

MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y GENOTOXICIDAD EN TRABAJADORES CUBANOS CON EXPOSICIÓN OCUPACIONAL PROLONGADA AL MERCURIO

OXIDATIVE STRESS AND GENOTOXICITY BIOMARKERS IN CUBAN WORKERS WITH OCCUPATIONAL CHRONIC EXPOSURE TO MERCURY

Gretel Riverón Forment ¹
Jakeline Arencibia Faife ²
Ibis de las Mercedes Fernández Díaz ³
Nino Pedro del Castillo Martín ⁴
Reinaldo Gutiérrez Gutiérrez ⁵
Anamarys Pandolfi Blanco ⁶
Olivia Martínez Bonne ⁷
Judith Pupo Balboa ⁸
Roberto Lardoeyt Ferrer ⁹
Nancy Silvia Barroso Sosa ¹⁰
Arelis Jaime Novas ¹¹
Lilian Villalba Rodríguez ¹²

RESUMEN

Objetivo: Determinar el comportamiento de marcadores de estrés oxidativo y genotoxicidad en individuos expuestos ocupacionalmente por tiempos prolongados al mercurio. **Material y método:** Fue estudiado un total de 55 sujetos, de ellos, 12 trabajadores, con edades comprendidas entre 25 y 56 años, expuestos al mercurio por períodos de 6 a 33 años. El grupo control estuvo conformado por 43 individuos, con edades comprendidas entre 25 y 65 años, sin exposición ocupacional a agentes químicos o físicos. Todos los participantes fueron incluidos luego de emitir su consentimiento informado. Los marcadores de daño oxidativo y de defensa antioxidante, así como, la relación entre las formas reducidas y oxidadas del glutatión, fueron medidos mediante métodos espectrofotométricos. Además, se determinó el daño al ADN mediante el ensayo Cometa. **Resultados:** Los trabajadores expuestos presentaban un incremento significativo en el daño oxidativo a las proteínas, en el daño en el ADN y en las actividades enzimáticas

cas de la Cu-Zn superóxido dismutasa y la glutatión reductasa. Por otra parte, mostraban una disminución significativa en la actividad de la catalasa, en las concentraciones de grupos tioles, así como en la capacidad antioxidante total. **Conclusiones:** Los resultados de este estudio soportan el hecho de que la exposición por largos períodos de tiempo al mercurio modifica el estado redox celular, promoviendo condiciones de estrés oxidativo y daños en el material genético.

Palabras clave: mercurio, exposición ocupacional, estrés oxidativo, enzimas antioxidantes, daño oxidativo, ensayo Cometa

ABSTRACT

Objective: To determine the influence of the occupational exposure to mercury on oxidative stress and genotoxicity biomarkers. **Material and method:** Studies were carried out on 12 workers aged between 25 and 56 years exposed to mercury during their work from 6 to 33 years. The control

¹ Investigadora Auxiliar. Laboratorio de Estrés Oxidativo, Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

² Médico especialista de I grado en Pediatría. Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

³ Médico especialista de I grado en Medicina General Integral, Máster en Salud de los Trabajadores, Investigadora Agregado, Profesora Instructor. Vicedirección de Atención Médica, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

⁴ Licenciado en Psicología, Máster en Salud de los Trabajadores, Investigador y Profesor titular. Vicedirección de Investigaciones y Docencia, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

⁵ Investigador Auxiliar. Laboratorio de Estrés Oxidativo, Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

⁶ Licenciada en Tecnología de la Salud, perfil de Microbiología. Laboratorio de Estrés Oxidativo, Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

⁷ Técnica. Laboratorio de Estrés Oxidativo, Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

⁸ Doctora en Ciencias. Investigadora Agregado. Laboratorio de Estrés Oxidativo, Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

⁹ Doctor en Ciencias. Profesor Titular. Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

¹⁰ Licenciada en Tecnología de la Salud, perfil de Laboratorio Clínico. Vicedirección de Atención Médica, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

¹¹ Licenciada en Bioquímica Farmacéutica, Máster en Química Farmacéutica, Investigadora Auxiliar. Departamento de Riesgos Químicos, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

¹² Técnica A Auxiliar de Investigación. Departamento de Riesgos Químicos, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

Correspondencia:

