



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

RELACIÓN ENTRE NIVELES DE PLOMO Y PARÁMETROS
HEMATOLÓGICOS,
HEPÁTICOS Y RENALES EN LOS EXPENDEDORES DE GASOLINA DE LA
CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE
(Modalidad: Investigación)

JESÚS ALEXANDER RODRÍGUEZ RAMÍREZ

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2009

RELACIÓN ENTRE NIVELES DE PLOMO Y PARÁMETROS
HEMATOLÓGICOS,
HEPÁTICOS Y RENALES EN LOS EXPENDEDORES DE GASOLINA DE LA
CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:

Prof. William Velásquez
ASESOR

JURADO

JURADO

ÍNDICE

| | |
|--|----|
| DEDICATORIA | i |
| AGRADECIMIENTOS | ii |
| LISTA DE TABLAS | iv |
| LISTA DE FIGURAS..... | vi |
| LISTA DE FIGURAS..... | vi |
| RESUMEN..... | ix |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| METODOLOGIA | 7 |
| Muestras | 7 |
| Procesamientos de las Muestras..... | 7 |
| Técnicas Utilizadas | 8 |
| Determinación de la Concentración de Plomo..... | 8 |
| Determinación de la Concentración de Creatinina..... | 9 |
| Determinación de la Concentración de Urea | 9 |
| Determinación de la Concentración de Hemoglobina | 10 |
| Valoración del Hematocrito | 10 |
| Morfología sanguínea | 10 |
| Contaje Leucocitario..... | 11 |
| Determinación de la Concentración de la Bilirrubina Total, Directa e Indirecta.... | 11 |
| Determinación de la Actividad de la Enzima Aspartato Aminotransferasa (TGO) | 12 |
| Determinación de la Actividad Enzimática Alanina Aminotransferasa (TGP) | 12 |
| Análisis estadístico..... | 12 |
| RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 13 |
| CONCLUSIONES | 25 |
| BIBLIOGRAFÍA | 26 |
| ANEXOS | 29 |
| APÉNDICE..... | 40 |

HOJA DE METADATOS 45

DEDICATORIA

A:

Mis padres, por ser siempre ejemplo de vida y fuente de inspiración.

Mis hermanos, por estar siempre a mi lado.

Mi novia, por ayudarme en los momentos difíciles.

Cristian Maneiro, por demostrarme el poder de la amistad.

Todos los que de una forma u otra fueron parte importante en la culminación de este trabajo. Muchas gracias a todos!!!!

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios, por estar presente en cada momento de mi vida.

Mi madre, simplemente por ser la mejor del mundo.

Mi padre, por ser fuente de inspiración y motivación para ser mejor cada día.

Mis hermanos, quienes han sido apoyo y soporte a lo largo de mi vida.

Mi novia Karol Bottaro, que con su amor y comprensión permite mantenerme enfocado en todas mis metas.

Mi amigo Cristian Maneiro, con quien he compartido más de la mitad de mi vida, mostrándome el valor de la amistad.

Mis amigos y compañeros de clases: Carmen Carpio, Rita Loero, Saray Ortiz, Antonieta Hernández, Candy Patiño, Dairene Moreno, Marielys González, Daniel Giménez, Angel Alvarez, Antonio Garantón, Eliomar Rodríguez quienes hicieron que la etapa universitaria fuera la mejor de mi vida.

Mi asesor, prof. William Velásquez, por su dedicación y por confiar en mí en tiempos difíciles.

El profesor Miguel Campo, quien colaboró en la realización de este trabajo.

Las licenciadas Terangel Higuerey y Edulis Cedeño, quienes de manera desinteresada colaboraron en la realización de este trabajo.

El Lcdo. Alexander Barrios, quien sin más motivación que la que posee por la investigación fue parte importante en la realización de este estudio.

El Lcdo. Pedro Córdova, quien fue factor motivador para la culminación de

esta investigación.

El profesor José Betancourt, por ser ejemplo a seguir.

LISTA DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 4. Valores del factor de correlación (R) de la prueba estadística regresión lineal simple relacionando las concentraciones de plomo con los parámetros de hemoglobina, hematocrito, leucocitos, creatinina, urea, bilirrubina y transaminasas aplicada en expendedores de gasolinita expuestos y no expuestos a la combustible plumbado y un grupo de individuos controles de la ciudad de Cumaná, estado Sucre..... | 30 |
| Tabla 5. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de plomo (Pb ug/l) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre..... | 31 |
| Tabla 6. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Hemoglobina (Hb µg/l) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre. | 32 |
| Tabla 7. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Hematocrito (Hto%) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre..... | 33 |
| Tabla 8. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de leucocitos (Leu) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre..... | 34 |

| | |
|---|----|
| Tabla 9. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Creatinina (mg/dl) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre..... | 35 |
| Tabla 10. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Urea (U mg/dl) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre..... | 36 |
| Tabla 11. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentración Bilirrubina (mg/dl) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre..... | 37 |
| Tabla 12. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a la actividad de la enzima Alaninoaminotransferasa (U/l) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre. | 38 |
| Tabla 13. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a la actividad de enzima de Aspartatoaminotransferasa (U/l) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre. | 39 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de hemoglobina en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná. | 13 |
| Figura 2. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de hematocrito en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná. | 14 |
| Figura 3. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de leucocitos en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná. | 14 |
| Figura 4. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de creatinina en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná. | 15 |
| Figura 5. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de urea en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná. | 15 |
| Figura 6. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de bilirrubina en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná. | 16 |
| Figura 7. Relación entre los niveles de plomo y las actividades de la enzima alanino aminotransferasa en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de ciudad de Cumaná. | 17 |
| Figura 8. Relación entre los niveles de plomo y las actividades de la enzima aspartato aminotransferasa en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná. | 17 |
| Figura 9. Concentraciones de plomo en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control... | 18 |

| | |
|---|----|
| Figura 10. Concentraciones de hemoglobina en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. | 19 |
| Figura 11. Concentraciones de hematocrito en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. | 19 |
| Figura 12. Concentraciones de leucocitos en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. | 20 |
| Figura 13. Concentraciones de creatinina sérica en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. | 22 |
| Figura 14. Concentraciones de urea sérica en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. | 22 |
| Figura 15. Concentraciones de bilirrubina en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. | 23 |
| Figura 16. Actividad de la enzima alanino aminotransferasa (ALT) en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. | 24 |

Figura 17. Actividad de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control. 24

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue relacionar los niveles de plomo y los parámetros hematológicos, hepáticos y renales en los expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Para lograr este fin se analizaron muestras sanguíneas provenientes de 56 individuos todos del sexo masculino con edades comprendida entre 18 y 56 años, los cuales fueron divididos en dos grupos: un grupo experimental conformado por 36 individuos expendedores de gasolina, este fue dividido a su vez en dos subgrupos, los expendedores de gasolina que están trabajando antes de la eliminación del plomo del combustible (20 individuos) y los expendedores de gasolina que están trabajando después de la eliminación del metal de combustible (16 individuos) y un grupo control conformado por 20 individuos estudiantes del departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. A cada uno de ellos se le tomaron 10 ml de sangre y se dividieron en dos porciones: una de 5 ml en tubos de ensayos con anticoagulante para realizar la determinación de plomo y los parámetros hematológicos y otra de 5 ml en tubos secos para obtener los respectivos sueros para las determinaciones de los parámetros hepáticos y renales. Los resultados obtenidos al aplicar la prueba estadística regresión lineal mostraron relación significativa entre los niveles de plomo y los parámetros bioquímicos urea y creatinina, la prueba estadística Anova simple mostró diferencias significativas en las concentraciones de plomo y los parámetros bioquímicos urea, creatinina y bilirrubina evaluados en individuos controles, expendedores de combustible expuestos a la gasolina con plomo y expendedores no expuestos al combustible plumbado. Los parámetros hematológicos (hemoglobina, hematocrito, leucocitos y conteo de punteados basófilos) y hepáticos (bilirrubina, transaminasas), no mostraron diferencias significativas entre los grupos analizados. Todos estos resultados permiten concluir que existe una relación directa entre la exposición a la gasolina con plomo y la patología renal expresada por la relación lineal positiva entre las concentraciones de plomo y los niveles de urea y creatinina encontrados en los individuos estudiados.

Palabras y/o Frases Claves: Gasolina, Plomo, Creatinina, TGO, TGP, Parámetros Hematológicos, Urea

INTRODUCCIÓN

El plomo (Pb) es un metal blando, de color gris azulado opaco, maleable y dúctil, con baja resistencia a la tracción y mal conductor de la electricidad, presenta punto de fusión de 328°C y punto de ebullición de 1 740°C, su densidad relativa es de 11,34 g/dl y su masa atómica es de 207,20 g/mol. Este metal se encuentra ampliamente distribuido por todo el planeta en forma de galena, como sulfuro de plomo y ocupa el lugar 36 en abundancia entre los elementos de la corteza terrestre (Ariet, 2002).

Por sus características de maleabilidad y ductibilidad, el plomo ha sido utilizado por el hombre desde la más remota antigüedad; las primeras descripciones de su toxicidad las realizó Hipócrates en el siglo V (AC) y describe el cólico saturnino como síntoma de la toxicidad del plomo. Actualmente, la contaminación por plomo no solo se extiende a los ambientes laborales en que se utiliza este metal, sino que también es un elemento importante en la contaminación ambiental, debido principalmente al empleo del tetraetilo y tetrametilo de plomo como antidetonante en los carburantes de los automóviles (Sanín y cols., 1998).

