

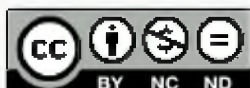
Lerda, Daniel Enrique

Estudio citogenético y bioquímico en personas expuestas al plomo

**Tesis para la obtención del título de posgrado de
Doctor en Bioquímica**

Director: Fulginiti, Ana Susana

Documento disponible para su consulta y descarga en **Biblioteca Digital - Producción Académica**, repositorio institucional de la **Universidad Católica de Córdoba**, gestionado por el **Sistema de Bibliotecas de la UCC**.



Esta obra está bajo licencia 2.5 de Creative Commons Argentina.

Atribución-No comercial-Sin obras derivadas 2.5

Escuela de Ingeniería y Arquitectura
Facultad de Ingeniería y Arquitectura
Procesos de Ingeniería y Arquitectura
Escuela de Ingeniería y Arquitectura

ESTUDIO CITOGENETICO Y BIOQUIMICO EN PERSONAS EXPUESTAS AL PLOMO

Donación Fac. de Ciencias Químicas. TESIS-

TD
BIOQ 001



Cambio 5-000338 C-063318

CAMPUS

AUTOR:

DANIEL ENRIQUE LERDA

TITULO:

BIOQUIMICO

DIRECTOR:

PROF. DRA. ANA SUSANA FULGINITI

FACULTAD:

CIENCIAS QUIMICAS

UNIVERSIDAD CATOLICA DE CORDOBA

AÑO 1992

ESTE TRABAJO ESTA DEDICADO
A LOS HUMANOS EXPUESTOS OCUPACIONALMENTE . QUIENES,
APARTE DE NO SER CONSIDERADOS COMO TALES, NECESITAN
DE CONTROLES PERIODICOS PARA TRATAR DE MEJORAR SU SA-
LUD COMO ASI TAMBIEN EL LUGAR DE TRABAJO.

ADEMAS, A TODOS LOS QUE HICIERON POSIBLE QUE YO LLE GUE
A ESTA ETAPA DE MI VIDA.

GRACIAS

Prólogo

El plomo es el metal tóxico más ubicuo en la naturaleza, se puede encontrar en todas las fases del ambiente inerte y en todos los sistemas biológicos. Como no ha sido demostrado que sea biologicamente necesario y es tóxico a determinadas concentraciones, el mayor interés actual es conocer cual es la cantidad absorbida por un organismo con la que comienza a ser tóxico. Exposiciones excesivas a este metal ocurren con frecuencia en trabajadores de industrias en las que se lo utiliza.

Este trabajo aporta datos sobre los riesgos genotóxicos del plomo en personas laboralmente expuestas. Esta potencial genotoxicidad se demuestra también a través de células eucarióticas (*Allium Cepa* L.) tratadas con el metal. El estudio se complementa proponiendo una metodología diagnóstica, accesible a laboratorios de Bioquímica Clínica, útil para el diagnóstico y pronóstico de la intoxicación

La finalidad primordial de este trabajo radica en contribuir a preservar la salud de las personas expuestas al plomo. Su importancia deriva del hecho que a menudo se trabaja en condiciones de riesgo y no se informa a los operarios sobre los peligros de sus tareas.

Bioq. Daniel Enrique Lerda

ABREVIATURAS

AC	Aberraciones Cromosómicas
AcU	Acido Urico
AFP	Alfa Feto Proteína
ALA-D	Acido Delta-aminolevulínico Dehidratasa
CEA	Antígeno Carcino Embrionario
Cr	Cromosómica
Ct	Cromatídica
5-N	5' Nucleotidasa
Cre	Creatinina
EMS	Etil Metil Sulfóxido
FA	Fosfatasa alcalina
GGT	Gamma Glutamil Transpeptidasa
GOT	Transaminasa Glutámico Oxalacética
GPT	Transaminasa Glutámico Pirúvica
ICH	Intercambio de Cromátides Hermanas
IARC	International Agency for Research on Cancer (Agencia Internacional para Investigación sobre Cancer)
Ldh	Láctico dehidrogenasa
ND	No Detectables
Pb	Plumbemia
PBG	Porfobilinógeno

A - INTRODUCCION

1 - Generalidades

El plomo entra en la biósfera a través de procesos naturales y de la actividad humana. Fue estimado que las emisiones por las actividades humanas son de 450.000 toneladas métricas por año, el 90% de las cuales se origina en los E.U. y proviene de la combustión de gasolina con este metal (1). La fundición del plomo, la combustión del carbón y la combustión de los desperdicios de aceite generan la más alta emisión de plomo de los recursos estacionarios.

2 - Rutas de exposición

2.1 - El aire

La concentración de plomo en el aire varía entre 2 y 4 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en las grandes ciudades, 0,2 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en las áreas suburbanas y cantidades mucho menores en áreas rurales (2).

Los trabajadores en los diversos procesos de manufacturación industrial han estado severamente expuestos al plomo (3,4). Historicamente el mayor potencial de sobreexposición al plomo inorgánico se encuentra en las fundiciones y las industrias de refinería. Se han detectado niveles tan altos de plomo en el aire como 15.000 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en las zonas del arco de soldadura en condiciones de poca ventilación (5). Lo mismo ocurre en los lugares en donde los trabajadores utilizan sopletes cortantes de oxiacetileno en baños metálicos con pinturas a base de plomo (6). Se ha informado altos niveles de plomo en las industrias relacionadas a la fabricación de acumuladores, imprentas, productos de goma, plástico, fabricación de latas con juntas de plomo, soldaduras, etc .

2.2 - El agua

El plomo en el agua potable ha sido evaluado extensamente (7,8,9). En el agua forma compuestos de baja solubilidad con iones negativos presentes en la misma, tales como carbonatos, sulfatos e hidróxidos. En aguas no tratadas el plomo está, ya sea en forma disuelta o en forma de partícula. Su solubilidad es primariamente dictaminada por la dureza (una combinación de contenido de calcio y magnesio) y el Ph del agua. Diversos estudios han demostrado que existen altas concentraciones de plomo en el agua que se toma en las viviendas, causada por la corrosión del plomo de las cañerías (10,11,12). La mayor parte del plomo que se encuentra en el agua potable es el resultado de la corrosión de los materiales de plomo utilizados en la distribución y en el sistema central de cañerías. El contenido de plomo en el agua es más alto en las muestras que han estado en contacto con los caños por un largo tiempo que en las que han sido extraídas directamente de un sistema que fluye.

2.3 - La tierra

La actividad humana ha causado un tremendo impacto en la concentración de plomo en la tierra, particularmente en las áreas urbanas. Varios estudios lo han demostrado (13,14,15). Para examinar la influencia del tránsito sobre el plomo terrestre, Getz y col (16) recolectaron muestras de la superficie terrestre (0-10 cm de profundidad) a intervalos de 5 metros. Los resultados indicaron que cuanto mayor es el tránsito más alto es el contenido de plomo terrestre.

2.4 - La vegetación

Hay dos rutas por las cuales la vegetación puede contaminarse con plomo: los recursos del suelo que penetran por la raíz y la deposición aérea en las hojas y tallos de

las plantas. El depósito del plomo del aire que proviene de la contaminación industrial, puede ser tan alto como 15 ug/g de peso seco (17). El plomo absorbido por las plantas a través de su raíz está relacionado con la capacidad del suelo para absorberlo. Su absorción por las raíces depende de su estado de solubilidad. Los iones de plomo absorbidos por las partículas de lodo o por la materia orgánica, no están en solución y en la mayoría de los casos no están por lo tanto libremente disponibles para ser absorbidos por la planta hasta que no son eliminados de la superficie de la tierra en solución. El contenido de plomo en los tejidos internos de la planta está directamente relacionado con la concentración del metal en el suelo (18). Generalmente es más alto en los sembrados de hojas, más bajo en las frutas y de nivel intermedio en los sembrados de raíces (18). También está influenciado por las condiciones meteorológicas y las características locales del suelo (19). Fue determinado que el plomo de la superficie de la vegetación decrece exponencialmente en relación a su distancia de las rutas y de las fundiciones (20). La mayoría de los estudios que han medido el contenido de plomo en las plantas no encuentran diferencias entre el plomo de la superficie y el que está en la matriz de la misma. En 1970 la FDA determinó en una investigación de mercado que el promedio del contenido de plomo en los alimentos comunes era de alrededor de 0.12 ug/g (21). Schroeder y col (22) encontraron desde valores no detectables (ND) hasta 2.5 ug/g en las comidas. Las menores concentraciones se detectaron en la leche (ND), carnes y huevos (ND - 0.4 ug/g) y los valores más altos en los vegetales (ND - 1.3 ug/g) los pescados y los alimentos de mar (0.2 - 2.5 ug/g). Estudios recientes en dietas totales muestran los siguientes promedios de concentración (ug/g): leche 0.006, otros derivados y derivados sustitutos 0.018, carne, pescado y aves de corral 0.029, granos y cereales 0.045, vegetales 0.022, frutas y jugos de frutas 0.049, aceites y grasas 0.009, azúcar 0.049 y bebidas 0.022 (23,24).

En síntesis, las exposiciones al plomo que provienen de la comida, el agua, el aire, la tierra y las actividades humanas son inevitables. Los alimentos proveen la mayor proporción de plomo absorbido por la población infantil y adulta. Los alimentos procesados

pueden aumentar la cantidad de plomo presente en la comida. El plomo encontrado en el agua y en el aire contribuye sólo en pequeñas cantidades a la totalidad de absorción diaria.

3 - Producción y usos

Su producción en el mundo es de alrededor de 5 millones de toneladas anuales y los principales países que poseen minas de este metal son: Estados Unidos, Rusia, Australia, Canadá, China, Yugoslavia y Bulgaria. Otros países las poseen en menor cantidad, tales como: Corea, Marruecos, Polonia, Irlanda, Japón, España y Suecia. Durante los años 50 hubo substancial decrecimiento en su aplicación para la manufactura de los pigmentos de plomo y un dramático aumento en el uso del mismo para la producción de acumuladores y antidetonantes aditivos para la gasolina. El hecho más importante fue el decrecimiento en el uso del plomo en la gasolina, pero al mismo tiempo se produjo un incremento en las industrias de acumuladores. Actualmente su uso más frecuente es en la fabricación de baterías (72%) y en segundo lugar como aditivo de gasolina (7%).

4- Absorción, distribución, acumulación y excreción

La acumulación de plomo en el cuerpo comienza antes del nacimiento y continúa a lo largo de la vida. Cuando ingresa desde el sistema gastrointestinal a los pulmones se distribuye por medio de la sangre a todo el organismo. Las concentraciones de plomo en la sangre y los tejidos blandos alcanzan un equilibrio dinámico en corto tiempo luego de una exposición constante pero en los huesos puede ser que el equilibrio nunca se logre (25). La vida media del plomo en la sangre es de aproximadamente 30 días y de alrededor de 17 años en los huesos (26,27). Barry (28) consideró que alrededor de 9 ug de plomo se almacenan en los huesos diariamente en individuos no expuestos laboralmente. Más del 90 % del

plomo del cuerpo se acumula en los huesos. Da Silva (29) determinó que el 99% del plomo de la sangre está asociado con los eritrocitos, una parte con la membrana eritrocítica y la mayor parte ligado a la hemoglobina (30).

Desde 1976 a 1980 el Centro Nacional para las Estadísticas de Salud de EU condujo el Segundo Estudio sobre Salud Nacional y Nutrición, en donde se examinaron los niveles de plomo en sangre en una muestra representativa de la población de EU (31). Durante el período de pruebas de cuatro años, entre 1976-1980, el porcentaje de los niveles de plomo en sangre para los grupos de todas las edades disminuyó aproximadamente el 37% (de un valor medio de 14.6 a 9.2 ug/dl). Para los niños, los valores estuvieron relacionados con la edad, sexo, raza, estatus socioeconómico y grado de urbanización del lugar de residencia. Corrientemente se consideran niveles elevados de plomo en sangre en niños, concentraciones de 25 ug/dl (32). Para los adultos, los niveles en la sangre también fueron dependientes de la edad, raza, ocupación, consumo de alcohol o cigarrillos. Los hombres tenían un mayor nivel de plomo en sangre que las mujeres.

En los últimos años se han realizado estudios importantes sobre el contenido de plomo en los dientes de los niños (33,34,35). El contenido de plomo en los dientes está relacionado con la dosis, es un indicador de exposición de largo plazo y provee una medida de carga relativa del metal en el cuerpo.

Para los tejidos blandos, el riñón generalmente tiene la mayor captación, seguido por el hígado, el corazón y el cerebro. El alto porcentaje de acumulación de plomo por el riñón se refleja por el hecho de que es primeramente (pero incompletamente) excretado a través de la filtración glomerular (2).

En la mayoría de la población, la deposición en el pulmón, del plomo del ambiente, es aproximadamente de 30 a 50% dependiendo del tamaño de las partículas y el grado de ventilación (36,37,38). Chamberlain y col (38) calcularon que más del 90% del plomo depositado en el sistema respiratorio que proviene del aire ambiente se absorbe. En exposiciones ocupacionales donde el tamaño de las partículas es generalmente mayor hay un bajo porcentaje de deposición en pulmón. La mayoría de estas deposiciones, sin embar-

go ocurren en la parte superior del sistema respiratorio donde las partículas mayores se eliminan por la acción ciliar. Chamberlain y Heard (39) estimaron un porcentaje de absorción del 47% de las partículas de plomo encontradas en las exposiciones ocupacionales.

Muchos estudios han determinado la absorción gastrointestinal del plomo. Kehoe (40) utilizando estudios metabólicos de largo plazo en adultos estimó que alrededor del 10% del plomo de la alimentación es absorbido en el sistema gastrointestinal.

Chamberlain y col (36) estimaron que alrededor del 15% del plomo de la dieta es absorbido, Harrison y col (41) estimaron que el 14% es absorbido y Rabinowitz y col (42,43) informaron un promedio de absorción de 7.7 % y 10.3 %. El grado de absorción del plomo parece ser mayor en condiciones de ayuno.

El plomo en la sangre de las embarazadas es transferido al feto. La concentración en el cordón umbilical es correlativa con la sangre materna aunque es un poco más baja (44,45).

5 - Genotoxicidad

La genotoxicidad del plomo ha sido estudiada por diversos autores (46,47,48,49,50,51). La Tabla I muestra varios estudios citogenéticos y sus resultados (52). Desafortunadamente muchos de ellos sufren de carencia estadística, ausencia de relación dosis-respuesta, o inadecuado detalle de los procedimientos analíticos utilizados. Varios, incluyen poblaciones que ocupacionalmente estuvieron expuestas a otras sustancias además del plomo, muchas de las cuales son capaces de producir aberraciones cromosómicas (AC). Sin embargo, algunos estudios in vivo e in vitro indican que el plomo es capaz de producir efectos genotóxicos. Forni y col (53) encontraron aumento de AC en individuos expuestos. Beek y Obe (54) observaron AC en los linfocitos humanos que fueron cultivados por 72 h en presencia de acetato de plomo. En un estudio posterior realizado por Beek y Obe (55) se descubrió que el acetato de plomo tenía efecto sobre las aberraciones inducidas por rayos X o por agentes alquilantes. Deknudt y Deminatti (56) observaron leves AC en los linfocitos

TABLA I. ESTUDIOS DE GENOTOXICIDAD DEL PLOMO Y SUS COMPUESTOS

Test	Efecto	Exposición	Respuesta	Referencias
Bacterias				
Bacteriofago T4	Mutación	PbC12	-	Corbet y col. (1970)
Bacilos subtilis Rec-ensayo (a)		PbC12	-	Nishioka (1975)
Bacilos subtilis Rec-ensayo (a)		Pb(CH ₃ COO) ₂	-	Nishioka (1975)
Saccharomices cerevisiae	Mutación	PbC12	+	Fukunag y col. (1981)
Algas				
Platymonas	Mutación	PbC12	-	Hessler (1974, 1975)
Plantas				
Arroz	Mutación	PbC12	+	Reddy y Vaidyanath (1978 a, b)
Allium cepa	C-mitosis	(C ₂ H ₅) ₂ PbC12	+	Ahlberg y col. (1972)
		(C ₂ H ₅) ₃ PbC1	+	Ramel (1973)
		(CH ₃) ₃ PbC1	+	Ramel (1973)
		Pb (NO ₃) ₂	+	Levan (1945)
Mosca de la fruta				
Drosophila melanogaster	Pérdida de cromosoma	PbC12	-	Ramel (1973)
		(C ₂ H ₅) ₃ PbC12	+	Ahlberg y col. (1972)
Células in vitro de mamíferos				
	ICH	Pb(CH ₃ COO) ₂	+	Stella y col. (1979)
	ICH	Pb(CH ₃ COO) ₂	+	Anderson (1983)
	Aberraciones cromosómicas	Pb(CH ₃ COO) ₂	-	Schmid y col. (1972)
			-	Deknudt y Deminatti (1978)
			+	Schwanitz y col. (1976)
			+	Dhar y Banerjee (1983)
			-	Gasiorek y Bauchinger (1981)
			+	Nordenson y Beckman (1984)
			+	Tachi y col. (1985)
			+	Batersch y col. (1986)
		PbSO ₄	-	Costa y col. (1982)
		Pb(NO ₃) ₂	+	Columbano y col. (1984)

TABLA I. ESTUDIOS DE GENOTOXICIDAD DEL PLOMO Y SUS COMPUESTOS (Cont.)

