. Antecedentes	6
1.2. Tolueno	7
1.3. Toxicocinética del Tolueno	10
1.4. Toxicodinamia del Tolueno	17
1.5. Intoxicación por Tolueno	19
1.6. Tratamiento	33
1.7. Composición de las tintas	33

### **II. PARTE EXPERIMENTAL**

2.1. Muestra de estudio	38
2.2. Materiales, Reactivos y Equipos	38
2.3. Técnica Operatoria	39

### **III. RESULTADOS** 48

### **IV. DISCUSIÓN** 53

### **V. CONCLUSIONES** 56

### **VI. RECOMENDACIONES** 57

### **VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS** 58

### **VIII. ANEXOS** 66

## **ABREVIATURAS**

<b>NIOSH:</b>	The National Institute for Occupational Safety and Health
<b>CYP:</b>	Cytochrome P450
<b>EEG:</b>	Electroencefalograma
<b>LDH:</b>	High Density Lipid
<b>EROs:</b>	Especies Reactivas de Oxígeno

## RESUMEN

En el presente trabajo, realizamos la cuantificación de los niveles de ácido hipúrico en relación a la creatinina urinaria en 50 maquinistas varones, que laboran en imprentas de Lima cercado, en donde hacen uso de tintas que contienen tolueno (técnicas de flexografía y huecograbado).

La cuantificación de ácido hipúrico en orina fue realizada por el método perteneciente al manual de métodos analíticos de la NIOSH.

Los niveles de Ácido Hipúrico en orina fueron menores a 1.6g ácido hipúrico/g creatinina, límite máximo permitido, dado por la AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENSTS. El promedio de la concentración de ácido hipúrico en orina del grupo expuesto es de  $0.758 \pm 0.275$  g ácido hipúrico/g creatinina. sin embargo, estos valores están ligeramente elevados con respecto al grupo control, cuyo promedio es  $0.422 \pm 0.036$  g ácido hipúrico/ g creatinina.

El análisis toxicológico se realizó en el Laboratorio de Toxicología y Química Legal de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**Palabras Claves:** Acido hipúrico, tolueno, Tintas, imprenta.



## SUMMARY

In this present research, it was carried out the quantitative determination of hippuric acid levels in relation to urinary creatinine in fifty male workers, who work in prints of center of Lima, where they make use of inks containing toluene (Flexography and Rotogravure techniques),

The quantitative determination of hippuric acid was carried out by the method belongs to the Manual of Analytical Methods according to the NIOSH (The National Institute for Occupational Safety and Health).

Hippuric acid levels in urine were less than 1.6g hippuric acid/g creatinine, the maximum permissible limit given by the AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENSTS. The average concentration of hippuric acid in urine in the exposed group was  $0.758 \pm 0.275$  g hippuric acid/g creatinine.

The toxicological analysis was carried out in the Toxicology and Legal Chemistry Laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of San Marcos Major National University.

**Key words:** Hippuric acid, toluene, inks, prints.

## INTRODUCCIÓN

La imprenta es uno de los inventos más importantes del hombre, ha permitido la expansión y el desarrollo de la educación y la difusión del conocimiento (teorías, ideas, invenciones y descubrimientos) a través de la reproducción masiva de textos. Como es sabido para poder obtener el texto impreso, un elemento importante es la tinta. Las tintas usadas inicialmente tenían como solvente base el agua; pero conforme han ido evolucionando las técnicas de impresión también se han creado nuevas tintas como las que actualmente se usan, las tintas de secado rápido, que contienen como solvente base tolueno y en algunos casos xileno. La presencia de estos solventes orgánicos en las tintas contribuye a un riesgo en la salud de las personas que trabajan en la industria gráfica.

En nuestro país no existen trabajos de investigación referentes a la exposición a tintas, que contienen tolueno, utilizadas en el tipo de impresión huecograbado y flexografía. Por ello, es importante medir los niveles de ácido hipúrico/ g creatinina, como indicador biológico de exposición al tolueno, en este tipo de población y determinar si sus valores de ácido hipúrico en orina superan el límite máximo permitido establecido internacionalmente.

El presente trabajo fue realizado en 50 maquinistas varones trabajadores de imprentas de Lima cercado; el método empleado para la cuantificación de ácido hipúrico en orina pertenece al Manual de Métodos Analíticos de la NIOSH. El promedio de la concentración de ácido hipúrico en orina en el grupo expuesto fue  $0.758 \pm 0.275$  g ácido hipúrico/creatinina. Los niveles de ácido hipúrico encontrados no superan 1.6 g ácido hipúrico/creatinina, límite máximo permitido, dado por la AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENSTS.

## **HIPÓTESIS**

- Los niveles de ácido hipúrico/g creatinina en trabajadores de imprenta de la provincia de Lima, superan el límite máximo permitido (1.6g ácido hipúrico/g creatinina)

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Determinar la concentración del ácido hipúrico en relación a la concentración de creatinina en orina como indicador biológico de exposición al tolueno.

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Cuantificar el ácido hipúrico a partir de la muestra de orina.
- Cuantificar la creatinina en orina.
- Comparar los niveles de ácido hipúrico en orina en trabajadores de imprenta, expuestos al tolueno (grupo casos) y personas no expuestas al mismo solvente (grupo control).

## **I. GENERALIDADES**

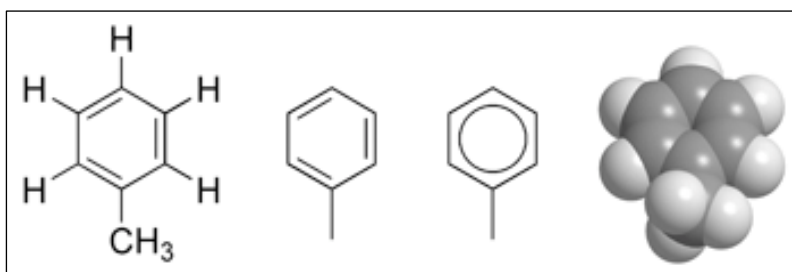
### **1.1. ANTECEDENTES**

- En un estudio realizado en Lima-Perú en el año 1994 por Palomino y Stucchi en niños de la calle que inhalaban pegamentos; se determinó la presencia de ácido hipúrico y fenoles en orina por encima de los niveles permitidos por la OMS, los cuales son 1,4 g/L y 75mg/L respectivamente. <sup>(1)</sup>
- En un estudio realizado en Lima-Perú en el año 2001 por Ramírez y Sánchez en trabajadores de talleres de venta de lubricantes y de servicio de mecánica automotriz; se determinó que los niveles de ácido hipúrico estaban por encima de los valores normales. <sup>(2)</sup>
- En un estudio realizado en Lima-Perú en el año 2007 por Eusebio y Rodríguez en trabajadores de confección y reparación de calzados, se determinó la presencia de ácido hipúrico y fenoles en orina por encima de los niveles permitidos por la OMS, los cuales son 1,4 g/L y 75mg/L respectivamente. <sup>(3)</sup>
- En un estudio de cohorte realizado en el Hospital Universitario de Lund-Suecia entre los años 1925 y 1985 en trabajadores de imprentas que usaban la técnica de huecogrado; buscaron la relación entre la mortalidad y la presencia de tumores con el tiempo de exposición al tolueno, encontrándose que este solvente tiene un efecto tóxico sobre el sistema urinario y sistema nervioso pero no se encontró una relación dosis - respuesta con la dosis acumulativa del tolueno (ppm/año). <sup>(4)</sup>
- En un estudio realizado en el Centro de Investigaciones Toxicológicas de la Universidad de Carabobo-Venezuela en el año 2001 en trabajadores de una fábrica de calzado; se investigó la relación entre los solventes orgánicos

utilizados y el estado de salud de los trabajadores, encontrando que los valores de tolueno en sangre estaban significativamente por encima del límite permitido, así mismo este resultado no era determinante para establecer la relación mencionada anteriormente, sin embargo la ausencia de medidas de seguridad podrían incrementar los efectos de estos solventes a través del tiempo en la salud de los trabajadores. <sup>(5)</sup>

## 1.2. TOLUENO

SINÓNIMOS: Metilbenceno, Fenilmetano, Toluol.  $C_6H_5-CH_3$



**FIGURA N° 1: ESTRUCTURA QUIMICA DEL TOLUENO**

Su nombre deriva del bálsamo del árbol *Myroxylon balsamum* (Bálsamo Tolú o bálsamo de Colombia) del cual Henri Etienne Sainte-Claire Deville lo obtuvo por primera vez en 1844 mediante destilación seca. <sup>(6)</sup>

### 1.2.1. PROPIEDADES FÍSICAS

El Tolueno, pertenece al grupo de los alquilbencenos, los cuales son derivados del benceno y poseen una o más cadenas alifáticas saturadas; el tolueno es un homólogo del benceno y se diferencia de este por la presencia de un grupo metilo, Esta pequeña diferencia estructural hace que el tolueno sea más liposoluble y menos volátil que el benceno. <sup>(6)</sup>

El tolueno es un líquido incoloro, inflamable, móvil, de olor fuerte característico similar al benceno, sus vapores son explosivos. Es menos denso que el agua; su densidad,  $D= 0,872$  a  $20^{\circ}$ ; su punto de ebullición es de  $+ 109^{\circ}8$ .<sup>(6,7)</sup>

Como solvente es más débil y menos extenso que el benceno; insoluble en agua, soluble en todas las proporciones, en alcohol etílico, éter etílico y benceno.<sup>(6, 7)</sup>

### **1.2.2. SÍNTESIS**

Existe en forma natural en el petróleo crudo y en el árbol Bálsamo de Tolú. También se produce durante la manufactura de gasolina y de otros combustibles a partir del petróleo crudo y en la manufactura de coque a partir de carbón. También está presente en el humo de los cigarrillos.<sup>(6)</sup>

Químicamente se genera en la ciclodeshidrogenación del n-heptano en presencia de catalizadores y pasando por el metilheptano. Además se obtiene como subproducto en la generación de etileno y propeno. La producción anual de tolueno mundialmente es de 5 a 10 millones de toneladas.<sup>(6, 7)</sup>

### **1.2.3. USOS**

El Tolueno es utilizado como solvente de aceites, resinas, alquitrán de hulla y asfalto. Disolvente del caucho natural (mezclado con

ciclohexano) y caucho sintético; en la industria de las colas, neumáticos, ropas impermeables y calzado. <sup>(6,7)</sup>

Es usado como solvente y diluyente para pinturas, pegamentos y barnices de celulosa, y como diluyente para tintas de fotograbado; en la industria textil, de pinturas y lacas, de cuero, de tintas e imprenta. <sup>(2,5, 6-8)</sup>

También puede encontrarse en mezclas que se utilizan para productos de limpieza y como agentes de extracción de grasas en diversas industrias. <sup>(6,7)</sup>

Es una importante materia prima para la síntesis orgánica, especialmente en la producción de cloruros de benzoilo y bencilideno, cloramina T, TNT (2, 4, 6-trinitrotolueno), tolueno diisocianato, fenol, ácido benzoico, sacarina, caprolactama (molécula del nylon), perfumes, detergentes y colorantes. <sup>(6,8)</sup> Asimismo es un constituyente de combustibles y refrigerantes utilizadas en aviación y automóviles, en la industria petrolera y petroquímica. <sup>(6,8,9)</sup>

#### **1.2.4. FUENTES DE EXPOSICIÓN**

Las fuentes de contaminación son los trabajos en donde se emplea el tolueno, tales como:

- Preparación, extracción, rectificación de tolueno.
- Empleo del tolueno como materia prima para obtener sus derivados.
- Extracción de materias grasas, desengrasado de huesos, pieles, cueros, fibras, textiles, tejidos; limpieza en seco; desengrasado de piezas metálicas.
- Preparación de disoluciones de caucho y de sus derivados; manipula-

ción y empleo de estas disoluciones.

- Fabricación y aplicación de barnices, pinturas, esmaltes, masillas, tintas, pegamentos, productos de mantenimiento y limpieza que contengan tolueno. <sup>(2, 5, 7, 8, 10)</sup>
- Empleo de tolueno como disolventes de resinas naturales o sintéticas.
- Empleo de tolueno como deshidratante de alcoholes y otras sustancias líquidas o sólidas.
- Empleo de tolueno como desnaturalizante.
- Preparación de carburantes conteniendo hidrocarburos bencénicos, transvase y manipulación de tales carburantes. <sup>(4, 7, 11, 12)</sup>

### **1.3. TOXICOCINÉTICA DEL TOLUENO**

#### **1.3.1. ABSORCIÓN.**

El Tolueno penetra en el cuerpo humano, a través del aparato respiratorio, digestivo y en menor proporción a través de la piel, la absorción se produce principalmente por exposición a los vapores, que se absorben en un 50% vía respiratoria; cuando hay contacto directo del tolueno líquido con la piel, este se absorbe totalmente, un contacto de 5 minutos aumenta en un intervalo de 2 a 5,4  $\mu\text{mol/L}$  los niveles de tolueno en sangre que equivale una exposición al tolueno por espacio de 8 horas de trabajo a una concentración de 100ppm. <sup>(6,8,9,13-18)</sup>

*Absorción (exposición inhalatoria):* Se ha encontrado que en personas expuestas a 80ppm de tolueno, muestran una concentración de 2 a 5  $\mu\text{mol/L}$



de tolueno en sangre después de 10 a 15 minutos de exposición, además hay una gran correlación entre las concentraciones arteriales y alveolares de tolueno durante y después de la exposición.

**Absorción (exposición oral):** Desde que es sabido que el tolueno se absorbe a través de la matriz lipídica de la membrana, su absorción puede ocurrir en la boca, el estómago y el intestino delgado. La cantidad de tolueno absorbido por cada órgano del tracto gastrointestinal depende del tiempo de contacto, el área de absorción y la partición entre la membrana lipídica y los lípidos del tracto gastrointestinal.