El plomo cuando ingresa en el cuerpo humano, produce el envenenamiento denominado saturnismo y es llamado así debido a que, en la antigüedad, los alquimistas llamaban "saturno" a dicho elemento químico, mientras que se reserva la denominación de saturnismo hídrico al que se produce a través del agua ingerida. Cabe resaltar que el plomo como mineral inoxidable, no confiere sabor al agua ni a los alimentos (Ariet, 2002).

Las personas expuestas al plomo se clasifican de acuerdo a razones laborales y causas ambientales. Un límite de exposición laboral de 100 µg/m³ de aire como

exposición promedio para una jornada de 8 horas, es decir, 40 hora de trabajo semanales, ha sido recomendado en Estados Unidos por el NIOSH (Nacional Institute for Occupational Safety and Health). El máximo nivel sanguíneo permisible para plomo en operarios ha sido establecido en 600 $\mu\text{g/l}$, nivel en el cual se observan efectos sobre la salud. El intervalo típico para adultos sanos no expuestos es de 100 a 200 $\mu\text{g/l}$ (Kaplan y Pesce, 2001).

El plomo puede ser absorbido por las vías respiratorias, que constituye la vía de entrada más importante, penetrando por inhalación de vapores, humos y partículas de polvo. Una vez absorbido, un 50% se deposita en los pulmones, desde donde pasa a la sangre circulante después de aproximadamente 50 horas, pasando un porcentaje a los tejidos y otra pequeña parte es eliminada. El grado de absorción del plomo por esta vía depende de la concentración ambiental en el puesto de trabajo, del tiempo de exposición, de la forma física (vapores, humos y tamaño de las partículas), de factores personales (edad y estado fisiológico), y de condiciones de trabajo, por ejemplo temperatura, humedad y ventilación (Sanín y cols., 1998).

Solamente una proporción del plomo circulante puede ser excretado, siendo la principal vía de excreción la urinaria, mientras que una proporción más pequeña puede desecharse por los fluidos de secreción gastrointestinal, de manera que la mayor parte del plomo que se encuentra en las heces es plomo no absorbido por la vía digestiva. También, es posible eliminar una pequeña cantidad de este metal por las células que se descaman de la piel, pelos y uñas, y existen algunas condiciones fisiológicas que permiten que el plomo pueda ser excretado por otros fluidos, como la leche materna. Aún cuando existen diferentes vías de excreción, la relación absorción/excreción siempre es mayor a la unidad; esto se traduce en acumulación de plomo en el organismo (Rivas y Vicuña, 1999).

El plomo tiene gran afinidad por los grupos imidazol, sulfhídrico, amino,

carboxilo y fosfato, y como consecuencia presenta una fuerte unión a las membranas biológicas, proteínas y compuestos intermedios en las vías metabólicas, como la fosforilación oxidativa y la síntesis de la hemoglobina (Jiménez y Zapata, 2003).

El efecto del plomo en la hemoglobinogénesis se traduce en la inhibición de por lo menos dos enzimas involucradas en la biosíntesis del grupo hem, una mitocondrial y otra citoplasmática: la deshidrogenasa del ácido delta-aminolevulínico (Δ -ALA), la segunda enzima de la vía metabólica; y la ferroquelatasa (FQ) o hemosintetasa, última enzima de la vía metabólica que incorpora, en condiciones normales, el hierro en el centro de la estructura de la protoporfirina 9 para sintetizar el grupo hem (Sánchez-Anzaldo, 1995).

La anemia constituye una de las características principales de la intoxicación por plomo, lo que resulta de la inadecuada formación de la hemoglobina, así como de la hemólisis temprana de los glóbulos rojos. Como consecuencia de esto se producen valores elevados del ácido delta-aminolevulínico, representando una señal de la intoxicación crónica por plomo. La acumulación de protoporfirina 9 e hierro no hémico en los eritrocitos ocasionan un precipitado en los hematíes, denominado punteado basófilo, siendo otra de las características más resaltantes del saturnismo (Jiménez y Zapata, 2003).

Sanín y cols. (1998) concluyeron que distintos grados de exposición al plomo pueden reducir de modo significativo el coeficiente intelectual (CI) de los niños en edad escolar. Algunos cálculos indican una reducción de 1 a 5 puntos en el CI de los niños y niñas expuestos, por cada 10 miligramos por decilitro de incremento en los niveles de plomo en la sangre. También, se ha asociado a la exposición de este metal comportamientos agresivos, delincuencia y desórdenes de la atención en estas edades. Aunado a lo anterior, también se afecta el peso de los niños al nacer y su desarrollo neuroconductual, lo que puede ser severo y prolongarse mas allá de la infancia.

Los efectos a nivel renal producidos por el saturnismo varían según la exposición al plomo. En una primera fase se observa la presencia de inclusiones intranucleares del complejo plomo-proteína en las células tubulares y excreción elevada de plomo. En una segunda fase, producida tras algunos años de exposición, las células tubulares pierden la capacidad de formar inclusiones intracelulares, los riñones excretan menos plomo, y presentan un cierto grado de fibrosis intersticial, y la función renal comienza a alterarse. La tercera fase produce nefritis crónica, y las lesiones ocurren principalmente a nivel tubular (Jiménez y Zapata, 2003).

La creatinina es un anhídrido de la creatina que se forma por acción espontánea e irreversible. La creatinina libre no se reutiliza en el metabolismo del cuerpo y, por tanto, funciona únicamente como un producto de excreción de la creatina. La constancia en la formación de ésta la convierte en un índice útil de la función renal, principalmente de la filtración glomerular (Bernard y cols., 2002).

Cake y cols. (2000) midieron plomo en hueso (trabecular y cortical) en 49 trabajadores de una fábrica de baterías para automóviles y lo relacionaron con las concentraciones de plomo obtenidas en el suero y sangre completa de estos trabajadores. Esto permitió concluir que el plomo en hueso tiene una relación más directa con los niveles de sangre completa que con los niveles séricos.

Normalmente, la concentración de plomo en sangre oscila en un intervalo de 100 a 200 $\mu\text{g/l}$, y cerca del 90 al 95% se une a las membranas celulares o las fracciones de las proteínas (hemoglobina y proteínas de alta masa molar). La medición de la concentración de plomo en sangre es extensamente utilizada para el monitoreo biológico de poblaciones expuestas a dicho metal (Yen y cols., 1997).

El estudio de las concentraciones de plomo en sangre para prevenir o detectar situaciones patológicas requiere de métodos seguros. La espectrofotometría de

absorción atómica con horno de grafito representa la técnica mas ampliamente usada para la determinación de plomo en sangre. Este método favorece la determinación del metal a niveles traza, debido a su alta sensibilidad, excelente selectividad y requerimientos mínimos en la manipulación y en el tratamiento de la muestra, lo cual disminuye los riesgos de contaminación. Por otra parte, en este tipo de análisis se utilizan pequeñas cantidades de muestras y el horno de grafito puede alcanzar altas y controladas temperaturas (hasta 2 800°C), lo que permite la eliminación de los contaminantes, sin pérdida significativa del analito (Bermúdez, 1995).

La contaminación por plomo en la sangre constituye un factor de riesgo a nivel mundial, principalmente en los países sub-desarrollados, donde se han venido elaborando importantes trabajos de investigación, como el realizado en Perú, cuyo objetivo fue conocer las concentraciones de plomo sanguíneo de los habitantes de ciudades de diferente densidad poblacional y grado de desarrollo industrial, durante 1994 y 1995. Las ciudades consideradas fueron Lima, Huancayo, La Oroya y Yaupi. En este trabajo se concluyó que las concentraciones de plomo sanguíneo de los habitantes de estas ciudades guardan relación con el grado de industrialización y la densidad poblacional de cada localidad (Ramírez y cols., 1997).

Entre las investigaciones que se han realizado en Venezuela para medir el grado de intoxicación plúmbica, se encuentra un estudio médico ocupacional de trabajadores pertenecientes a unidades productivas dedicadas a labores de telecomunicaciones, mecánica de radiadores de automóviles y reparación de acumuladores eléctricos, realizado en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia. Los resultados mostraron valores promedio de plumbemia en la población expuesta, por encima del nivel umbral especificado en la norma COVENIN 2277-85 (30 µg/dl) (Corzo y Naveda, 1998). En otro trabajo hecho en el mismo estado, se realizó la medición de niveles de plomo en muestra de sangre y semen de individuos fértiles e infértiles. En éste se hallaron diferencias estadísticamente significativas, entre los

individuos fértiles e infértiles, demostrando la participación del plomo como un factor importante en la infertilidad masculina en la ciudad de Maracaibo (Rodríguez de Godoy y cols., 2001).

En Venezuela, y particularmente en la ciudad de Cumaná, estado Sucre, no existe ningún control en el uso del plomo y sus derivados. No obstante, estudios relevantes como el realizado por (Rondón, 1988), han señalado las alteraciones de los ambientes acuáticos y terrestres causados por este metal a través de la incorporación a la cadena alimentaria de los organismos vivos que logran asimilar el plomo. Esto puede provocar daños ecológicos y biológicos, no sólo a este sistema natural, sino también a los residentes de esta localidad. En esta misma ciudad, se realizó un trabajo de investigación para conocer los niveles de plomo en los habitantes de la parroquia Altagracia, con el fin de aplicar medidas correctivas y mecanismos de seguridad y prevención por parte de las autoridades locales. Los resultados obtenidos arrojaron diferencias significativas entre los valores de plomo de la población expuesta y la no expuesta a este metal (Cabrera, 2002).