			+	Dhir y col. (1985)
			+	Oberly y col. (1982)
		Pb(Cl) ₂	-	Skreb y col. (1981)
			-	Horvat y col. (1981)
			+	Bauchinger y Schmid (1972)
			+	Beek y Obe (1974)
			+	Obe y col. (1975)
Animales in vivo	Micronúcleo	Pb(CH ₃ COO) ₂	-	Jacquet y col. (1977)
			-	Heddle y Bruce (1977)
	Aberraciones cromosómicas	Pb(CH ₃ COO) ₂	-	Muro y Goyer (1969)
			-	Leonard y col. (1972)
			+	Dekundt y col. (1977)
			+	Jacquet y col. (1977)
			-	Deknudt y Gerber (1979)
			+	Bishun y Pentecost (1981)
	Anormalidades en esperma	Pb(CH ₃ COO) ₂	+	Jacquet y Tachon (1981)
			+	Ledda-Columbano y col. (1983)
+			Heddle y Bruce (1977)	
Hombres in vivo	Fertilidad	Pb(CH ₃ COO) ₂	+	Eyden y col. (1979)
			+	Wyrobek y Bruce (1978)
	Aberraciones coromosómicas	Exposición ocupacional y ambiental	-	Kennedy y Arnold (1971)
			-	Leonard y col. (1972)
			-	Sperling y col. (1970)
			-	Bauchinger y col. (1972)

TABLA I. ESTUDIOS DE GENOTOXICIDAD DEL PLOMO Y SUS COMPUESTOS (Cont.)

	-	Schmid y col. (1972)
	-	O'Riordan y Evans (1974)
	-	Bui y col. (1975)
	-	Bauchinger y col. (1977)
	+	Forni y Secchi (1972)
		Forni y col. (1976)
	+	Schwanitz y col. (1970) (1975)
	+	Deknudt y col. (1973) (1977)
	+	Deknudt y Leonard (1975)
	+	Bauchinger y col. (1976)
	-	Maki-Paskkanen y col. (1981)
	+	Beckman y col. (1982)
	+	Al-Hakkak y col. (1986)
	+	Calugar y Sandulescu (1977)
	+	Noderson y col. (1978)
ICH	-	Dalpra y col. (1983)
	+	Grandjean y col. (1983)
Anormalidades en esperma	+	Lancranjan y col. (1975)

a. Recombinación mitótica en *S. cerevisiae* strain D3.
Fuente: Adaptada de Schlag, R.(52)

humanos después de una exposición in vitro al acetato de plomo. También se descubrió que el intercambio de cromátides, despirilización, translocaciones, anillos y cromosomas policéntricos se producían en los linfocitos de los monos cinomolgus (57) y de los ratones (58) tratados con acetato de plomo. Estos efectos se exacerbaban cuando los animales estudiados fueron mantenidos con una dieta baja en calcio. Mahaffey (59) sugirió que estos efectos sobre los cromosomas podían ser debidos a la interacción de Ca^{++} y Pb^{++} . El acetato de plomo también se descubrió que inducía las AC en las células ováricas de hamsters chinos (60).

Los estudios de intercambio de cromátides hermanas (ICH) se llevaron a cabo en diferentes poblaciones expuestas al plomo. Dalpra y col (61) determinaron que el porcentaje de ICH en niños expuestos al plomo en una planta de fundición no fue significativamente diferente al del grupo control, aunque los niveles de plomo en la sangre y la zinc protoporfirina, fueron significativamente mayores en el grupo expuesto. En contraste con estos descubrimientos, Grandjean y col (62) encontraron que hubo una correlación significativa ($p < 0.001$) entre el número de ICH y los niveles de zinc protoporfirina en hombres ocupacionalmente expuestos al plomo. En este estudio no hubo diferencias significativas entre el ICH y los valores de plomo en sangre. Además, el porcentaje de ICH decreció cuando la exposición al plomo cesó. Como los niveles de plomo en sangre reflejan, generalmente, exposición temporal y los niveles de zinc protoporfirina reflejan largo tiempo de exposición, los resultados del estudio sugieren que el incremento de cromátides hermanas es inducido sólo después de exposiciones crónicas y no se expresa como resultado de exposiciones agudas. Lerda y Massiero (63) encontraron resultados similares, pero la correlación significativa ($p < 0.001$) fue entre el número de ICH y los niveles de plomo en sangre de hombres ocupacionalmente expuestos al plomo. En linfocitos humanos cultivados por 72 h y tratados con acetato de plomo durante las últimas 24 h, Stella y col (64) observaron significativos incrementos en los gaps y fragmentos cromatídicos. Kennedy y Arnold (65) encontraron que el acetato de plomo administrado a ratas no inducía efectos hereditarios letales dominantes.

Diversos estudios que utilizaron tests bacteriales o mamíferos, no demostraron efectos genotóxicos de los conocidos metales mutagénicos incluyendo el plomo (66,67,68). Sin embargo, varios estudios de mutagenicidad en plantas han sido capaces de demostrar la genotoxicidad del plomo (69,70,71,72).

6 - Carcinogenicidad

6.1 - Estudios en animales

Ha sido demostrado que algunos compuestos de plomo están asociados con la inducción de tumores en animales de laboratorio. Azar y col (73) reportaron que 1,000 ug/g de acetato de plomo en la dieta de las ratas dió como resultado una concentración de plomo en el riñón de 30 ug/g y una dieta con 10,000 ug/g de plomo produjo un nivel de plomo en el riñón de 300 ug/g. Estos investigadores observaron que la incidencia de tumores de riñón se incrementó con la dosis de plomo en la dieta. Van Esch y col (74) también reportaron un incremento en el número de tumores renales en ratas alimentadas con 10,000 ug/g de plomo en relación a animales alimentados con 1,000 ug/g de plomo. Los resultados anteriores sugieren que hay una asociación entre la cantidad de plomo depositada en el riñón y los tumores renales.

Distintas dosis de subacetato de plomo fueron ensayadas para el bioensayo de tumor de pulmón encontrándose un incremento de incidencia de nódulos de pulmón con las dosis más altas (75).

6.2 - Transformación celular

Di Paolo y col (76) indujeron transformaciones de células en los embriones de los hamsters sirios tratados continuamente con 1 o 2.5 ug/ml de acetato de plomo. Las células

de los embriones transformadas morfológicamente fueron luego administradas a los hamsters sirios. Estos producían fibrosarcomas. También se demostró en este estudio la inducción de adenovirus (SA-7) embriocelulares por exposición al acetato de plomo. Casto y col (77) hallaron resultados similares en la inducción de adenovirus (SA-7) embriocelulares de hamsters sirios tratados con plomo.

6.3 - Estudios epidemiológicos

Se han realizado varios estudios epidemiológicos para evaluar la asociación entre la exposición al plomo y el cáncer (78,79,80,81,82,83,84,85). Ninguno de ellos estableció una relación dosis-respuesta entre la incidencia de cáncer y exposición al plomo, pero varios mostraron incrementos estadísticamente significativos en mortalidad por neoplasia maligna debida a la exposición al plomo. Desafortunadamente fue imposible determinar retrospectivamente niveles históricos de exposición, tipos de compuestos que fueron fuente de exposición o niveles de exposición a otros metales. Algunos estudios en los que se disponía de datos biológicos de monitoreo, revelaron que ocupacionalmente ocurrían exposiciones a varias sustancias químicas industriales.

Cooper y Gaffey (86) examinaron las causas de muerte en una gran población de fundidores de plomo y trabajadores de fábricas de baterías. Estos investigadores reportaron una alta incidencia de todos los tipos de malignidades en los trabajadores de las fundiciones comparados con un grupo control. También informaron sobre una mayor incidencia de cáncer en las vías respiratorias y gastrointestinales tanto en los trabajadores de plantas de fundición como en los de fábricas de baterías. En los trabajadores de fundiciones se encontró un número más elevado de cáncer en el aparato urinario que el esperado. En otro estudio sobre la misma población se encontró que había un elevado número de cáncer de todos los tipos y de las vías respiratorias en ambos grupos de trabajadores empleados durante no menos de 10 años (79,80). La mayoría de las ubicaciones del cáncer fueron encontradas en

los órganos del aparato digestivo y en el sistema respiratorio. Sheffet y col (84) informaron también un incremento de cáncer en los órganos del aparato digestivo en trabajadores de una planta de pigmentos quienes fueron expuestos al plomo y a cromados de zinc. Otro estudio epidemiológico informó que los trabajadores en las fundiciones de plomo tenían una más alta incidencia de muertes por causa de cáncer renal que la esperada, aunque la elevada incidencia no fue estadísticamente significativa (85).

En el informe realizado por Baker y col (81) se encontraron altas concentraciones de plomo en los tumores renales de los individuos con una historia de exposiciones al plomo. Los autores informaron que había ciertas similitudes histológicas con los tumores de riñón de animales expuestos al plomo.

Si bien estos estudios epidemiológicos sugieren una relación entre el plomo y el cáncer, se necesitan datos adicionales para establecer una relación causal definitiva.

7 - Teratogenicidad

Los efectos del plomo sobre el desarrollo embrionario han sido revisados (49). El plomo atraviesa la barrera placentaria menos fácilmente que el mercurio pero más fácilmente que el cadmio (87); la concentración de plomo en cordón umbilical es más baja que en sangre materna (88). El plomo es también transferido al feto de hamster (89), mono (49,90) y cabra (91).

Es bien conocido desde la pasada centuria que mujeres que trabajan en la industria del plomo sufren desordenes menstruales, a menudo son estériles y tienen abortos espontáneos (92,93,94). Fue usado por algún tiempo como abortivo (95,96). Anormalidades tales como retardos en el desarrollo y síntomas neurológicos (dificultades en el aprendizaje) después de intoxicación accidental durante el embarazo fueron reportados por algunos investigadores (97,98). Un alto porcentaje de retardo mental fue notado en hijos de mujeres que vivían en áreas abastecidas con agua de cañerías de plomo (99).

El plomo inyectado a embriones de pollo durante 2 días causa la muerte, anomalida-

des en la cabeza (ruptura de cerebro) y cuello corto (100,101,102). Inyecciones durante 3, 4 o más días pueden producir hidrocefalia y meningocele tal vez por acción sobre los vasos sanguíneos, alteraciones en permeabilidad y subsecuente hemorragia (103,104).

Puede concluirse que los efectos teratogénicos del plomo han sido demostrados en mujeres embarazadas y en animales de experimentación (105). En roedores, reducción en la fertilidad, retardo en el desarrollo fetal y post-natal, así como daños neurológicos, aumento de muerte fetal y post-natal y malformaciones en el esqueleto. Estas alteraciones aumentan cuando los animales sufren deficiencia de calcio.

B - OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo fue contribuir al conocimiento acerca de los riesgos genotóxicos del plomo en personas laboralmente expuestas. Este objetivo fue encarado desde dos puntos de vista:

1 - Estudio citogenético (AC e ICH) en linfocitos de personas ocupacionalmente expuestas al plomo y en controles. El estudio de las AC es un relevante bioensayo, mide las más importantes consecuencias de las lesiones que ocasiona un mutágeno sobre la molécula de DNA, error en la reparación y disturbios en la síntesis de DNA en la fase S del ciclo celular. En este estudio se pone especial énfasis en las roturas (interrupción de la continuidad de una o ambas cromátides). El ICH es un test mutagénico-carcinogénico, rápido, barato y altamente objetivo. Representa el intercambio en un locus entre cromátides hermanas de un cromosoma, que no resulta en una alteración de toda la morfología cromosómica. El análisis de ICH en sistemas citológicos provee información acerca de estructuras cromosómicas y es usado para detectar daños cromosómicos inducidos por bajas concentraciones de agentes químicos.

2 - Estudio citogenético en *Allium Cepa* L.

La conocida cebolla (*Allium Cepa* L.) es una excelente planta para el ensayo de aberraciones cromosómicas después de tratamientos químicos. Es una prueba que no necesita equipos costosos o condiciones complicadas para su desarrollo y resulta de bajo costo. Los cromosomas son relativamente largos con un promedio de 10 μ m de largo y las AC e ICH pueden ser fácilmente detectadas (106). *Allium Cepa* ha sido reportado que puede ser mucho más sensible que *Vicia Faba* a los efectos de sustancias químicas sobre estructuras cromosómicas y fue recomendado por la Royal Swedish Academy of Science y por la Gene-Tox Program (107,108,109). Los estudios de plomo sobre *Allium* se realizaron con el test de C-mitosis (110,111) e ICH (112) y no sobre AC. En este trabajo se

estudió el efecto de diversas concentraciones de plomo sobre el crecimiento longitudinal de la raíz, la proliferación celular y las aberraciones cromosómicas.

Además y a fin de proponer una metodología bioquímica accesible a laboratorios de bioquímica clínica que facilite el diagnóstico y pronóstico de la intoxicación con plomo, en este trabajo se estudiaron diversos parámetros bioquímicos, algunos de ellos ya conocidos indicadores de alteraciones inducidas por el plomo y otros, probables indicadores.

- 1 - Delta-amino levulínico dehidratasa (ALA-D): la gran sensibilidad de ALA-D como indicadora de exposición al plomo ha sido estudiada por diversos investigadores (113,114,115,116,117,118,119,120). La ALA-D puede estar disminuída y no haber signos clínicos de intoxicación.
- 2 - Acido úrico (AcU), Creatinina (Cre): niños y adultos con signos de envenenamiento por plomo pueden presentar insuficiencia renal. La Cre es uno de los compuestos nitrogenados que aumenta tardíamente en la insuficiencia renal. Emmerson col (121) detectaron insuficiencia renal con nefropatía debida al plomo en 13 individuos expuestos y también revelaron alguna alteración en la secreción del AcU. Los autores,teniendo en cuenta la disminución del clearance de AcU sugirieron que hay una reabsorción tubular aumentada.
- 3 - Gamma glutamil transpeptidasa (GGT), transaminasa glutámico pirúvica y oxalécética (GPT,GOT), fosfatasa alcalina (FA) y 5' nucleotidasa (5-N): no hay una evidencia definitiva de los efectos del plomo sobre el hígado. Algunos autores como Dodic y col (122) reportaron en 11 de 91 pacientes hospitalizados por intoxicación con plomo signos de daño en la función hepática. Este daño fue más frecuente en aquellas personas que presentaban intoxicación aguda.

1 - Sujetos

1.1 - Trabajadores

Este grupo de estudio estuvo formado por 60 hombres con un promedio de edad de 38.4 años y una media ocupacional de 13.2 años. Eran trabajadores de fábricas de acumuladores y fundiciones. En el momento de la extracción se inquirió a los individuos sobre algunas características individuales tales como nutrición, consumo de cigarrillos, medicamentos, alcohol y posibles enfermedades, que podían interactuar o incidir en los resultados. Realizaban sus tareas sin la adecuada protección. Esto es, con escasa ventilación, sin máscaras y espacios reducidos.

Ninguno de los individuos había estado con licencia durante el estudio, ni había presentado signos o síntomas de intoxicación con plomo y ninguno había estado en tratamiento médico recientemente. Todos ellos de nivel sociocultural medio.

1.2 - Controles

Fueron seleccionados 45 hombres voluntarios con un promedio de edad de 37.6 años que no habían estado en el presente o el pasado expuestos al plomo laboralmente.

2 - Análisis realizados:

Se recolectaron muestras de sangre de expuestos y controles. Con las mismas, se determinaron los siguientes parámetros:

2.1 - Citogenéticos

2.1.1 - ICH

El cultivo de linfocitos se hizo según la técnica de Buckton y Evans (124). El medio de cultivo usado fue Ham F 10 suplementado con suero bovino fetal, fitohemaglutinina y 5 bromodeoxiuridina (Budr.). Estos, junto con la sangre

estéril permanecieron en la oscuridad a 37⁰C por 72 - 74 h y las metafases fueron bloqueadas durante las últimas 4 h con colchicina. Para la detección de los ICH los preparados fueron coloreados con la técnica modificada de fluoresceína-giensa (125) y se contaron en 50 metafases de cada individuo.

2.1.2 - AC

Se realizó según la técnica de Buckton y Evans (124). El medio de cultivo usado fue Ham F 10 suplementado con suero bovino fetal y fitohemaglutinina. Estos, junto con la sangre estéril se incubaron a 37⁰ C durante 48 - 51 h y las metafases fueron bloqueadas durante las últimas 2,5 - 3 h con colchicina. Los preparados se colorearon con Giemsa y 100 metafases para cada individuo fueron analizadas.

2.2 - Bioquímicos

2.2.1 - Plumbemia (Pb)

El nivel de plomo en sangre se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (126).

2.2.2 - ALA-D

Fue determinada utilizando como sustrato el ácido deltaaminolevulínico siguiendo la técnica descrita por Berlin y Schaller (127).

2.2.3 - AcU

Fue determinado por el método de la uricasa-catalasa-reacción de color (128)

2.2.4 - Cre

Fue determinada por el método de Jaffe modificado (129) con desproteinización.

2.2.5 - GOT

Fue determinada por el método de Reitman y Frankel (130) usando como sustrato L-aspartato y alfa-cetoglutarato en buffer de fosfatos.

2.2.6 - GPT

Fue determinada por el método de Reitman y Frankel (130) usando como sustrato DL-alanina y alfa-cetoglutarato en buffer de fosfatos.

2.2.7 - GGT

Esta fue determinada por el método de Szasz (131) usando como sustrato L- glutamil-3-carboxi-4-nitranilida.