**Absorción (exposición dérmica):** El tolueno es absorbido lentamente a través de la piel. El rango de absorción del tolueno en humanos está entre 14 y 23 mg/cm<sup>2</sup>/hora. <sup>(15, 16, 18, 19)</sup>

### **1.3.2. DISTRIBUCIÓN.**

Su elevada liposolubilidad condiciona su fijación en el tejido adiposo y el sistema nervioso, observándose una mayor concentración en el tejido adiposo, seguido por la médula ósea, glándulas suprarrenales, riñones, hígado, cerebro y sangre. <sup>(6,11)</sup> Traspasa la membrana alveolar. La mezcla sangre/aire se mantiene en una proporción de 12-15,6 a 37°C y entonces se distribuye por los diferentes tejidos en cantidades variables, que dependen de las características de perfusión y solubilidad respectivamente. La proporción tejido/sangre es de 1 a 3 a excepción de aquellos tejidos ricos en grasas, que presentan un coeficiente de 80/100. <sup>(6, 9, 13, 15, 18, 20)</sup>

El tolueno además puede atravesar la placenta y entrar en el feto, puede encontrarse también en la leche materna. <sup>(15,16)</sup>

***Distribución (exposición inhalatoria):*** Existe una correlación positiva entre los niveles de tolueno en el aire alveolar y los niveles de tolueno en sangre. En los glóbulos rojos el tolueno aparece asociado con la hemoglobina, se cree que el tolueno interactúa con el núcleo hidrofóbico de la hemoproteína. La interacción del tolueno con los glóbulos rojos incrementa la cantidad de tolueno que puede ser transportado a las diferentes partes del cuerpo incluyendo el cerebro. El tolueno absorbido es distribuido a tejidos ricos en grasas y tejidos altamente vascularizados como el cerebro. <sup>(15)</sup>

***Distribución (exposición oral):*** La distribución del tolueno es similar a la que ocurre vía inhalatoria. <sup>(15)</sup>

***Distribución (exposición dérmica):*** No se tienen estudios acerca de la distribución del tolueno después de la exposición dérmica. <sup>(15)</sup>

### **1.3.3. METABOLISMO.**

El 20% del tolueno absorbido se excreta inmodificado por el aire espirado. La fracción retenida en el organismo (80%) es metabolizada por los microsomas del hígado por el sistema monooxigenasa (citocromo P-450 isozyma), que hidroxila al tolueno en su cadena lateral a alcohol

bencílico (radical metilo pasa a carboxilo), posteriormente, las enzimas alcohol-deshidrogenasa (ADH) y aldehído-deshidrogenasa (AIDH) lo transforman en ácido benzoico que, por conjugación con la glicina, forma ácido hipúrico, que es el principal metabolito urinario debido a la excreción renal que suele producirse en los túbulos proximales. <sup>(6- 8,15,18,21)</sup>

La hidroxilación del anillo para formar *orto*-cresol o *para*-cresol representa menos del 5% del total de metabolitos formados. <sup>(15)</sup>

Según estudios *in vitro* el CYP2E1 es la más activa CYP isoenzima para formar el alcohol bencílico y el CYP1A2 es la más activa para formar *orto*-cresol y *para*-cresol. <sup>(15)</sup>

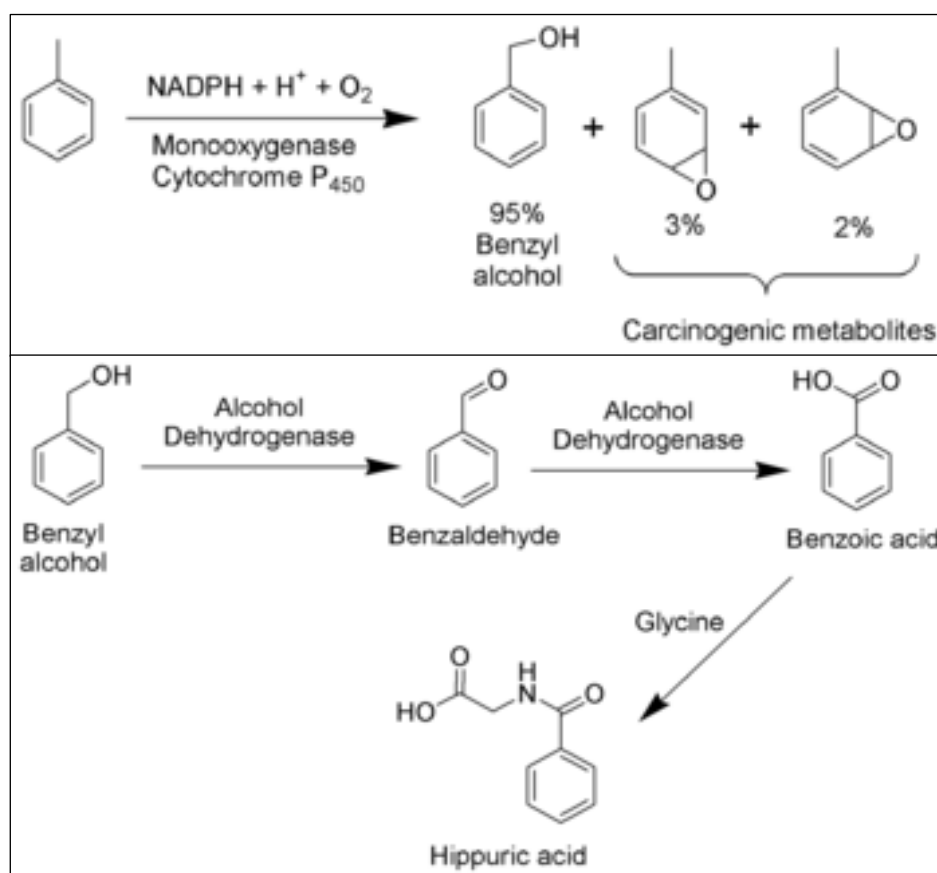
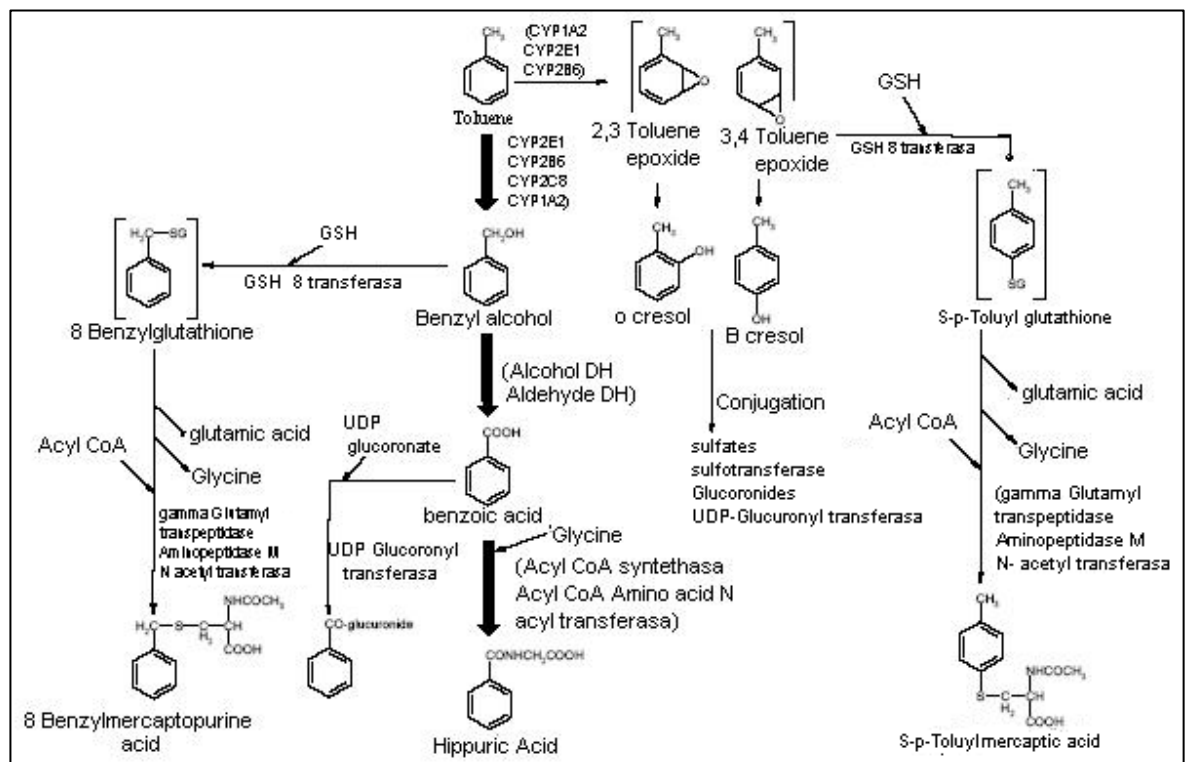


FIGURA N° 2: ESQUEMA DEL METABOLISMO DEL TOLUENO <sup>(8)</sup>

Nakajima demostró que el CYP2E1, en bajas concentraciones de tolueno, contribuye con la formación de alcohol bencílico y *para*-cresol.; el CYP1A1/2 contribuye con la formación del *orto*-cresol y *para*-cresol; y el CYP2B1/2 y el CYP2C11/6 (en altas concentraciones de tolueno) contribuye con la formación de alcohol bencílico, *orto*-cresol y *para*-cresol. También demostró que el CYP2E1 es el más activo en la formación de alcohol bencílico, seguido por el CYP2B6, CYP2C8, CYP1A2 y CYP1A1. Las actividades del CYP2A6, CYP2C9, CYP2D6, CYP3A3, CYP3A4 y CYP3A5, son negativas en el metabolismo del tolueno. El CYP1A2 también estuvo activo durante la formación de *orto*-cresol y *para*-cresol (22% y 35% del total de metabolitos). El CYP2E1 y CYP2B6 catalizaron la formación de *para*-cresol (11-12% del total de metabolitos).

(15)



**FIGURA N°3: PARTICIPACIÓN DE LAS ISOZIMAS CYP EN EL METABOLISMO DEL TOLUENO**

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

El hígado es el principal órgano donde ocurre el metabolismo del tolueno, y es sustentado por la alta concentración de CYP isoenzimas en comparación con otros órganos.<sup>(15)</sup>

La ingesta regular de etanol parece estimular el metabolismo oxidativo del tolueno, pero el poco consumo de etanol durante la exposición al tolueno inhibe la biotransformación del disolvente en ácido hipúrico y o-cresol y aumenta la fracción eliminada inmodificada en el aire espirado, sin embargo en recientes estudios realizados se ha llegado a la conclusión de que el consumo de etanol y el consumo de cigarrillos no influyen significativamente en el metabolismo del tolueno.<sup>(8, 13, 14, 17, 22)</sup>

#### **1.3.4. EXCRECIÓN.**

El tolueno absorbido a través de esta vía inhalatoria es excretado principalmente en la orina en forma de metabolitos y el tolueno no metabolizado es excretado en el aire exhalado.<sup>(15, 16, 19-21)</sup>

En estudios realizados sobre la concentración de tolueno en sangre, en aire exhalado y en tejido adiposo se indican que la mayor cantidad de tolueno absorbido es rápidamente eliminado del cuerpo y queda una

pequeña porción que es lentamente metabolizada, la cual es la que se encuentra en el tejido adiposo. (15, 16, 18, 19)

Al igual que en la vía inhalatoria, los metabolitos del tolueno son excretados en la orina, mientras que el tolueno como tal es excretado a través de la exhalación. (15)

A través de la vía dérmica, se sabe que el tolueno no metabolizado es excretado a través de la inhalación, pero no se tienen datos sobre la excreción urinaria de sus metabolitos. (15)

El ácido hipúrico se excreta por la orina con una vida media biológica de unas 3 horas. Su eliminación es completa a las 18 horas tras finalizar la exposición. La vida media biológica del tolueno en la sangre y el aire alveolar es de unas 20 horas. (6, 8, 18, 19)

Se han propuesto numerosas pruebas biológicas para valorar la exposición al tolueno: investigación del ácido hipúrico, ácido benzoico y o-cresol urinario; investigación del ácido hipúrico en la sangre; y del tolueno en la sangre y en el aire espirado. (8)

La determinación del contenido de ácido hipúrico en la orina constituye un buen indicador biológico de exposición, teniendo en cuenta que pueden existir variaciones individuales y que la orina de trabajadores no expuestos puede contener ácido hipúrico procedente de alimentos, en especial frutas y hortalizas; además de alimentos que contienen preservantes como benzoatos y ácido benzoico. (6,17)

Actualmente, se señala como Valor Límite de Exposición diaria al tolueno (VLA-ED) 50 ppm (192mg/m<sup>3</sup>), y por lo tanto, el Valor Límite

Biológico de Exposición al tolueno, con base en el metabolito bioindicador del ácido hipúrico, es de 1.6 g/g Creatinina, valor que fue propuesto por la AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENISTS en los Índices Biológicos de Exposición (Biological Exposure Indices, BEIs) del 2003. <sup>(19)</sup>

En el hígado, son los mismos sistemas enzimáticos los encargados de oxidar el tolueno, el estireno y el benceno. Estas tres sustancias tienden a inhibirse mutuamente de forma competitiva. Por ello, si se tratan ratas con dosis elevadas de tolueno y benceno, puede observarse una reducción de la concentración de benceno en los tejidos y en la orina, en tanto que en el aire espirado se produce un aumento de la concentración de benceno. En el caso del tricloroetileno, la inhibición no tiene carácter competitivo puesto que las dos sustancias no se oxidan mediante el mismo sistema enzimático, la exposición simultánea producirá una reducción del ácido hipúrico y la aparición de compuestos tricloro en la orina. <sup>(6)</sup>

#### **1.4. TOXICODINAMIA DEL TOLUENO**

Los órganos designados críticos para el tolueno son el sistema nervioso central, debido a la acumulación de tolueno en los tejidos ricos en lípidos (las concentraciones del tolueno son más altas en el cerebro y los tejidos adiposos que en la sangre).

En un estudio, se determinó que la exposición al tolueno no altera el contenido total de fosfolípidos y colesterol a nivel de la membrana celular cerebral en ratas, sin embargo, se encontró una disminución del 24% en el contenido de fosfolípido sinaptosomal, sin alterarse el contenido de colesterol a

este nivel. La razón entre el contenido de fosfolípidos y colesterol es un índice indirecto de la fluidez de la membrana, esta razón no cambia frente a la exposición a tolueno, por lo que se sugiere que el tolueno no afecta la fluidez de la membrana. La disminución de los fosfolípidos es el resultado de la disminución específica de fosfatidiletanolamina. Cuando la fosfatidiletanolamina disminuye, podemos asegurar que el tolueno altera la función de la membrana sinaptosomal por metilación fosfolípídica, la cual es una reacción que utiliza fosfatidiletanolamina como sustrato inicial. El tolueno disminuye la incorporación de grupos metilo en los lípidos cuando el donador de grupos metilo es la [<sup>3</sup>H]-metionina, pero no afecta la metilación cuando el donador de metilos es [<sup>3</sup>H]-adenosil metionina, esta información sugiere que el tolueno induce una disminución específica de la fosfatidiletanolamina sinaptosomal y la inhibición de la metilación fosfolípídica puede alterar la función sináptica normal, lo cual juega un rol crítico en el mecanismo de acción del tolueno a nivel del sistema nervioso central. <sup>(23)</sup>

En un estudio in vitro, la exposición al tolueno de las mitocondrias aisladas de hígado de rata, a una concentración de 0.5 – 2.5 milimoles causó un aumento en la velocidad de la respiración mitocondrial, sugiriendo que este solvente desacopla el transporte de electrones de la fosforilación oxidativa en la mitocondria, conduciendo a una depleción de ATP mitocondrial. Mientras que a una concentración de 5 milimoles, causó una fuerte inhibición de la respiración mitocondrial, sugiriendo así, una pérdida completa de la función mitocondrial asociada con energía. Se examinaron los efectos de la adición de concentraciones crecientes de tolueno a una mitocondria estimulada previamente para la acumulación de Ca<sup>2+</sup>, observándose la liberación de este ión que coincide



con el aumento en la velocidad de respiración. El efecto desacoplador del tolueno observado en este estudio, pone en peligro las funciones vitales de la célula; en especial en órganos que muestran una alta demanda de energía como el cerebro y el hígado, principales blancos toxicológicos del tolueno en humanos y otros vertebrados.