Como se puede observar, en el estado Sucre son pocos los estudios que se han realizado en la población sobre las consecuencias de la contaminación por plomo, razón por la cual, se considera importante haber realizado esta investigación, ya que, permitió conocer la relación entre los niveles de plomo y el funcionalismo hematopoyético, hepático y renal, en expendedores de gasolina, de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

METODOLOGIA

Muestras

Para la realización de este estudio se escogieron 56 individuos masculinos, con edades comprendidas entre 18 y 56 años, que fueron distribuidos en dos grupos de trabajo. Un grupo de 36 individuos expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná, que a su vez se separaron en dos subgrupos: los que estuvieron expuestos por razones profesionales a contaminación por plomo al estar trabajando antes de la eliminación de este metal de la gasolina y los que expenden gasolina luego de la eliminación de este metal del combustible y un grupo control integrado por 20 individuos no expuestos laboralmente al metal.

Este estudio se efectuó bajo estrictas normas de la ética médica, según la declaración de Helsinki de las Normas Internacionales para las investigaciones Biomédicas en las Poblaciones Humanas, promulgadas por el Consejo de Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas (CIOMS, 2002), que incluye el consentimiento válido de los pacientes en estudio (Anexo 1).

Procesamientos de las Muestras

A cada individuo se le extrajo 10 ml de sangre completa por punción venosa y luego se separaron en dos porciones. La primera alícuota se depositó en un tubo de ensayo con anticoagulante (heparina) y se empleó para realizar las determinaciones hematológicas y la cuantificación del plomo. La segunda alícuota se depositó en un tubo de ensayo estéril seco, el cual se centrifugó para obtener el suero que sirvió para realizar las determinaciones de los parámetros bioquímicos urea, creatinina, bilirrubina y transaminasas.

El material destinado a la toma de muestra para la determinación de plomo requirió de una buena limpieza, debido a que la técnica utilizada detecta cantidades traza ($\mu\text{g/l}$), además que el plomo es un metal presente en el salitre urbano. Los tubos para la recolección de esta muestra fueron de polietileno, los cuales se colocaron en remojo durante 8 horas en una solución de un detergente especial (Radiac). Posteriormente, se enjuagaron con agua bidestilada y desionizada, y se secaron en una estufa aproximadamente a 60°C . Las puntas dispensadoras para la pipeta automática, con la capacidad para $200\ \mu\text{l}$, recibieron el mismo tratamiento, luego las puntas como los tubos fueron guardados en bolsas plásticas transparentes con cierres, para evitar cualquier contacto con el polvo hasta la toma de muestra.

Técnicas Utilizadas

Determinación de la Concentración de Plomo

La concentración de plomo en sangre se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica, marca Perkin-Elmer, modelo 2380, USA, acoplado a un horno de grafito marca Perkin-Elmer, modelo AS-40, para la inyección de las muestras. Las absorbancias integradas se imprimieron en un impresor secuencial Perkin-Elmer, modelo PRS-10 y se graficaron en un registrador lineal, también Perkin-Elmer, modelo R-100 A. El análisis se realizó en el laboratorio clínico “Julio Cesar González” en la ciudad de Valencia, de acuerdo al procedimiento descrito por Granadillo y Romero (1986).

El método de análisis cuantitativo para plomo, empleando la técnica de absorción atómica se basa en hacer pasar un haz de luz monocromática de una frecuencia tal que puede ser absorbido por el analito que se encuentra presente en forma de vapor atómico. La medida de la intensidad luminosa antes y después de su

paso por el vapor atómico permite determinar la absorbancia por parte del analito. La concentración de la muestra se conoce relacionando los valores de absorbancia obtenidos con los valores de absorbancia provenientes de las preparaciones de referencia de concentración conocidas.

La relación entre absorbancia y concentración es lineal y sigue la Ley de Lambert y Beer (Skoog, 2000). Valores de referencia: 0-350 $\mu\text{g/l}$. (Centro para el control y prevención de enfermedades, USA. 1985).

Determinación de la Concentración de Creatinina

La creatinina fue determinada por método calorimétrico, en el cual la creatinina reacciona con ácido pícrico, en un medio alcalino, para formar el complejo picrato de creatinina. La formación de este complejo causa un aumento en la absorbancia a 510 nm, que es directamente proporcional a la cantidad de creatinina en la muestra (Jaffé, 1986). Valores de referencia: adultos: 0,7-1,4 mg/dl.

Determinación de la Concentración de Urea

La determinación de la urea se realizó por el método enzimático de la ureasa, el cual se basa en que la enzima ureasa cataliza la hidrólisis de la urea presente en la muestra para formar amonio y dióxido de carbono. El amonio así producido se combina con alfa-cetoglutarato, en presencia de nicotinamina adenina dinucleótido reducida (NADH), durante la reacción catalizada de glutarato dehidrogenasa (GLDH) para producir glutamato. Una cantidad equimolar de NADH sufre oxidación durante la reacción y, esta es directamente proporcional a la concentración de nitrógeno de urea en la sangre de la muestra. Esta medición se realizó a 340 nm.

Valores de referencia: adulto: 15 a 39 mg/dl (Fischbach y Hunter, 1997).

Determinación de la Concentración de Hemoglobina

La hemoglobina fue determinada por el método de cianometahemoglobina, el cual consiste en aspirar con una pipetas de Sahlí 0,02 ml de sangre, mezclándolos con 5 ml de solución de Drabkin, resultando una solución de color rojiza, cuya absorbancia se determinó mediante un espectrofotómetro modelo Spectronic 20, a una longitud de onda de 540 nm. Al mezclar la sangre con el reactivo de Drakin, se transforma la hemoglobina en cianometahemoglobina. El reactivo Drakin contiene cianuro potásico y ferricianuro potásico; el ferricianuro hace pasar el hierro de la hemoglobina del estado ferroso (Fe^{+2}) al férrico (Fe^{+3}) para formar metahemoglobina, la cual se combina con cianuro potásico y da un pigmento estable, la cianometahemoglobina. Los límites de referencia son de 14 a 18 g/dl en hombres y de 12 a 16 g/dl en mujeres (Wintrobe, 1979).

Valoración del Hematocrito

Se aplicó el método del microhematocrito descrito por Wintrobe (1979), para lo cual se llenaron tubos capilares de vidrio hasta dos tercios con sangre completa, sellando uno de los extremos con plastilina. Luego se centrifugaron a 15 000 rpm durante 5 min y se determinó la altura del paquete globular en una tabla semilogarítmica. Valores de referencia: hombres: 42 a 52%; mujeres: 37 a 48% (Balcels, 1993).

Morfología sanguínea

Se determinó mediante la realización de extendidos sanguíneos sobre láminas portaobjetos, teñidas con colorante de Giemsa y luego de varios minutos se observaron al microscopio con objetivo de 100X para establecer la presencia del punteado basófilo. Al encontrar de 50 a 100 células punteadas, por cada 10 000 eritrocitos, es sugerente de saturnismo (Lynch y cols., 1977).

Contaje Leucocitario

Se determinó aplicando el método visual directo, el cual consiste en diluir la sangre en una solución acidulada (solución acuosa al 3% de ácido acético), permitiendo la hemólisis de los eritrocitos. Se contó el número de glóbulos blancos observados en un volumen fijo de esta dilución y se calculó posteriormente su número por unidad de volumen de sangre (Balcells, 1993).

Valores de referencia: adultos: $4,5$ a $11,0 \times 10^9$ glóbulos blancos/l.

Determinación de la Concentración de la Bilirrubina Total, Directa e Indirecta

Bilirrubina directa: se utilizaron 0,2 ml de la muestra, previamente diluida (1/10), la cual reaccionó con 2,5 ml de solución salina y 0,5 ml de diazoreactivo para formar azobilirrubina, un compuesto de color rosado cuya intensidad se determinó fotolorimétricamente a 540 nm a los 30 min. Valores de referencia 0,10 a 0,15 mg/dl (Kaplan y Pesce, 2001).

Bilirrubina total: Se emplearon 0,1 ml de la muestra, la cual se hizo reaccionar con 2,5 ml de metanol y 0,5 ml de diazoreactivo. Este método aplicó el mismo principio de la determinación de bilirrubina directa. Valores de referencia oscilan 0,3 -1,0 mg/dl (Kaplan y Pesce, 2001).

Cálculo de la bilirrubina indirecta

Esta se obtuvo por la siguiente relación:

Bilirrubina indirecta: bilirrubina total – bilirrubina directa

Determinación de la Actividad de la Enzima Aspartato Aminotransferasa (TGO)

Esta prueba enzimática se fundamenta en que la aspartato aminotransferasa cataliza la transferencia del grupo amino del L-aspartato a α -cetoglutarato, produciendo oxalacetato y L-glutamato. El oxalacetato se reduce a malato en una reacción catalizada por malato deshidrogenasa. En esta misma reacción un equivalente de NADH se oxida a NAD; la disminución en la absorbancia a 505 nm es directamente proporcional a la actividad de la aspartato aminotransferasa. Valores de referencias: 5-40 U/ml (Henry, 1983).

Determinación de la Actividad Enzimática Alanina Aminotransferasa (TGP)

Esta prueba está fundamentada en la capacidad de la TGP de catalizar la L-alanina a α cetoglutarato, resultando en la formación de piruvato y L-glutamato. La enzima lactato deshidrogenasa cataliza la reducción de piruvato y la oxidación simultánea de NADH a NAD. La disminución de la absorbancia a 340 nm es directamente proporcional a la actividad de la TGP. Valores de referencias: 5-30 U/ml (Henry, 1983).