2.2.8 - FA

Fue determinada por el método de Bessey (132) usando como sustrato el p-nitro-fenilfosfato sódico.

2.2.9 - Ldh

Fue determinada por el método standard optimizado de la Deutsche Gesellschaft fur Klinische Chemic (133) usando como sustrato D-L Lactato en buffer de glicina.

2.2.10 - 5-N

Fue determinada por el método propuesto por Bergmeyer (134) usando como sustrato la adenosina-5-monofosfato.

2.2.11 - AFP

Se determinó cuantitativamente por el método inmunoquimico de Elisa (135).

2.2.12 - CEA

Se determinó cuantitativamente por el método inmunoquímico de Elisa (135)

3 - Estudio citogenético en planta superior (Allium Cepa L.)**3.1 - Crecimiento radicular**

Se determinó midiendo la longitud de 10 a 12 raíces (previamente individualizadas) por bulbo, cada 24 h, durante 96 h.

3.2 - Actividad proliferativa

Se cuantificó determinando la frecuencia de células en mitosis en el ápice radicular.

3.3 -AC

Se estudió el tipo y frecuencia de las aberraciones cromosómicas según la técnica de Grant (109).

En el Apéndice se detallan las técnicas de ICH,AC,ALA-D y AC en Allium Cepa L.

- 4 - Evaluación estadística de los resultados**
- 4.1 - Comparación entre grupos con test "t" de Student y test de Xi cuadrado (136)**
- 4.2 - Correlación entre variables dentro de cada grupo (Test de Pearson).**
- 4.3 - Control de los tipos de aberraciones excluyendo gaps (Test de Kolmogorov-Smirnov) (136).**
- 4.4 - Análisis de datos discontinuos. Muestras independientes pequeñas (Test de la probabilidad exacta de Irwin-Fisher) (136).**

D - RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla II establece el grado de diferencia obtenido mediante el test "t" de Student para cada variable entre personas expuestas y controles. Las variables significativamente alteradas fueron: ICH, AC, Pb, ALA-D, AcU y GGT en tanto que Cre, Ldh, FA, GOT, GPT, 5'-N, AFP y CEA permanecieron inalteradas. Los análisis de correlación entre las variables en individuos expuestos (Tabla III) muestran una buena correlación, las que estuvieron significativamente modificadas.

Las variables alteradas ICH y AC se consideran de mucha importancia dado que en la bibliografía hay resultados contradictorios sobre la acción clastogénica de este metal. Las aberraciones cromosómicas cubren diferentes tipos de modificaciones de la estructura cromosómica. Se puede considerar en primer término la interrupción de la continuidad de una o ambas cromátides, tal como una rotura (o gap). El segundo tipo morfológico de aberración cromosómica consiste en intercambio cromosómico. En éste, hay un desplazamiento de una parte del cromosoma a otra parte del mismo cromosoma (intercambio entre un cromosoma) o a otro cromosoma (intercambio entre dos cromosomas). En los test mutagénicos también se analizan los intercambios entre las dos cromátides de un cromosoma: es el ICH que puede ocurrir con o sin pérdida del material cromosómico.

La alteración que se observó con más frecuencia en este estudio fue el gap. Se puede definir como una completa interrupción en la continuidad cromosómica por desplazamiento. Este tipo de modificación es observada a menudo después de tratamientos con radiación ionizante y ciertos agentes químicos. En el microscopio óptico se observa que algunos gaps están entrecruzados por fibra cromatínica, lo mismo ocurre en el microscopio electrónico, se observan algunas veces, fibras cromatínicas.

La aplicación de una técnica citogenética sencilla mostrando la diferencia entre cromátides hermanas (137) reveló la existencia de ICH y el incremento de ellas después de la exposición a mutágenos (138). Estos ICH parecen comprender intercambios de tamaños similares en regiones de cromátides hermanas. Estas regiones son completamente idénticas;

TABLA II. VARIABLES ESTUDIADAS. CARACTERISTICAS Y COMPARACION ENTRE GRUPOS

Variables	CONTROLES (45)				EXPUESTOS (60)				"t"	
	Mínimo	Máximo	\bar{X}	DS	Mínimo	Máximo	\bar{X}	DS		
ICH	3.01	5.88	4.27	0.65	3.98	13.43	8.08	2.42	11.66	**
└─ Gaps	0.00	3.00	0.51	0.69	0.00	9.00	2.63	2.34	6.63	**
AC ┌─ Ct	0.00	2.00	0.31	0.51	0.00	1.00	0.52	0.50	2.05	**
└─ Cr	0.00	1.00	0.15	0.37	0.00	2.00	0.47	0.53	3.53	**
Pb ug%	8.00	26.00	20.60	3.45	16.00	99.30	54.65	22.40	11.64	**
ALA-D U/l	30.10	45.50	39.33	3.99	10.10	44.10	24.17	9.71	10.92	**
AcU mg%	38.60	70.50	54.09	10.83	47.20	106.70	66.91	10.77	6.01	*
Cre mg/l	6.50	13.50	9.37	1.28	6.20	9.50	7.87	0.93	0.65	NS
Ldh UK%	210.00	410.00	289.68	57.32	210.00	380.00	301.70	45.84	1.19	NS
FA UKA%	5.40	13.50	9.56	1.85	6.30	19.20	10.07	2.77	1.14	NS
GOT UI	3.00	11.00	7.31	2.06	4.10	32.70	9.40	4.43	1.23	NS
GPT UI	5.20	12.10	8.79	1.83	4.00	39.10	11.58	6.56	1.13	NS
5'-N U/l	2.10	8.10	4.21	1.48	1.90	11.10	5.15	2.33	1.51	NS
GGT U/l	6.00	22.00	11.75	3.91	10.00	169.00	30.08	25.59	5.43	**
AFP ng/ml	2.30	10.70	4.82	2.61	1.00	12.10	4.95	2.53	0.92	NS
CEA ng/ml	2.00	4.30	3.10	2.03	2.10	4.70	3.40	2.52	0.37	NS

\bar{X} : media ; DS : desvío standard; "t" : test "t" de Student ; ** : p < 0.01 ; * : p < 0.05; NS : no significativo

TABLA III. COEFICIENTES DE CORRELACION ENTRE VARIABLES EN INDIVIDUOS EXPUESTOS.

	ICH	Gaps	Ct	Cr	Pb	ALA-D	AcU	Cre	Ldh	FA	GOT	GPT	5N	GGT	AFP	CEA
ICH	1															
Gaps	.87**	1														
Ct	.47**	.33**	1													
Cr	.05	.07	.03	1												
Pb	.91**	.85**	.49**	.09	1											
ALA-D	-.80**	-.71**	-.51**	.07	-.87**	1										
AcU	.46**	.51**	.19	-.20	.44**	-.33**	1									
Cre	.05	.03	-.12	.07	.03	.08	.09	1								
Ldh	.09	.04	.02	-.05	.00	-.14	-.07	-.02	1							
FA	.11	.08	-.00	.16	-.03	.13	-.04	.04	.09	1						
GOT	.23	.07	.28	-.17	.20	-.29	.31	-.08	.29*	-.08	1					
GPT	.34*	.22	.24	-.02	.34*	-.37*	.27	-.18	.04	-.08	.87**	1				
5N	.44**	.39**	.27*	.16	.46**	-.34**	.12	.21	.02	.19	-.23	-.17	1			
GGT	.18	.26*	.17	-.28*	.17	-.23	.28	.14	-.03	-.02	.27*	.21	-.14	1		
AFP	-.09	-.04	-.20	.09	-.06	.13	.02	-.23	-.28	.21	-.22	-.22	.00	-.05	1	
CEA	.31*	.16	.10	.18	.37**	-.26*	-.04	.10	.22	.29*	-.28*	-.23	.60**	-.25	-.01	1

Test de Pearson, (Ho) $r = 0$; **: $p < 0.01$; *: $p < 0.05$.

la región de unión comprende un extremo unido o un único brazo cubierto (139).

Basados en los niveles de Pb en sangre y considerando trabajos previos (140,141) se establecieron tres grupos de individuos expuestos que denominamos A(20-40 ug%), B(40-60 ug %) y C (más de 60 ug%). En la tabla IV se observan los resultados del estudio de los ICH. El aumento de éstos (Fig.1) en la gente expuesta y su relación con la plumbemia confirma lo obtenido en un estudio previo similar (63). Grandjean y col. (62) encontraron una correlación significativa entre el número de ICH y la zinc protoporfirina en hombres ocupacionalmente expuestos al plomo. No encontraron correlación entre ICH y plomo. El porcentaje de ICH decreció cuando la exposición al plomo cesó. Esto concuerda con lo hallado previamente por nosotros (63). Los niveles de protoporfirina reflejan exposición prolongada y lo mismo que los ICH son inducidos después de este tipo de exposición. El descenso de ICH con el alejamiento de la exposición indica que es un "proceso reversible". Esta Tabla permite distinguir claramente dos grupos que presentan incrementos en los ICH con respecto al control (grupos B y C).

La Tabla V muestra los resultados de las AC en donde las frecuentes alteraciones que más presentaron los cromosomas fueron los gaps (Fig.2). El neto predominio de estos en las células lo podemos apreciar en esta Tabla. Sólo en los individuos del grupo A no se encontró diferencia con respecto a los controles. Esta evidencia de aumento de gaps en los cromosomas de los grupos más expuestos confirma, juntamente con el incremento de ICH la acción clastogénica de este metal. Se pueden mencionar diversos trabajos en donde se obtuvieron incrementos de AC en individuos ocupacionalmente expuestos (53, 54, 142).

El efecto de diversas concentraciones de plomo sobre el crecimiento longitudinal de la raíz de *Allium Cepa* se observa en (Fig.3). El tratamiento con 50,100 y 200 ppm detiene el crecimiento a partir de las 24 h sin que ello se deba a muerte radicular. Con 0.1, 1.0 y 10.0 ppm disminuye la velocidad de crecimiento radicular en relación a la dosis. Estos resultados confirman que el plomo produce una inhibición del crecimiento radicular cuya intensidad depende de su concentración en el medio.

En el estudio seguido de proliferación celular se observó que la frecuencia de células

TABLA IV. INTERCAMBIO DE CROMATIDES HERMANAS POR CELULA EN TRABAJADORES EXPUESTOS AL PLOMO Y CONTROLES.

	Número	Pb ug%	Edad (años) (media + DS)	Tiempo de exposición (años) (media + DS)	ICH/Célula (media + DS)
Controles	45	20.6	37.6 + 6.0	-	4.3 + 0.6
Grupo A	23	23.2	38.4 + 6.3	16.1 + 9.4	5.8 + 0.84
Grupo B	26	50.4	37.8 + 7.1	11.5 + 8.0	8.0 + 1.06**
Grupo C	11	86.9	34.2 + 9.1	8.4 + 7.5	11.8 + 0.89 **

Test "t" de Student; **: p < 0.001



Fig. 1. Intercambio de cromátides hermanas . Metafase de linfocitos humanos de este estudio en donde se observa que las cromátides más teñidas están formadas por una cadena de ADN con BUdR y una cadena sin BUdR. Las cromátides menos coloreadas tienen ambas cadenas de ADN con BUdR .

TABLA V. ABERRACIONES CROMOSOMICAS EN TRABAJADORES EXPUESTOS AL PLOMO Y CONTROLES

	Metafasas contadas	Células con aberrac. tipo cromátide (%)		Células con aberrac. tipo cromosomas (%)		Total de células con AC %	
		con gaps	sin gaps	con gaps	sin gaps	con gaps	sin gaps
Controles	4500	0.50	0.32	0.20	0.21	0.70	0.53
Grupo A	2300	0.60	0.23	0.41	0.50	1.01	0.73
Xi cuadrado (p=)		0.70	0.98	0.83	0.81	0.07	0.70
Kolmogorov-Smirnov test (p=)		0.80	0.91	0.10	0.78	0.11	0.90
Grupo B	2600	2.30	0.64	1.80	0.41	4.10	1.05
Xi cuadrado (p=)		0.02	0.07	0.02	0.03	0.01	0.003
Kolmogorov-Smirnov test (p=)		0.03	0.05	0.01	0.02	0.01	0.005
Grupo C	1100	6.45	0.70	5.85	0.41	12.30	1.11
Xi cuadrado (p=)		0.02	0.03	0.01	0.03	0.01	0.003
Kolmogorov-Smirnov test (p=)		0.03	0.06	0.01	0.03	0.01	0.005

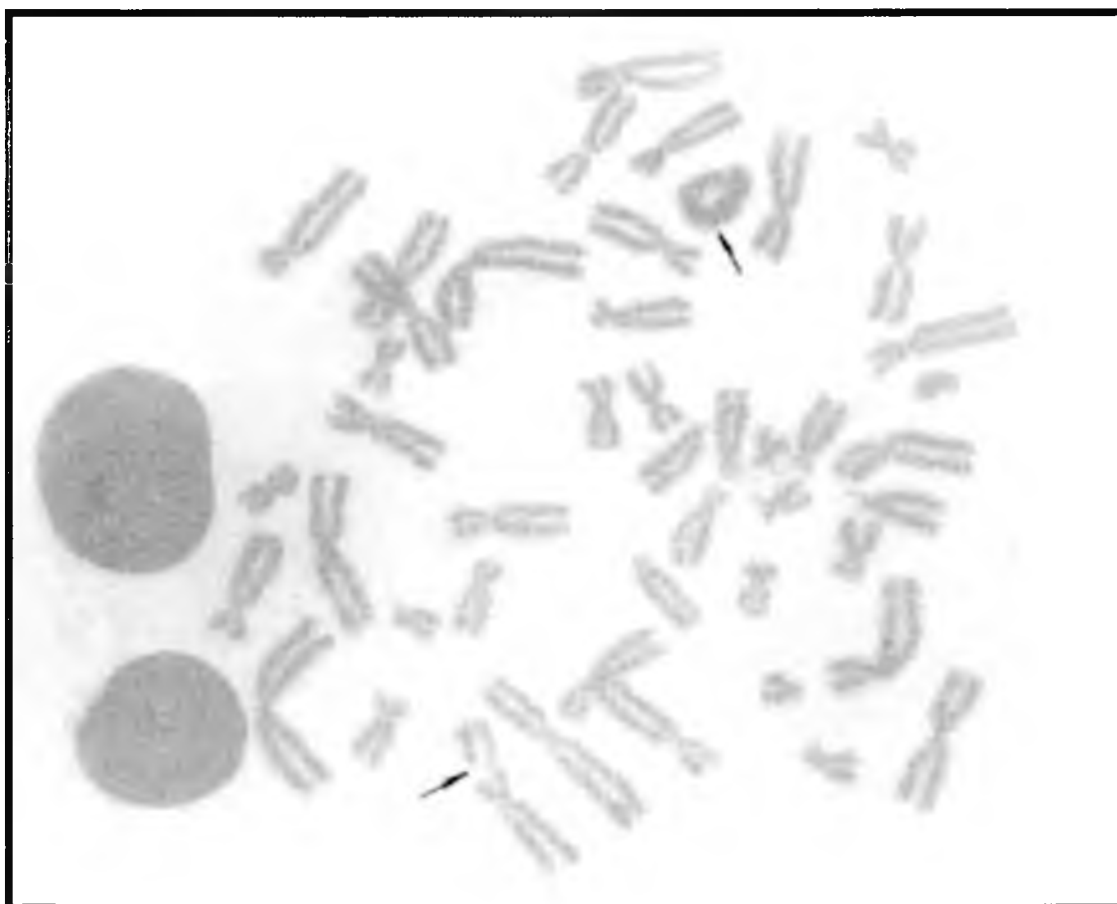


Fig. 2 . Aberraciones cromosómicas . Metafase de linfocitos humanos de este estudio en donde se observan cromosomas con rotura cromatídica y anillo.