Se sabe que la inhibición de la cadena respiratoria usualmente aumenta la generación de EROs El tolueno es capaz de causar desarreglos en la membrana celular, seguido por la producción de superóxido. <sup>(24)</sup>

## **1.5. INTOXICACIÓN POR TOLUENO**

### **1.5.1. INTOXICACIÓN AGUDA, SIGNOS Y SÍNTOMAS**

#### **Vía Oral:** Por ingestión

Los informes de la exposición oral de tolueno en los seres humanos se limitan a casos de ingestión accidental aguda. Ameno et al. (1989) informó de 15 muertes por la ingestión accidental de pintura que contienen tolueno durante el período de 1977 a 1986. Un informe del caso de un hombre de 51 años que murió 30 minutos después de haber ingerido una gran cantidad de tolueno, la causa probable de la muerte fue grave depresión del sistema nervioso central. Caravati y Bjerk (1997) informó sobre un caso de un hombre de 46 años de edad, que había ingerido aproximadamente un cuarto de galón de pintura, el paciente presentó grave depresión del sistema nervioso central, dolor abdominal, diarrea y gastritis hemorrágica. El paciente se recuperó después de 36 horas de atención de soporte. <sup>(25)</sup>

### **Vía Respiratoria:** Por inhalación

La toxicidad aguda sobre el sistema nervioso central es el principal efecto después de la exposición de tolueno. El efecto puede ser depresivo o excitatorios, con euforia, alucinaciones seguidas de ataxia, confusión, mareos, somnolencia, trastornos del habla, visión borrosa, temblores, depresión respiratoria, convulsiones, coma y en casos graves, la muerte <sup>(15, 26)</sup>

El tolueno tiene sobre todo un efecto narcótico. En casos de fuerte exposición puede manifestarse inconsciencia, aún al cabo de pocos minutos, sin síntomas precursores. Se han registrado casos de muerte por exposición accidental durante el trabajo. Se han observado lesiones hepáticas y renales transitorias en casos de intoxicación aguda, así como irritación de las vías respiratorias que a veces ha causado neumonitis química. En comparación a su acción narcótica, el tolueno no tiene más que pequeños efectos irritantes en las mucosas y en los ojos. <sup>(27)</sup>

Nielsen et al. (1985) investigó los efectos renales producto de exposición aguda al tolueno, 43 hombres pintores y trabajadores fueron expuestos a 382mg/m<sup>3</sup> por 6.5 horas, con sus respectivos controles, no existieron cambios significativos en la excreción renal de albumina y una microglobunuria fue aparente durante la exposición de tolueno. Los resultados indican que en este estudio no hay una relación causal entre la exposición moderada al tolueno. <sup>(28)</sup>

Los efectos agudos de dosis individuales del tolueno en el hombre son resumidos en la **tabla 1**. El nivel de 9.4mg/m<sup>3</sup> parece ser el umbral del olor, mientras que niveles de 37500mg/m<sup>3</sup> y más están siendo asociados con narcosis. <sup>(26)</sup>

**TABLA N°1: RELACIÓN DOSIS-RESPUESTA PARA LOS EFECTOS AGUDOS DE SERES HUMANOS EXPUESTOS A CORTO PLAZO AL VAPOR DE TOLUENO.**

<b>DOSIS</b>	<b>EFEECTO</b>
<b>9.4 mg/m<sup>3</sup></b> (2.5 ppm)	Umbral del olor
<b>138.8mg/m<sup>3</sup></b> (37ppm)	Probablemente perceptible a más seres humanos
<b>188 – 375mg/m<sup>3</sup></b> (50 - 100ppm)	Quejas subjetivas (fatiga, somnolencia, dolor de cabeza moderado), pero probablemente no se observa el deterioro del tiempo de reacción o coordinación.
<b>750 mg/m<sup>3</sup></b> (200ppm)	Ligera irritación de la garganta y de los ojos; tiempo de reacción ojo-mano prolongado, algún deterioro en la función cognitiva; ligero dolor de cabeza, mareo, sensación de intoxicación; efectos tardíos; fatiga, confusión general, insomnio moderado.
<b>1125 mg/m<sup>3</sup></b> (300ppm)	Signos detectables de incoordinación pueden ser esperados durante los periodos de exposición mayores a 8h.
<b>1500 mg/m<sup>3</sup></b> (400ppm)	Irritación de los ojos, garganta y lacrimación; parestesia de la piel, signos groseros de incoordinación; confusión mental esperada durante periodos de exposición mayores a 8h.
<b>1875-2250mg/m<sup>3</sup></b> (500-600ppm)	Anorexia, vértigo sobre la marcha, náuseas, nerviosismo (persiste al día siguiente), pérdida momentánea de la memoria, reducción significativa en el tiempo de la reacción.
<b>3000mg/m<sup>3</sup></b> (800ppm)	Náusea pronunciada (después de 3h de exposición), confusión, falta de autocontrol, nerviosismo extremo, fatiga muscular e insomnio duradero varios días
<b>5625mg/m<sup>3</sup></b> (1500ppm)	Probablemente no letal para periodos de exposición de más de 8 horas; probable incoordinación; debilidad extrema.
<b>15000mg/m<sup>3</sup></b> (4000ppm)	Podría causar probablemente rápido deterioro del tiempo de reacción y coordinación, exposición de 1h o más tiempo podrían llevar a narcosis y posiblemente a la muerte.
<b>37500-112500mg/m<sup>3</sup></b> (10000-30000ppm)	Ataque de narcosis dentro de unos pocos minutos, exposiciones mayores podrían ser letales.

En la **tabla 2** se resume los efectos dosis respuesta al tolueno por inhalación, exposiciones de tipo experimental con voluntarios. Al respecto vemos que una concentración de 1125mg/m<sup>3</sup> causó trastornos neurológicos y

psicológicos tanto en una exposición de 8 horas como en una de 20 minutos. Una concentración de 750mg/m<sup>3</sup> causó malestar a voluntarios expuestos durante 8 horas. La exposición a 375mg/m<sup>3</sup> por 20 minutos no altera los resultados de las pruebas de rendimiento funcional como las de velocidad de percepción y de tiempo de reacción. Algunos cambios del ritmo cardíaco observados al cabo de 6 a 7 horas a la misma concentración indican posibles efectos en el sistema nervioso autónomo. Uno de los dos sujetos expuestos indicó somnolencia y jaquecas muy leves a una concentración de 190mg/m<sup>3</sup>. Se carece de datos de la tolerabilidad a concentraciones menores. <sup>(17)</sup>

**TABLA N° 2: EFECTOS DOSIS RESPUESTA AL TOLUENO POR INHALACIÓN, EXPOSICIONES DE TIPO EXPERIMENTAL CON VOLUNTARIOS.**

<b>Concentración de tolueno en el aire (mg/m<sup>3</sup>)</b>	<b>N° sujetos</b>	<b>Duración de la exposición</b>	<b>Efecto</b>	<b>Autor</b>
<b>1125</b>	3	8h.	Fatiga intensa, jaqueca, debilidad muscular, falta de coordinación.	Von Oettingen
<b>1125</b>	12	20min.	Trastorno del tiempo de reacción simple.	Gemberale y Hultengren
<b>750</b>	3	8h.	Debilidad muscular, confusión, parestesia, trastornos de la coordinación, jaqueca, náuseas.	Von Oettingen
<b>375</b>	10	6h.	Aumento del ritmo cardíaco: sin alteraciones del reflejo cutáneo galvánico, la pletismografía digital, el ritmo respiratorio, el EEG.	Suzuki
<b>375</b>	4	7h.	Disminución del ritmo cardíaco; sin alteración de la presión sanguínea, ni del tiempo de reacción	Ogata
<b>375</b>	3	8h.	Fatiga moderada y ligera jaqueca	Von Oettingen
<b>375</b>	12	20min.	Sin alteraciones en las pruebas de rendimiento funcional	Gemberale y Hultengren
<b>190</b>	2	8h.	Somnolencia, jaqueca muy leve.	Von Oettingen

## 1.5.2. INTOXICACIÓN CRÓNICA, SIGNOS Y SINTOMAS

### **Vía epidérmica:** Por contacto con la piel

Por contacto repetido o prolongado con tolueno líquido, los lípidos naturales de la piel serán removidos, causando resequedad, fisuras, dermatitis de contacto o injurias en el estrato córneo epitelial.

Injurias transitorias epiteliales en los ojos consisten en moderada irritación y daño corneal, sin pérdida de visión, en trabajadores quienes accidentalmente salpicaron con tolueno <sup>(26)</sup>

### **Vía Respiratoria:** Por inhalación

La exposición crónica se manifiesta a nivel del Sistema Nervioso Central con astenia, debilidad, confusión, pérdida de memoria y apetito. Si la exposición se mantiene, las lesiones llegan a ser irreversibles afectando la visión, audición, pérdida del control muscular y mental con cambios de conducta. <sup>(29)</sup>

A dosis altas: Efectos sub-agudos (menos de 1 año), produce dolor de cabeza, anorexia, náuseas, mal sabor, incoordinación, pérdida temporal de la memoria, palpitaciones, fatiga, debilidad, deterioro en el tiempo de reacción posible, depresión de la médula ósea (puede ser causado por contaminantes del tolueno, el benceno principalmente), posible macrocitosis y hepatomegalia.

A dosis altas: Efectos crónicos (menos de 1 año) son los siguientes: adicción, encefalopatía temporal, atrofia cerebral con ataxia, ansiedad, labilidad, emocional, reflejo de la nariz, EEG y neumocencefalograma anormales, daño hepático – renal, dermatitis reductora de grasas.

A dosis bajas: Efectos subagudos (menos de 1 año)

- EEG anormal.
- Cambios en las glicoproteínas seromucoïdales y hepatoglobulinas del suero.
- Las pruebas de funcionamiento del hígado son normales. <sup>(17, 30)</sup>

Wilson en 1943 describe los efectos de la exposición al vapor del tolueno comercial en 100 trabajadores. (De 1000 trabajadores), estos presentaron síntomas suficientemente severos para ser tratados en un hospital. Los trabajadores fueron expuestos a concentraciones de 188 – 5625mg/m<sup>3</sup> por períodos de 1 a 3 semanas.

- 188 – 750 mg/m<sup>3</sup> (60% pacientes) presentaron fatiga, dolor de cabeza, pérdida de apetito.
- 750 – 1875 mg/m<sup>3</sup> (30% pacientes) presentaron dolor de cabeza, náusea, anorexia, lasitud, ligera pérdida de coordinación y tiempo de reacción, y pérdida momentánea de memoria.
- 1875 – 5625 mg/m<sup>3</sup> (10% pacientes) presentaron náuseas, dolor de cabeza, mareos, anorexia, palpitaciones, pérdida de la coordinación.

(31)

En exposición profesional prolongada, se ha notificado un número sorprendentemente bajo de casos con efectos en la salud por exposición profesional. El tolueno no ejerce ningún efecto tóxico específico que permita distinguirlo de la mayoría de los demás solventes orgánicos. Es importante reconocer que los estudios de abuso intencional son generalmente involucrados con la exposición de mezclas complejas en

las cuales el tolueno es el principal constituyente. El benceno es uno de los más importantes contaminantes en el tolueno comercial.

La mayor parte de la información relativa a los efectos en la salud de la exposición a largo plazo procede de observaciones acerca de los toxicómanos que inhalan cola, los cuales usan el tolueno como agente psicotrópico mediante la inhalación de sus vapores. Este uso de tolueno durante largos periodos de tiempo (de 3 a 15 años) ha provocado trastornos intelectuales y emocionales, mal funcionamiento del sistema nervioso autónomo y diversas lesiones del sistema nervioso central. <sup>(17, 26)</sup>

Los principales trastornos del que se quejan las personas sometidas a exposición profesional se refieren a la acción narcótica del tolueno: jaqueca, cansancio, debilidad general, fallos en la coordinación y la memoria, náuseas y anorexia. <sup>(29)</sup>

El abuso de solventes es un gran problema en varios países del mundo. Por ejemplo en Escocia se han reportado 1300 nuevos casos de abuso de solventes entre 1977 y 1980 en un colegio de secundaria de una población de medio millón. En ese mismo período, 6 muertes siguientes a la inhalación fueron registradas en Escocia. King et al. diagnosticaron una serie de 20 casos de encefalopatía aguda en niños de 8 a 14 años de edad siguiente al abuso de tolueno, 5 presentaron coma, 5 tenían ataxia y disartria, 3 tenían convulsiones y 2 con diplopía y disturbios en la conducta. En 6 de estos sujetos el diagnóstico de encefalopatía inducida por solventes fue hecha solamente por una prueba de tolueno en sangre (0.8 – 8.0mg/L). Seis de estos niños dejaron el hospital con deterioro

cerebral persistente, 13 niños se recuperaron completamente. Los autores enfatizan en la importancia del diagnóstico. <sup>(32,33)</sup>

Un caso de encefalopatía permanente de una exposición repetida y prolongada (14 años) al vapor de tolueno puro fue reportado en un hombre de 33 años de edad que compraba aproximadamente 4Kg. de tolueno de una tienda de pinturas, cada 4 a 6 semanas para satisfacer su adicción a los vapores de tolueno. El resultado de esta adicción fue una atrofia cerebral permanente. Los signos clínicos fueron ataxia, temblor, inestabilidad, labilidad emocional, marcado reflejo en la boca y nariz, un signo positivo del reflejo de babinski del lado derecho. El daño cerebral (hemisferios cerebrales) fue confirmado por EEG y neumocencefalografía. Este mismo individuo fue el sujeto de un reporte publicado por Grabski, el que reportó degeneración cerebelar, hepatomegalia y deterioro de la función hepática después de 6 años de la inhalación de vapores de tolueno. <sup>(34, 35)</sup>

Franchini et al. reportaron indicadores del deterioro de la función renal tales como proteinuria total, albuminuria y excreción urinaria de muramidasa y beta-glucuronidasa proveyendo alguna evidencia de daño renal debido a exposición ocupacional a solventes orgánicos sugiriendo que las lesiones en el riñón son a nivel tubular más que glomerular. <sup>(36)</sup>

Existen muchos casos reportados donde la exposición ocupacional al tolueno o de abuso al tolueno fueron asociados con acidosis. La acidosis generalmente refleja la incapacidad del riñón para mantener el balance de pH de la sangre, debido a la saturación del transporte renal del ión hidrógeno o al defecto en la función tubular. Una acidosis renal tubular



severa fue observada en cinco embarazadas las cuales abusaron en forma crónica de pintura que contenía tolueno. Cuando la inhalación de pintura terminó el balance ácido - base retornó al cabo de 72 horas, indicando que no había ocurrido un daño permanente de los túbulos renales. Sin embargo, un hombre de 19 años abusador crónico de solventes fue detectado a través de una biopsia renal que tenía severa nefritis intersticial tubular y necrosis focal tubular indicando una prolongada irritación del riñón. Este paciente requirió hemodiálisis para corregir la hematuria y oliguria que presentó. <sup>(37)</sup>

Anormalidades transitorias en la actividad de enzimas hepáticas han sido encontradas en abusadores de tolueno, pero no existe un daño hepático permanente. Estudios en abusadores crónicos o expuestos ocupacionales al tolueno, proveen de pequeñas evidencias de serios daños en el hígado debido a la inhalación de tolueno. Algunos estudios de trabajadores, los cuales fueron ocupacionalmente expuestos a concentraciones entre 30 y 350 ppm. de tolueno, reportaron efectos hepáticos como incremento sérico de enzimas, pero otros no tuvieron efectos adversos. <sup>(25, 38)</sup>

Litt et al. hallaron una discreta elevación de la Transaminasa glutámico-pirúvica sérica, y una disminución de la fosfatasa alcalina en un grupo de 982 inhaladores <sup>(39)</sup>. Press y Done observaron ligeras y transitorias anormalidades en la orina de un pequeño porcentaje de los inhaladores examinados. Las pruebas de función hepática fueron normales <sup>(40)</sup>. Weisemberg observó algunos disturbios de la Aspartato aminotransferasa y de la LDH en un adicto al tolueno que fue

hospitalizado en estado catatónico.<sup>(41)</sup>

No hay reportes de neuropatías periféricas en asociación con exposición sólo al tolueno. En la mayoría de los casos reportados han sido expuestos a mezclas de solventes que contenían n-hexano o metil etil cetona, los cuales son conocidos por causar daño en los nervios periféricos.<sup>(26)</sup>

Recientes evidencias indican que el tolueno no es tóxico para la sangre y médula ósea. Los efectos mielotóxicos previamente atribuidos al tolueno, son ahora generalmente reportados como resultado de la concurrente exposición al benceno, el cual está presente como contaminante.