Gretel Riverón Forment
Centro Nacional de Genética Médica
Avenida 146 N° 3102 esquina a 31, Playa, La Habana, Cuba
E-mail: gretel.riveron@infomed.sld.cu

group consisted of 43 healthy workers aged between 25 and 65 years not exposed to chemical or physical agents. All participants were included after signing the informed consent form. The oxidative stress markers were measured by spectrophotometric methods and DNA damage was determined by the Comet assay. **Results:** In the group of exposed to mercury, a significant increase was found in oxidative damage to proteins, DNA damage and the activities of the enzymes superoxide dismutase and glutathione reductase. Moreover a significant decrease in catalase activity, concentrations of thiol groups and total antioxidant capacity was found. **Conclusions:** The present data show that chronic low dose of mercury leads to oxidative stress conditions, which promotes damage to genetic material.

Keywords: mercury, occupational exposure, oxidative stress, antioxidant enzymes, oxidative damage, Comet assay

INTRODUCCIÓN

El mercurio, metal pesado ampliamente utilizado por el hombre, es muy tóxico; produce daños al sistema nervioso central, perturbaciones del comportamiento y afectaciones renales. Se acumula en todos los seres vivos y no es esencial para ningún proceso biológico¹.

Los efectos que puede provocar el mercurio como consecuencia de la exposición a esta sustancia nociva, ha sido objeto de múltiples investigaciones, las que han estado encaminadas a relacionar el grado de exposición y los efectos adversos en el organismo^{2,3}.

La toxicidad del mercurio está directamente relacionada con su estado químico. En salud ocupacional, la vía más importante de incorporación de este metal es mediante la inhalación, debido a que tanto el mercurio elemental como el inorgánico y sus compuestos, puede ingresar por esta vía y alcanzar la sangre con una eficiencia del 80 %¹.

Numerosos estudios han demostrado que el aumento en la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO), la depleción del glutatión reducido (GSH) y la inhibición de la actividad de las principales enzimas antioxidantes, son los mecanismos más importantes mediante los cuales el mercurio induce daño oxidativo, provoca afectaciones en el estado redox celular y, por tanto, daños celulares^{4,6}, razón por la cual, en su gran mayoría, los estudios epidemiológicos y descriptivos que se han realizado utilizan a los marcadores de estrés oxidativo como indicadores de efecto para analizar la toxicidad al mercurio en poblaciones o trabajadores expuestos^{2,6}. Sin embargo, son escasos los reportes que relacionan el daño oxidativo, la actividad de las enzimas antioxidantes y los daños al material genético con la exposición ocupacional prolongada al mercurio. Con el presente estudio, pretendemos profundizar en el comportamiento de estos marcadores en un grupo de trabajadores expuestos a bajos niveles de mercurio por largos períodos de tiempo.

MATERIAL Y MÉTODO

Se trata de un estudio de tipo descriptivo, con un diseño transversal, llevado a cabo por el Instituto Nacional

de Salud de los Trabajadores (INSAT) y el Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) entre los años 2009 y 2011.

La muestra estuvo conformada por 12 trabajadores con exposición ocupacional al mercurio, procedentes de una clínica estomatológica ubicada en el municipio Arroyo Naranjo, provincia La Habana. Los mismos fueron entrevistados y mediante una encuesta; se recogieron los datos acerca del tiempo de exposición ocupacional (el que debía de ser superior a cinco años), los antecedentes patológicos, consumo de medicamentos y suplementos antioxidantes, así como los hábitos tóxicos como el consumo de alcohol y el tabaquismo. Además, fueron determinados los niveles de mercurio en orina, como parte del chequeo periódico que se les realiza a estos trabajadores.

La población de referencia estuvo conformada por 43 individuos sanos, en los cuales se constató que no estuvieran expuestos ocupacionalmente al metal y a los que se les realizaron estudios de laboratorio clínico (pruebas de función hepática, glicemia, creatinina, lipidograma y parámetros hematológicos) para descartar la presencia de otras enfermedades que pudieran relacionarse con el estrés oxidativo (EO). Además, se verificó la no utilización de suplementos antioxidantes y hábitos tóxicos como el consumo de alcohol y el tabaquismo.

Todos los participantes fueron incluidos luego de emitir voluntariamente su consentimiento, siguiendo los principios éticos de la Declaración de Helsinki de 1975, modificada en el 2008, además de ser revisado el protocolo de investigación por los comités de ética respectivos de las instituciones participantes.