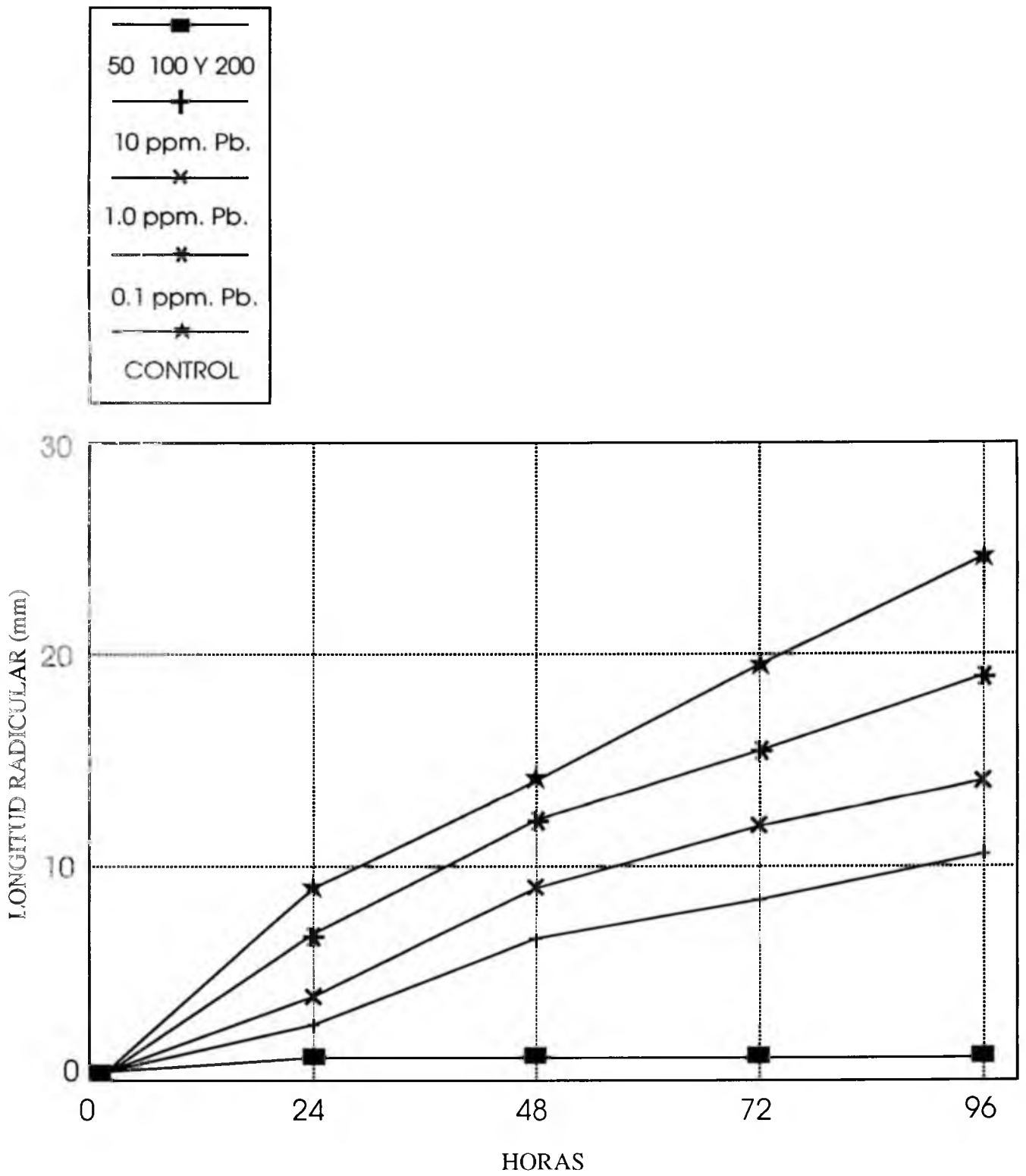


Fig.3 . Efecto del Pb sobre crecimiento longitudinal de la raíz

en mitosis disminuyó progresivamente con las concentraciones más altas de plomo (Fig.4) alcanzando un mínimo hacia las 24 h de tratamiento. Esta inhibición fue transitoria, puesto que se observó una recuperación de la actividad proliferativa hacia las 48 h de incubación con plomo. Estos resultados sugieren que el plomo bloquea el ciclo de división celular en una etapa anterior a la mitosis y que el bulbo de cebolla presenta mecanismos de eliminación o neutralización del plomo. Finalmente, cuando se sometió a concentraciones de 0.1, 1.0 y 10.0 ppm la frecuencia de células en mitosis fue similar a la de los controles.

El estudio de las AC se realizó con concentraciones de plomo de 0.1, 1.0 y 10.0 ppm ya que las concentraciones 50, 100 y 200 ppm detienen el crecimiento de las raíces a las 24 h. Los datos de la frecuencia de células aberrantes a las concentraciones estudiadas se muestran en la Tabla VI. Se observa un leve aumento de la frecuencia de aberraciones en la concentración más alta 10.0 ppm de plomo con respecto al control positivo. Cuando se aplicó el test de la probabilidad exacta de Irwin-Fisher (Z) (136) se realizó con el total de células aberrantes dado que a la concentración de 10 ppm solo hubo roturas y células binucleadas a diferencia del control positivo. El resultado fue de Z: 6,25 (> 1,96) significativo al 0.001. Las AC encontradas fueron gaps y células binucleares. En las Figs. 5 y 6 se muestran algunas de estas alteraciones y en las Figs. 7 y 8 se observan el control negativo y positivo.

Varios estudios de mutagenicidad en plantas han sido capaces de demostrar la genotoxicidad del plomo (69, 70, 71, 72). El test de *Allium Cepa* L. posee una excelente correlación con sistemas mamíferos (109).

Las AC más frecuentes tanto en *Allium* como en humanos fueron los gaps. Este hallazgo es muy interesante en cuanto a que la rotura o gap puede ser considerada como el daño cromosómico más importante en intoxicación ocupacional por plomo. Sin embargo se debe seguir estudiando sobre este tema.

Con respecto a otra de las variables alteradas, la plumbemia, a través de la cual se establecieron distintos grupos de exposición al Pb, y no obstante ser el parámetro que categoriza la intoxicación en poblaciones ocupacionalmente expuestas, no nos permite

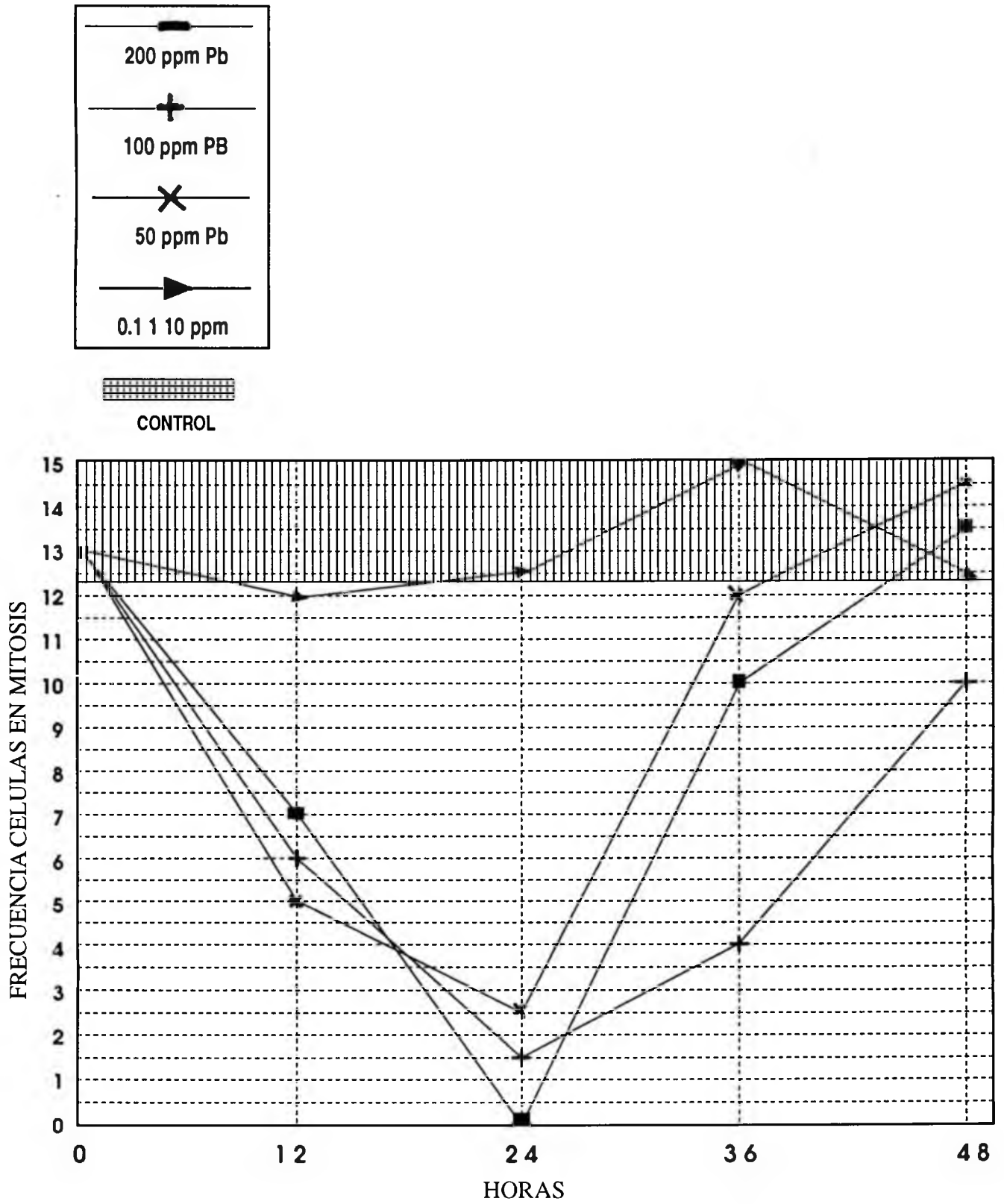


Fig. 4 . Efecto del Pb sobre actividad del meristema radicular

TABLA VI. TIPO Y FRECUENCIA DE LAS ABERRACIONES CROMOSOMICAS INDUCIDAS POR EL PLOMO EN RAICES DE ALLIUM CEPA L.

Conc. de nitrato de plomo	Total de células	Cél.en división	ANORMALIDAD					% de células aberrantes con respecto al:		
			Gaps	Puntos	alarg. (1)	modif.met.anaf. (2)	cél.binuc. (3)	total aberrac.	n.de cél. contadas	n.de cél. en div.
0.1 ppn	5000	385	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0 ppn	5000	371	-	-	-	-	-	-	-	-
10.0 ppn	5000	390	6	-	-	-	3	9**	0.18	2.3
Control negativo	5000	365	-	-	-	-	-	-	-	-
Control positivo *	5000	373	9	10	20	8	2	59	1.18	21.6

* Etilmetilsulfóxido (0.2%).

(1) Alargamiento.

(2) Modificación del pasaje metafase-anafase.

(3) Células binucleadas.

** Z= 6,25 significativo al 0.001. (136)

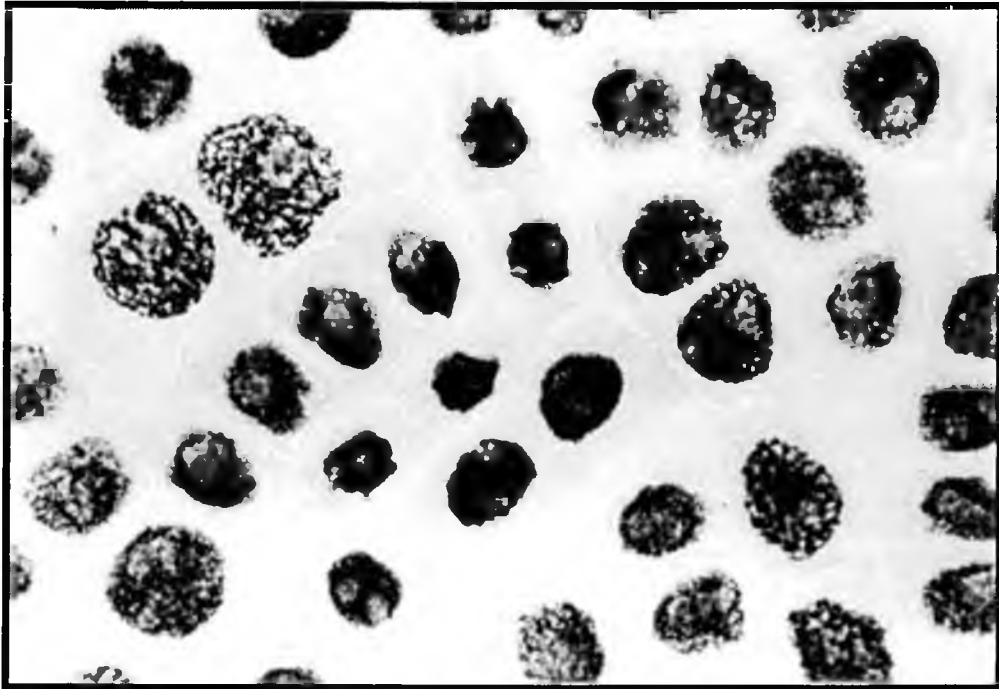


Fig. 5. Células binucleadas en Allium.



Fig. 6. Aberraciones cromosómicas . Metafase de Allium de este estudio en donde se observan cromosomas con roturas cromatídicas.

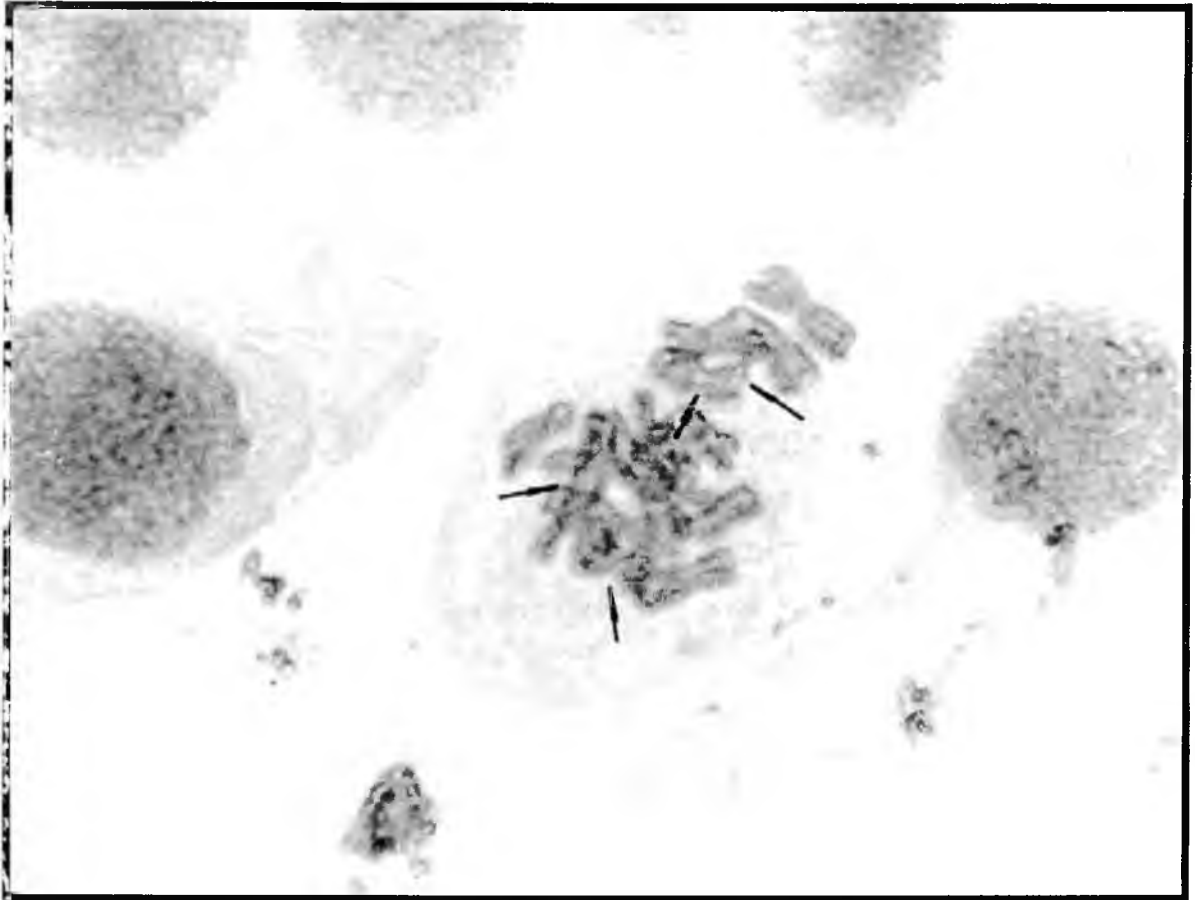


Fig. 7. Control positivo . EMS al 0.2% . Se observan cromosomas con gaps , alargamiento y punto.



Fig. 8. Control negativo . Agua corriente filtrada. Se observan cromosomas normales.

determinar una real indicación de intoxicación ya que es aún desconocido el nivel de plomo responsable de los distintos efectos biológicos del mismo.

La ALA-D es una zinc metaloenzima cuya inhibición por plomo es el primer y más sensible indicador de exposición al mismo. Esta enzima de la biosíntesis del Hem está codificada por un gen localizado en el cromosoma 9 q 34, que tiene dos alelos comunes ALA-D 1 y ALA-D 2. En una población de New York, expuesta al plomo, individuos heterocigotas u homocigotas por lo menos al alelo ALA-D 2 tuvieron un nivel de plomo en sangre mayor o igual que 30 ug/dl, más frecuente que lo esperado. Este hallazgo sugiere una potencial susceptibilidad genética a la intoxicación por plomo en individuos con el fenotipo ALA-D 2-2 probablemente porque la subunidad ALA-D 2 se une más fuertemente al plomo que la ALA-D 1 (143).

Los primeros que demostraron la relación entre plomo y ALA-D fueron Nakao y col. (144) en un grupo de 12 hombres expuestos al plomo.

Con respecto a la relación entre AcU e intoxicación plúmbica, Emmerson y col. (121) en 13 casos de insuficiencia renal debida al plomo revelaron alteración en la excreción de ácido urico. Los autores sugirieron un incremento de la reabsorción tubular teniendo en cuenta la disminución del clearance de ácido urico observado. Goyer y col (145) encontraron cambios irreversibles a nivel renal manifestados por hiperazotemia e hiperuricemia en ratas tratadas con plomo. Algunos investigadores como Myers y Killian (146) y Varela (147) determinaron que en las lesiones crónicas del riñon con insuficiencia renal, al ácido urico es el compuesto nitrogenado que primero aumenta, antes que la urea y la creatinina. Emmerson (148) y Morgan y col. (149) encontraron resultados similares; hallaron una frecuente asociación entre insuficiencia renal crónica y gota. Los resultados de AcU hallados en este estudio revelan que están ligeramente aumentados con respecto a los valores normales en el grupo con alto contenido de plomo en sangre. Hay que considerar en esta variable un factor exógeno que influye sobre la misma, la alimentación; de acuerdo a ésta, pueden hallarse valores altos de AcU y no deberse a la acción del plomo. Además poco es conocido acerca de la cantidad del metal como también el tiempo de exposición que

puede producir daños en el riñón.