Schikler et al. reportaron los hallazgos en 11 de 42 casos de abuso de tolueno, los cuales fueron examinados por tomografía computarizada (TC) debido a las anomalías neurológicas; 6 de los 11 tenían atrofia cerebral. La edad media de los pacientes fue de 22 años (14 a 31 años) con una exposición media de 10 años (4 a 14 años)<sup>(41)</sup>

Fornazzari et al. notaron un marcado deterioro en la realización de las pruebas neurológicas y neurofisiológicas en el 65% de un total de 24 abusadores de solventes. Los síntomas cerebelares fueron particularmente prominentes. Se halló una correlación significativa del daño mediante mediciones tomográficas de la atrofia cerebral y cerebral. Se ha reportado esporádicamente daño neurológico crónico en pacientes que habían abusado del tolueno por 1,5 a 14 años que tomaba la forma de demencia con ataxia cerebelar.<sup>(43,44)</sup>

Patológicamente, en un análisis post mortem de un hombre de 27 años de edad adicto al tiner (cuya composición contiene aproximadamente 40% de tolueno) por 12 años, el rasgo más extraordinario fue la difusa atrofia cerebral y la del córtex cerebral. Hubo un 70% de pérdida de las células cerebelares de Purkinje y degeneración de los axones gigantes en las columnas posteriores y lateral del cordón espinal <sup>(44)</sup>

Otros efectos atribuidos al “glue sniffing” crónico (diferente tipo de mezclas) además de disfunción cerebelar incluyen atrofia óptica con ceguera, pérdida sensorial del oído y convulsiones. Evidencias de un daño neurológico crónico después de una inhalación de duración muy corta han aparecido recientemente. Chabber y Stanley reportaron el caso de una adolescente de 16 años de edad que se presentaba con alucinaciones visuales persistentes y difusas caracterizadas por un anormal EEG y retardo en evocar respuestas visuales; estas anormalidades también fueron encontradas en 12 jóvenes inhaladores asintomáticos, quienes habían abusado del pegamento por varios meses, pero no el día de los registros. La latencia media de la evocación de respuestas visuales en los inhaladores fue significativamente prolongada en todos comparada con los controles y fuera del rango normal en nueve. En 2 sujetos los registros fueron repetidos después de la abstinencia por 6 meses y permanecieron anormales. El proceso de recuperación después del daño parece ocurrir lentamente si la inhalación es detenida. La escala del tiempo es por lo menos de 6 meses y puede ser que el daño sea permanente. <sup>(45- 47)</sup>

Han sido ocasionalmente reportadas alteraciones hematológicas en inhaladores de pegamentos basados en tolueno. En un examen clínico de 89 “glue sniffers” (con edades de 8 a 18 años) fueron halladas alteraciones sanguíneas en 68 de los casos <sup>(48)</sup>. se indicó un efecto sobre los glóbulos blancos por hallazgos de eosinofilia (25 sujetos), leucocitosis (12 sujetos) y linfopenia (4 sujetos). También reportaron valores bajos de hemoglobina en 20 sujetos y granulado basofílico en 42 de los pacientes; se notó una ocurrencia más frecuente de poiquilocitosis (25 casos), anisocitosis (20 casos), hipocromia (14 casos) y policromasia (10 casos).

Askergen et al. observaron que la exposición al tolueno en trabajadores de imprenta estaba asociada a una excreción elevada de eritrocitos y leucocitos en la orina. Los niveles de exposición en los lugares de trabajo reportados estaban por debajo de los 300 mg/m<sup>3</sup>, aunque algunos sujetos fueron expuestos por períodos cortos de tiempo a niveles 2 – 3 veces mayores. <sup>(49, 50)</sup>

Análisis convencionales de aberraciones cromosómicas e intercambio entre cromátidas hermanas (ICH) en 24 trabajadores de fotograbado expuestos solo al tolueno y análisis de aberraciones cromosómicas en 32 trabajadores de la misma área, promedio de exposición igual a 14 años nos revelaron aumentos en los valores del daño cromosómico en linfocitos cultivados comparados con sus respectivos controles. <sup>(51)</sup>

En un estudio realizado, la concentración del tolueno conteniendo trazas de xileno fue generalmente baja, pero ocasionalmente por encima

de los 750mg/m<sup>3</sup> en la zona de trabajo. En otro estudio las exposiciones individuales variaron de 26 a 420mg de tolueno conteniendo menos de 0,05% de benceno <sup>(32)</sup>.

Bauchinger et al. en 1982 reportaron un aumento estadísticamente significativo en el número medio de ICH y aberraciones cromosómicas estructurales en un cultivo de linfocitos de un grupo de 20 trabajadores de fotograbado expuestos a 750 – 1125mg/m<sup>3</sup> (contenido de tolueno < 0,3%) por más de 16 años, en comparación con 24 personas no expuestas.<sup>(51)</sup> De acuerdo a esto, una elevada exposición al tolueno (< 200ppm) podría ocasionar anomalías cromosómicas y un aumento de los cambios entre cromátides hermanas en los linfocitos. Esta acción podría deberse a la producción de una cantidad suficiente de un derivado epoxi (oxidación en el núcleo aromático) cuando la cantidad de tolueno absorbido es elevada. En los trabajadores de imprenta crónicamente expuestos a una concentración inferior a 112ppm de tolueno. Maki-Paakkanen et al. no han detectado elevación alguna de anomalías cromosómicas o cambios entre cromátides hermanas en los linfocitos circulantes.<sup>(13)</sup>

La inhalación de dosis elevadas de tolueno durante el embarazo puede ocasionar malformaciones congénitas graves (microcefalia, anomalías en los miembros, retraso en el crecimiento (Hersh y et al) <sup>(13)</sup>.

Swensson et al. (1990) examinó las tasas de formación de cáncer en 1020 trabajadores de imprenta en huecograbado ocupacionalmente expuestos al tolueno por lo menos 3 meses entre 1925 y 1985. Los niveles de exposición se calcularon sobre la base de mediciones

ambientales del lugar de trabajo y entrevistas con los empleados. Los niveles de exposición se calcula que van de 350-450 ppm hasta 1960, después de lo cual se redujo de manera constante, con un nivel medio de aproximadamente 50 ppm en 1985. Los trabajadores también fueron expuestos al benceno antes de 1960. Trabajadores expuestos no mostraron aumento significativo en la mortalidad general o de morir de enfermedad maligna.<sup>(4)</sup>

Este estudio de cohorte realizado en el Hospital Universitario de Lund-Suecia entre los años 1925 y 1985 en trabajadores de imprentas que usaban la técnica de huecograbado; buscó determinar la relación entre la mortalidad y la presencia de tumores con el tiempo de exposición al tolueno, encontrándose que este solvente tiene un efecto tóxico sobre el sistema urinario y sistema nervioso pero no se encontró una relación dosis - respuesta con la dosis acumulativa del tolueno (ppm/año)<sup>(4)</sup>

## **1.6. TRATAMIENTO**

- Retirar al paciente de la fuente de exposición.
- Por ingestión: mayor a 0,5 – 1mL/Kg; émesis o lavado gástrico cuidadoso, oxígeno; respiración asistida; control del ECG (la fibrilación ventricular puede producirse precozmente); administrar diazepam para controlar las convulsiones; transfusión de sangre para la anemia grave, no administrar adrenalina.<sup>(30, 13).</sup>

## **1.7. COMPOSICIÓN DE LAS TINTAS**

Una tinta es una mezcla homogénea de materia colorante, resinas, disolventes y algunos aditivos cuya finalidad es reproducir una imagen sobre un soporte mediante un proceso de impresión.

Los colorantes son sustancias solubles en el medio en el que se utilizan: alcoholes, hidrocarburos y otros disolventes. Así por ejemplo las tintas de hueco utilizan colorantes solubles en hidrocarburos como el **tolueno** o el xileno; en flexo grafía se utilizan colorantes solubles en alcohol.

Existen diferentes tipos de tintas (convencionales, curado por radiación), que poseen propiedades y aplicaciones diferenciadas. Generalmente, el uso de un tipo u otro de tinta, y las características finales de su composición, están en función de factores como el tipo de sustrato a imprimir, el acabado deseado y el proceso de impresión empleado (offset, flexografía o huecograbado, entre otros).

Los componentes de las tintas convencionales son las materias colorantes (pigmentos y colorantes solubles) y el barniz, que es una mezcla de resinas, disolventes y aditivos, que actúa a modo de vehículo para transportar el elemento color.

### **1.7.1. COMPONENTES DE LAS TINTAS DE FLEXOGRAFIA Y HUECOGRABADO**

#### **1.7.1.1. Polímeros o resinas**

Son los responsables de gran parte de las propiedades físico-químicas como resistencia a los diversos agentes, adhesión al sustrato, dureza y flexibilidad. Todo polímero que se va a utilizar en forma de

disolución ha de cumplir un cierto número de propiedades para desempeñar su función: solubilidad en distintos disolventes, viscosidad adecuada, compatibilidad con otros aditivos y capacidad filmógena.

#### **1.7.1.2. Disolventes**

Se emplean para solubilizar las resinas sólidas de forma que se obtenga un líquido con la viscosidad apropiada para el proceso de impresión. Los disolventes pueden ser de naturaleza orgánica o agua, o una mezcla de ambos. Los requerimientos respecto del mismo son:

1. Debe disolver perfectamente a las resinas.
2. Debe evaporarse progresivamente con el fin de que la tinta seque sobre el soporte, pero sin que la viscosidad aumente muy rápidamente, ni se seque sobre los cilindros o rodillos, a través de los cuales se transfiere al soporte a imprimir.
3. No debe deteriorar ningún elemento de la máquina.
4. Debe ser compatible con el soporte a imprimir.

En toda formulación, normalmente intervienen 3 ó 4 tipos de disolventes, que responden a las siguientes denominaciones disolvente verdadero, diluyente y retardante. Las diferencias entre ellos radican en que el primero y el último disuelven por sí solos a las resinas, mientras que el diluyente necesita estar mezclado con un disolvente verdadero para alcanzar dicha propiedad. El diluyente se utiliza para favorecer la evaporación de los disolventes verdaderos.



**TABLA N° 3:  
RELACIÓN DE EVAPORACIÓN DE LOS DISOLVENTES**

<b>DISOLVENTE</b>	<b>EVAPORACION RELATIVA AL ÉTER (=1)</b>
Acetona	2,1
Acetato de etilo	2,8
Acetato de isopropilo	4,2
2-butanona	4,6
<b>Tolueno</b>	<b>6</b>
Metilisobutilcetona	4,6
Etanol	8
Isopropanol	10
Acetato de butilo	12,5
n-propanol	17
Metoxipropanol	25
Etoxipropanol	43

### 1.7.1.3. Pigmentos

Son la materia responsable de impartir color, totalmente insoluble en agua y disolventes orgánicos. Se dispersan en las soluciones de resina y apenas se ven afectadas física o químicamente por el sustrato o soporte sobre el que están depositadas.

**TABLA N° 4: EJEMPLOS DE COMBINACIONES DE RESINAS Y  
DISOLVENTES.**

<b>RESINA PRINCIPAL</b>	<b>DISOLVENTES</b>	<b>TIPO DE TINTA</b>
<b>Resina de colofonia</b>	<b>Hidrocarburos</b>	<b>Huecograbado</b>
Taninos y goma laca	Alcoholes	Colorantes sobre papel
Poliamidas	Alcoholes/ alifáticos	Tintas para PE
Nitrocelulosa	Acetatos/Alcoholes	Tintas para papel/aluminio/cartón
Nitrocelulosa + resina	Acetatos/Alcoholes	Tintas para PE y films
Acetato de vinilo	Alcohol/Acetatos	Tintas para papel y films
Acetocloruro de vinilo	Acetatos y cetonas	Tintas para PVC y films
Acrílicas hidrosolubles	Agua	Tintas para papel/cartón
Acrílicas	2-butanona/acetato	Tintas para PVC y papel

#### **1.7.1.4. Aditivos**

Aquí se integran multitud de productos químicos (plastificantes, ceras, tensioactivos, antiespumantes, antimicrobianos, promotores de la adherencia, antioxidantes y catalizadores) que se introducen en pequeñas cantidades para potenciar una propiedad específica. Los plastificantes, antioxidantes y catalizadores son aditivos habituales de sistemas en los que intervienen materiales poliméricos.