En este estudio se utilizó como muestra biológica sangre venosa sistémica. La extracción se realizó en ayunas, mediante punción venosa en los laboratorios del Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores (INSAT). Se extrajeron 7 ml de sangre, los cuales se distribuyeron de la siguiente forma: 2 ml en un tubo heparinizado para el ensayo Comet y 5 ml en un tubo con EDTA para las determinaciones de EO.

Para las determinaciones de los marcadores de EO se utilizó el plasma, el que se obtuvo por centrifugación (a 2 500 rpm durante 5 minutos) y lisados de eritrocitos, muestras que fueron almacenadas a -20 °C hasta el momento de su procesamiento (no más de diez días). Para la determinación del daño basal en el ADN se utilizaron linfocitos aislados de sangre periférica obtenidos por centrifugación, utilizando un gradiente de Histopaque 1 077.

Marcadores de daño oxidativo

1. Determinación de la concentración de malonildialdehído. La concentración plasmática de malonildialdehído (MDA) se determinó a partir del método descrito en el ensayo BIOXYTECH® LPO-586™

- (OXIS Research, Portland, USA). Los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol/L}$.
2. Determinación de la concentración de los productos avanzados de la oxidación de proteínas. La determinación en plasma de los productos avanzados de la oxidación de proteínas (PAOP) se realizó mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Witko Sarsat ⁷. Los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol/L}$.
 3. Determinación de la concentración de hidroperóxidos totales. La determinación de los hidroperóxidos totales en el plasma se realizó mediante el método FOX ⁸. Este ensayo colorimétrico cuantitativo se basa en la oxidación de iones ferrosos (Fe^{2+}) a iones férricos (Fe^{3+}), en condiciones ácidas, mediado por los hidroperóxidos. Los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol/L}$.
 4. Determinación del daño basal al ADN. La determinación del daño al ADN se realizó mediante el ensayo Cometa, el que permite detectar roturas de simple y doble cadena en el ADN y sitios sensibles al álcali, afectaciones que pueden ser generadas por gran variedad de agentes físicos y/o químicos ⁹. Para llevarlo a cabo, las células se inmovilizan en gel de agarosa, se lisan y se someten a electroforesis en condiciones alcalinas. Posteriormente, los núcleos obtenidos se tiñen y se visualizan al microscopio óptico. La intensidad del daño se cuantificó en unidades arbitrarias (UA).
 3. Actividad de la enzima glutatión peroxidasa celular. La determinación de la actividad enzimática intraeritrocitaria de la glutatión peroxidasa celular (c-GPx) se realizó mediante la técnica referida por Paglia DE y Valentine WN ¹². Las unidades de actividad enzimática fueron expresadas en mU/mL .
 4. Actividad enzimática de glutatión reductasa. La determinación de la actividad enzimática intraeritrocitaria de la glutatión reductasa (GR) se realizó mediante la técnica referida por Carlberg I y Mannervik B ¹³. Este ensayo se basa en la oxidación de NADPH a NADP^+ , catalizada por la enzima presente en la muestra, definiéndose como 1 UAE la cantidad de enzima que es capaz de catalizar la reducción de un μmol de GSSG por minuto a pH 7,2 y 25 °C. Las unidades de actividad enzimática fueron expresadas en mU/mL .
 5. Determinación de la concentración de tioles libres. La determinación de las concentraciones plasmáticas de tioles proteicos referidos como glutatión reducido (GSH) se realizó mediante la técnica referida por Sedlak J y Lidsay RH ¹⁴. El GSH presente en la muestra desproteinizada reacciona con el reactivo de Ellman (5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico, DTNB) para rendir un compuesto coloreado que absorbe la luz a 412 nm. Los resultados fueron expresados en $\mu\text{mol/L}$.
 6. Determinación de la capacidad antioxidante total. La capacidad antioxidante total en el plasma fue determinada mediante el ensayo FRAP ⁸. Este ensayo permite determinar la habilidad del plasma para reducir a los iones férricos a ferrosos, representando el poder antioxidante. Los resultados fueron expresados en equivalentes de mM de Fe^{II}/L .