La GGT es una enzima de membrana (plasmática o reticuloendoplásmica) que está ampliamente distribuída en el organismo. Los principales órganos en los que se encuentra actividad GGT en orden decreciente son: riñón, vesículas seminales, páncreas, hígado, bazo y cerebro. Esta enzima es influenciada por cualquier factor que afecte a las membranas celulares de los órganos que la contienen. Lum y Gambino (150) hallaron aumento de actividad de la GGT en distintas formas de daño hepático como: hepatitis viral, cirrosis, colecistitis, carcinoma metastásico de hígado, carcinoma pancreático, granuloma de hígado y pancreatitis aguda. Rosalky y Rau (151) encontraron elevada actividad de la enzima GGT en alcohólicos sin evidencia clínica de daño hepático. Cuando se comparó con las transaminasas hubo mayor respuesta de GGT. Rosalky y col. (152) encontraron elevada actividad de GGT en pacientes que recibieron tratamiento con drogas, ya sea para epilepsia o depresión. Tanto el alcohol como ciertas drogas podrían producir daño microsomal o inducción enzimática.

En este estudio se observa un leve aumento de esta enzima en los grupos con moderado y alto contenido de plomo en sangre. El plomo puede aumentar la actividad de la GGT y además no hay que dejar de tener en cuenta el consumo de alcohol o medicamentos, por que a pesar de que en el interrogatorio previo se eliminaron a aquellas personas que presentaron estas características, es posible que lo hayan negado y estuvieran consumiendo bebidas alcohólicas o medicamentos.

Entre las variables que no se modificaron podemos mencionar la Cre. Es uno de los compuestos nitrogenados que aumenta más tardíamente en la insuficiencia renal. Puede aumentar en algunos estados infecciosos sin alteración renal demostrable. En la insuficiencia renal avanzada, alcanza valores altos. No hay siempre paralelismo entre retención de urea y creatinina (146). Según Koster y col. (153) no existe correlación entre creatinina y plomo.

En cuanto a la Ldh se encontraron valores normales. Hay controversia en los resultados hallados por distintos investigadores, de la actividad de esta enzima y cáncer,

como así también su utilización como marcador tumoral. Hill y Levi (154) pudieron comprobar en el 96% de sus pacientes con tumores, elevada actividades de Ldh sérica. Merten y Solbach (155) encontraron, en estado precoz de afección tumoral, valores elevados medios de la actividad de la Ldh en el suero.

Este trabajo trató de establecer alguna asociación entre marcadores tumorales y plomo. Mientras que actividades normales de Ldh sérica no excluyen la presencia de un tumor maligno, los valores muy elevados pueden apoyar un diagnóstico sospechoso si se excluyeran otras afecciones para las que se conocen la presencia de altas actividades de Ldh (anemia perniciosa, shock grave, intoxicación, infarto cardíaco).

Similares resultados a los obtenidos en el presente estudio sobre la FA fueron descritos por Koster y col. (153).

Hay pocos estudios sobre los efectos del plomo y transaminasas. Se puede mencionar el trabajo de Cooper y col. (156) en trabajadores de una fundición de plomo, quienes encuentran una correlación estadísticamente significativa entre el nivel de plomo en sangre y transaminasas. Pero como hubo ausencia de información en cuanto a la dieta, infecciones o hábitos personales, los autores no dieron una definitiva conclusión concerniente a la etiología de estos cambios.

En la variable 5'-N también se encontraron valores normales. Esto estaría en parte relacionado con la FA ya que la 5'-N es una fosfatasa específica que en el hígado, está localizada en las membranas canaliculares en forma similar a la FA.

El presente es el primer trabajo que trata de vincular marcadores tumorales con un tóxico como el plomo que no tiene evidencias concretas como causal de cáncer. No existen en la bibliografía antecedentes sobre la acción del plomo en humanos expuestos durante largos períodos de tiempo y la actividad de AFP, CEA o Ldh.

E - CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo permiten determinar algunos aspectos de la acción genotóxica del plomo:

- 1 - El plomo en humanos expuestos se comporta como un agente clastogénico
Las alteraciones más frecuentemente observadas en los cromosomas humanos fueron el aumento de los ICH como así también los gaps o roturas cromatídicas. El contenido de plomo en sangre y la duración de la exposición están relacionados con los daños genotóxicos que ocurren en humanos.
- 2 - En células vegetales (*Allium cepa* L.) tratadas con plomo se observó un incremento de roturas cromatídicas.

Por otra parte, se sugiere la aplicación de técnicas bioquímicas que son de ayuda para el diagnóstico de intoxicación; además de las ya conocidas correlaciones entre parámetros bioquímicos y exposición al plomo, este estudio indica que:

- 1 - La GGT es más sensible que la GOT y GPT en el control hepático de la intoxicación por plomo.
- 2 - Los niveles séricos de Ldh, AFP y CEA no presentan modificaciones.

F - REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 1 - U.S.EPA. Air quality criteria for lead. Washington, D.C., Environmental Protection Agency EPA. 600:8-83, 1986a.
- 2 - WHO. Environmental Health Criteria 3, Lead. World Health Organization. Geneva, pp. 21-86. 1977.
- 3 - Lilis, R. Prevalence of lead disease among secondary-lead smelter workers and biological indicators of lead exposure. *Environ.Res.* 14:255-285. 1977.
- 4 - Nordenson,I.; Beckman,G.; Beckman,L. y Nordstrom,S. Occupational and environmental risk in and around a smelter in northern Sweden. IV. Chromosomal aberrations in workers exposed to lead. *Hereditas* 88:263-267. 1978b.
- 5 - Pegues,W. Lead fume from welding an galvanized and zinc-silicated coated steels. *J.Am.Ind.Hyg.Assoc.*21:252-255. 1960.
- 6 - Grandjean,P. y Kon,S.H. Lead exposure of welders and bystanders in a shio repair yard. *Am.J.Ind.Med.* 2:65-70. 1981.
- 7 - U.S.EPA. Ambient water quality criteria for lead. Office of water regulations and standards. Washington, D.C.Environmental Protection Agency. EPA.440:5-80, 1980.
- 8 - National Academy of Sciences. Drinking water and health. A report of the safe drinking water committee, board on toxicology and environmental health hazards, assembly of life sciences, National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C. pp. 9-15, 1982.
- 9 - U.S.EPA. Reducing lead in drinking water: A benefit analysis (Draft final report). Office of policy, planning and evaluation. Washington, D.C. Environmental Protection Agency. EPA. 230:9-86, 1986b.
- 10 - Greathouse,D.; Craun,G. y Worth,D. Epidemiologic study of the relationship between lead in drinking water and blood lead levels. pp. 9-24. In: D. Hemphill, ed. Trace substances in environmental health: A symposium. Vol.10. University of Missouri, Columbia, Mo. 1976.
- 11 - National Academy of Sciences. Drinking water and health. A report of the safe drinking water committee, advisory center on toxicology, assembly of life sciences. National Research Council, National Academy of Sciences, Washington, D.C.pp. 17-23. 1977.

- 12 - Pocock, S. Factors influencing household water lead: A British National Survey. *Arch. Environ. Health* 35:45-51. 1980.
- 13 - Linzon, S.; Chai, B.; Temple, P.; Pearson, R. y Smith, M. Lead contamination of urban soils and vegetation by emissions from secondary lead industries. *J. Air. Pollut. Control Assoc.* 26(7): 650-654. 1976.
- 14 - Eldwood, W.; Clayton, B.; Cox, R.; Delves, H.; King, E.; Malcolm, D.; Ratcliffe, J. y Taylor, J. Lead in human blood and in the environment near a battery factory. *Brit. J. Prevent. and Soc. Med.* 31:154-163. 1977.
- 15 - Landrigan, P. y Baker, E. Exposure of children to heavy metals from smelters: Epidemiology and toxic consequences. *Environ. Res.* 25:204-224. 1981.
- 16 - Getz, L.; Haney, A.; Larimore, R.; McNurney, J.; Leland, H. y Price, P. Transport and distribution in a watershed ecosystem. In: Boggess, W. (ed.) . *Lead in the environment*. National Science Foundation; NSF Report n. NSF/RA - 770214:105-133. 1977.
- 17 - Dedolph, R.; Terhaar, G.; Holtzman, R. y Lucas, H. Sources of lead in Perennial Ryegrass and Radishes. *Environ. Sci. Technol* 4:217-223. 1970.
- 18 - Nicklow, C.; Comas-Haezebrouck, P.H. y Feder, W.A. Influence of varying soil lead levels on lead uptake of leafy and root vegetables. *J. Am. Soc. Hortic. Sci* 108:193-195. 1983.
- 19 - Welch, W.R. y Dick, D. Lead concentrations in tissues of Roadside mice. *Environ. Pollut.* 8:15-21. 1975.
- 20 - Nasralla, M. y Ali, E. Lead accumulation in Edible Portions of crops grown near Egyptian traffic roads. *Agric. Ecosys. Environ.* 13:73-82. 1985
- 21 - U.S. Food and Drug Administration. Status report on lead, FDA Market Basket Survey. Washington, D.C. pp.10-15. 1970.
- 22 - Schroeder, H.; Balassa, J.; Gibson, F. y Valanju, S. Abnormal trace metals in man. *Lead J. Chron. Dis.* 14:408-425. 1961.
- 23 - U.S. Food and Drug Administration. Market Basket Survey: Preliminary results for lead analysis. U.S. Environmental Protection Agency, Environmental criteria and assessment office, Research Triangle Park, NC. pp.16-35. 1985.

- 24 - Gartrell, M.; Croun, J.; Podrebarac, D. y Gunderson, E. Chemical contaminants monitoring: Pesticides, selected elements, and other chemicals in infants and Toddler total diet samples, October 1989-March 1982. *J. Assoc.Off.Anal.Chem.* 69:123-161. 1986.
- 25 - Waldron, H. y Stofen, D. Subclinical lead poisoning. Academic Press, London, New York. pp. 35-45. 1974.
- 26 - Rabinowitz, M.; Wetherill, G. y Kopple, J. Lead metabolism in the normal human: stable isotope studies. *Science.* 182:725. 1973.
- 27 - Rabinowitz, M.; Wetherill, G. y Kopple, J. Kinetic analysis of lead metabolism in health humans. *J.Clin.Invest.* 58:260-270. 1976.
- 28 - Barry, P. A comparison of lead in human tissues. *Br.J.Ind.Med.* 32:119-139. 1975.
- 29 - De Silva, P. Determination of lead in plasma and studies on its relationship to lead in erythrocytes. *Br.J.Ind.Med.* 38:209-217. 1981.
- 30 - Barltrop, D. y Smith, A. Interaction of lead with erythrocytes. *Experientia* 27:92-93. 1971.
- 31 - Annett, J.; Mahaffey, K; Cox, D. y Roberts, J. Blood lead levels for persons 6 months - 74 years of age: United States 1976-1980. Advance data from vital and health statistics N 79. DHHS Pub.N (PHS) 82-1250. National Center for Health Statistics. pp.1-24. 1982.
- 32 - U.S. Department of Health, Education and Welfare. Center for disease control: Preventing lead poisoning in young children: A statement by the centers for disease control. January pp. 1-35. 1985.
- 33 - Al-Naimi, T.; Edmonds, M. y Fremlin, J. The distribution of lead in human teeth, using charged particle activation analysis. *Phys.Med.Biol.* 25:719-726. 1980.
- 34 - Needleman, H.; Gunnde, C.; Leviton, A.; Reed, R.; Peresie, H.; Maher, C. y Barrett, P. Deficits in psychologic and class room performance of children with elevated dentine lead levels. *N.Eng.J.Med.* 300:689-695. 1979.
- 35 - Delves, H.; Clayton, B.; Carmichael, A. Bubear, M. y Smith, M. An appraisal of the analytical significance of tooth-lead measurements as possible indices of environmental exposure of children to lead. *Ann Clin Biochem* 19:329-337. 1982.

- 36 - Chamberlain, A.C.; Heard, M.J.; Little, P.; Newton, D.; Wells, A.C. y Wiffen, R.D. Investigations into lead from motor vehicles. Harwell, United Kingdom: United Kingdom Atomic Energy Authority, Report N AERE-R 9198. pp.125-130. 1978.
- 37 - Morrow, P.E.; Beiter, H.; Amato, F. y Gibb, F.R. Pulmonary retention of lead: An experimental study in man. *Environ.Res.* 21:373-384. 1980.
- 38 - Gross, S.B. Human oral and inhalation exposure to lead: summary of Kehoe balance experiments. *J.Toxicol. Environ. Health.* 8:333-377. 1981.
- 39 - Chamberlain, A. y Heard, M. Lead tracers and lead balances In: Lynam, D.R., Piantanida, L. and Cole, J., (ed). *Environmental lead: Proceedings of the Second International Symposium on environmental lead research; December 1978; Cincinnati, OH.* New York, NY: Academic Press; pp. 175-198 (Coulston, F., Korte, F., eds) *Ecotoxicology and Environmental Quality Series.* 1981.
- 40 - Kehoe, R.A. The metabolism of lead in man in health and disease: The normal metabolism of lead (The Harben Lectures, 1960). *J.R.Inst.Public Health Hyg.* 24:81-97. 1961.
- 41 - Harrison, G.E.; Carr, T.E.F.; Sutton, A. y Humphreys, E.R. Effect of alginate on the absorption of lead in man. *Nature (London)* 224:1115-1116. 1969.
- 42 - Rabinowitz, M.B. Wetherill, G.W. y Kopple, J.D. Studies of human lead metabolism by use of stable isotope tracers. *Environ. Health Perspect.* 7:145-153. 1974.
- 43 - Rabinowitz, M.B.; Kopple, J.D.; Wetherill, G.W. Effect of food intake and fasting on gastrointestinal lead absorption in humans. *Am. J.Clin.Nutr.* 33:1784-1788. 1980.
- 44 - Rabinowitz, M.B. y Needleman, H.L. Temporal trends in the lead concentrations of umbilical cord blood. *Science (Washington, D.C.)* 216:1429-1431. 1982.
- 45 - Alexander, F.W. y Delves, H.T. Blood lead levels during pregnancy. *Int Arch. Occup. Environ.Health* 48:35-39. 1981.
- 46 - Leonard, A. y Gerber, G. Genetic hazards of lead poisoning. *Ann. Gembloux.* 79:109-119. 1973.
- 47 - IARC. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risk of chemicals to man. Volume II. Lyon. France. pp.184. 1976.

- 48 - Damstra, T. Toxicological properties of lead. *Environ. Health. Perspect.* 19:297-307. 1977.
- 49 - Gerber, G. ; Leonard, A. y Jacquet, P. Toxicity, mutagenicity and teratogenicity of lead. *Mutat.Res.* 76:115-141. 1980.
- 50 - IARC. Lead and lead compounds. In: International agency for research on cancer monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals to humans: some metals and metallic compounds; October 1979; Lyon, France, Geneva, Switzerland: World Health Organization/IARC. 23:325-416. 1980.
- 51 - Leonard, A.; Gerber, G.B.; Jacquet, P. y Lawreys, P.P. Metals. In: Micheline Kirsch-Volders (ed). *Mutagenicity, Carcinogenicity and Teratogenicity of industrial pollutants*. Plenum Press. New York. pp. 84-85. 1984.
- 52 - Schlag, R. Lead. In: Lawrence Fishbein, Arthur Furst, Myron Mehlman (ed). *Genotoxic and Carcinogenic Metals: Environmental and Occupational Occurrence and Exposure*. Princeton Scientific Publishing Co., Inc. New Jersey. USA. pp. 211-243. 1987.
- 53 - Forni, A.; Sciame, A.; Bertazzi, P.A. y Alessio, L. Chromosome and biochemical studies in women occupationally exposed to lead. *Arch . Environ . Health.* 35:139-146 1980.
- 54 - Beek, B. y Obe, G. Effect of lead acetate on human leucocyte chromosomes in vitro. *Experientia.* 30:1006-1007. 1974.
- 55 - Beek, B. y Obe, G. The human leukocyte test system: VI. The use of sister chromatid exchanges as possible indicators for mutagenic activities. *Humangenetik.* 29:127-134. 1975.
- 56 - Deknudt, G. y Deminatti, M. Chromosome studies in human lymphocytes after in vitro exposure to metal salts. *Toxicology,* 10:67-75. 1978.
- 57 - Deknudt, G.; Colle, A. y Gerber, G.B. Chromosomal aberrations in lymphocytes from monkeys poisoned with lead. *Mutat. Res.* 454:77-83. 1977a.
- 58 - Deknudt, G. y Gerber, G.B. Chromosome aberrations induced by heavy metals in bone marrow cells of mice fed a normal or calcium-deficient diet supplemented with different heavy metals. *Mutat.Res.* 68:163-168. 1979.
- 59 - Mahaffey, K. Biototoxicity of lead: Influence of various factors. *Fed. Proc. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 42:1730-1734 . 1983.