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos del presente estudio fueron sometidos al análisis de regresión lineal, con el fin de obtener las relaciones entre los niveles de plomo y los parámetros hematológicos, hepáticos y renales en expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná. Además, se aplicó la prueba estadística Anova simple para determinar las posibles diferencias en las determinaciones de plomo y los diferentes parámetros estudiados en individuos expendedores de gasolina y controles (Sokal y Rohlf, 1980).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las figuras 1 y 2 muestran la ausencia de relación significativa entre los niveles de plomo y las concentraciones de hemoglobina y hematocrito en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible plumbado (Anexo 4). La ausencia de esta relación puede explicarse, argumentando que las concentraciones de plomo encontradas en la sangre de los expendedores de combustible no son capaces de afectar los niveles de hierro, ácido fólico y vitamina B₁₂ por ende, los niveles de hemoglobina y hematocrito encontrados en estos trabajadores se mantienen inalterados. Estos resultados coinciden con lo señalado por Cabrera (2002), dicho autor no encontró alteraciones hematológicas en concentraciones de plomo por debajo del nivel tóxico en personas expuestas a este metal.

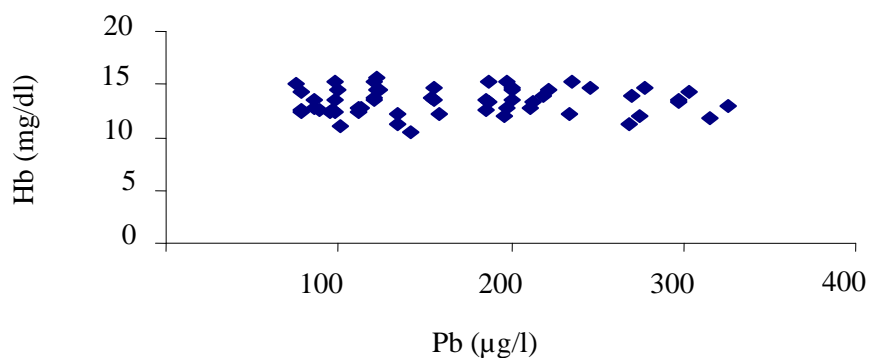


Figura 1. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de hemoglobina en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná.

En la figura 3 se muestra la ausencia de relación significativa entre las concentraciones de plomo y los niveles de leucocitos encontrados en los expendedores de combustible expuestos y no expuestos a la gasolina con plomo (Anexo 4). Este hecho puede explicarse, argumentando que las concentraciones de plomo encontradas en la sangre de los individuos estudiados no son capaces de afectar la secreción de interleuquina 6, ni los factores de crecimiento y diferenciación

de granulocitos y agranulocitos, que llevan consigo la estimulación las células pluripotentes para diferenciarla hacia la formación de leucocitos (Guyton y Hall, 1997).

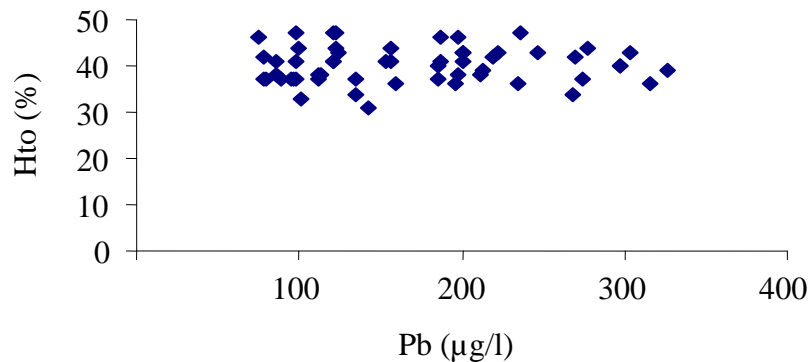


Figura 2. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de hematocrito en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná.

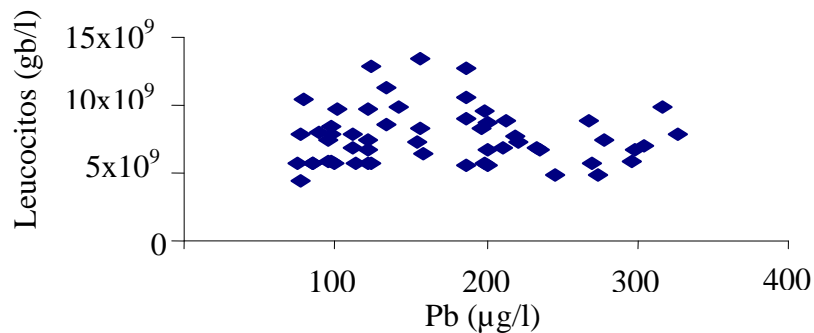


Figura 3. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de leucocitos en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná.

Las figuras 4 y 5 muestran la relación lineal positiva encontrada entre los niveles de plomo y las concentraciones de creatinina y urea sérica en los expendedores expuestos y no expuestos al combustible con plomo (Anexo 4). Estos resultados ponen de manifiesto que los individuos expendedores de gasolina expuestos al plomo pueden desarrollar daños a nivel renal, específicamente en la

membrana de filtración o en los procesos reabsortivos de urea y creatinina a nivel tubular que explican los aumentos de estos metabolitos en los individuos estudiados. Tales resultados fueron similares a los señalados por Bermúdez (1995), tal autor concluyó que la exposición constante al plomo tiene efectos sobre los parámetros renales.

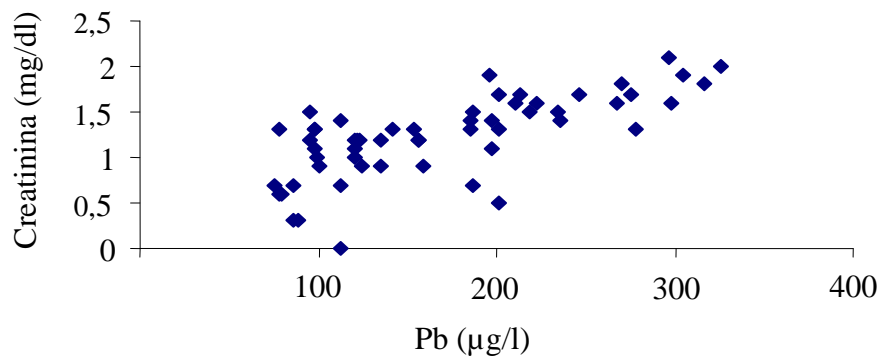


Figura 4. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de creatinina en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná.

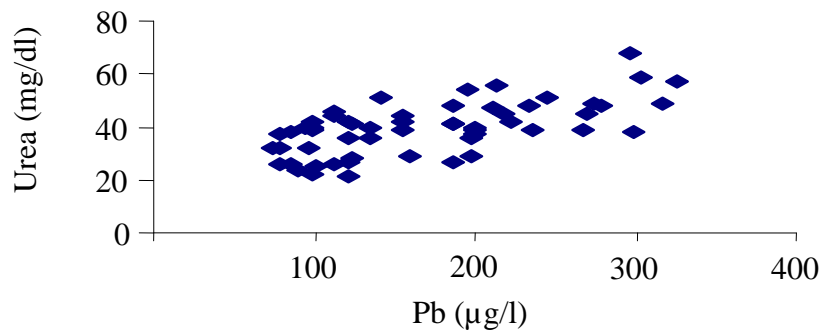


Figura 5. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de urea en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná.

La figura 6 muestra la relación lineal positiva encontrada entre los niveles de plomo y las concentraciones de bilirrubina en los expendedores de combustible expuestos y no expuestos a la gasolina con plomo (Anexo 4). Estos resultados pueden justificarse señalando que la gasolina con y sin plomo probablemente puede producir

alteraciones funcionales a nivel hepático principalmente en el proceso de conjugación de la bilirrubina, este hecho debe ser interpretado de esta forma, ya que los aumentos de las concentraciones de bilirrubina total en estos individuos esta dada por el incremento de la bilirrubina directa, es decir la que se conjuga en el hígado con sulfato que es la forma soluble en el plasma (Anderson y Cockayne, 1995).

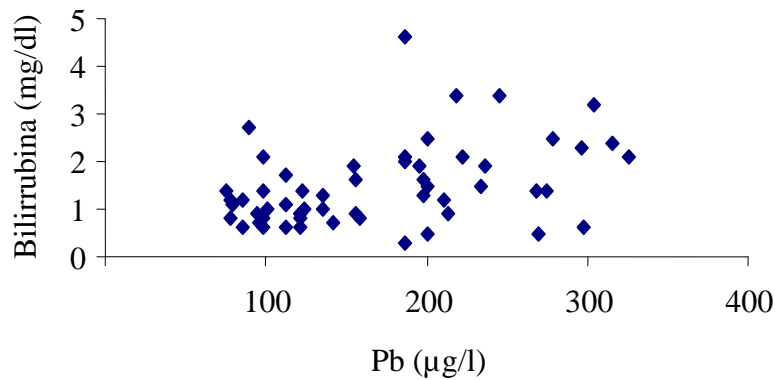


Figura 6. Relación entre los niveles de plomo y las concentraciones de bilirrubina en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná.

Las figuras 7 y 8 muestran que no existe relación entre las concentraciones de plomo y las actividades de las enzimas alanino aminotransferasa y aspartato aminotransferasa (Anexo 4). Estos resultados pueden explicarse señalando que las concentraciones de plomo encontradas en la sangre de los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al plomo, no son capaces de alterar la secreción de las hormonas glucocorticoides, las cuales son las responsables de la producción de los aminoácidos (alanina y aspartato) necesarios para la formación de las enzimas transaminasas. Resultados que coinciden con los presentados por Rodríguez (2002), tal autor no encontró relación entre las concentraciones de plomo y los parámetros hepáticos en individuos expuestos laboralmente al metal.