Marcadores de defensa antioxidante

1. Actividad de la enzima Cu-Zn superóxido dismutasa intraeritrocitaria. La actividad intraeritrocitaria de la enzima Cu-Zn superóxido dismutasa (SOD1) se determinó mediante la técnica espectrofotométrica descrita por Marklund S y Marklund G ¹⁰. Este es un método cinético indirecto, que se basa en la capacidad de esta enzima para inhibir la reacción de autooxidación del pirogalol. Para el cálculo de la actividad se tiene en cuenta que 1 unidad de actividad enzimática (UAE) es capaz de inhibir el 50 % de la autooxidación del pirogalol. Las unidades fueron expresadas en % de inhibición / minuto / mL de enzima (U/mL).
2. Actividad de la enzima catalasa intraeritrocitaria. La determinación de la actividad enzimática de la catalasa (CAT) se realizó mediante la técnica referida por Aebi H ¹¹. Este ensayo cinético directo se basa en la medición de la variación de la densidad óptica que tiene lugar como resultado de la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Las unidades de actividad enzimática fueron expresadas en mmoles de H_2O_2 transformados / minuto / mL de enzima (U/mL).

Análisis estadístico

En este estudio se determinaron los estadígrafos descriptivos de tendencia central para los marcadores de EO y genotoxicidad. Se compararon las medias aritméticas de cada una de las variables de respuesta para ambos grupos (expuestos y no expuestos), mediante la prueba U de Mann-Whitney para muestras independientes. Como criterio de significación estadística se tomó $p < 0,05$. Para el análisis estadístico nos servimos del programa SPSS versión 13.0 para Windows.

RESULTADOS

El grupo de trabajadores estuvo conformado por 7 estomatólogos y 5 técnicos en estomatología (10 mujeres y 2 hombres), con una edad promedio de 43 años, (rango: 25-56 años). Los mismos tenían como promedio 20 años de exposición ocupacional al metal (rango: 6 a 33 años de exposición) y con niveles del metal en orina de 5,71 $\mu\text{g/L}$ (rango: 2,25-18 $\mu\text{g/L}$).

El grupo control o no expuesto estuvo conformado por 43 sujetos (24 mujeres y 19 hombres), con una edad promedio de 39 años (rango: 25-65 años).

Como se observa en la tabla 1, las concentraciones plasmáticas de PAOP estaban incrementadas en los trabajadores expuestos, mientras que no se observaron diferencias entre los grupos en relación a las concentraciones de MDA.

Se constató un aumento significativo del daño al ADN en los linfocitos de los trabajadores expuestos, en

comparación con los controles. Interesantemente, en el grupo de trabajadores expuestos la concentración de peróxidos fue como promedio más elevada que en el grupo control, variando en un rango de 1 a 129 $\mu\text{mol/L}$, y para los controles desde 1 a 18 $\mu\text{mol/L}$, apreciándose una alta variación intraindividual, con un coeficiente de variación (CV) por encima del 50 %; debido a esto, no es posible apreciar las diferencias entre los grupos.

Tabla 1
Marcadores de daño oxidativo en los trabajadores expuestos y controles

Marcadores de daño oxidativo	Trabajadores expuestos (n=12)	Controles (n=43)
MDA ($\mu\text{mol/L}$)	0,55 \pm 0,31	0,62 \pm 0,34
PAOP ($\mu\text{mol equiv/L}$)	76,41 \pm 54,74 ^a	44,38 \pm 35,47
Peróxidos totales ($\mu\text{mol/L}$)	28,65 \pm 12,56	4,22 \pm 0,91
Daño al ADN (UA)	52,4 \pm 18,0 ^a	31,5 \pm 16,8

Los resultados están expresados como media \pm desviación estándar

^a Diferencias entre trabajadores expuestos y controles ($p < 0,05$)

Como se aprecia en la tabla 2, las actividades intraeritrocitarias de las enzimas antioxidantes SOD1 y GR se encontraban incrementadas, mientras que la actividad de la CAT estaba disminuida en el grupo de trabajadores expuestos en comparación con la de los sujetos no expuestos. No se hallaron diferencias entre los grupos estudiados en cuanto a la actividad intraeritrocitaria de la glutatión peroxidasa. Por otra parte, los trabajadores expuestos presentaban una notable disminución en las concentraciones plasmáticas de los grupos tioles, referidos como glutatión reducido, así como una reducción de la capacidad antioxidante total a nivel plasmático.