#### **1.7.2. CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS PRINCIPALES DE LAS TINTAS FLEXOGRÁFICAS Y DE HUECOGRABADO.**

Emplean una mayor variedad de resinas dada la multitud de substratos sobre los que se imprimen. Las más comunes son: nitrocelulosa, ésteres de celulosas, poliamidas termoplásticas (solubles en alcoholes), vinílicas, acrílicas, poliuretanos, poliéteres, poliésteres, epoxídica y polivinil butirales. El disolvente más empleado es el tolueno, el cual se encuentra en elevadas concentraciones. Los plastificantes, casi siempre imprescindibles para la adecuada estabilidad de la solución resínica y de las propiedades filmógenas de la tinta, también son de naturaleza muy variada. En cuanto a los aditivos se incluyen productos de naturaleza muy diversa como surfactantes, ceras, siliconas, antioxidantes, promotores de adhesión, etc. Su utilización va muy ligada al tipo de aplicación y a las exigencias del producto final. <sup>(6)</sup>

**TABLA N° 5: COMPARACION DE LAS TINTAS DE FLEXOGRAFIA Y HUECOGRABADO EN BASE DISOLVENTE Y EN BASE ACUOSA.**

<b>TINTAS PARA FLEXOGRAFIA Y HUECOGRABADO DE BASE DISOLVENTE</b>	<b>TINTAS PARA FLEXOGRAFIA DE BASE ACUOSA</b>
Pigmentos orgánicos y minerales	Pigmentos orgánicos y minerales
Purpurinas de aluminio y bronce	Purpurinas de aluminio y bronce
Colorantes básicos	Cargas
Nitrocelulosa	Resinas acrílicas sólidas
Resinas acrílicas	Emulsiones acrílico estirénicas
Resinas de poliuretano	Resinas maléicas
Resinas de poliamidas	Ceras
Resinas vinilicas	Aditivos
Propionato de celulosa	Alcalinizantes
Resinas maleicas	Disolventes (IPA, DPM, agua)
Disolventes (esteres, alcoholes, éteres de glicol, <b>hidrocarburos alifáticos y aromáticos</b> , cetonas)	
Aditivos	

## **II. PARTE EXPERIMENTAL**

### **2.1. MUESTRA DE ESTUDIO**

- Para realizar este trabajo de investigación se eligió a los trabajadores de imprenta (maquinistas) de Lima Cercado, provincia de Lima.
- Se analizaron 50 muestras problema y 5 muestras de control.
- La recolección de la muestra fue realizada al final del turno del trabajador (maquinista).<sup>(54)</sup>
- Cada muestra fue etiquetada con fecha y código correspondiente.
- Todas las muestras se mantuvieron en el refrigerador de 2 a 8°C hasta el momento de su análisis. El análisis se realizó antes de las 24 horas de recolectadas las muestras<sup>(54)</sup>.
- La ingestión de alimentos enlatados y el uso de aspirina o ácido salicílico, fue tomado como criterio de exclusión para la selección de la población; esto fue realizado mediante una encuesta previa.

### **2.2. MATERIALES, REACTIVOS Y EQUIPOS**

#### **2.2.1. MATERIALES**

- Fiolas 50 mL
- Frascos de polietileno con tapa rosca
- Guantes quirúrgicos, Propipeta.
- Pipetas graduadas de 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL
- Pipetas Volumétricas 1 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL
- Probetas
- Tubos de ensayo
- Tubos de ensayo con tapa rosca

- Vasos de precipitado
- Gradilla

### **2.2.2. REACTIVOS**

- Ácido Hipúrico al 99.3% (para análisis)
- Agua destilada
- Alcohol etílico 96°
- Cloruro de sulfonilbenceno QP.
- Piridina
- Timol

### **2.2.3. EQUIPOS**

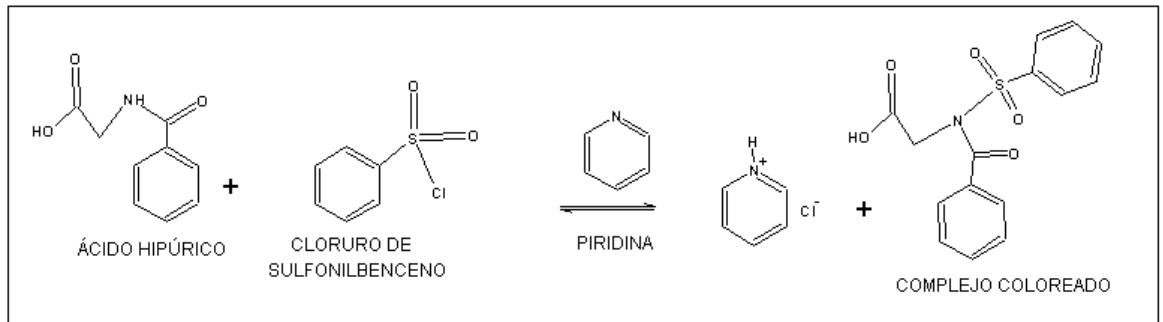
- Refrigeradora
- Balanza analítica Sartorius, modelo BP3015, sensibilidad 0.1mg.
- Campana extractora marca Labcom
- Centrifuga Gelec, modelo G-44.
- Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible con celda de 1cm de diámetro. Spectronic 601. Marca Miton Roy.

## **2.3. TÉCNICA OPERATORIA**

### **2.3.1. TECNICA OPERATORIA PARA LA DETERMINACION DE ACIDO HIPURICO EN ORINA. METODO 8300. <sup>(55, 56)</sup>**

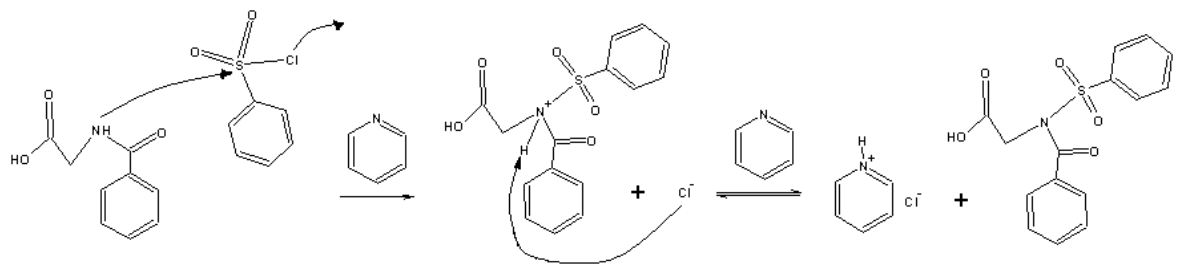
#### **2.3.1.1. Fundamento**

La técnica se basa en la lectura de la absorbancia en el espectro de absorción visible a 410nm del complejo coloreado formado por el ácido hipúrico (producto del metabolismo del tolueno en orina) y el cloruro de sulfonilbenceno - Método 8300 NIOSH, 1994.

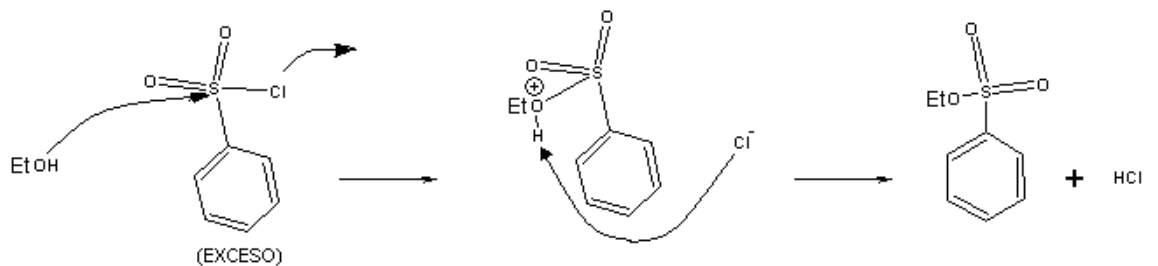


**FIGURA 4: REACCIÓN QUÍMICA ENTRE ÁCIDO HIPÚRICO Y CLORURO DE SULFONILBENCENO.**

**Mecanismo de reacción:**



Al adicionar alcohol etílico:



**2.3.1.2. Interferencias**

La exposición a estireno y xileno, puede producir interferencias positivas. La ingestión de benzoato de sodio en los alimentos, ácido salicílico y aspirina también producen interferencias positivas

**2.3.1.3. Precauciones**

- Evitar la presencia de productos que puedan producir interferencias positivas.

- Usar guantes quirúrgicos para el manejo de las muestras biológicas (orina), evitando su aerosolización.
- Trabajar bajo la campana extractora con los reactivos de Piridina y Cloruro de sulfonilbenceno.
- Usar la propipeta para tomar los volúmenes necesarios, tanto para la muestra biológica (orina), como para los reactivos.

#### **2.3.1.4. Muestreo**

- Colectar de 50mL a 100mL de orina en frascos de polietileno que contengan cristales de timol.
- Colocar los frascos de polietileno en un recipiente cerrado que contenga hielo o material refrigerante.

#### **2.3.1.5. Método Operatorio**

- Realizar la determinación de creatinina en orina para la corrección de los resultados (este análisis fue realizado por el Servicio de Análisis Clínicos de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, utilizaron el método de Jaffé modificado para creatinina).
- Realizar la siguiente dilución de la orina: 1 volumen de orina y 4 volúmenes de agua destilada.
- Mezclar 0,5mL de la muestra diluida con 0,5mL de Piridina en un tubo de centrífuga.
- Añadir 0,2mL de Cloruro de sulfonilbenceno y mezclar aproximadamente 5 segundos.
- Dejar reposar durante 30 minutos entre 20°C y 30°C.

- Detener la reacción mediante la adición de 5mL de alcohol etílico, mezclar.
- Centrifugar de 1500 RPM a 2000RPM durante 5 minutos para reducir la turbidez.
- Leer el sobrenadante en el Espectrofotómetro de Absorción Ultravioleta – Visible en celdas de 1cm a 410nm, usar como blanco el alcohol etílico.
- Se determina la concentración de ácido hipúrico  $C_s$  (g/L) correspondiente a la absorbancia de la muestra en la curva de calibración haciendo uso de la ecuación de calibración.

#### **2.3.1.6. Obtención de la curva de calibración**

Se consideraron 3 estándares dentro del rango de 0,005g/L a 0,5g/L por dilución de la solución stock, para obtener la curva de calibración de ácido hipúrico.

Se preparó la solución stock a partir de un peso de 24.9mg de ácido hipúrico en 50mL de agua destilada.

Estándar 1: Solución Stock

Estándar 2: Se realizó la dilución de 20mL en 50mL de la solución estándar 1.

Estándar 3: Se realizó una dilución de 5 mL en 50 mL a partir de la solución estándar 1, y luego una segunda dilución de 5 mL en 50 mL.

- Mezclar 0,5mL de las soluciones estándares de trabajo con 0,5mL de Piridina en un tubo de centrifuga.



- Añadir 0,2mL de Cloruro de sulfonilbenceno y mezclar aproximadamente 5 segundos.
- Dejar reposar durante 30 minutos entre 20°C y 30°C.
- Detener la reacción mediante la adición de 5mL de alcohol etílico, mezclar.
- Centrifugar de 1500 RPM a 2000RPM durante 5 minutos para reducir la turbidez.
- Leer el sobrenadante en el Espectrofotómetro de Absorción Ultravioleta – Visible en celdas de 1cm a 410nm, usar como blanco el alcohol etílico.

**TABLA N° 6: LECTURAS DE LOS ESTÁNDARES DE ACIDO HIPURICO**

N° ESTÁNDAR	FACTOR DE DILUCIÓN	FACTOR DE CONCENTRACIÓN	LECTURAS (410nm)
Estándar 1	$\frac{24,9\text{mg}}{50\text{mL}}$	0.49451	1.344
Estándar 2	$\frac{24,9\text{mg}}{50\text{mL}} \times \frac{20}{50}$	0.19781	0.510
Estándar 3	$\frac{24,9\text{mg}}{50\text{mL}} \times \frac{5}{50} \times \frac{5}{50}$	0.0049451	0.0280

- Factor de concentración= Factor de dilución x Potencia.  
(Potencia del ácido hipúrico= 99.3%)
- Coefficiente de correlación hallado ( $R^2$ ): 0.999
- Ecuación de calibración:  $y = m x + b$   
Donde:
  - y: Absorbancia
  - x: Concentración de ácido hipúrico
  - m: pendiente ( $\Delta y / \Delta x$ )
  - b: punto de origen

Entonces:  $y = mx$   
 $m = 2.7$  ( $1/m = 0.3704$ );  $b = 0.02$  ( $b \approx 0$ )

Por lo tanto:

$$x = 1/m \times y$$

Concentración de ácido hipúrico =  $0.3704 \times$  Absorbancia de la muestra

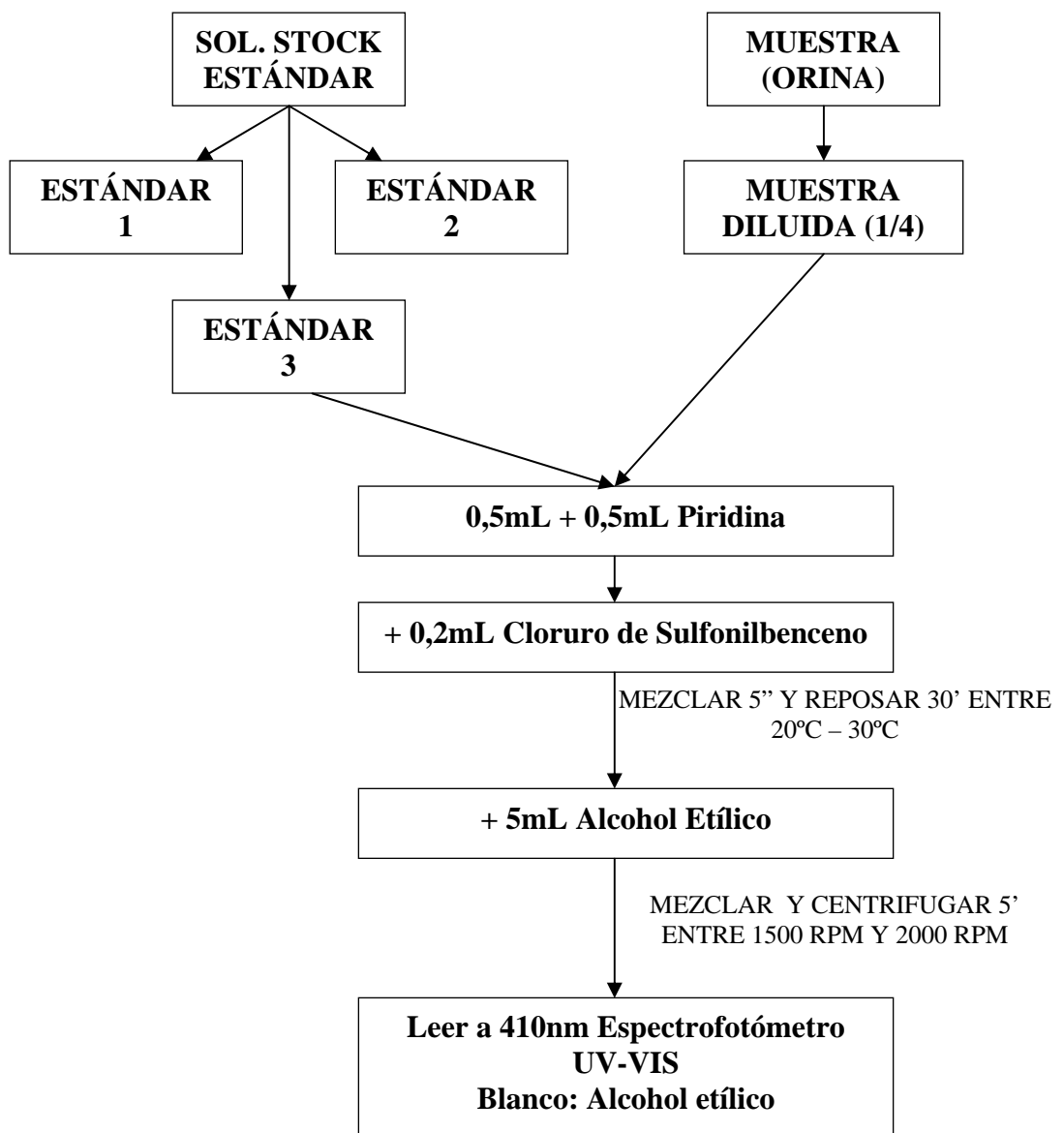


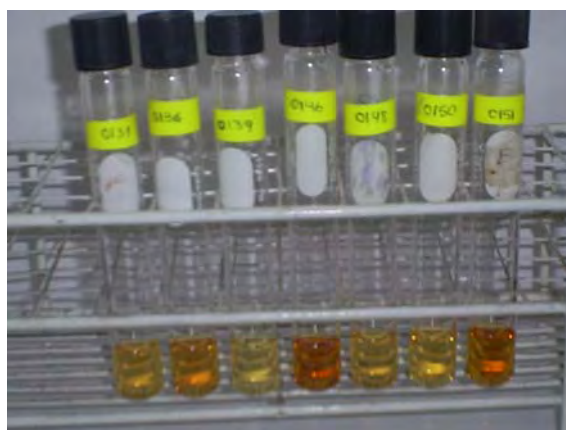
FIGURA N° 5: DETERMINACION DE ACIDO HIPURICO EN ORINA. METODO 8300



**FIGURA N° 6: MUESTRAS DE ORINA DE LOS TRABAJADORES DE IMPRENTA DE LA PROVINCIA DE LIMA, RECOLECTADAS EN EL MES DE ENERO DEL 2009.**



**FIGURA N° 7: PREPARACIÓN DE LAS SOLUCIONES STOCK (ESTÁNDAR)**



**FIGURA N° 8: MUESTRAS TRABAJADAS EN REPOSO, REACCIÓN DE COLORIMETRÍA ANTES DE ADICIONAR EL ALCOHOL**

## 2.3.2. MÉTODO COLORIMÉTRICO DE JAFFE MODIFICADO PARA LA DETERMINACIÓN DE CREATININA EN ORINA

### 2.3.2.1. Fundamento:

Este método se fundamenta en la reacción de la creatinina con el picrato alcalino en medio tamponado, previa desproteinización con ácido pícrico, obteniéndose un cromógeno que se mide a 510nm.

### 2.3.2.2. Reactivos:

- Reactivo 1: Ácido pícrico 41.4 milimoles/L
- Reactivo 2: Buffer Glicina/Hidróxido de sodio 1 mol/L, pH final: 12.4
- Estándar: Solución de creatinina 20 g/L

### 2.3.2.3. Procedimiento:

En tubos de fotocolorímetro, mezclar por inversión. Incubar 20 minutos a temperatura ambiente. Luego leer en el espectrofotómetro a 510 nm, llevando a cero el aparato con agua destilada.

	BLANCO	ESTANDAR	MUESTRA
<b>ESTÁNDAR</b>	-	0.5mL	-
<b>ORINA DILUIDA (1:50)</b>	-	-	0.5mL
<b>AGUA DESTILADA</b>	1 mL	0.5mL	0.5mL
<b>REACTIVO 1</b>	2mL	2mL	2mL
<b>REACTIVO 2</b>	0.5mL	0.5mL	0.5mL

Los resultados de creatinina son hallados, según lo siguiente:

$$Cr = \frac{\text{Lectura Muestra} - \text{Lectura Blanco}}{\text{Lectura Estándar} - \text{Lectura Blanco}}$$

### 2.3.3. CÁLCULO DE RESULTADOS

- La concentración de ácido hipúrico por gramo de creatinina en la muestra de orina C (g ácido hipúrico/g de creatinina) se calcula usando el factor de dilución D y el valor de creatinina encontrado Cr.
- El uso de la creatinina urinaria es un forma de corregir los resultados obtenidos, para una mayor exactitud de los mismos.

$$C \text{ (g ácido hipúrico/ g creatinina)} = \frac{Cs \times D}{Cr}$$

### III. RESULTADOS

CUADRO N°1

COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Ac. Hipúrico/g Creatinina), SEGÚN CASOS Y CONTROLES

GRUPO	N	Media	Desviación estándar	P
Trabajadores expuestos (Casos)	50	0,758	0,275	0.009*
Personas no expuestas (Controles)	5	0,422	0,036	

**\*P=0.009<0.05**  
**+T student**

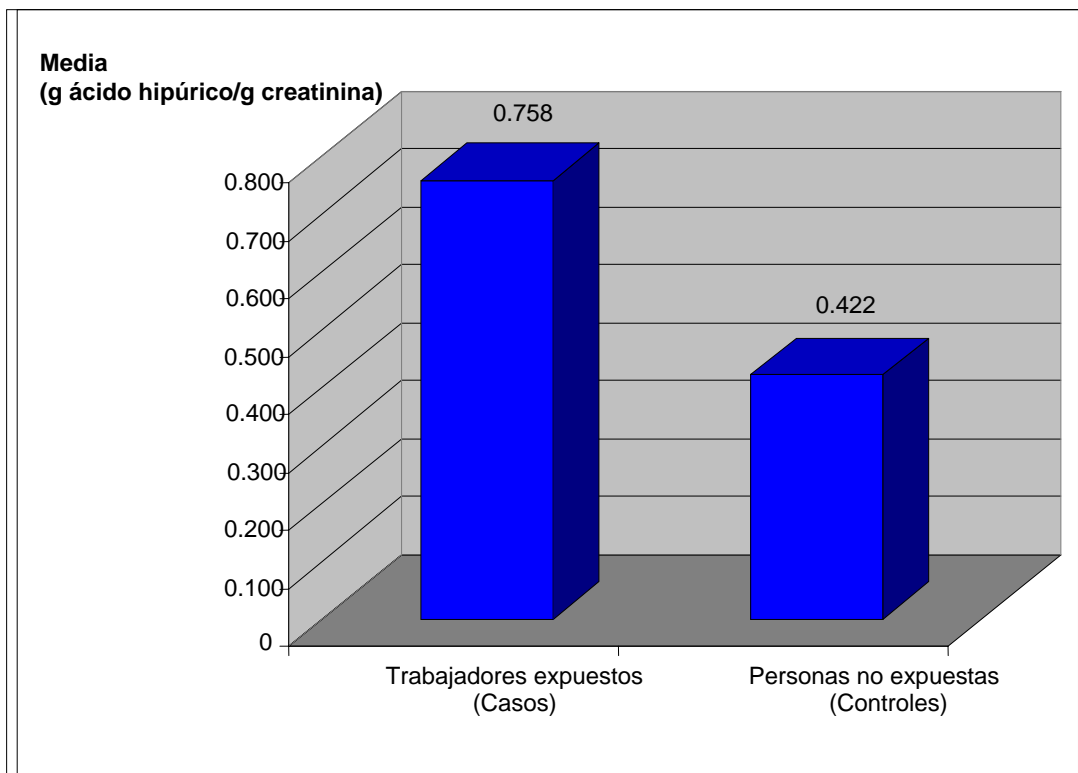


GRÁFICO N°1: COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Ac. Hipúrico/g Creatinina), SEGÚN CASOS Y CONTROLES

## CUADRO N°2

### COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN ÁCIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Acido Hipúrico/g Creatinina.) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN EDAD

	N	Media	Desviación estándar	P
Menor de 26 años	11	0,674	0,219	
27 a 40 años	32	0,750	0,274	
Mayor de 41 años	7	0,929	0,321	0.15*
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>0,758</b>	<b>0,275</b>	

\*p=0.15>0.05 no existe diferencias significativas

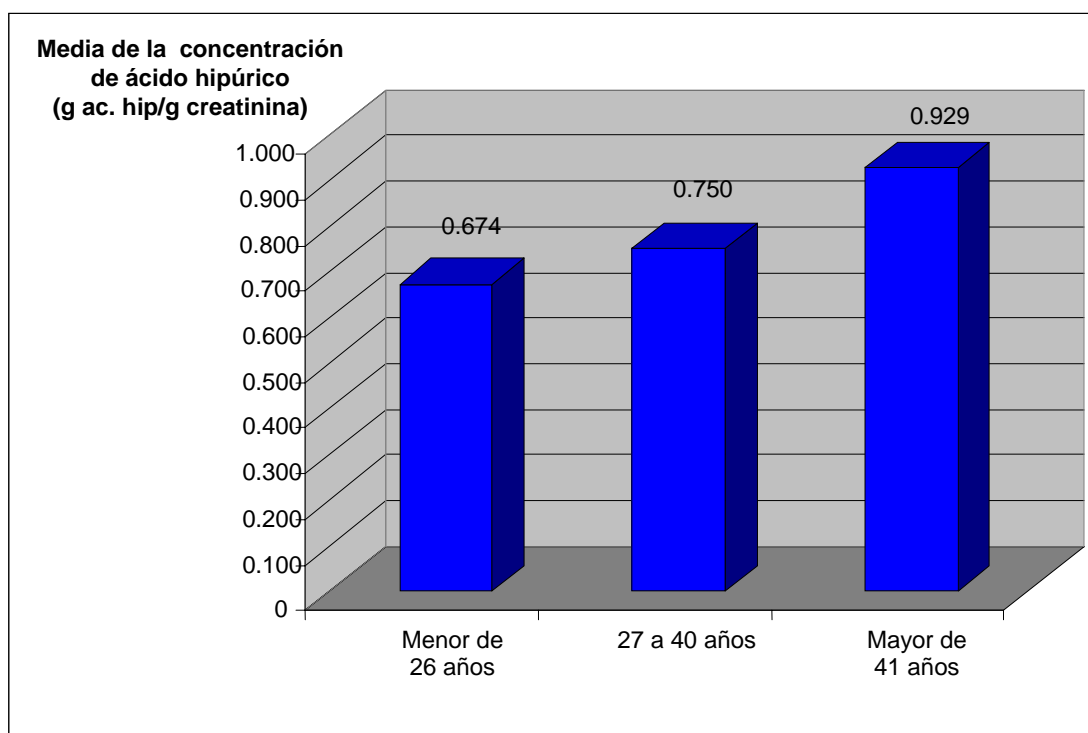


GRÁFICO N°2: MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN ÁCIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Acido Hipúrico/g Creatinina.) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN EDAD

### CUADRO N°3

#### COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ACIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Acido Hipúrico/g Creatinina) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN JORNADA LABORAL (Horas)

	N	Media	Desviación estándar	P
8 horas	9	0,861	0,260	
10 horas	10	0,770	0,245	
12 horas	31	0,725	0,289	0.15*
Total	50	0,758	0,275	

\* $p=0.15 > 0.05$  no existe diferencias significativas

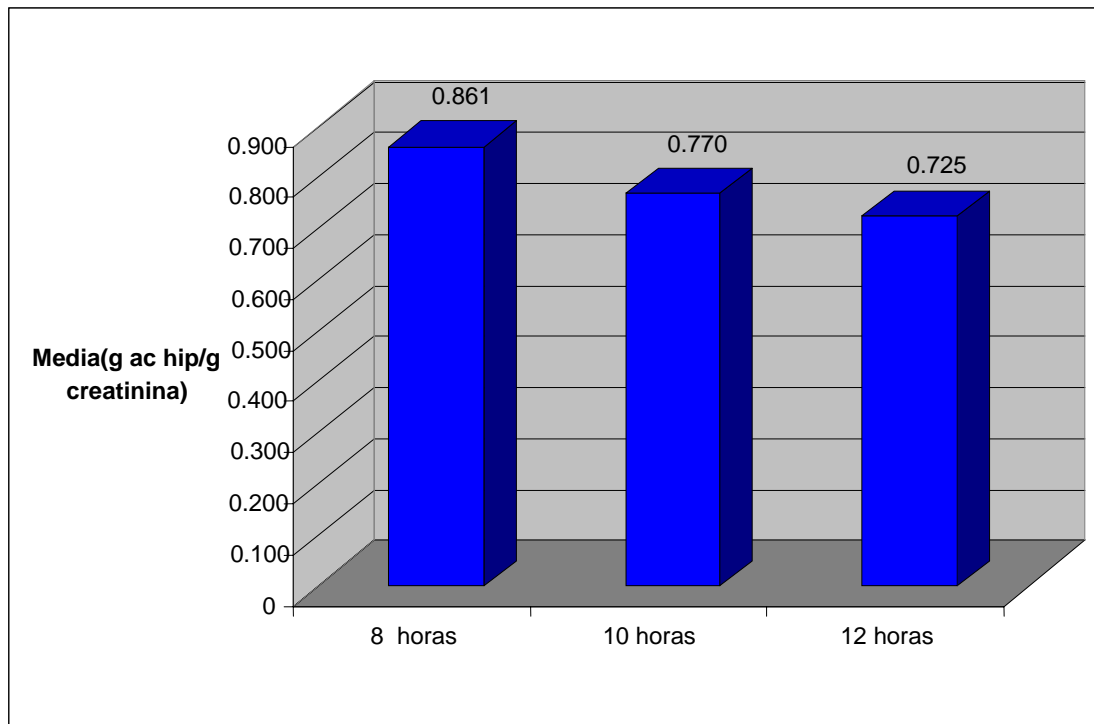


GRÁFICO N°3: MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ACIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Acido Hipúrico/g Creatinina) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN JORNADA LABORAL (Horas)