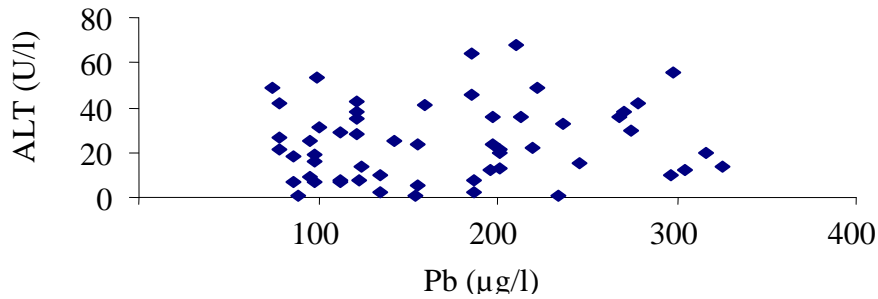


Figura 7. Relación entre los niveles de plomo y las actividades de la enzima alanino aminotransferasa en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de ciudad de Cumaná.

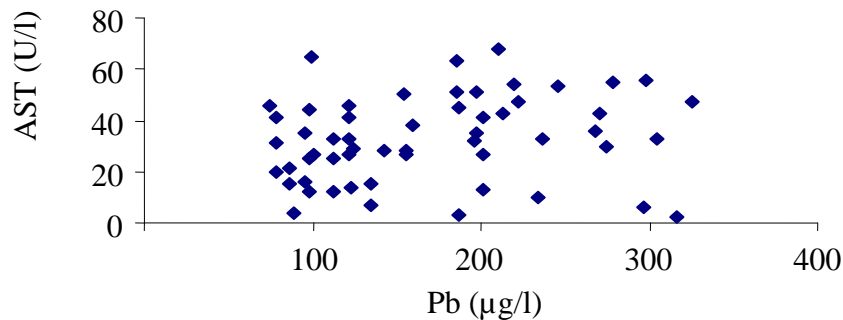


Figura 8. Relación entre los niveles de plomo y las actividades de la enzima aspartato aminotransferasa en los individuos expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná.

La figura 9 muestra los valores promedios de las concentraciones de plomo determinados en individuos expendedores de gasolina expuestos ($X= 228 \mu\text{g/l}$) y no expuestos al plomo ($X= 136 \mu\text{g/l}$) e individuos controles ($X= 116 \mu\text{g/l}$). Se observa mayor concentración de plomo en los expendedores que han estado expuestos al metal, en comparación con los expendedores que no estuvieron expuestos al metal y los individuos del grupo control. Estas concentraciones arrojaron diferencias estadísticamente significativas (Anexo 5). La explicación a estos resultados está relacionado con el hecho de que los expendedores de combustible que han estado expuestos al plomo pueden acumular este metal a nivel óseo por aproximadamente 25 años, pudiendo regresar a sangre periférica en proporciones sustanciales (Ramírez y cols., 1997).

Los grupos de expendedores no expuestos y el grupo control presentaron niveles de plomo que evidencian una exposición real al metal que puede ser causada por factores ambientales o alimenticios (Sanín y cols., 1998).

Las figuras 10 y 11 muestran los valores medios de los parámetros de hemoglobina y hematocrito determinados en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al plomo, no expuestos al metal y un grupo de individuos control. Los resultados obtenidos no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados (Anexo 6, 7), Indicando que las concentraciones de plomo encontradas en estos individuos no altera los niveles de hemoglobina ni de hematocrito, ya que los mismos no son capaces de modificar las concentraciones de hierro, vitamina B₁₂ y ácido fólico, parámetros relacionados directamente con la concentración de hemoglobina. También puede señalarse que no se afecta la secreción de eritropoyetina a nivel renal (Guyton y Hall, 1997).

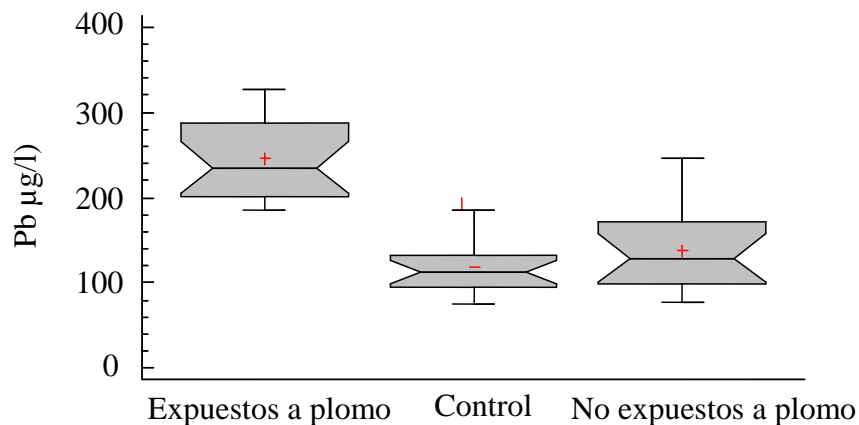


Figura 9. Concentraciones de plomo en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

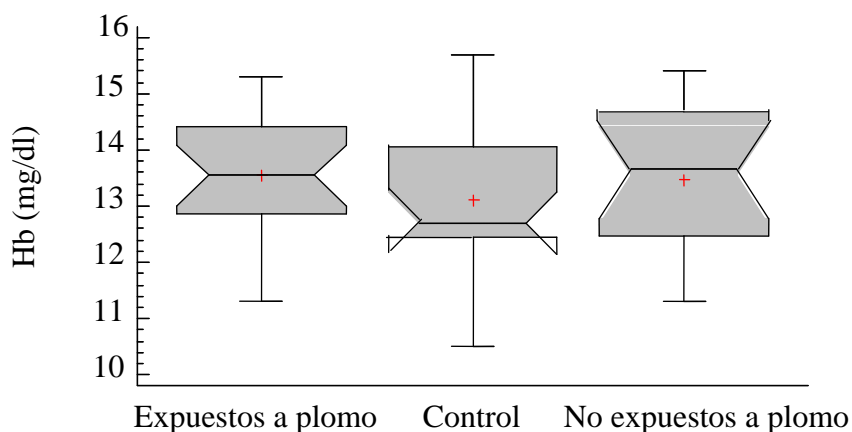


Figura 10. Concentraciones de hemoglobina en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

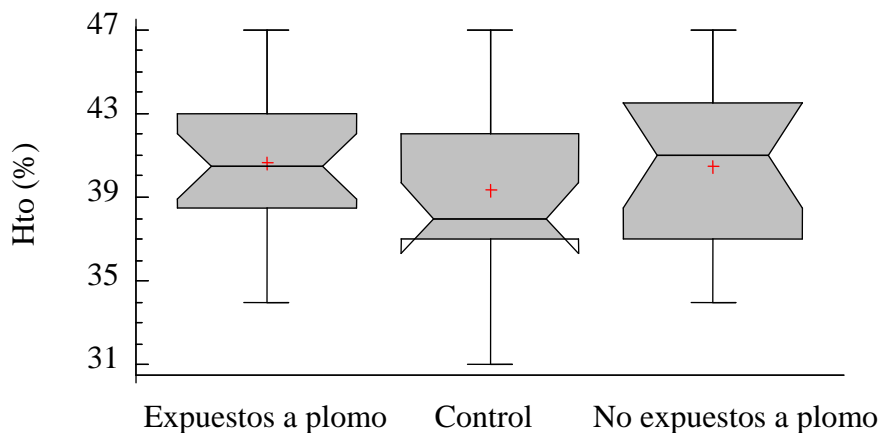


Figura 11. Concentraciones de hematocrito en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

La figura 12 muestra los valores medios del conteo de leucocitos determinados en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al plomo, lo expendedores no expuestos al metal y un grupo control. Los resultados obtenidos no muestran diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados (Anexo 8).

Este hecho puede explicarse, señalando que los niveles de plomo en estos individuos expendedores de gasolina no son capaces de aumentar o disminuir la secreción del factor de crecimiento y diferenciación de granulocitos y monocitos ni los de interleuquina 6, compuestos encargados de estimular la producción leucocitos (Cabrera, 2002).

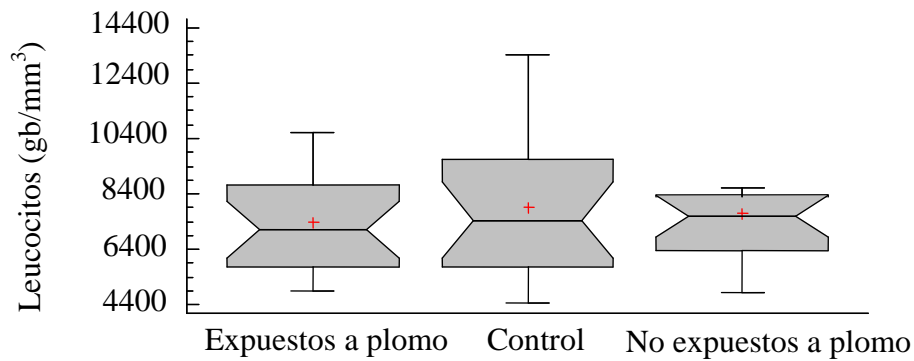


Figura 12. Concentraciones de leucocitos en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

Los resultados obtenidos en el presente estudio en relación a los punteados basófilos en el interior de los eritrocitos en los expendedores de gasolina expuestos y no expuestos al plomo y en los individuos controles, no arrojaron ninguna muestra con presencia de estas inclusiones. Estos hallazgos demuestran que la aparición de los punteados basófilos ocurre cuando la concentración de plomo en sangre es superior a 500 $\mu\text{g/dl}$. Estos resultados concuerdan con los reportados por Bermúdez (1995), dicho autor encontró niveles de plomo por debajo del nivel tóxico y la determinación del punteado basófilo resultó negativa para todos los individuos estudiados.