Cuando se analizó cuales de estos marcadores de efecto podrían ser factores de riesgo debido a la exposi-

ción prolongada al mercurio, se encontró que los trabajadores expuestos mostraban un riesgo incrementado en 6,2 veces de presentar valores elevados de peróxidos (IC 95%: 1,3-30), de 9,3 veces de tener más daño al ADN (IC 95%: 1,3-30) y de presentar 16,5 veces más reducida la capacidad antioxidante del plasma (IC 95%: 1,3-30), que los individuos no expuestos, notando que, de eliminarse la exposición al mercurio, tanto los niveles de peróxidos, como el daño al ADN se reducirían en el 31 % y en un 51 %, respectivamente, en los trabajadores muestreados, así como se normalizaría la capacidad antioxidante en el 61 % de estos individuos expuestos.

Tabla 2
Marcadores de defensa antioxidante en los trabajadores expuestos y controles

Marcadores de defensa antioxidante	Trabajadores expuestos (n=12)	Controles (n=43)
SOD1 (U/mL)	180,2 \pm 5,7 ^a	163,4 \pm 0,34
CAT (U/mL)	86,6 \pm 14,5 ^a	71,6 \pm 30,8
c-GPx (mU/mL)	36762,3 \pm 9204,6	25882,7 \pm 4758,6
GR (mU/mL)	1139,9 \pm 266,3 ^a	340,3 \pm 52,3
Concentraciones de grupos tioles ($\mu\text{mol/L}$)	8,68 \pm 3,35 ^a	22,38 \pm 3,31
Capacidad antioxidante total (mM Fe^{2+}/L)	0,13 \pm 0,05 ^a	0,21 \pm 0,08

Los resultados están expresados como media \pm desviación estándar

^a Diferencias entre trabajadores expuestos y controles ($p < 0,05$)

DISCUSIÓN

El estrés oxidativo es uno de los mecanismos principales mediante el cual se explica la toxicidad de los metales pesados en los seres humanos. Se ha descrito que estos pueden inducir condiciones de estrés oxidativo, no solo mediante la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO), sino también por la reducción de la capacidad de defensa antioxidante^{2,4,5,15}.

A pesar del cúmulo de evidencias que relacionan la exposición al mercurio con el aumento del daño oxidativo a las diferentes biomoléculas y la disminución de la defensa antioxidante, aún no está del todo esclarecido cómo se modifican los marcadores de estrés oxidativo en individuos expuestos ocupacionalmente a este metal por tiempos prolongados.

Los resultados derivados de este estudio indican que la exposición por largos período de tiempo a niveles de mercurio considerados como normales, provoca el aumento de las concentraciones de los PAOP, constituyendo este el primer reporte del comportamiento del marcador en trabajadores expuestos a este metal. Este indicador muestra el grado de oxidación de las proteínas plasmáticas, en especial de la albúmina, mediado por la acción de oxidantes clorinados como el ácido hipocloroso, el que es liberado fundamentalmente por los neutrófilos activados, por lo que es considerado, además, como un marcador de inflamación⁷. En este sentido, se ha descrito que el mercurio, a bajas concentraciones, puede producir reacciones inmunes no deseadas como la inflamación o la autoinmunidad, lo que pudiera explicar el incremento de los niveles de este marcador¹⁶. Por otra parte, teniendo en cuenta que este marcador está modificado fundamentalmente en las afecciones renales⁷, el mismo podría ser utilizado como un biomarcador de efecto en el seguimiento periódico de estos trabajadores, con el objetivo de prevenir la aparición de complicaciones renales en los mismos.

En los trabajadores expuestos no se constató el aumento de las concentraciones de MDA, lo cual se podría explicar teniendo en cuenta los bajos niveles del metal que estos presentan. En relación con este marcador, se ha descrito que se encuentra elevado en los trabajadores expuestos al mercurio y que se relaciona directamente con las concentraciones presentes del metal¹⁷. En concordancia con estos resultados, en un estudio similar al nuestro se reporta que los trabajadores que presentan bajos niveles de mercurio no presentan modificaciones en este marcador de peroxidación lipídica en comparación con los controles¹⁸.