### CUADRO N°4

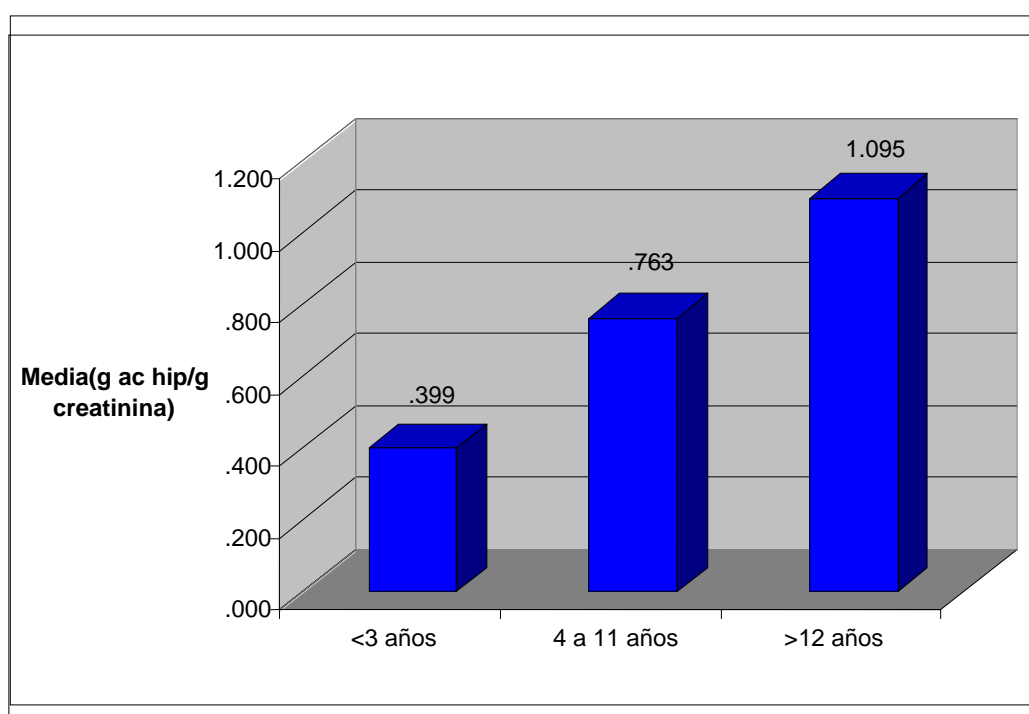
#### COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ACIDO HIPURICO EN ORINA (g Acido hipúrico/g Creatinina) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN TIEMPO DE OCUPACIÓN (Años)

	N	Media*	Desviación estándar	Prueba Tukey		
				<3 años	De 4 a 11 años	>12 años
Menor de 3 años	7	0,399	0,105		P=0.000	P=0.000
De 4 a 11 años	36	0,763	0,229			P=0.000
Mayor de 12 años	7	1,095	0,000			
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>0,758</b>	<b>0,000</b>			

\*P<0.05 significativo

+ANOVA

\*\*P<0.05 significativo,



**GRÁFICO N°4: MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ACIDO HIPURICO EN ORINA (g Acido hipúrico/g Creatinina) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN TIEMPO DE OCUPACIÓN (Años)**

### CUADRO N°5

#### COMPARACIÓN DE MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Ácido Hipúrico/g Creatinina) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN SINTOMAS

	N	Media	Desviación estándar	P
No presenta	31	0,697	0,274	0.15*
Dolor de cabeza	17	0,868	0,267	
Fatiga	2	0,774	0,063	
<b>Total</b>	<b>50</b>	<b>0,758</b>	<b>0,275</b>	

\* $p=0.15 > 0.05$  no existe diferencias significativas

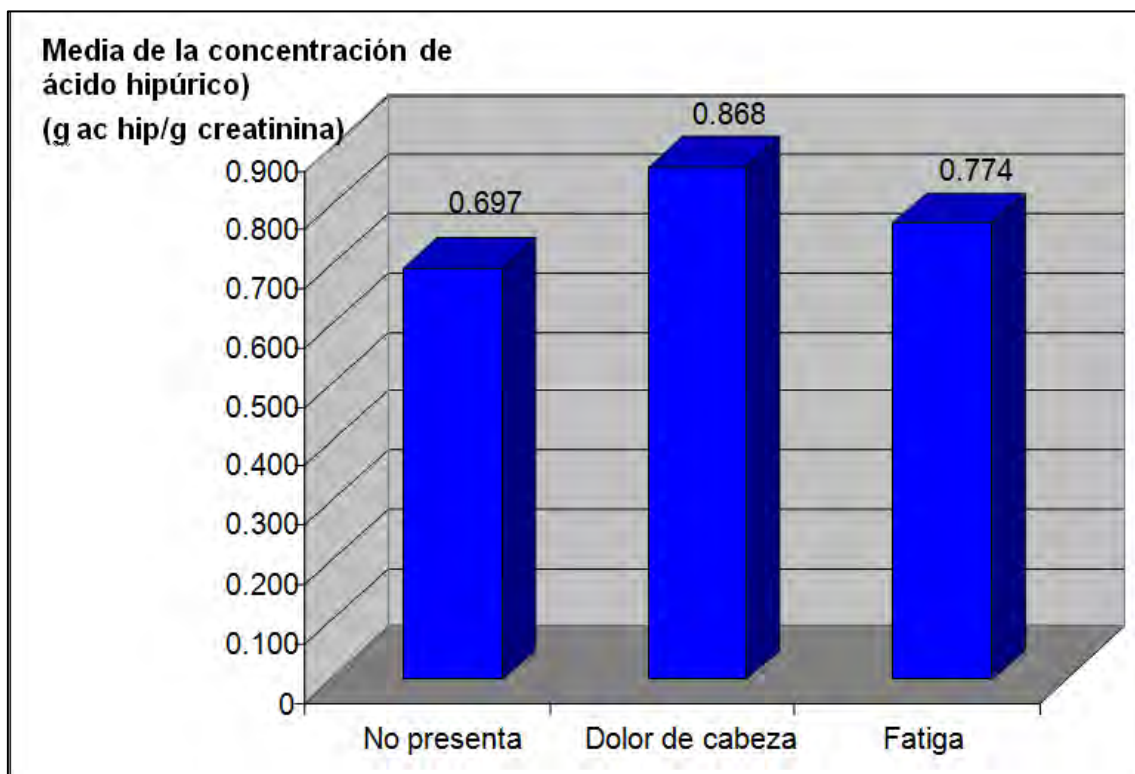


GRÁFICO N°5: MEDIAS DE LA CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO HIPÚRICO EN ORINA (g Ácido Hipúrico/g Creatinina) EN EL GRUPO CASOS, SEGÚN SINTOMAS

#### IV. DISCUSIÓN

Este estudio describe las condiciones de trabajo y los riesgos por exposición a solventes orgánicos como el tolueno, de los trabajadores que laboran en imprentas de la provincia de Lima. Según los resultados mostrados en el cuadro 1, se observa que la media de la concentración de ácido hipúrico en orina del grupo de trabajadores expuestos es de  $0.758 \pm 0.275$  g ácido hipúrico/g creatinina, mientras que la concentración de ácido hipúrico en orina de personas no expuestas es de  $0.422 \pm 0.036$  g ácido hipúrico/g creatinina, así la concentración de ácido hipúrico en orina del grupo casos es mayor significativamente ( $p < 0.05$ ) que el grupo control. Sin embargo, de los resultados obtenidos, ninguno supera el límite permitido (1.6g ácido hipúrico/g creatinina); a diferencia de otros estudios con poblaciones diferentes que están expuestas a productos que contienen el mismo solvente, como el pegamento en el estudio de Eusebio y Rodríguez <sup>(3)</sup> y el estudio de Palomino y Stucchi <sup>(1)</sup>; probablemente porque en ambos no se tomó la capacidad de depuración mediante la medición de creatinina en orina.

Los resultados obtenidos respecto a la concentración de ácido hipúrico en orina de trabajadores de imprenta frente a la variable edad; mostrados en el cuadro 2, indican que no existe diferencias significativas entre los grupos etáreos considerados en el presente estudio ( $p > 0.05$ ). De acuerdo a los resultados, el N° de horas de jornada laboral no influye en la concentración de ácido hipúrico en orina de los trabajadores expuestos; así en el cuadro 3 se muestra que a 8 horas de jornada laboral, la concentración de ácido hipúrico es  $0.861 \pm 0.260$  g ácido hipúrico/g creatinina; a 10 horas es de  $0.770 \pm 0.245$  g ácido hipúrico / g creatinina y a 12 horas de jornada laboral es de  $0.725 \pm 0.289$  g ácido hipúrico/g

creatinina; es decir no existe diferencias significativas ( $p < 0.05$ ). Del mismo modo, la concentración de ácido hipúrico en orina de trabajadores expuestos que presentan síntomas no es mayor que en las personas que no presentan ningún síntoma; así lo indican los resultados mostrados en el cuadro 5 y en forma similar el estudio de Swenson y cols. <sup>(4)</sup>, donde determinaron que no existe mayor efecto a una concentración mayor de tolueno en el organismo. Los efectos en la salud de los trabajadores de imprenta relacionados a la concentración del tolueno o su metabolito, de acuerdo al estudio de Swenson <sup>(4)</sup> y el presente estudio no tienen diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Sin embargo en personas expuestas durante largos periodos de tiempo en forma voluntaria (toxicómanos) han provocado trastornos emocionales e intelectuales, además de alteraciones del sistema nervioso central y autónomo como se indica en el criterio 52 del Programa Internacional de Seguridad Química (IPCS) <sup>(25)</sup>. Según Álvarez y Leitte <sup>(14)</sup>, los niveles de concentración de ácido hipúrico en orina para una población no expuesta al tolueno y con una dieta estricta libre de derivados de dicho solvente (ácido benzoico y benzoato de sodio) es 0.09g ácido hipúrico/g creatinina; y para personas no expuestas con una dieta sin restricciones entre 0.4 y 0.5g ácido hipúrico/g creatinina. Considerando los valores de este estudio en comparación a los resultados obtenidos observamos que el promedio de la concentración de ácido hipúrico en orina del grupo control ( $0.422 \text{ g} \pm 0.036 \text{ g}$  ácido hipúrico/g creatinina) se encuentra dentro de los valores normales.

En el cuadro 4, se observa que la media de la concentración de ácido hipúrico en personas con tiempo de ocupación menor 3 años es de  $0.399 \pm 0.105 \text{ g}$  ácido hipúrico/g creatinina; la media de concentración de ácido hipúrico en orina en

personas con tiempo de ocupación de 4 a 11 años es de  $0.763 \pm 0.229$  g ácido hipúrico/g creatinina y la media de la concentración de ácido hipúrico en orina en personas con tiempo de ocupación mayor de 12 años es de  $1.095 \pm 0.144$  g ácido hipúrico/g creatinina. De acuerdo a estos resultados, evidenciamos que la relación entre el tiempo de ocupación y los niveles de concentración de ácido hipúrico en orina, tiene una tendencia positiva; es decir que a mayor tiempo de exposición al tolueno, la concentración de ácido hipúrico en orina también aumenta, tal como indican también los estudios de Swenson y cols.<sup>(4)</sup>

## V. CONCLUSIONES

Las conclusiones encontradas en el presente estudio son las siguientes:

1. La concentración promedio de ácido hipúrico en orina en el grupo experimental es de  $0.758 \pm 0.275$ g ácido hipúrico/g creatinina. Estos valores no superan el límite biológico permitido, dado por la AMERICAN CONFERENCE OF GOVERNMENTAL INDUSTRIAL HYGIENSTS.
2. Existe una diferencia significativa respecto a los valores de ácido hipúrico en el grupo experimental frente al grupo control (Según la prueba estadística T- student con un intervalo de confianza al 95%,  $p < 0.05$ ).

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Evaluar la concentración de tolueno por m<sup>3</sup> de aire en el ambiente de trabajo de las personas que laboran en imprentas de la provincia de Lima.
- Hacer un estudio cuali-cuantitativo de la composición de las tintas usadas en flexografía y huecograbado que existen en el mercado nacional con el fin de determinar la composición exacta de las mismas y así poder estudiar una mejor correlación de la cantidad real del solvente que se inhala y la concentración de metabolito en orina.
- Realizar un estudio longitudinal en trabajadores de imprenta expuestos al tolueno con el fin de determinar la relación exacta que existe entre el tiempo de ocupación y la concentración de ácido hipúrico en orina.
- Gestionar ante las autoridades municipales para que se realicen inspecciones periódicas a fin de determinar si en las imprentas se cumplen con las condiciones adecuadas de seguridad en el trabajo y protección personal.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Palomino WC, Stucchi CR. Determinación de solventes orgánicos volátiles tolueno y benceno en orina en niños de la calle [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1994.
2. Ramírez SE, Sánchez PC. Determinación cuantitativa de plomo, benceno y tolueno en trabajadores de talleres de venta de lubricantes y de servicios de mecánica automotriz en los distritos de Surquillo, San Juan de Miraflores y Villa María del Triunfo [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2001.
3. Eusebio SD, Rodríguez MY. Determinación de fenoles y ácido hipúrico en orina como indicadores de exposición al benceno y tolueno en trabajadores de confección y reparación de calzados del mercado Virrey Amat del distrito del Rímac [Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2007.
4. Swensson BG, Nise G, Englander V, et al. Deaths and tumors among rotogravure printers exposed to toluene. *Br. J. Ind. Med.* 1990; 47: 372-379.
5. Rodríguez M, Squillante G, Rojas M. Exposición ocupacional a solventes orgánicos en una fábrica de calzado en Valencia. *Gac. Med.* 2003; 111(4): 294-301.



6. Organización Internacional del Trabajo. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Madrid (España); 1999.
7. Fabré R, Truhaut R. Tratado de Toxicología. Madrid: Editorial Paraninfo S.A.; 1976.
8. Klaassen C, Watkins J. Manual de Toxicología. 5ª ed. México D.F: Mc Graw-Hill Interamericana Editores S.A.; 2001.
9. World Health Organization. Basic Analytical Toxicology. Genova (Italia); 1995.
10. Dreisbach R, Robertson W. Manual de Toxicología Clínica: Prevención, diagnóstico y Tratamiento. 6ª ed. México D.F.: Editorial El Manual Moderno S.A. de C.V.; 1988.
11. Plunkett MD. Manual de Toxicología Industrial. Enciclopedia de la Química Industrial. Bilbao: Urmo S.A. Ediciones; 1978.
12. Ling L, Clark R, Erickson T, Trestrail J. Secretos de la Toxicología. México D.F.: Mc Graw-Hill Interamericana Editores S.A. de C.V.; 2002.
13. Lauwerys R. Toxicología Industrial e Intoxicaciones Profesionales. 3ª ed. Editorial Masson S.A.; 1994.

14. Alvarez-Leite E, Duarte A, Barroca M, Silveira J. Possible Effects of Drinking and Smoking Habits on Hippuric Acid Levels in Urine of Adults with no Occupational Toluene Exposure. *J. Occup. Health.* 1999; 41:112-114.
15. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological Profile for Toluene. Atlanta (GA): U.S. Department for health and human services; 2000.
16. Löf A, Hjelm W, Colmsjö A, Lundmark B-O, Norström Å, Sato A. Toxicokinetics of Toluene and Urinary Excretion of Hippuric Acid after Human Exposure to Toluene. *Br J Ind Med.* 1993; 50(1): 55–59.
17. Organización Mundial de la Salud. Límites recomendados por razones de salud en exposición profesional a determinados solventes orgánicos. Informe de un Grupo Científico de la OMS. Madrid: OMS; 1982. (Serie de informes técnicos N° 664).
18. World Health Organization. Air Quality Guidelines: Toluene. Copenhagen WHO. 2000.
19. Consejo Mexicano de la Medicina del Trabajo. Nuevos datos sobre la toxicocinética del tolueno para el monitoreo biológico de la exposición ocupacional. *Rev. Latinam. Salud. Trab.* 2004; 4(2): 52-55.
20. Gil F. Tratado de Medicina del Trabajo. Editorial Elsevier-Masson; 2007.