La figura 13 muestra los valores promedios del parámetro sérico creatinina, determinado en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible con plomo, expendedores de gasolina no expuestos al metal y un grupo control. El

grupo de expendedores que estuvo expuesto al metal presentó una concentración promedio de creatinina superior a la del grupo no expuesto y a la del grupo control, mostrando diferencias estadísticamente significativas entre los grupos estudiados (Anexo 9). Este resultado se puede explicar, indicando que los expendedores de gasolina expuestos al plomo alcanzaron concentraciones de este metal que probablemente alteren la membrana de filtración glomerular y por ende la eliminación de creatinina, lo cual trae como consecuencia la presencia de los altos niveles de este compuesto en estos individuos, superiores a los encontrados en el grupo control y en los expendedores no expuestos al plomo (Levey, 1998; Guyton y Hall, 1997).

La figura 14 muestra los valores promedio del parámetro urea medidos en los expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible con plomo, expendedores no expuestos al combustible con plomo y un grupo de individuos que sirvieron como control. Se observa que el grupo de expendedores de gasolina expuestos al plomo presenta las concentraciones de urea más elevadas. Esto puede ser consecuencia de que estos individuos han mantenido niveles significativos de plomo en sangre durante varios años, provocando alteraciones renales que se manifiestan con alteraciones en la membrana de filtración y en los túbulos renales, lo cual disminuye la eliminación de urea y, en consecuencia, aumenta su concentración sérica (Chilson, 1971; Guyton y Hall, 1997).

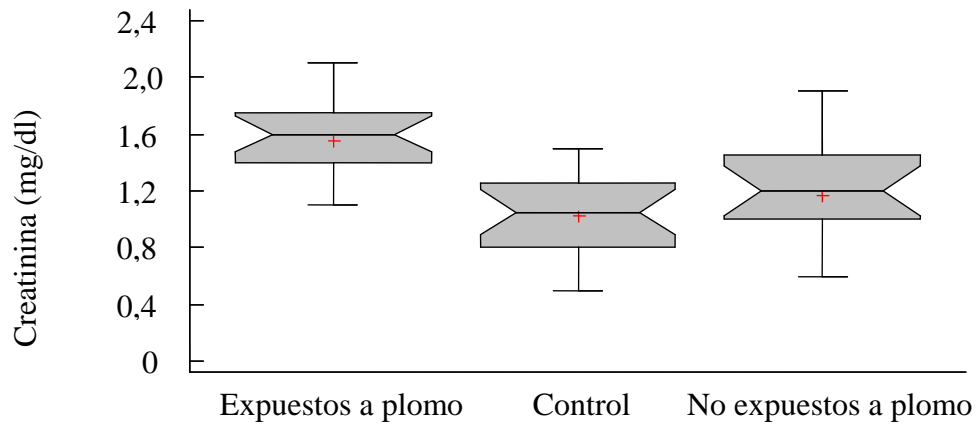


Figura 13. Concentraciones de creatinina sérica en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

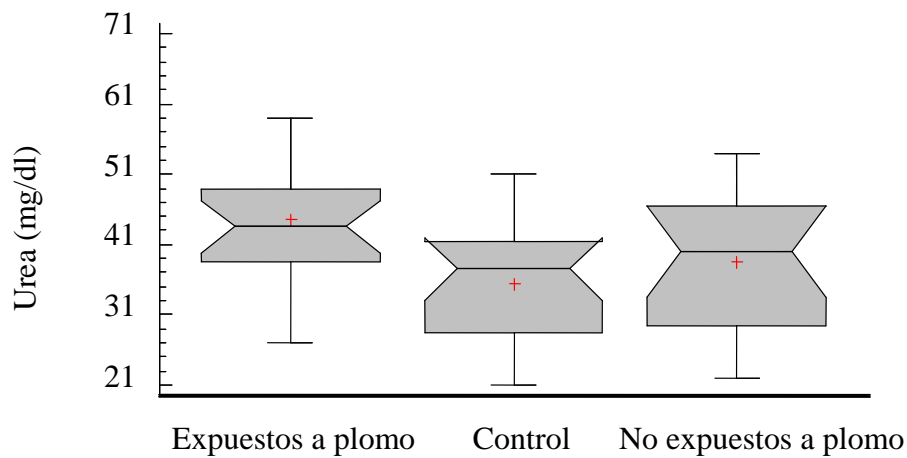


Figura 14. Concentraciones de urea sérica en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

La figura 15 muestra los valores promedios de las concentraciones de bilirrubina medidas en individuos expendedores de gasolina expuestos a plomo, expendedores de gasolina no expuestos a plomo e individuos controles. Se observan valores aumentados en los grupos experimentales, en comparación con el grupo control. Estos resultados ponen de manifiesto que el combustible con o sin plomo es capaz de producir significativos episodios de lisis de hematíes, lo que trae como

consecuencia liberación de hemoglobina al líquido extracelular, exponiéndola a la acción de los macrófagos del sistema retículo endotelial que favorece la formación de bilirrubina por reacciones de óxido reducción y por acción enzimática sobre el grupo hemo, causando así la formación de bilirrubina y provocando incremento a nivel sanguíneo como se observa en los expendedores de gasolina estudiados (Guyton y Hall, 1997).

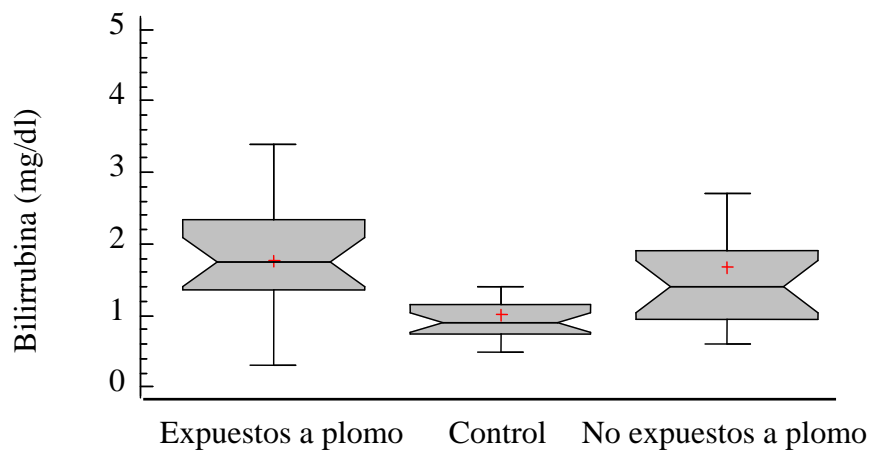


Figura 15. Concentraciones de bilirrubina en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

Las figuras 16 y 17 señalan los valores promedios de las actividades de las enzimas alanino aminotransferasa y aspartato aminotransferasa medidas en expendedores de gasolina expuesto a plomo, no expuestos al plomo e individuos controles. No se obtuvo diferencias estadísticamente significativas al evaluar estos parámetros. No obstante, los valores de la actividad de la enzima alanino aminotransferasa en los expendedores de gasolina expuestos al plomo muestran valores medios por encima de los encontrados en los expendedores de gasolina no expuestos a plomo y en los individuos del grupo control. Estos resultados pueden interpretarse como el principio de una alteración a nivel hepático en estos individuos. Sin embargo, se debe señalar que estudios como el realizado por Rodríguez (2002),

manifiestan que aunque este metal tiene afinidad por el hígado, la gran capacidad de reestructuración de este órgano no permite que se evidencie algún daño, principalmente cuando la exposición al metal ha sido crónica.

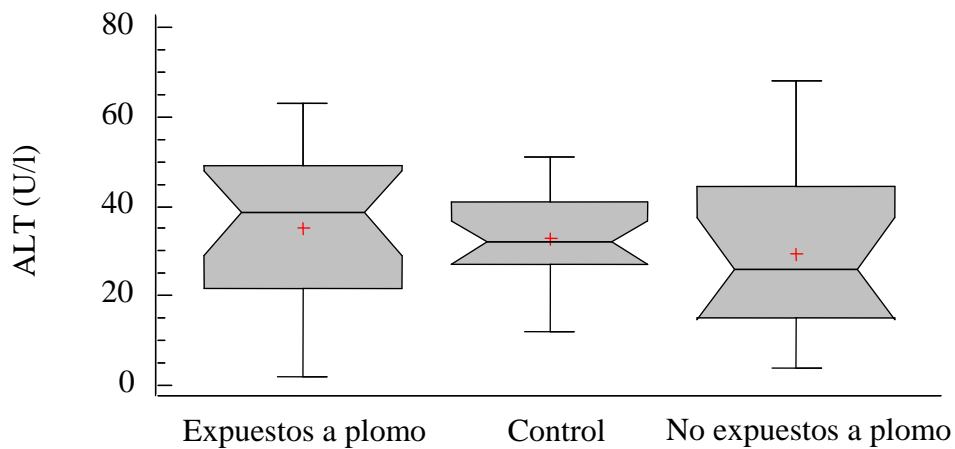


Figura 16. Actividad de la enzima alanino aminotransferasa (ALT) en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

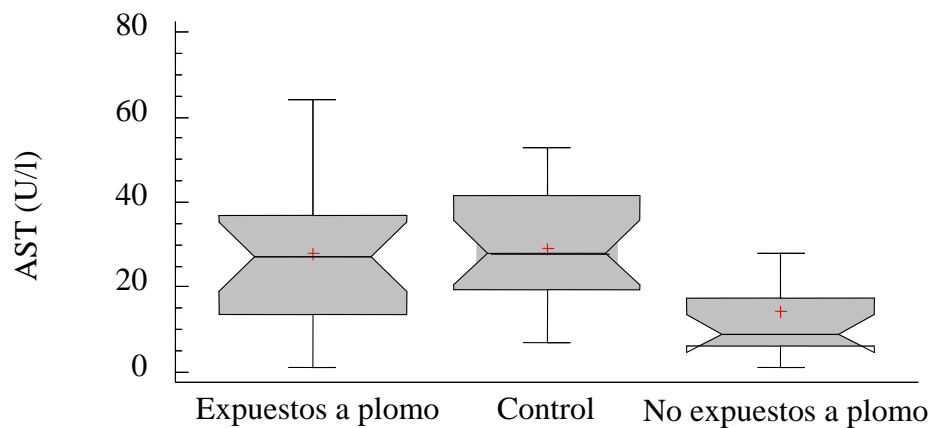


Figura 17. Actividad de la enzima aspartato aminotransferasa (AST) en expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible plumbado, expendedores de combustible no expuestos al combustible con plomo de la ciudad de Cumaná, estado Sucre y un grupo control.