Varios autores han referido que el mercurio puede actuar como un pro-oxidante a través de la generación de H₂O₂ y por su elevada reactividad con los grupos tioles presentes en las proteínas^{4,6}. En relación con estos hallazgos, encontramos que, en los trabajadores expuestos, se aprecia una notable reducción en los niveles de

grupos tioles. Estos resultados están en correspondencia con múltiples reportes de la literatura, los que describen la disminución de los niveles de los grupos tioles, fundamentalmente el GSH, debido a su unión con el metal, como el principal mecanismo mediante el cual el mercurio favorece la presencia de condiciones oxidativas^{3,4,6,19}.

La genotoxicidad causada por la exposición ocupacional a concentraciones relativamente bajas de mercurio, ha sido abordada por varios grupos de trabajo, encontrando incrementos significativos de los marcadores ensayados en los trabajadores o individuos expuestos a este metal²⁰. Los resultados de este estudio están en correspondencia con estos hallazgos. En este sentido, varios han sido los posibles mecanismos enunciados, mediante los cuales el metal puede generar genotoxicidad²⁰. Uno de ellos, está relacionado con la habilidad que tiene el mercurio de unirse a los grupos sulfidrilos y de inducir daño celular a través del aumento de las ERO. De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, este pudiera ser el mecanismo potencial mediante el cual se explicaría el aumento del daño al material genético encontrado.

En relación con las actividades de las enzimas antioxidantes, los informes en la literatura son diversos; algunos autores reportan la inhibición de estas enzimas, relacionándolo con un estado de estrés oxidativo persistente^{15,17,22}, mientras otros muestran el aumento en la actividad de las mismas, en correlación directa con las concentraciones del metal⁶. Los resultados derivados de este estudio indican que, debido a la exposición prolongada al mercurio, se observa un aumento significativo en las actividades de la SOD1 y la GR, mientras que la CAT se muestra disminuida drásticamente y no se advierten cambios en la actividad de la c-GPx.

En este caso, el incremento de las actividades sugiere la activación de los mecanismos de defensa homeostáticos, ya que como se ha descrito, solo a grandes dosis del metal las células pierden su capacidad de responder²³. En relación con la disminución de la CAT, se ha referido que el mercurio puede directamente inhibir la actividad de esta enzima^{2,3}; contradictoriamente, otros estudios sugieren la inducción de esta enzima, tanto a bajas como a elevadas concentraciones del metal, en respuesta al aumento en la generación del H₂O₂⁶. Como en el presente estudio no se obtuvo un aumento significativo en los niveles de peróxidos y la actividad de la c-GPx no varió entre los grupos, la inhibición podría ser el principal factor que afectó la actividad de esta enzima.

El incremento de las concentraciones de proteínas oxidadas, la disminución en los niveles de los grupos tioles, unido a la baja capacidad antioxidante plasmática detectada, sugieren que el estado redox puede estar modificado a favor de la ocurrencia de reacciones oxidativas, resultados que, en su conjunto, suportan el hecho de que la exposición por largos períodos de tiempo al

mercurio condiciona una situación de estrés oxidativo, lo que puede ser la causa que promueva los daños en el material genético detectado en los trabajadores expuestos.

Se ha descrito que las alteraciones en el estado redox celular pueden favorecer la aparición de las complicaciones más frecuentemente relacionadas al estrés oxidativo, como son la hipertensión arterial, las afecciones cardiovasculares y los procesos carcinogénicos²⁴, por lo que los marcadores propuestos en el presente estudio podrán ser utilizados como indicadores de efecto que permitan el control biológico cuando las alteraciones orgánicas puedan ser todavía reversibles, y de esta forma perfeccionar el seguimiento médico periódico que se realiza a estos trabajadores.