- 60 - Bauchinger, M. y Schmid, E. Chromosome analysis in chinese cell cultures after treatment with lead acetate. *Mutat.Res.* 14:95-100. 1972.
- 61 - Dalpra, L.; Tibiletti, M.G.; Nocera, G.; Giulotto, P.; Auriti, L.; Carnelli, V. y Simoni, G. Sister chromatid exchange analysis in children exposed to lead emission from a smelting plant. *Mutat.Res.* 120:249-256. 1983.
- 62 - Grandjean, P.; Wulf, H. y Niebuhr, E. Sister chromatid exchange in response to variations in occupational lead exposure. *Environ.Res.* 32:199-204. 1983.
- 63 - Lerda, D. y Massiero, B. Sister chromatid exchanges in people exposed to lead. *Acta Biochem.Clin.Latinoam.* Vol. XX, 3:355-363. 1986.
- 64 - Stella, M.; Rossi, R.; Martinucci, G.B.; Rossi, G. y Bonfante, A. Budr as a tracer of the possible mutagenic activity of Pb in human lymphocyte cultures. *Biochem.Exp. Biol.* 14:221-231. 1979.
- 65 - Kennedy, G.L. y Arnold, D.W. Absence of mutagenic effects after treatment of mice with lead compounds. *E.M.S. Newsletter* 5:37. 1971.
- 66 - Nestmann, E.R.; Matula, T.I.; Douglas, G.R.; Bora, K.D. y Kowbel, D.J. Detection of the mutagenic activity of lead chromate using a battery of microbial test. *Mutat.Res.* 66:357-365. 1979.
- 67 - Simmon, V.F. In vitro mutagenicity assays of chemical carcinogens and related compounds with salmonella thyphimurium. *J.Natl.Cancer Inst.* 62:893-899.1979.
- 68 - Rosenkranz, H.S. y Poirier, L.A. Evaluation of the mutagenicity and DNA-modifying activity of carcinogens and noncarcinogens in microbial systems. *J.Natl.Cancer Inst.* 62:873-892. 1979.
- 69 - Mukherji, S. y Maitra, P. Toxic effects of lead on growth and metabolism of germinating rice (*Oryza Sativa L*) seeds and mitosis of onions (*Allium cepa L*) root tip cells. *Indian J. Exp. Biol.* 14:519-521. 1976.
- 70 - Reddy, T.P. y Vaidyanath, K. Mutagenic, potentiating and antimutagenic activity of certain metallic ions in the rice genetic system. *Curr. Sci.* 47:513-515. 1978a.
- 71 - Reddy, T.P. y Vaidyanath, K. Synergistic interaction of gamma rays and some metallic salts in the induction of chlorophyll mutants in rice. *Mutat.Res.* 52:361-365. 1978b.

- 72 - Lower, W.R.; Thompson, W.A.; Drobney, V.K. y Yonders, A.F. Mutagenicity in the vicinity of a lead smelter . *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 3:231-253. 1983.
- 73 - Azar, A.; Trochimowicz, H.J. y Maxfield, M.E. Review of lead studies in animals carried out at Haskell Laboratory: Two year feeding study and response to hemorrhage study. In: Barth, D. ; Berlin, A.; Engel, R; Recht, P.; Smeets, J (ed). *Environmental Health aspects of lead: Proceedings, International Symposium; October 1972: Amsterdam, The Netherlands. Luxembourg: Commission of the European Communities pp.199-210.* 1973.
- 74 - Van Esch, B.J.; Van Genderen, H. y Vink, H.H. The induction or renal tumors by feeding of basic lead acetate to rats. *Br. J. Cancer* 16:289-297. 1962.
- 75 - Stoner, G.D.; Shimkin, M.B.; Troxell, M.C.; Thompson, T.L. y Terry, L.S. Test for carcinogenicity of metallic compounds by the pulmonary tumor response in strain a mice. *Cancer Res.* 36:1744-1747. 1976.
- 76 - Dipaolo, J.A.; Nelson, R.L. y Casto, B.C. In vitro neoplastic transformation of Syrian hamster cells by lead acetate and its relevance to environmental carcinogenesis. *Br.J. Cancer* 38:452-455. 1978.
- 77 - Casto, B.C.; Meyers, J. y Dipaolo, J.A. Enhancement of viral transformation for evaluation of the carcinogenic or mutagenic potential of inorganic metal salts. *Cancer Res.* 39:193-198. 1979.
- 78 - Cooper, W.C. Cancer mortality patterns in the lead industry .*Ann.N.Y Acad. Sci.* 271:250-259. 1976.
- 79 - Cooper, W.C. Mortality in employees of lead production facilities and lead batter plants. 1971-1975. In: Lyman, D.R.; Piantanida, L.G.; Cole, J.F. (ed). *Environmental lead: Proceedings of the second international symposium on environmental lead research; December 1978; Cincinnati, OH. New York, N.Y.: Academic Press; pp.11-143* (Coulston, F.; Korte, F. eds). *Ecotoxicology and Environmental Quality Series.* 1981.
- 80 - Cooper, W.C. Mortality among employees of lead battery plants and lead producing plants, 1947-1980. *Scand. J.Work Environ. Health,* 11:331-345. 1985.
- 81 - Baker, E.L.; Goyer, R.A.; Fowler, B.A.; Khettry, U.; Bernard, D.B.; Adler, S.; White, R.D.; Babayan, R. y Feldman, R.G. Occupational lead exposure, nephropathy, and renal cancer. *Am.J.Ind.Med.* 1:139-148. 1980.

- 82 - McMichael, A.J. y Johnson, H.M. Long-term mortality profile of heavily-exposed lead smelter workers. *J.Occup.Med.* 24:375-378. 1982.
- 83 - Nelson, D.J.; Kiremidjian-Schumacher, L. y Stotzky, G. Effects of cadmium, lead and zinc on macrophage-mediated cytotoxicity toward tumor cells. *Environ. Res.* 28:154-163. 1982.
- 84 - Sheffet, A.; Thindi, I.; Miller, A.M. y Louria, D.R. Cancer mortality in a pigment plant utilizing lead and zinc chromates. *Arch. Environ.Health.* 37:44-52. 1982.
- 85 - Selevan, S.G.; Landrigan, P.J.; Stern, F.B. y Jones, J.H. Mortality of lead smelter worker. *Am. J.Epidemiol.* 122:673-683. 1984.
- 86 - Cooper, W.C. y Gaffey, W.R. Mortality of lead workers. In: Cole, J.F. ed. *Proceedings of the 1974 conference on standards of occupational lead exposure.* February 1974; Washington, D.C. *J. Occup. Med.* 17:100-107. 1975.
- 87 - Lauwerys, R.; Buchet, J.P.; Roels, H. y Hubermont, G. Placental transfer of lead, mercury, cadmium and monoxide in women, I. Comparison of the frequency distributions of the biological indices in maternal and umbilical cord blood. *Environ. Res.* 15:278-289. 1978
- 88 - Rabinowitz, M.B. y Needleman, H.L. Temporal trends in the lead concentrations of umbilical cord blood. *Science (Washington, D.C.)* 216:1429-1431. 1982.
- 89 - Carpenter, S.J.; Ferm, V.H. y Gale, T.F. Permeability of the golden hamster placenta to inorganic lead: radioautographic evidence, *Experientia*, 29:311-313. 1973.
- 90 - McClain, R.M. y Becker, B.A. Placental transport and teratogenicity of lead in rats and mice. *Fed. Proc.* 29:347. 1970.
- 91 - McLellan, J.S.; Vonsmolinski, A.W.; Bederka, J.P. y Boulos, B.M. Development toxicology of lead in the mouse. *Fed. Proc.* 33:288. 1974.
- 92 - Paul, C. Etude sur l'intoxication lente par des preparations de plomb; de son influence sur le produit de la conception. *Arch.Gen.Med.* 15:513-533. 1860.
- 93 - Oliver, T. Lead poisoning and the race, in: lead poisoning, Lewis, London, p.192. 1911.
- 94 - Nogaki, K. On the action of lead on the body of lead refinery workers, particularly on the conception, pregnancy and parturition in the case of females and on the vitality of their newborn. *Excerpta Med.* 17:515-516. 1958.

- 95 - Hall, A. Increasing use of leads as an abortifacient. *Br.Med. J.* 1:584-587. 1905.
- 96 - Taussing, F.G. Abortions, spontaneous and induced. *Br.Med.J.* 5:234-250. 1936.
- 97 - Angle, C.R. y McIntire, M.S. Lead poisoning during pregnancy. *Am.J.Dis. Child.* 108:436-439. 1964.
- 98 - Palmisano, P.A.; Sneed, R.C. y Cassady, G. Untaxed wiskey and fetal lead exposure. *J.Pediat.* 75:869-872. 1969.
- 99 - Beattie, A.D.; Moore, M.R. y Golberg, A. Role of chronic Low-level lead exposure in the etiology of mental retardation. *Lancet*, 1:589-598. 1975.
- 100 - Catizone, O. y Gray, P. Experiments on chemicals interference with early morphogenesis of the chick. *J.Exp.Zool.* 87:71-72. 1941.
- 101 - Fabre, M.R. y Girault, M. Contribution a l'etude de l'action des toxiques sur l'embryon de poulet, application an cas du plomb. *C.R.Acad.Sci. (Paris)*. 244:535-538. 1957.
- 102 - Gilani, S.H. Congenital anomalies in lead poisoning. *Obstet.Gynecol.* 41:265-269. 1973a.
- 103 - Hirano, A. y Kochen, J.A. Neurotoxic effects of lead in the chick embryo. *Lab.Invest.* 29:659-668. 1973.
- 104 - Degennaro, L.D. The effects of lead nitrate on the central nervous system of the chick embryo. I.Observations of light and electron microscopy. *Growth.* 42:141-155. 1978.
- 105 - Needleman, H.L. The neurotoxic teratogenic, and behavioral teratogenic effects of lead at low dose: A paradigm for transplacental toxicants. *Prog. Clin.Biol.Res.* 281:279-287. 1988.
- 106 - Ved Brat, S. Study of the chromosome in *Allium Cepa*. *Chromosome.* 16:486-499. 1965.
- 107 - Kihlman, B.A. Actions of chemicals on dividing cells. *Prog. Clin.Biol.Res.* 125:315-320. 1966.
- 108 - Royal Swedish Academy of Science. Evaluation of genetic risks of environmental chemicals. *Ambio* 3. 1973

- 109 - Grant, W.F. Chromosome aberration assays in *Allium*. A report of the U.S. Environmental Protection Agency. Gene-Tox program. *Mutat.Res.* 99:273- 291. 1982.
- 110 - Levan, A. Cytological reactions induced by inorganic salt solutions. *Nature (London)* 156:751. 1945.
- 111 - Ramel, C. The effect of metal compounds on chromosome segregation. *Mutat.Res.* 21:45-46. 1973.
- 112 - Gebhart, E. Heavy metal induced chromosome damage. *Life chemistry reports*, Vol.7 pp. 113-148. 1989.
- 113 - Chisholm, J.J. Heme metabolites in blood and urine in relation to lead toxicity and their determination. *Adv.Clin.Chem.* 20:225-265. 1978.
- 114 - Zielhuis, R.L. Dose-response relationships for inorganic lead. I. Biochemical and hematological response. *Int.Arch.Occup.Health.* 35:1-18. 1975a.
- 115 - Zielhuis, R.L. Dose-reponse relationships for inorganic lead. II. Subjective and functional responses-chronic sequelae-no response levels. *Int.Arch. Occup.Health* 353:19-39. 1975b.
- 116 - Hernberg, S. Biochemical, subclinical and clinical responses to lead and their relation to different exposure levels, as indicated by the concentration of lead in blood. In: G.F. Nordberg (ed.). *Effects and dose-response relationships for toxic metals*. Elsevier. Amsterdam pp. 404-415. 1976.
- 117 - Lauwerys, R. Le diagnostic biologique d'exposition excessive au plomb. *Louvain Med.* 91:19-36. 1972.
- 118 - Lauwerys, R.; Buchet, J.P.; Roels, H.A. y Materne, D. Relationships between urinary deltaaminolevulinic acid excretion and the inhibition of red cell deltaaminolevulinic-acid dehydratase by lead. *Clin. Toxicol.* 7:383-388. 1974.
- 119 - Zielhuis, R.L., Dose response relationship for inorganic lead. Report to the director, health protection EEC. p.14 1974.
- 120 - Singerman, A. Clinical signs versus biochemical effects for toxic metals, In: G.P. Nordberg (ed.). *Effects and dose-response relationships for toxic metals* Elsevier. Amsterdam. p.207. 1976.

- 121- Emmerson, B.T.; Mirosh, W. y Douglas, J.B. The relative contributions of tubular reabsorption and secretion to urate excretion in lead nephropathy. *Aust. N.Z.J.Med.* 1:353-362. 1971.
- 122 - Dodic, S.; Vidakovic, A.; Perisic, V. y Stefanovic. Stanje jetre u pojedinih profesionalnih intoksikacija. III. Jugoslovanski Kongres Medicine Dela, Ljubljana. 1971. Ljubljana, 20-24 september, 1971, Jzdange "Lek" pp. 285-293. 1971.
- 123 - Tabershaw, J. R. y Cooper, W. C. Health study of lead workers. A report prepared for the International lead and zinc. Research Organization. p. 245. 1974.
- 124 - Buckton, K. y Evans, A. Method for the analysis of human chromosome aberration. WHO. Publication, Ginebra. p.12-66. 1973.
- 125 - Perry, P. y Wolff, S. "New Giemsa method for the differential staining of sister chromatic". *Nature.* 251:256-258. 1974.
- 126 - Mitchell, D.G.; Aldous, K.M. y Ryan, F.J. Mass screening for lead poisoning capillary blood sampling and automated delves cup atomic absorption analysis. *N.Y.State J.Med.* 74:15-99. 1974.
- 127 - Berlin, A.; Schaller, K.H. y Smeets. Standardization of ALAD activity determinations at the European level; intercalibration and applications. In: *Proceedings of CEC-EPA-WHO International Symposium; recent advances in the assessment of the health effects of environmental pollution.* Paris, 24-28 June 1974. Luxembourg, Commission of the European Communities. pp. 1087-1101. 1975.
- 128 - Kageyama, N. Uric acid determination. *Clin. Chim. Acta.* 31:421. 1971.
- 129 - Scelig, H.P. y Wust, H. Creatinine for the Jaffe modif. methods. *Atztl. Lab.* 15:34. 1969.
- 130 - Reitman, S. y Frankel, S. A colorimetric method for determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminase. *Amer.J.Clin. Path.* 28:56. 1957.
- 131 - Szasz, G. An kinetic photometric method for serum gammaglutamyl transpeptidase. *Clin.Chem.* 15:124. 1969.
- 132 - Bessey, O.A.; Crax, J.; Persy, N. Alkaline phosphatase. *J. Biol.Chem.* 164:321. 1946.

- 133 - Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie. Dehydrogenase lactic, new methods. *U.Klin. Biochem.* 10:182. 1972.
- 134 - Bergmeyer, H.H. *Methods of enzymatic analysis*. Academic Press. Vol 2 pp.871. 1965.
- 135 - Flamm, W.G.; Birnstiel, M.L. y Walker, P.M.B. Subcellular components. Preparations and fractionation. In: G. Birnie and S.M.Fox (ed.). *Immunochemical Methods*. Butter Worth and Co, Ltd, London. pp.129-135. 1969
- 136 - Sidney, S. *Non parametric statistics: For the behavioral sciences*. McGraw-Hill Book Company, Inc. (Ed.) New York, pp.80-87-108. 1956.
- 137 - Latt, S.A.; Allen, J.; Bloom, S.E.; Carrano, A.; Falke, E.; Kram, D.; Schneider, E.; Rhona, S.; Tice, R.; Whitfield, B. y Wolff, S. Sister chromatid exchanges: A report of the Genotox-Program. *Mutat.Res.* 87:17-62. 1981.
- 138 - Perry, P. y Evans, H.J. Cytological detection of mutagenic carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature.* 258:121-124. 1975.
- 139 - Cleaver, J.E. DNA repair and its coupling to DNA reapplication in eukaryotic cells. *Biochim.Biophys.Acta.* 516:489-516. 1978.
- 140 - Zielhuis, R.L.. Interrelationship of Biochemical Responses to the Absorption of Inorganic Lead. *Arch. Environ. Health* 23:299-311. 1971.
- 141 - Kehoe, R.A. Standards for the Prevention of Occupational Lead Poisoning. *Arch.Environ.Health.* 23:245-248. 1971.
- 142 - Schwanitz, G.; Lehnert, G. y Gebhart, I. Chromosome damage after occupational exposure to lead. *Dtsch.Med.Wschr.* 95:1636-1641. 1970.
- 143 - Astrin, K.H.; Bishop, D.F.; Wetmur, J.G.; Kaul, B.; Davidow, B. y Desnick, R. J. Deltaaminolevulinic acid dehydratase isozymes and lead toxicity. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* Vol.514.pp. 23-28. 1987.
- 144 - Nakao, K.; Wada, O. y Yano, Y. Deltaaminolevulinic acid dehydratase activity in erythrocytes for the evaluation of lead poisoning. *Clin.Chim.Acta.* 19:319-325. 1968.
- 145 - Goyer, R.A.; May, P.; Cates, M.M. y Krigman, M.R. Lead and protein content of isolated inclusion bodies from kidneys of lead poisoned rats. *Lab. Invest.* 22:245-251. 1970b.
- 146 - Myers, V.G. y Killian, J.A. Renal damage. *Jurn.Am.Med.Sc.* 157:674. 1979.