CONCLUSIONES

Los individuos expendedores de gasolina expuestos al plomo mostraron las mayores concentraciones de plomo a nivel sanguíneo en comparación con aquellos no expuestos al plomo y el grupo control.

No existe relación entre las concentraciones de plomo y los parámetros hematológicos estudiados.

Los expendedores de gasolina que estuvieron expuestos al combustible con plomo presentaron concentraciones de urea y creatinina elevadas con respecto a los otros dos grupos.

Se encontró relación entre las concentraciones de plomo y las concentraciones de urea y creatinina en los individuos estudiados.

Los dos grupos de expendedores de gasolina mostraron concentraciones de bilirrubina superiores a las del grupo control, pero estos valores no muestran relación con las concentraciones de plomo.

Las actividades de las enzimas transaminasas indicaron valores promedios muy similares en los tres grupos estudiados, sin mostrar diferencias estadísticas entre ellos.

No se encontró relación entre las concentraciones de plomo en sangre y los parámetros hepáticos estudiados.

BIBLIOGRAFÍA

Ariet, F. 2002. Manual de química fisiológica. Editorial El Manual Moderno. Buenos Aires.

Anderson, J y Cockayne, M. 1995. Química clínica. Editorial MacGraw-Hill. Ciudad de México.

Balcells, A. 1993. La clínica y el laboratorio. Ediciones científicas y técnicas, S.A. Barcelona.

Bermúdez, M. 1995. Relación de la concentración de plomo y parámetros hematológicos en trabajadores de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Trabajo de grado. Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Bernard, J.; Washinton, J.; Melendon, W.; Statland, B.; y Tomas, R. 2002. Diagnóstico y tratamiento clínico por el laboratorio. Tomo I. Salvat Editores. Barcelona, España.

Cabrera, D. 2002. Niveles hematológicos y niveles de plomo en habitantes de la parroquia Altagracia de Cumaná, estado Sucre. Trabajo de grado. Escuela de Ciencias, Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Cake, D.; Borges, A. y González, J. 2000. Determinación de plomo sérico. Revista Panamericana Salud Pública, 1(8):4-6.

Centro para el control y prevención de enfermedades. 1985. El resumen 1984-1987: concentraciones de plomo permitido en individuos expuestos laboralmente al metal. MMWR, 37 (3667): 3-7.

CIOMS. 2002. Internacional Ethical Guidelines for Biomedical Research involving Human Subjects. Council for International Organizations of Medical Sciences (CIOMS) in collaboration with the World Health Organization (WHO). <http://WWW.cioms.ch/frame_guidelines_nov_2002.htm> (18/05/09).

Corzo, A. y Naveda, D. 1998. Contaminación plúmbica en trabajadores de acumuladores eléctricos en la ciudad de Maracaibo, estado Zulia. Revista Panamericana Salud Pública, 1 (8): 3-8.

Chilsom, J. 1971. Lead poisoning. SC. Amer. 224 (2): 15-23.

Fischbach, D. y Hunter, P. 1997. Métodos bioquímicos para la determinación en el laboratorio clínico. Editorial El Manual Moderno. Buenos Aires.

Granadillo, V. y Romero, J. 1986. Determinar analíticamente las concentraciones de plomo existente en sangre y orina en trabajadores que laboran en las estaciones de servicios de la ciudad de Trujillo, Venezuela. Revista de la Sociedad Venezolana de Química, 15 1: 3-10.

Guyton, A. y Hall, J. 1997. Tratado de fisiología médica. Editorial McGraw-Hill. Ciudad de México.

Henry, J. 1983. Diagnóstico clínico para el laboratorio. Editorial Científica y Técnica. Ciudad de México.

Jaffé, L. 1986. Química Clínica, Técnica de laboratorio, Fisiología, Métodos de análisis. Editorial Médica Panamericana, S.A. México.

Jiménez, A. y Zapata, P. 2003. Efectos del saturnismo. Salud Pública México, 29(4): 113-210.

Kaplan, L. y Pesce, A. 2001. Química clínica. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires.

Levey, A. 1998. Serium creatinine and renal function. Ann. Rev. Med. 39: 465-490 pp.

Ramírez, A.; Paucar, J. y Medina, J. 1997. Determinación de plomo sanguíneo en habitantes de cuatros ciudades peruanas. Revista Panamericana Salud Pública, 1(5): 4-6.

Rivas, F. y Vicuña, N. 1999. Exposición urbana no ocupacional al plomo y niveles sanguíneos en embarazadas y recién nacidos. Archivo Venezuela Puericultura Pediátrica, 62(4): 3 - 6.

Rodríguez de Godoy, M.; Hernández, M. y Granadillo, V. 2001. Determinación de los niveles de plomo en muestras de sangre completa y semen de individuos fértiles e infértiles, evaluado por espectrometría de absorción electrotérmica. Congreso Venezolano de Bioanálisis (XII jornada). Maracaibo. Venezuela. 172p.

Rodríguez, M. 2002. Efectos fisiológicos de la contaminación por plomo y mercurio en mineros del municipio el Callao, estado Bolívar. Trabajo de grado. Escuela de Ciencias de la salud, Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Bolívar, Venezuela.

Rondón, R. 1988. Contaminación de algunos suelos y plantas comestibles del estado Sucre por plomo y zinc. Trabajo de grado. Escuela de Ciencias, Departamento de Química. Universidad de Oriente, Cumaná, Venezuela.

Tresguerres, J. 2005. Fisiología Humana. Editorial McGraw-Hill. Madrid.

Sánchez-Anzaldo, F. 1995. Saturnismo. Enciclopedia iberoamericana de hematológica. Universidad de Salamanca. España.

Sanín, L.; González-Cossio, T.; Romieu, I. y Hernández-Ávila, M. 1998. Acumulación de plomo en huesos y sus efectos en la salud. Salud Pública México, 40: 359 – 368.

Skoog, D. 2000. Química Analítica. Editorial McGraw-Hill. Ciudad de México.

Sokal, R. y Rohlf, J. 1980. Principios y métodos estadísticos en la investigación biológica. San Francisco, Estados Unidos.

Wintrobe, M. 1979. Hematología clínica. Editorial Intermédica. Buenos Aires.

Yen, C.; Cheng, W.; Hu, C.; Wei, B.; Chung, C. y Kuo, S. 1997. Lead determination in whole blood by graphite furnace atomic absorption spectrometry. Atlant Spectrosc, 18(2): 64-69.

ANEXOS

ANEXO 4

Tabla 4. Valores del factor de correlación (R) de la prueba estadística regresión lineal simple relacionando las concentraciones de plomo con los parámetros de hemoglobina, hematocrito, leucocitos, creatinina, urea, bilirrubina y transaminasas aplicada en expendedores de gasolina expuestos y no expuestos a la combustible plumbado y un grupo de individuos controles de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

| RELACIÓN | N | R |
|--|----|--------|
| Plomo vs hemoglobina | 57 | 0,0017 |
| Plomo vs hematocrito | 57 | 0,0010 |
| Plomo vs leucocitos | 57 | 0,0011 |
| Plomo vs creatinina | 57 | 0,505 |
| Plomo vs urea | 57 | 0,364 |
| Plomo vs bilirrubina | 57 | 0,166 |
| Plomo vs alaninoamino transferasa | 57 | 0,0147 |
| Plomo vs aspartatoamino transferasa | 57 | 0,0388 |

ANEXO 5

Tabla 5. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de plomo (Pb ug/l) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Entre grupos | 315418, | 2 | 157709, | 40,55 | 0,0000*** |
| Intra grupos | 206150, | 53 | 3889,62 | | |
| Total (Corr.) | 521568, | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 6

Tabla 6. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Hemoglobina (Hb $\mu\text{g/l}$) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Entre grupos | 2,073 | 2 | 1,0365 | 0,67 | 0,5156 Ns |
| Intra grupos | 81,892 | 53 | 1,54513 | | |
| Total (Corr.) | 83,965 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 7

Tabla 7. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Hematocrito (Hto%) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Entre grupos | 19,7571 | 2 | 9,87857 | 0,66 | 0,5235 |
| Intra grupos | 799,1 | 53 | 15,0774 | | |
| Total (Corr.) | 818,857 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 8

Tabla 8. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de leucocitos (Leu) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Entre grupos | 2,92056E6 | 2 | 1,46028E6 | 0,34 | 0,7143 |
| Intra grupos | 2,28595E8 | 53 | 4,31311E6 | | |
| Total (Corr.) | 2,31515E8 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 9

Tabla 9. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Creatinina (mg/dl) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|
| Entre grupos | 3,98339 | 2 | 1,9917 | 1,07 | 0,03507 |
| Intra grupo | 98,775 | 53 | 1,86368 | | |
| Total (Corr.) | 102,88 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 10

Tabla 10. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentraciones de Urea (U mg/dl) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------------|
| Entre grupos | 853,387 | 2 | 426,694 | 4,96 | 0,0106 * |
| Intra grupos | 4555,74 | 53 | 85,9573 | | |
| Total (Corr.) | 5409,13 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 11