De acuerdo a los resultados obtenidos, en investigaciones futuras se deberá profundizar en el estudio de los marcadores que constituyeron factores de riesgo debido a la exposición prolongada al mercurio.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ramírez, AV. Intoxicación ocupacional por mercurio. *An Fac Med.* 2008;69(1):46-51.
2. Pinheiro MCN, Macchi BM, Vieira JLF, Oikawa T, Amoras WW, Guimarães GA. Mercury exposure and antioxidant defenses in women: A comparative study in the Amazon. *Environ Res.* 2008;107:53-9.
3. Grotto D, Valentini J, Fillion M, Passos CJS, Garcia SC, Mergler D, Barbosa F. Mercury exposure and oxidative stress in communities of the Brazilian Amazon. *Sci Total Environ.* 2010;408:806-11.
4. Flora SJS, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. *Indian J Med Res.* 2008;128:501-23.
5. Wiggers GA, Peçanha FM, Briones AM, Pérez-Girón JV, Miguel M, Vassallo DV, et al. Low mercury concentrations cause oxidative stress and endothelial dysfunction in conductance and resistance arteries. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2008;295(3):H1033-43.
6. Kobal AB, Prezelj M, Horvat M, Kršnik M, Gibicar D, Osredkar J. Glutathione level after long-term occupational elemental mercury exposure. *Environ Res.* 2008;107:115-23.
7. Witko-Sarsat V, Friedlander M, Nguyen-Khoa T, Capeillère-Blandin C, Nguyen AT, Canteloup S, et al. Advanced oxidation protein products as novel mediators of inflammation and monocytes activation in chronic renal failure. *J Immunol.* 1998;161:2524-2532.
8. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. *Swiss Med Wkly.* 2003;133:563-66.
9. Collins AR, Dobson VL, Dusinska M, Kennedy G, Stetina R. The comet assay: what can it really tell us? *Mutat Res.* 1997;375:183-93.
10. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in the autoxidation of pyrogallol and a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem.* 1974;47:469-74.
11. Aebi H. Catalase in vitro. *Meth Enzymol.* 1984;105:121.
12. Paglia DE, Valentine WN. Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967;70:158-169.
13. Carlberg I, Mannervik B. Glutathione reductase. *Meth Enzymol.* 1985;113:485-90.
14. Sedlak J, Lidsay RH. Estimation of total protein bound and non-protein sulfhydryl group in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.* 1968;25:192-205.
15. Koedrith P, Seo YR. Advances in carcinogenic metal toxicity and potential molecular markers. *Int J Mol Sci.* 2011;12:9576-95.
16. Vas J, Monestier M. Immunology of mercury. *Ann NY Acad Sci.* 2008;1143:240-67.
17. Bulat P, Đujić I, Potkonjak B, Vidaković A. Activity of glutathione peroxidase and superoxide dismutase in workers occupationally exposed to mercury. *Int Arch Occup Environ Health.* 1998;71:S37-9.
18. Mohammed IA, AL-Jobouri MI, AL-Taie WF. The effect of mercuric exposure on oxidative stress and enzymatic antioxidant defense system. *J Pure & Appl Sci.* 2010;23(1).
19. Jan AT, Ali A, Haq Q. Glutathione as an antioxidant in inorganic mercury induced nephrotoxicity. *J Postgrad Med.* 2011;57:72-7.
20. Crespo-López ME, Macêdo GL, Pereira SID, Arrifano GPF, Picano-Diniz DLW, do Nascimento JLM, Herculano AM. Mercury and human genotoxicity: Critical considerations and possible molecular mechanisms. *Pharmacol Res.* 2009;60:212-20.
21. Zabinski Z, Dabrowski Z, Moszczynski P, Rutowski J. The activity of erythrocyte enzymes and basic indices of peripheral blood erythrocytes from workers chronically exposed to mercury vapours. *Toxicol Ind Health.* 2000;16:58-64.
22. Samir AM, Aref WM. Impact of occupational exposure to elemental mercury on some antioxidative enzymes among dental staff. *Toxicol Ind Health.* 2011;27(9):779-86.
23. Garcia-Fernandez AJ, Bayoumi AE, Perez-Pertejo Y, Motas M, Reguera RM, Ordoñez C, et al. Alterations of the glutathione-redox balance induced by metals in CHO-K1 cells. *Comp Biochem Physiol. Part C.* 2002;132:365-73.
24. de la Villehuchet A, Brack M, Dreyfus G, Oussar Y, Bonnefont-Rousselot D, Chapman MJ, Kontush A.

Riverón G, Arencibia J, Fernández IM, del Castillo NP, Gutiérrez R, Pandolfi A, Martínez O, Pupo J, Lardoeyt R, Barroso NS, Jaime A, Villalba L

A machine-learning approach to the prediction of oxidative stress in chronic inflammatory disease. Redox Report. 2009;14(1):23-32.

Recibido: 21 de enero de 2013

Aprobado: 16 de octubre de 2013