- 147 - Varela, M.E. Nefropatías. El Ateneo. Buenos Aires. pp.90. 1959.
- 148 - Emmerson, B.T. Chronic lead nephropathy: the diagnostic use of calcium EDTA and the association with gout. *Austr. Ann. Med.* 12:310-324. 1963.
- 149 - Morgan, J.M.; Martley, M.W. y Miller, R.E. Nephropathy in chronic lead poisoning. *Arch. Intern. Med.* 118:17-29. 1966.
- 150 - Lum, G. y Gambino, R.S. Serum gamma-glutamyl transpeptidase activity as an indicator of disease of liver, pancreas, or bone. *Clinical Chemistry*. Vol. 18, N4:210-212. 1972.
- 151 - Rosalky, S.B. y Rau, D. Serum GGT activity in alcoholism. *Clin. Chim. Acta.* 39:41-47. 1972.
- 152 - Rosalky, S.B.; Tarlow, D.; Rau, D. Plasma gamma-glutamyl transpeptidase elevation in patients receiving enzyme inducing drugs. *The Lancet*. 14:215-217. 1971.
- 153 - Koster, J.; Cranz, D.; Levy, S. Mobilizable lead in patients with chronic renal failure. *European Journal of Clinical Investigations*. 19:228-233. 1989.
- 154 - Hill, B.R. y Levi, C. Cancer patients and serum dehydrogenase lactic increase. *Cancer Res.* 14:513. 1954.
- 155 - Merten, R. y Solbach, H.G. Dehydrogenase lactic serum and cancer. *Klin. Wschr.* 39:222. 1958.
- 156 - Cooper, W.C.; Tabershaw, I.R. y Nelson, K.W. Laboratory studies of workers in lead smelting and refining. In: *Proceedings of the International Symposium: Environmental health aspects of lead, Amsterdam, 2-6 October 1972, Luxembourg, Commission of the European Communities*. pp. 517- 529. 1973.

G - BIBLIOGRAFIA

- Andersen, O. Effects of coal combustion products and metal compounds on sister chromatid exchange (SCE) in a macrophagelike cell line. *Environ. Health Perspect.* 47:239-253. 1983.
- Batarsech, L.I.; Welsh, M.J. and Brabec, M.J. Effect of lead acetate on sertoli cell lactate production and protein synthesis in vitro. *Cell.Biol.Toxicol.* 2:283-292.1986.
- Batuman, V.; Maesalsa, J.K.; Haddad, B.; Tepper, E.; Landry, E. and Wedeen, R. The role of lead in gout nephropathy. *N.Engl.J.Med.* 304:520-523. 1981
- Bauchinger, M.; Dresp, J.; Schmid, E.; Englert, N. and Krause, C. Chromosome analysis of children after ecological lead exposure. *Mutat.Res.* 56:75-80. 1977.
- Bauchinger, M.; Schmid, E.; Einbrodt, H. and Dresp, J. Chromosome aberrations in lymphocytes after occupational exposure to lead and cadmiun. *Mutat.Res.* 40:57-62. 1978 .
- Beckman, L.; Nordenson, I. and Nordstrom, S. Occupational and environmental risks in and around a smelter in northern Sweden: 8. 3-year follow-up of chromosomal aberrations in workers exposed to lead. *Hereditas.* 96:261-264. 1982.
- Bessis, M.D. and Jensen, W.N. Sideroblastic anemia, mitochondria and erythroblastic iron. *Br.J.Haematol.* 11:49-51. 1965.
- Bishun, N. and Pentecost, M. Cytogenetic effects of lead and cadmiun compounds on ascitic tumor cells in the mouse. *Microbios Lett.* 17, 65:29-32. 1981.
- Blanksma, L.A.; Sachs, H.K.; Murray, E.F. & O'Connel, M.J. Incidence of high blood lead levels in Chicago children. *Pediatrics,* 44:661-665. 1969.
- Bolter, E.; Butz, T. & Arseneau, J.F. Mobilization of heavy metals by organic acids in the soils of a lead mining and smelting district. In: *Proceedings of the IXth Annual Conference on Trace Substances in Environmental Health, Columbia, MO, 10-12 June,* pp. 107-112. 1975.

- British Ministry of Agriculture, Fisheries and Food. Survey of lead in food. Working Party on the Monitoring of Foodstuffs for Heavy Metals: Second Report. London, Her Majesty's Stationery Office, pp. 31. 1972.
- Brown, S.; Dragan, N. & Vogel, W. Effects of lead acetate on learning and memory in rats. *Arch. Environ. Health.* 22:370-372. 1971.
- Butt, E.U.; Nusbaum, R.E.; Gilmour, T.C.; Didio, S.L. & Sister Mariano. Trace metal levels in human serum and blood. *Arch. Environ. Health.* 8:52-57. 1964.
- Burchfiel, J.L.; Duffy, F.H.; Bartels, P.H. and Needleman, H.L. The combined discriminating power of quantitative electroencephalography and neuropsychologic measures in evaluating central nervous system effects of lead at low levels. In Needleman, H.C. (ed) *Low Level Lead Exposures*. Raven Press. New York. pp. 75-90. 1980.
- Calugar, A. and Sandulescu, G. Investigations on chromosome aberrations in subjects exposed to lead in their occupation. *Rev. Med. Chir.* 81:87-92. 1977.
- Chow, T.J. & Earl, J.L. Lead aerosols in the atmosphere: Increasing concentrations. *Science*, 169:577-580. 1970.
- Clasen, R.A.; Hartman, J.F.; Starr, A.J.; Coogan, Ph.S.; Pandolfi, S.; Laing, J.; Becker, R. & Hass, G.U. Electron microscopic and chemical studies of the vascular changes and edema of lead encephalopathy. *Am. J. Pathol.* 74(2):215-233. 1974.
- Cohen, G.J.; Bowers, G.N. & Lepow, M. Epidemiology of lead poisoning. *J. Am. Med. Ass.* 266:1430-1433. 1973.
- Columbano, A.; Ledda, G.M.; Sirigu, P.; Perra, T. and Pani, P. Liver cell proliferation induced by a single dose of lead nitrate. *Am. J. Pathol.* 110:83-88. 1983.
- Columbano, A.; Ledda-Columbano, G.M.; Coni, P.P.; Vargiu, M. Faa, G. and Pani, P. Liver hyperplasia and regression after lead nitrate administration. *Toxicol. Pathol.* 12:89-95. 1984.
- Colwill, D.M. & Hickman, A.J. The concentration of volatile and particulate lead compounds in the atmosphere: measurements at four road sites. *Transport and Road Research Laboratory Report LR 545* Crowthorne, Berkshire. pp. 5. 1973.
- Corbett, T.H.; Heidelberger, C. and Dove, W.F. Determination of the mutagenic activity to bacteriophage T4 of carcinogenic and noncarcinogenic compounds. *Mol. Pharmacol.* 6:667-669. 1970.

- Costa, M.; Cantoni, O.; Demars, M. and Swartzendruber, D.E. Toxic metals produce an S-phase-specific cell cycle block. *Res. Commun.Chem. Pathol.* 38:405-419. 1982.
- Cramer, K. & Dahlberg, L. Incidence of hypertension among lead workers. *Brit. J.Ind.Med.* 23:101-104. 1966.
- Cramer, K.; Goyer, R.A.; Jagenburg, R. & Wilson, M.H. Renal ultrastructure renal function, and parameters of lead toxicity in workers with different period of lead exposure. *Brit.J.Ind.Med.* 31:113-127. 1974.
- Crutcher, J.C. Clinical manifestation and therapy of acute lead intoxication due to the ingestion of illicitly distilled alcohol. *Ann.Inter.Med.* 59:707-715. 1963.
- David, O.J.; Clark, J. & Voeller, K. Lead and hyperactivity. *Lancet*, 2:900-903. 1972.
- Deknudt, G.; Leonard, A. and Ivanov, B. Chromosome aberrations observed in male workers occupationally exposed to lead. *Environ.Physiol.Biochem.*3:132-138. 1973.
- Deknudt, G. and Leonard, A. Cytogenetic investigations on leucocytes in workers from a cadmium plant. *Environ. Physiol. Biochem.* 5:319-327. 1975.
- Dhar, A. and Banerjee, P.K. Impact of lead on nucleic acids and incorporation of labeled amino acid into protein. *Int.J. Vitam.Nutr.Res.* 53:349-354. 1983.
- Dhir, H.; Talukder, G. and Sharma, A. Comparison of cytotoxic effects of lead following acute and chronic treatments in mammalian system. *Proc.Natl.Acad.Sci.India.Sect.* 55:209-215. 1985.
- Donovan, D.T.; Vought, V.M. & Rakow, A.B. Laboratories which conduct lead analysis on biologic specimens, *Arch. Environ. Health.* 23:111-113. 1971.
- Dresel, E.J.B. & Falk, J.E. Studies on the biosynthesis of blood pigments. Haem synthesis in hemolysed erythrocytes of chicken blood. *Biochem.J.* 56:156-163. 1954.
- Elkins, H.B. *The chemistry of industrial toxicology.* New York, J. Wiley & Sons (2nd edition), pp. 51-52. 1959.
- Engel, R.E.; Hammer, D.J.; Horton, R,J.M.; Lane, N.M. & Plumlee, L.A. Environmental lead and public health. Research Triangle, Park, NC Environmental Protection Agency. Air Pollution Control Office Publication No AP 90, pp.1-34. 1971.
- Environment Agency, Japan. Results of air pollution Survey. Tokyo, pp. 148-153. 1975.

- Eyden, B.P.; Maisin, J.R. and Mattelin, G. Long-term effects of dietary lead acetate on survival, body weight and seminal cytology in mice. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 19:266-272. 1978.
- Federal Institute for Minerals Research and German Institute for Economic Research. Supply and demand for lead. (Translated into English by Lead Development Association, 34 Berkeley Square, London W1X 6AJ, April, 1972), pp.1-47. 1972.
- Forni, A. and Seechi, G.C. Chromosome changes in preclinical and clinical lead poisoning and correlation with biochemical findings. *Proc. Intern. Symp. Environ. Health aspects of lead.* Amsterdam, pp. 473-482. 1972.
- Forni, A.; Cambiaghi, G. and Secchi, G.C. Initial occupational exposure to lead. *Arch. Environ. Health* 31:73-78. 1976.
- Fugas, M.; Wilder, B.; Paukovic, R.; Hrsak, J. & Steiner-Skreb, D. Concentration levels and particle size distribution of lead in the air of an urban and an industrial area as a basis for the calculation of population exposure. In: *Proceedings of the International Symposium: Environmental Health Aspects of Lead.* Amsterdam, 2-6 October 1972. Luxembourg, Commission of the European Communities, pp. 961-968. 1973.
- Fukunaga, M.; Kurachi, Y.; Ogawa, M.; Mizuguchi, Y.; Kodama, Y. and Chihara, S. The genetic effects of environmental pollutants on eukaryotic cells: Mutagenicity on nuclear and mitochondrial genes of yeast (*Saccharomyces cerevisiae* by metals). *J. UOEH.* 3:245-254. 1981.
- Garber, B.T. & Wei, E. Influence of dietary factors on the gastrointestinal absorption of lead. *Toxic. Appl. Pharm.* 27:685-691. 1974.
- Gasiorek, K. and Bauchinger, M. Chromosome changes in human lymphocytes after separate and combined treatment with divalent salts of lead, cadmium and zinc. *Environ. Mutagen* 3:513-518. 1981.
- Goldberg, E.D. & Hexter, A.C. Respiratory exposure to lead epidemiological experimental dose-response relationships. *Science.* 158:132-134. 1967.
- Goldberg, E.D. The health of the oceans. Chapter 5. Heavy metals: lead. Paris. The Unesco Press, pp. 109-111. 1976.
- Grandjean, P.; Wulf, H. and Niebuhr, E. Sister chromatid exchange in response to variations in occupational lead exposure. *Environ. Res.* 32:199-204. 1983.

- Granick, J.L.; Sassa, S.; Granick, S.; Levere, R.D. & Kappas, A. Studies in lead poisoning II Correlation between the ratio of activated to inactivated aminolevulinic acid dehydratase of whole blood and the blood lead level. *Biochem. Med.* 8:149-159. 1973.
- Greenfield, S.M.; Bridbord, K.; Barth, D. & Engel, R. The changing perspectives regarding lead as an environmental pollutant. In: *Proceedings of the International Symposium: Environmental Health Aspects of lead, Amsterdam, 2-6 October 1972*. Luxembourg, Commission of the European Communities, pp. 19-27. 1973.
- Guinee, V.F. Epidemiologic studies of lead exposure in New York city. In: *Proceedings of the International Symposium; Environmental Health Aspects of Lead, Amsterdam, 2-6 October*. Luxembourg, Commission of the European Communities, pp. 763-770. 1973.
- Heddle, J.A. and Bruce, W.R. Comparison of tests for mutagenicity and carcinogenicity using assays for sperm abnormalities, formation of micronuclei and mutations in Salmonella. In: H.H. Hiatt, J.D. Watson and L.A. Winsten (ed.). *Origins of Human Cancer*. Col. Spring Harbor Laboratory Press, New York, Vol. 4. pp. 1549-1557. 1977.
- Hernberg, S. Prevention of occupational poisoning from inorganic lead. *Work Environ. Health*, 10:53-61. 1973.
- Hessler, A. Effect of lead on algae, I. Effect of Pb on viability of *Platymonas subcordiformis* (Chlorophyta volvocales). *Water Air Soil Pollut.* 3:371-385. 1974.
- Holmqvist, J. Normal lead values in blood. 15th International Congress of Occupational Health. Vienna 19-24 Sept., A-III-I, pp. 179-183. 1966.
- Horvat, D.; Racic, J. and Rozgaj, R. The frequency of sister chromatid exchanges in V79 chinese hamster lung cells exposed to heavy metals. *Arch. Hig.Rad. Toksikol.* 32:147-156. 1981.
- Inter-Department Working Group on Heavy Metals. Lead in the environment and its significance to man. Report for the Department of the Environment Central Unit on Environmental Pollution. London, Her Majesty's Stationery Office, pp. 1-47, Pollution Paper Nro.2 .1974.
- International Lead and Zinc Study Group. Lead in gasoline: A review of the current situation, International Lead and Zinc Study Group. United Nations, New York, pp. 1-37. First addendum 1974; Second addendum 1975; Third addendum 1976; 1973.

- Jacquet, P.; Gerber, G.B. and Maes, J. Biochemical studies in embryos after exposure of pregnant mice to dietary lead. *Bull. Environ. Contam. Toxicol* 18:271-277. 1977.
- Jacquet, P. and Tachon, P. Effects of long-term lead exposure on monkey leucocyte chromosomes. *Toxicology* 8:165-169. 1981.
- Kotok, D. Development of children with elevated blood lead levels; A controlled study. *J.Pediatr.*, 80:57-61. 1972.
- Lane, R.E. Health control in inorganic lead industries. A followup of exposed workers. *Arch.Environ.Health*, 8:55. 1964.
- Lancrajan, T.; Popescu, H.; Gavanescu, O.; Klespsch, J. and Serbanescu, M. Reproductive ability workmen occupationally exposed to lead. *Arch. Environ. Health*. 300:396-401. 1975.
- Ledda-Columbano, G.M.; Columbano, A. and Pani, P. Lead and liver cell proliferation. Effect of repeated administrations. *Am.J.Pathol.* 113:315-320. 1983.
- Lead Development Association. *Lead In Gasoline Bulletin No 12*, Lead Development Association, 34 Berkeley Square, London W1X 6AJ, 30 March 1976. 1976.
- Leonard, A.; Linden, B. and Gerber, G.B. Study in the mouse of genetic and cytogenetic effects of lead contamination. In: *Proceedings of the International Symposium on Environmental Health Aspects of Lead*. pp. 303-309. 1972.
- Lower, W.R.; Rose, P.S. and Drobney, V.K. In situ mutagenic and other toxic effects associated with lead smelting. *Mutat.Res.* 54:83-93. 1978.
- Mahaffey, K.R. and Michaelson, J.A. The interaction between lead and nutrition. In Needleman, H.E. (ed): *Low Level lead Exposure: The Clinical Implications of Current Research*. Raven Press, New York, pp. 159-200. 1980.
- Mahoffey, K. Nutritional factors and susceptibility to lead toxicity. *Environ.Health Perspect.*, Exp. Issue Nro.7, pp. 107-113. 1974.
- Maki-Paakkanen, J.; Sorsa, M. and Vaino, H. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in lead exposed workers. *Hereditas*. 94:269-276. 1981.
- Martin, A.E.; Fairweather, F.A.; Buxton, R.S.J. & Roots, L.M. Recent epidemiological studies of environmental lead of industrial origin. In: *Proceedings of the CEP-EPA-WHO International Symposium; Recent Advances in the Assessment of the Health Effects of Environmental Pollution*, Paris, 24-28 June 1974. Luxembourg. Commission of the European Communities, pp. 1113-1120. 1975.