Tabla 11. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a las concentración Bilirrubina (mg/dl) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|------------------|
| Entre grupos | 5,88745 | 2 | 2,94372 | 6,24 | 0,0037 ** |
| Intra grupos | 25,0124 | 53 | 0,471932 | | |
| Total (Corr.) | 30,8998 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 12

Tabla 12. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a la actividad de la enzima Alaninoaminotransferasa (U/l) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|---------------|
| Entre grupos | 2333,54 | 2 | 1166,77 | 4,65 | 0,1371 |
| Intra grupos | 13286,4 | 53 | 250,688 | | |
| Total (Corr.) | 15620,0 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

ANEXO 13

Tabla 13. Resumen de la prueba estadística Anova simple aplicada a la actividad de enzima de Aspartatoaminotransferasa (U/l) en expendedores de gasolina que laboran antes de la eliminación del metal del combustible, expendedores de gasolina no expuesto al combustible plumbado y un grupo control de la ciudad de Cumaná, Estado Sucre.

| <i>Fuente</i> | <i>SC</i> | <i>Gl</i> | <i>CM</i> | <i>R</i> | <i>P</i> |
|---------------|-----------|-----------|-----------|----------|-----------|
| Entre grupos | 382,002 | 2 | 191,001 | 0,66 | 0,5206 Ns |
| Intra grupos | 15315,8 | 53 | 288,978 | | |
| Total (Corr.) | 15697,8 | 55 | | | |

SC: Suma de Cuadrado; Gl: ; CM: Cuadrado Medio; R: Razón; P: valor experimental de la prueba Anova; $p < 0,05$ (estadísticamente Significativa).

APÉNDICE

APÉNDICE 1

CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación del Licdo. William Velásquez, profesor de la Universidad de Oriente, núcleo de Sucre, se está realizando el proyecto de investigación titulado: “Relación entre niveles de plomo y parámetros hematológicos, hepáticos y renales en los expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná, estado Sucre”.

Yo: _____

C.I: _____ Nacionalidad: _____

Estado Civil: _____ Domiciliado en: _____

Siendo mayor de 18 años, en uso pleno de mis facultades mentales y sin que medie coacción ni violencia alguna, en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio indicado, declaro mediante la presente:

1. Haber sido informado(a), de manera clara y sencilla por parte del grupo de investigadores de este proyecto, de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación titulado: “Relación entre los niveles de plomo y parámetros hematológicos, hepáticos y renales en los expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.”
2. Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo es evaluar relacionar los valores de plomo y los parámetros hematológicos, hepáticas y renales en expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.
3. Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador, en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: permitir de

manera voluntaria la extracción de una muestra de sangre, la cual será analizada por una persona capacitada y autorizada por el coordinador del proyecto.

4. Que la muestra sanguínea que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para determinar niveles de plomo, hemoglobina, hematocrito, leucocitos, urea, creatinina, bilirrubina, transaminasas.
5. Que el equipo de personas que realiza esta investigación me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi Identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tengo acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.
6. Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.
7. Que mi participación en dicho estudio no implica riesgo e inconveniente alguno para mi salud.
8. Que cualquier pregunta que tenga en relación con este estudio me será respondida oportunamente por parte del equipo de personas antes mencionadas, con quienes me puedo comunicar por el teléfono 0412-1885980 con el bachiller Jesús Alexander Rodríguez Ramírez.
9. Que ningún concepto se me ha ofrecido, ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que se puedan producir en el referido proyecto de investigación.

APÉNDICE 2

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Luego de haber explicado detalladamente al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certificó mediante la presente que a mi leal saber el sujeto firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación de su representado en este estudio. Ningún problema de índole médico, de idioma o de traducción ha impedido al sujeto tener clara comprensión de su compromiso en este estudio.

Por el proyecto: ““Relación entre los niveles de plomo y parámetros hematológicos, hepáticos y renales en los expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.”

APÉNDICE 3
DECLARACIÓN VOLUNTARIA

Luego de haber leído, comprendido y aclaradas mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a mi participación en este estudio es totalmente voluntaria acuerdo:

1. Aceptar las condiciones estipulada en el mismo y a la vez autorizar al equipo de investigadores a realizar el referido estudio en las muestras de sangre que acepto donar para los fines indicados anteriormente.

2. Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento si que ello conlleve algún tipo de consecuencias negativa para mi persona:

Firma del Voluntario: _____

Nombre y Apellido: _____

C.I: _____

Lugar y Fecha: _____

Firma del Testigo: _____

Nombre y Apellido: _____

C.I: _____

Lugar y Fecha: _____

Firma del Testigo: _____

Nombre y Apellido: _____

C.I: _____

Lugar y Fecha: _____

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/5

| | |
|------------------|---|
| Título | RELACIÓN ENTRE NIVELES DE PLOMO Y PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS, HEPÁTICOS Y RENALES EN LOS EXPENDEDORES DE GASOLINA DE LA CIUDAD DE CUMANÁ, ESTADO SUCRE (Modalidad: Investigación) |
| Subtítulo | |

Autor(es)

| Apellidos y Nombres | Código CVLAC / e-mail | |
|--|-----------------------|--|
| JESÚS ALEXÁNDER RODRÍGUEZ RAMÍREZ | CVLAC | 16.842.560 |
| | e-mail | rodriguezjesus_84@hotmail.es |
| | e-mail | |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |
| | CVLAC | |
| | e-mail | |
| | e-mail | |

Palabras o frases claves:

| |
|---|
| Gasolina, Plomo, Creatinina, TGO, TGP, Parámetros Hematológicos, Urea |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |
| |

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/5

Líneas y sublíneas de investigación:

| Área | Subárea |
|----------|-------------|
| Ciencias | Bioanálisis |
| | |
| | |

Resumen (abstract):

El objetivo del presente estudio fue relacionar los niveles de plomo y los parámetros hematológicos, hepáticos y renales en los expendedores de gasolina de la ciudad de Cumaná, estado Sucre. Para lograr este fin se analizaron muestras sanguíneas provenientes de 56 individuos todos del sexo masculino con edades comprendida entre 18 y 56 años, los cuales fueron divididos en dos grupos: un grupo experimental conformado por 36 individuos expendedores de gasolina, este fue dividido a su vez en dos subgrupos, los expendedores de gasolina que están trabajando antes de la eliminación del plomo del combustible (20 individuos) y los expendedores de gasolina que están trabajando después de la eliminación del metal de combustible (16 individuos) y un grupo control conformado por 20 individuos estudiantes del departamento de Bioanálisis de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. A cada uno de ellos se le tomaron 10 ml de sangre y se dividieron en dos porciones: una de 5 ml en tubos de ensayos con anticoagulante para realizar la determinación de plomo y los parámetros hematológicos y otra de 5 ml en tubos secos para obtener los respectivos sueros para las determinaciones de los parámetros hepáticos y renales. Los resultados obtenidos al aplicar la prueba estadística regresión lineal mostraron relación significativa entre los niveles de plomo y los parámetros bioquímicos urea y creatinina, la prueba estadística Anova simple mostró diferencias significativas en las concentraciones de plomo y los parámetros bioquímicos urea, creatinina y bilirrubina evaluados en individuos controles, expendedores de combustible expuestos a la gasolina con plomo y expendedores no expuestos al combustible plumbado. Los parámetros hematológicos (hemoglobina, hematocrito, leucocitos y conteo de punteados basófilos) y hepáticos (bilirrubina, transaminasas), no mostraron diferencias significativas entre los grupos analizados. Todos estos resultados permiten concluir que existe una relación directa entre la exposición a la gasolina con plomo y la patología renal expresada por la relación lineal positiva entre las concentraciones de plomo y los niveles de urea y creatinina encontrados en los individuos estudiados.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/5

Contribuidores:

| Apellidos y Nombres | ROL / Código CVLAC / e-mail | |
|----------------------|-----------------------------|--|
| WILLIAM VELÁSQUEZ | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input checked="" type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> |
| | CVLAC | 9 278 206 |
| | e-mail | wjvelasquez@yahoo.es |
| | e-mail | |
| GILDA MILLÁN | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | 8 568 112 |
| | e-mail | gildamillan@hotmail.com |
| | e-mail | |
| OLGA BIANCHI | ROL | CA <input type="checkbox"/> AS <input type="checkbox"/> TU <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> |
| | CVLAC | 8 444 764 |
| | e-mail | olga-maria-bianchi@hotmail.com |
| | e-mail | |

Fecha de discusión y aprobación:

| Año | Mes | Día |
|------|-----|-----|
| 2009 | 07 | 09 |

Lenguaje: Spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/5

Archivo(s):

| Nombre de archivo | Tipo MIME |
|-------------------|-----------------|
| Tesis_JARR | Aplication/word |
| | |
| | |
| | |
| | |
| | |

Alcance:

Espacial : Universal

Temporal: _____

Título o Grado asociado con el trabajo:

Licenciatura en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciatura

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso

– 5/5

Derechos:

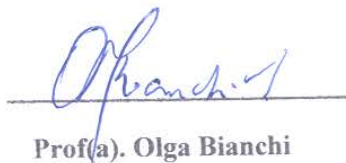
Los autores garantizamos en forma permanente a la Universidad de Oriente el derecho de difundir por cualquier medio el resumen de este trabajo de investigación. Los autores nos reservamos los derechos de propiedad intelectual así como todos los derechos que pudieran derivarse de patentes industriales y comerciales.



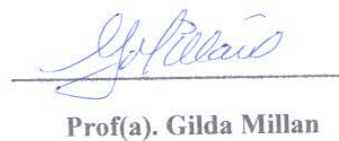
Jesús Alexander Rodríguez Ramirez



Prof. William Velásquez



Prof(a). Olga Bianchi



Prof(a). Gilda Millan

POR LA SUBCOMISIÓN DE TESIS