21. Bavazzano P, Perico A, Li Donni V, Colzi A. Esposizione Professionale e Fattori Individuali Che Condizionano l' Eliminazione Urinaria di Acido Ippurico. *G Ital Med Lav.* 1994; 16: 57-61.
22. Morrison R, Boyd R. *Química orgánica.* 3ª ed. Editorial Fondo Educativo Interamericano; 1985.
23. Carl P, Le Bel S, Robert A. Toluene – induced alterations in rat synaptosomal membrane composition and function. *J Biochem Toxicol.* 2006; 3(4): 279-293.
24. Revilla A. Cambios inducidos por tolueno y xileno en el estado energético y oxidativo de mitocondrias aisladas [Tesis para optar el grado académico de magister en Toxicología]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2008.
25. Toxicological Review of Toluene. Environmental Protection Agency. Washington D.C.; 2005: 11-31.
26. International Programme on Chemical Safety (IPCS). *Chemical Environmental Health Criteria 52: Toluene.* WHO. Geneva. 1986.
27. Cohr K, Stockholm J. Toluene. A toxicological review. *Scand J Work Environ Health.* 1979; 46: 53-58.
28. Nielsen H, Krusell L, Baelum J. et al. Renal effects of acute exposure to toluene. A controlled clinical trial. *Acta Med Scand.* 1985; 218:317-321

29. Aldazábal C, Manrique J, Ortelli M. Criterios para la Vigilancia Biológica en la Exposición Laboral al Tolueno. *Ciencia y Trabajo*. 2005; 17:114-117.
30. Bress M, Berkow R. *El Manual Merck*. 10ª ed. Madrid: Ediciones Harcourt; 1999.
31. Wilson R. Toluene poisoning. *J. Am. Med. Assoc.* 1943; 123(17): 1106-1108.
32. King MD. Neurological sequelae of toluene abuse. *Human Toxicol.* 1982; 1: 281-287.
33. King MD, Day RE, Oliver JS, Lush M, Watson JM. Solvent encephalopathy. *Br. Med. J.* 1981; 283: 663-665.
34. Grabski D. Toluene sniffing producing cerebellar degeneration. *Am. J. Psychiatr.* 1961; 118: 461-462.
35. Knox J, Nelson J. Permanent encephaly from toluene inhalation *N. Engl. J. Med.* 1966; 275: 1494-1496.
36. Franchini et al. Early indicators of renal damage in workers exposed to organic solvents. *International Archives of Occupational and Environmental Health.* 1983; 52 (1): 1-9.
37. Gerkin RD, LoVecchio F. Rapid reversal of life-threatening toluene-induced hypokalemia with hemodialysis. *J. Emerg. Med.* 1998; 16(5):723-725.

38. Guzelian P, Mills S, Fallon HJ. Liver structure and function in print workers exposed to toluene. *J Occup Med.* 1988; 30(10):791-796.
39. Litt I, Cohen M, Schonberg S, Spigland I. Liver disease in the drug-using adolescent. *J. Pediatr.* 1972; 81: 238-242.
40. Oliver J, Watson J. Abuse of solvents for kicks: a review of 50 cases. 1997; 9:84-86.
41. Weisemberg Bl. Toluene Habituation. *J. Occup. Med.* 1977; 19(8): 569-570.
42. Schihler K, Seitz K, Rice J, Bruderreck H. Determination of hydrocarbons in p.p.m. range using glass capillary columns coated with aluminum oxide. *J. Chromatogr.* 1978; 155: 311-327.
43. Fornazari L, Wilkinson D, Kapor B, Carlen P. Cerebellar, cortical, and functional impairment toluene abusers. *Acta neurol. Scand.* 1983; 67:319-329.
44. Sartran R, Dodson V. Toluene habituation. Report of a case. *N. Engl. J. Med.* 1963; 268(13):719-721.
45. Keane J. Toluene optic neuropathy. *Ann. Neurol.* 1978; 4(4):390.

46. Channer K, Stanley S. Persistent visual hallucinations secondary to chronic solvent encephalopathy: case report and review of the literature. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr.* 1983; 46: 83-86.
47. Helliwell M, Murphy M. Crug-induced neurological disease. *Br. Med. J.* 1979; 1:1283-1284.
48. Sokol J, Robinson J. Glue sniffing. *West. Med.* 1963; 4: 192-193, 196-214.
49. Askergren A. Studies of kidney function in subjects exposed to organic solvents. *Acta med. Scand.* 1981; 210: 103-106.
50. Askergren A, Allgen L, Karlsson C, Lundberg I, Nyberg E. Studies on kidney function in subjects exposed to organic solvents. *Acta Med. Scand.* 1983; 209: 479-483.
51. Maki-Paakkanen J, Husgafvel-Pursiainen K, Kalliomaki P, Tuominen J, Sorsa M. Toluene-exposed workers and chromosome aberrations. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1980; 6:775-781.
52. Bauchinger M, Schimd E, Dresp J, Kolin-Gerresheim J, Hauf R, Suhr E, Chromosome changes in lymphocytes after occupational exposure to toluene. *Mutat. Rest.* 1982; 102: 439-445.
53. Mintegi S, Salguero CA. *Manual de intoxicaciones en Pediatría.* Vol. 1. 2003.

54. Instituto de Salud Pública de Chile, Ministerio de Salud. Manual Básico sobre Mediciones y Toma de Muestras Ambientales y Biológicas en Salud Ocupacional. Chile; 2007.
  
55. Tomokuni K, Ogata M. Direct Colorimetric Determination of Hippuric Acid in Urine. Department of Public Health, Okayama University Medical School. Okayama. Japan. 1972.
  
56. Phipps F. Hippuric Acid in Urine. NIOSH Manual of Analytical Methods (NMAM). 4<sup>th</sup> Ed; 1994.

## **VIII. ANEXOS**



**ENCUESTA – UNMSM FFyB  
CÁTEDRA DE TOXICOLOGÍA-SALUD OCUPACIONAL**

**INTOXICACIÓN POR TOLUENO**

---

---

**NOMBRE (llenar)**

.....

**EDAD (llenar)**

.....

**SEXO (marcar)**

Masculino

Femenino

**PUESTO DE TRABAJO (llenar)**

.....

**HORARIO DE TRABAJO (marcar)**

6Hrs.

8Hrs.

12Hrs.

Otros

**TIEMPO DE OCUPACIÓN DEL PUESTO DE TRABAJO (colocar número)**

Meses

Años

**EQUIPO DE PROTECCIÓN**

Si

No

Nombrar:.....

**HÁBITOS:**

**Fuma:**

Si

No

Frecuencia:.....

**Consumo bebidas alcohólica:**

Si

No

Frecuencia:.....

**Consumo medicamentos:**

Si

No

Nombrar:.....

**SÍNTOMAS:**

**Mareos**

**Euforia**

**Naúseas**

**Irritación de mucosas**

**Sequedad de la piel**

**Pérdida de apetito**

**Dolor de cabeza**

**Intolerancia al alcohol**

**Hora del día en que se presentan:.....**

**TABLA DE DATOS PERSONALES Y DE LOS RESULTADOS DE LOS ANÁLISIS**

CODIGO	EDAD	HORARIO (HORAS)	TIEMPO DE OCUPACION	g ACIDO HIPURICO/g CREATININA	SIGNOS Y SINTOMAS
101	35	12	6 AÑOS	0.721	NO PRESENTA
102	28	8	8 AÑOS	0.830	FATIGA
103	40	12	3 AÑOS	0.566	NO PRESENTA
104	33	10	1.5 AÑOS	0.486	NO PRESENTA
105	30	12	4 AÑOS	0.552	NO PRESENTA
106	32	12	3 AÑOS	0.367	NO PRESENTA
107	20	12	6 AÑOS	0.528	NO PRESENTA
108	33	12	6 AÑOS	0.651	NO PRESENTA
109	23	12	4 AÑOS	0.368	FATIGA
110	25	12	5 AÑOS	0.693	NO PRESENTA
111	26	12	7 AÑOS	0.734	FATIGA
112	39	12	4 AÑOS	0.550	FATIGA
113	40	12	7 AÑOS	0.627	FATIGA
114	25	12	5 AÑOS	0.839	FATIGA
115	36	12	6 AÑOS	0.676	NO PRESENTA
116	26	12	3 AÑOS	0.392	NO PRESENTA
117	26	12	7 AÑOS	0.813	FATIGA
118	28	12	6 AÑOS	1.150	FATIGA
119	28	12	5 AÑOS	0.770	NO PRESENTA
120	24	12	6 AÑOS	0.511	FATIGA
121	47	12	30 AÑOS	0.153	FATIGA
122	27	12	1 AÑO	0.260	NO PRESENTA
123	31	12	3 AÑOS	0.425	NO PRESENTA
124	37	12	2 AÑOS	0.299	NO PRESENTA
125	40	12	18 AÑOS	1.111	FATIGA
126	33	8	8 AÑOS	1.049	NO PRESENTA
127	49	12	8 AÑOS	1.387	NO PRESENTA
128	34	12	20 AÑOS	1.182	FATIGA
129	42	8	14 AÑOS	1.114	NO PRESENTA
130	25	12	8 AÑOS	1.073	NO PRESENTA
131	30	10	15 AÑOS	1.270	FATIGA
132	32	8	10 AÑOS	1.237	NO PRESENTA
133	36	8	5 AÑOS	0.551	NO PRESENTA
134	49	8	5 AÑOS	0.421	NO PRESENTA
135	34	10	6 AÑOS	0.603	NO PRESENTA
136	33	12	7 AÑOS	0.630	NO PRESENTA
137	30	12	7 AÑOS	0.729	DOLOR DE CABEZA
138	42	12	10 AÑOS	0.818	DOLOR DE CABEZA
139	34	12	10 AÑOS	1.082	FATIGA
140	27	10	8 AÑOS	0.646	NO PRESENTA
141	25	10	5 AÑOS	0.876	NO PRESENTA
142	28	10	6 AÑOS	0.591	NO PRESENTA
143	40	10	15 AÑOS	1.049	FATIGA
144	55	10	10 AÑOS	0.695	FATIGA
145	29	8	9 AÑOS	0.845	NO PRESENTA

146	28	8	6 AÑOS	0.789	NO PRESENTA
147	34	8	8 AÑOS	0.914	NO PRESENTA
148	21	10	4 AÑOS	0.583	NO PRESENTA
149	30	12	12 AÑOS	0.803	FATIGA
150	72	10	6 AÑOS	0.913	NO PRESENTA
151	18	0	0 AÑOS	0.471	CONTROL
152	51	0	0 AÑOS	0.431	CONTROL
153	36	0	0 AÑOS	0.431	CONTROL
154	29	0	0 AÑOS	0.400	CONTROL
155	25	0	0 AÑOS	0.376	CONTROL



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos  
Jr. Huanta 1215- Telef. 6197000 – Anexo 4813 LIMA – PERU

Paciente ..... 101 - 155 .....  
Ord. de Análisis N° : ...134998.....  
Ind Dr. (a).. :.....

Reporte de Análisis

Muestra N°	Creatinina en Orina
101	1,04
102	0,85
103	1,30
104	1,33
105	1,00
106	1,56
107	1,02
108	0,87
109	1,57
110	0,75
111	1,04



*[Handwritten Signature]*

Director del Servicio

Edgardo M. Parodi Tiplan  
Asesor del Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos

Lima 14 de 01 de 2009.  
F/SAC-002 R-1



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos  
Jr. Huanta 1215- Telef. 6197000 – Anexo 4813 LIMA – PERU

Paciente ..... 101 - 155 .....  
Ord. De Análisis N° :... 134998.....  
Ind Dr. (a) .....:.....

Reporte de Análisis

Muestra N°	Creatinina en Orina
112	0,97
113	1,35
114	0,85
115	0,86
116	1,01
117	0,90
118	0,53
119	0,90
120	1,13
121	0,62
122	2,18

Lima 14 de 01 de 2009.  
F/SAC-002 R-1

  
Director del Servicio  
Juan M. Parraño Tiplan  
Director del Servicio de Análisis Clínicos  
Asistencial de Farmacia y Bioquímica



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos  
Jr. Huanta 1215- Telef. 6197000 – Anexo 4813 LIMA – PERU

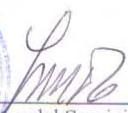
Paciente ..... 101 - 155  
Ord. De Análisis N° :...134998.....  
Ind Dr. (a) :.....

Reporte de Análisis

Muestra N°	Creatinina en Orina
123	1,52
124	1,85
125	0,59
126	0,65
127	0,53
128	0,55
129	0,62
130	0,63
131	0,45
132	0,5
133	1,51

Lima 14 de 01 de 2009.  
F/SAC-002 R-1



  
Director del Servicio  
Juan M. Parreño Tiplan  
Director del Servicio Académico  
Asistencial de Análisis Clínicos



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos  
Jr. Huanta 1215- Telef. 6197000 – Anexo 4813 LIMA – PERU

Paciente ..... 101 - 155 .....  
Ord. De Análisis N° :... 134998.....  
Ind Dr. (a) :.....

### Reporte de Análisis

Muestra N°	Creatinina en Orina
134	1,53
135	1,18
136	1,12
137	1,13
138	0,74
139	0,38
140	0,84
141	0,88
142	0,78
143	0,56
144	0,69

Lima 14 de 01 de 2 009.  
F/SAC-002 R-1



  
Director del Servicio  
Juan M. Parreño Tiptan  
Director del Servicio Académico  
Asistencial de Análisis Clínicos



Universidad Nacional Mayor de San Marcos  
(Universidad del Perú, Decana de América)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
Servicio Académico Asistencial de Análisis Clínicos  
Jr. Huanta 1215- Telef. 6197000 – Anexo 4813 LIMA – PERU

101- 155

Paciente .....

Ord. De Análisis N° :...134998.....

Ind Dr. (a) :.....

**Reporte de Análisis**

Muestra N°	Creatinina en Orina
145	0,5
146	1,02
147	0,63
148	0,78
149	0,81
150	1,05
151	1,27
152	1,35
153	1,31
154	1,38
155	1,25

VALORES NORMALES.....: De 0,9 a 1,5 G.

Lima 14 de 01 de 2 009  
F/SAC-002 R-1

  
Director del Servicio  
Juan M. Parreño Tiplan  
Director del Servicio Académico  
Asistencial de Análisis Clínicos



## CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO HIPÚRICO

ESTÁNDARES	CONCENTRACIÓN	ABSORBANCIA
Estándar 1	0.49451	1.344
Estándar 2	0.19781	0.510
Estándar 3	0.0049451	0.028