- McNeil, J.L. & Ptasnik, J.A. Evaluation of long-term effects of elevated blood lead concentrations in asymptomatic children. In: Proceedings of CEC-EPA-WHO International Symposium: Recent Advances in the Assessment of the Health Effects of Environmental Pollution, Paris, 24-28 June 1974. Luxembourg, Commission of the European Communities, pp. 571-579. 1975.
- Morgan, B.B. & Repko, J.D. Evaluation of behavioural functions in workers exposed to lead. In: C.Xintaras (ed). Behavioural toxicology, early detection of occupational hazards. Washington, U.S. Department of Health, Education and Welfare. pp.435-450. 1974.
- Muro, L.A. and Goyer, R.A. Chromosome damage in experimental lead poisoning. Arch.Pathol. 37:660-663. 1969.
- NAS-NRC. Airborne lead in perspective. Washington, D.C. Nat.Acad. Scic.p.145.1972.
- Nishioka, H. Mutagenic activities of metal compounds in bacteria. Mutat.Res. 31:185-189. 1975.
- Nordberg, G.F. ed. Effects and dose-response relationships of toxic metals. Proceedings from an international meeting organized by the subcommittee on the Toxicology of Metals of the Permanent Commission and International Association on Occupational Health, Tokyo, 18-23 November 1974. Amsterdam. Elsevier, p.15. 1976.
- Nordenson, I. and Beckman, L. Interaction between some common clastogenic agents . Toxicol. Environ. Chem. 8:39-43. 1984.
- Obe, G.; Beek, B. and Duding, G. Some experiments on the action of lead acetate on human leucocytes in vitro. Mutat.Res. 29:283. 1975.
- Oberly, T.J.; Piper, C.E. and McDonald, D.S. Mutagenicity of metal salts in the L51784 mouse lymphoma assay. J. Toxicol.Environ. Health. 9:367-376. 1982.
- O'Riordan, M.L. and Evans, H.J. Absence of significant chromosome damage in males occupationally exposed to lead. Nature (London). 274:50-53. 1974.
- Paglia, D.E.; Valentine, W.N. and Dahlgner, J.G. Effects of low level lead exposure on pyrimidine-5'-nucleotidase and other erythrocyte enzymes. J.Clin.Invest. 56:1164-1169. 1975.
- Perlstein, M.A. and Attala, R. Neurologic sequelae of plumbism in children. Clin.Pediatr. 5:292-298. 1966.

- Pirkle, J.L.; Schwartz, J.; Landis, J.R. and Harlan, W.R. The relationship between blood lead levels and blood pressure and its cardiovascular risk implications. *Am.J.Epidemiol.* 121:246-258. 1985.
- Roberts, T.M.; Hutchinson, T.C.; Paciga, J.; Chattopadhyay, A.; Jervis, R.E.; Vanloon, J. & Parkinson, D.R. Lead contamination around secondary smelters: Estimation of dispersal and accumulation by humans. *Science*, 186:1120-1123. 1974.
- Rutter, M. Lead Versus Health Sources. In: Jones, P.R. (ed). *Effects of Low Level Lead Exposure*. John Wiley & Sons. New York. pp. 255. 1983.
- Sanstead, H.H.; Michelakis, A.M. and Temple, T.E. Lead intoxication. Its effect on the renin-aldosterone response to sodium deprivation. *Arch.Environ.Health.* 20:356-363. 1970.
- Sakurai, H.; Sugita, M. & Tsuchiya, K. Biological response and subjective symptoms in low level lead exposure. *Arch. Environ. Health* 29:157-163. 1974.
- Schmid, E.; Bauchinger, M.; Pietruck, S. and Hall, G. Cytogenic action of lead in human peripheral lymphocytes in vitro and in vivo. *Mutat. Res.* 16:401-406. 1972.
- Schumann, G.B.; Lerner, S.I.; Weiss, M.A.; Gawronski, L. and Lohiya, G.K. Inclusion bearing cells in industrial workers exposed to lead. *Am. J. Clin. Pathol.* 74:192-196. 1980.
- Schwanitz, G.; Gebhart, E.; Rott, H.; Schaller, K.; Essing, H.; Laner, O. and Prestele, H. Chromosome investigations in subjects with occupational lead exposure. *Dtsch.Med.Wochenschr* 100:1007-1011. 1975.
- Singhal, R.L. Lead Toxicity, In: Thomas, J.A. (ed). *Urban and Schwarzenberg*. Baltimore, p.114. 1980.
- Skreb, Y.; Habazin-Novak, V. and Hors, N. The rate of DNA synthesis in Hela cells during combined long-term and acute exposures to lead. *Toxicology* 19:1-10. 1981.
- Sperling, K.; Weiss, G.; Muenzer, M. and Obe, G. Chromosomenuntersuchungen an Blei exponierten Arbeitern, "Arbeitsgruppe Blei" der Kommission fuer Umweltgefahren des Bundesgesundheitsamtes, Berlin. 1980.
- Tachi, K.; Nishimae, S. and Saito, K. Cytogenetic effects of lead acetate on rat bone marrow cells. *Arch. Environ.Health.* 40:144-147. 1985.

- Thomas, H.M. A case generalized lead paralysis, a review of the cases of lead palsy seen in the hospital. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 15:209-212. 1904.
- Urbanowicz, H. Occupational exposure to inorganic compounds of lead. *Arch. Environ. Health.* 23:284-288. 1971.
- Victory, W.; Vander, A.J.; Shulak, J.M.; Schoeps, P. and Julius, S. Lead, hypertension and the renin-angiotensin system in rats. *J. Lab. Clin. Med.* 99:354-362. 1982.
- Weast, R.C., ed. *Handbook of Chemistry and Physics*, 55th ed., Cleveland, CRC Press, pp. B.100-B.101. 1974.
- WHO Study Group. Early detection of health impairment in occupational exposure to health hazards. WHO Technical Report Series No 571, pp. 55-61. 1975.
- Wilson, J.G. *Environment and birth defects*. New York, Academic Press, p.78. 1973.
- Wyrobek, A.J. and Bruce, W.R. The induction of sperm cell abnormalities in mice and humans. In: Hollaender, A. (ed). *Chemicals Mutagens, Principles and Methods for Their Detection* Plenum, New York, vol 5, pp. 257-285. 1978.
- Zurlo, N.; Griffini, H.M. & Vigliani, E.C. The content of lead in blood and urine of adults, living in Milan, not occupationally exposed to lead. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* 31:92-95. 1970.

APENDICE

Intercambio de cromátides hermanas

(Técnica de Buckton y Evans)

Por cada sujeto, se realizaron dos cultivos. Se incubaron 300 μ l de sangre entera en 4 ml de medio de cultivo Ham F10 (Gibco) con suero fetal cálcico (15%), L glutamina (2mM), penicilina (100 unidades por ml), estreptomycin (100 μ g/ml) y fitohemaglutinina (PHA M: 1%). El medio fue suplementado con 5 bromo deoxiuridina (BrdUrd) (100 μ M) (Sigma). Los linfocitos fueron cultivados en la oscuridad por 72 - 74 h a 37°C y las metafases fueron bloqueadas durante las últimas 4h con 0,1 μ g/ml de colcemid (Gibco). Luego las células fueron tratadas con 15 ml de solución hipotónica KCl (75mM) a temperatura ambiente por aproximadamente 8 min. (4 - 10 min) luego fijadas con ácido acético glacial-metanol (3:1, v/v) recientemente preparada. Después de dos lavados con fijador, la suspensión celular se puede dejar por una noche en este fijador a 4°C o preparar los extendidos. Para la detección de los ICH, los preparados se colorearon con el método de fluoresceína - giemsa (129). Primeramente se colorearon por 10 min con Hoechst 33258 (5 μ g/ml; American Hoechst) en buffer de fosfatos (M/15, pH 6.8; Baker), luego en el mismo buffer y a temperatura de 55 - 65°C se sometieron a luz blanca (dos tubos de 15 W) por el tiempo requerido para la diferenciación entre las cromátides (5 - 20 min.). Por último, los preparados fueron coloreados con giemsa al 5% en agua por 5 - 20 min. Para cada individuo, se contaron los ICH en 45 - 50 metafases con segunda división y con más de 44 cromosomas en preparados codificados.

Aberraciones cromosómicas (Técnica de Buckton y Evans)

Los linfocitos fueron cultivados en 8 ml de Ham F10 suplementado con suero fetal calcico (15%), L glutamina (2mM), penicilina (100 unidades/ml), estreptomicina (100 ug/ml) y fitohemaglutinina (PHA M: 1%). Los cultivos se incubaron a 37⁰C en una atmósfera de 5% de CO₂ en aire por 48 - 51h y las metafases fueron bloqueadas en las últimas 2.5 - 3 h con colcemid (0.1 ug/ml). Luego las células fueron tratadas con solución hipotónica de KCl (75 mM) por (4 - 10 min) y fijadas con ácido acético glacial - metanol (3:1, v/v) recientemente preparada. Las células se lavaron tres veces con fijador y luego se procedió a realizar los preparados. Estos se colorearon con giemsa. Se analizaron 100 metafases por cada sujeto en preparados codificados. Las metafases fueron seleccionadas sobre la base de buena morfología y apariencia intacta. Las aberraciones fueron contadas de acuerdo a los siguientes criterios:

- cromátide rota: se define como una región acromática en una cromátide larga como el ancho de la misma.
- cromosoma roto: igual definición que cromátide rota pero solo en ambas cromátides.
- gap: se define como una región no coloreada menor que el ancho de una cromátide.

No se incluyeron en la categoría de aberraciones a células con cromosomas pulverizados, células endoreduplicadas y poliploides.

Actividad de la enzima delta aminolevulínico dehidratasa
(Técnica de Berlin y Schaller)

La actividad de la enzima ALA-D fue determinada utilizando como sustrato el ácido delta aminolevulínico (ALA). El sustrato (0,01676 g de ácido deltaaminolevulínico) fue diluido en 5 ml de solución ácida 0,1 M de NaH_2PO_4 y llevada a pH 6.4 con una solución 0,1 M de Na_2HPO_4 . Luego el sustrato fue llevado a 10 ml con una mezcla de la solución 0,1 M de NaH_2PO_4 más 0,1 M de Na_2HPO_4 pH 6.4.

A 0,2 ml de sangre heparinizada, previamente enfriada a 4°C (se enfrió para impedir la disminución de la actividad de la ALA-D) durante 10 min, se le agregó 1,3 ml de agua destilada (calentada a 38°C) y 1,0 ml de sustrato-buffer (calentado a 38°C). Fue provocada la hemólisis total de la muestra de sangre. Esto se realizó por triplicado.

Conjuntamente se realizó un blanco con 0,2 ml de sangre heparinizada enfriada 10 min a 4°C más 1,3 ml de agua destilada, 1,0 ml de ácido tricloroacético-cloruro de mercurio (disolver 1,35 g de cloruro mercurio en 100 ml de ácido tricloroacético al 10%) y 1,0 ml de buffer-sustrato (calentado a 38°C). Los tubos blanco y muestras fueron incubados durante 60 min a 38°C. Los tiempos de incubación se empezaron a contar desde el agregado del buffer-sustrato a las muestras. Una vez cumplido el tiempo de incubación se sacaron las muestras del baño y se le agregó 1 ml de ácido tricloroacético-cloruro de mercurio a todos los tubos menos al blanco. Se centrifugaron todos los tubos durante 10 min a 2000 G y se filtraron. A 2 ml de cada filtrado se le agregó 2 ml de reactivo de Ehrlich modificado (se disolvió 2,5 g de p-dimetil-aminobenzaldehído en 50 ml de ácido acético glacial. Fue agregado 24,5 ml de ácido perclórico y 4 ml de cloruro mercurico en ácido acético - 0,25 g en 10 ml - se mezcló, enfrió y llevó a 100 ml con ácido acético glacial). Se mezcló a vortex y a los 5 min se leyó la absorbancia contra el blanco a 550 nm en Espectrofotómetro Espectronic 21 (Bausch y Lomb) con cubetas de caras planas. El cálculo de la actividad de esta se realizó de acuerdo a lo siguiente:

$$U/1: \frac{\text{Abs.} \times 100 \times 2 \times 35}{\text{Hto \%} \times 60 \times 0,062}$$

en donde

Hto %: hematocrito por ciento.

2: factor de conversión de delta-ALA a porfobilinógeno (PBG).

35: factor de dilución.

60: 60 min tiempo de incubación.

0,062: coeficiente de extinción (molar de PBG) en L/umol. cm.

Los valores de referencia de esta metodología para no expuestos al plomo son de 20 U/1 o más.

Aberraciones cromosómicas en *Allium cepa* L

(Técnica de Grant)

Se utilizaron bulbos de cebollas variedad perla, con un peso promedio de 20 g.

Las raíces adventicias se obtuvieron sumergiendo la base de los bulbos en agua potable filtrada, contenida en tubos de vidrio, a los que se adaptó un sistema de burbujeo constante de aire (10 - 20 ml/min). El cultivo se efectuó en un incubador a $25^{\circ}\text{C} + 0,5^{\circ}\text{C}$ en la oscuridad. Los bulbos control se incubaron en agua potable filtrada. Los tratamientos con plomo se hicieron utilizando soluciones de nitrato de plomo en concentraciones de 50, 100, 200 ppm y 0,1, 1,0 y 10,0 ppm del elemento preparadas en dicha agua. Todos los tratamientos se iniciaron una vez que las raíces alcanzaron una longitud de 2 a 3 cm. Las soluciones se renovaron cada 24 horas.

Cuando las raíces alcanzaron 3 - 5 cm se expusieron a las concentraciones de 50, 100, 200 ppm y 0,1, 1,0 y 10,0 ppm de nitrato de plomo por 24 h. Luego se sometieron a la acción de la colchicina 0.1 % por 3 h. Se cortaron y fijaron en etanol-ácido acético 3:1, v/v por 24 h a 4°C . Luego se tiñeron con orceína acética y aproximadamente 5000 células se contaron para el tipo y la frecuencia de aberraciones cromosómicas. Para el control positivo se utilizó etilmetilsulfóxido (EMS) al 0,2 %.

INDICE

INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tabla N° I: Estudios de genotoxicidad del plomo y sus compuestos.	13
Tabla N° II: Variables estudiadas. Características y comparación entre grupos.	32
Tabla N° III: Coeficiente de correlación entre variables en individuos expuestos.	33
Tabla N° IV: Intercambio de cromátides hermanas por célula en trabajadores expuestos al plomo y controles.	35
Fig. N° 1 : Visualización de ICH.	36
Tabla N° V: Aberraciones cromosómicas en trabajadores expuestos al plomo y controles..	37
Fig. N° 2: Aberraciones cromosómicas - Rotura cromatídica.	38
Fig. N° 3: Efecto del plomo sobre crecimiento longitudinal de la raíz.	39
Fig. N° 4: Efecto del plomo sobre actividad del meristema radicular.	41
Tabla N° VI: Tipo y frecuencia de las AC inducidas por el plomo en raíces de <i>Allium cepa</i> L.	42
Fig. N° 5: Células binucleadas en <i>Allium cepa</i> L.	43
Fig. N° 6: Aberraciones cromosómicas en <i>Allium cepa</i> L.	43
Fig. N° 7: Control Positivo en <i>Allium cepa</i> L.	44
Fig. N° 8: Control Negativo en <i>Allium cepa</i> L.	45

INDICE

A - Introducción	6
1 - Generalidades	7
2 - Rutas de exposición	7
2.1 - El aire	7
2.2 - El agua	8
2.3 - La tierra	8
2.4 - La vegetación	8
3 - Producción y usos	10
4 - Absorción, distribución, acumulación y excreción	10
5 - Genotoxicidad	12
6 - Carcinogenicidad	17
6.1 - Estudios en animales	17
6.2 - Transformación celular	17
6.3 - Estudios epidemiológicos	18
7 - Teratogenicidad	19
B - Objetivos	21
C - Materiales y Métodos	25
1 - Sujetos	26
1.1 - Trabajadores	26
1.2 - Controles	26
2 - Análisis realizados	26
2.1 - Citogenéticos	26
2.1.1 - Intercambio de Cromátides Hermanas	26
2.1.2 - Aberraciones Cromosómicas	27
2.2 - Bioquímicos	27
2.2.1 - Plumbemia	27

2.2.2 - Acido delta-aminolevulínico deshidratasa.	27
2.2.3 - Acido Úrico	27
2.2.4 - Creatinina	27
2.2.5 - Transaminasa Glutámico Oxalacética.	27
2.2.6 - Transaminasa Glutámico Pirúvica.	27
2.2.7 - Gamma Glutamil Transpeptidasa.	28
2.2.8 - Fosfatasa Alcalina.	28
2.2.9 - Láctico deshidrogenasa.	28
2.2.10 - 5-Nucleotidasa.	28
2.2.11 - Alfa Feto Proteína.	28
2.2.12 - Antígeno Carcino Embrionario.	28
3 - Estudio citogenético en planta superior (<i>Allium Cepa</i> L.)	28
3.1 - Crecimiento radicular	28
3.2 - Actividad proliferativa	28
3.3 - Aberraciones Cromosómicas (<i>Allium Cepa</i> L.)	28
4 - Evaluación Estadística de los Resultados.	29
4.1 - Comparación entre grupos con test "t" de Student y test de Xi cuadrado (136).	29
4.2 - Correlación entre variables dentro de cada grupo (Test de Pearson).	29
4.3 - Control de los tipos de aberraciones excluyendo gaps (Test de Kolmogorov-Smirnov) (136).	29
4.4 - Análisis de datos discontinuos. Muestras independientes pequeñas (Test de la probabilidad exacta de Irwin-Fisher) (136).	29
D - Resultados y Discusión	30
E - Conclusiones	49
F - Referencias Bibliográficas	51
G - Bibliografía	65