

**EFFECTO CITOTOXICO Y GENOTOXICO POR EXPOSICION OCUPACIONAL  
AL FORMALDEHIDO EVALUADO *in vitro* MEDIANTE LAS PRUEBAS DE  
ÍNDICE MITÓTICO, ALTERACIONES CROMOSOMICAS Y MICRONUCLEOS**

**SANDRA MILETH COLLAZOS BOLAÑOS  
MARTHA LUCIA LOPEZ MUÑOZ**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGÉNÉTICA  
POPAYÁN  
2008**

**EFFECTO CITOTOXICO Y GENOTOXICO POR EXPOSICION OCUPACIONAL  
AL FORMALDEHIDO EVALUADO *in vitro* MEDIANTE LAS PRUEBAS DE  
ÍNDICE MITÓTICO, ALTERACIONES CROMOSOMICAS Y MICRONUCLEOS**

**SANDRA MILETH COLLAZOS BOLAÑOS  
MARTHA LUCIA LOPEZ MUÑOZ**

**Trabajo de grado como requisito para  
Optar el titulo de Biólogo**

**Director  
SILVIO MARINO CARVAJAL. MSc**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGÉNÉTICA  
POPAYÁN  
2008**

Nota de Aceptación:

---

---

---

---

Silvio Marino Carvajal. MSc  
Director del trabajo de grado

---

Sulma Muñoz Benítez, MSc  
Jurado

---

Oscar Ríos, MSc  
Jurado

Fecha de Sustentación, Popayán, 22 de Septiembre 2008

DEDICATORIA

*A mis padres, hermanos y sobrino  
A la memoria de mis abuelos:  
Ester, Ernestina y Manuel.*

*Sandra Mileth Collazos Belañes*

*A mi madre, hermanos y sobrinos  
A la memoria de mi padre.*

*Martha Lucia López Muñoz*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecemos a Dios por darnos la posibilidad de existir, a nuestra familia por ser nuestro principal apoyo y a nuestros amigos que estuvieron en los momentos que mas los necesitamos.

A la Universidad del Cauca, a los profesores del Departamento de Biología, principalmente a los profesores del Énfasis de Toxicología Genética y Citogenética: Luz Stella Hoyos, Noelia Cajas y de manera muy especial a nuestro director Silvio Carvajal por su apoyo incondicional y sus acertadas sugerencias en la realización de este trabajo, igualmente a la auxiliar del laboratorio Elsa Betty Velasco y a las Biólogas Ingrid Reyes y Adriana Muñoz por su colaboración.

Agradecemos el apoyo brindado por nuestros evaluadores Noelia Cajas y Hernán Sierra y nuestros Jurados Sulma Muñoz y Oscar Ríos, por sus valiosos aportes realizados a nuestro trabajo de grado.

Igualmente hacemos extensivos nuestros más sinceros agradecimientos a los docentes de Morfología, laboratoristas, monitores y estudiantes de la Universidad del Cauca, laboratoristas y monitores de la Universidad Antonio Nariño y a los Patólogos y laboratoristas del Hospital Universitario San José y en general a todas las personas quienes hicieron posible la realización de esta investigación.

## CONTENIDO

|  | pág. |
|--|------|
| RESUMEN.....                                   | 7    |
| INTRODUCCION.....                              | 8    |
| 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPÓTESIS..... | 10   |
| 2. JUSTIFICACION.....                          | 13   |
| 3. OBJETIVOS.....                              | 16   |
| 3.1 OBJETIVO GENERAL.....                      | 16   |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.....                 | 16   |
| 4. MARCO TEORICO.....                          | 17   |
| 4.1 FORMALDEHIDO.....                          | 17   |
| 4.1.1 Metabolismo Intermediario.....           | 18   |
| 4.1.2 Usos y Aplicaciones.....                 | 20   |
| 4.1.3 Toxicidad del Formaldehído.....          | 21   |
| 4.2 PRUEBAS CITOTOXICAS.....                   | 23   |

|   |           |
|---|-----------|
| <b>4.3 PRUEBAS GENOTOXICAS.....</b>                         | <b>23</b> |
| <b>4.3.1 PRUEBA DE ALTERACIONES CROMOSÓMICAS.....</b>       | <b>23</b> |
| <b>4.3.2 PRUEBA DE MICRONUCLEOS.....</b>                    | <b>25</b> |
| <b>5 ANTECEDENTES.....</b>                                  | <b>29</b> |
| <b>6 METODOLOGIA.....</b>                                   | <b>32</b> |
| <b>6.1 TIPO DE ESTUDIO.....</b>                             | <b>32</b> |
| <b>6.2 POBLACION OBJETO DE ESTUDIO.....</b>                 | <b>32</b> |
| <b>6.3 SELECCIÓN DE LA MUESTRA OBJETO DE ESTUDIO.....</b>   | <b>32</b> |
| <b>6.4 CULTIVO DE LINFOCITOS.....</b>                       | <b>33</b> |
| <b>6.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS ESTADISTICO.....</b>  | <b>35</b> |
| <b>7 RESULTADOS Y DISCUCION.....</b>                        | <b>37</b> |
| <b>7.1 CARACTERISTICAS DE LA POBLACION DE ESTUDIO .....</b> | <b>37</b> |
| <b>7.2 SIGNOS Y SINTOMAS .....</b>                          | <b>39</b> |
| <b>7.3 CITOTOXICIDAD .....</b>                              | <b>40</b> |
| <b>7.4 GENOTOXICIDAD.....</b>                               | <b>42</b> |

|              |   |           |
|--------------|---|-----------|
| <b>7.4.1</b> | <b>Efecto Genotóxico Evaluado Mediante la Frecuencia de Alteraciones Cromosómicas</b>   | <b>42</b> |
| <b>7.4.2</b> | <b>Efecto genotóxico Evaluado Mediante la Frecuencia de Micronúcleos</b>  | <b>45</b> |
| <b>7.4.3</b> | <b>Efecto Genotóxico Asociado a las Variables Cualitativas Identificadas en el Grupo Expuesto</b>   | <b>48</b> |
| <b>7.4.4</b> | <b>Análisis de Asociación entre el Índice Mitótico, Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos versus las Variables Cuantitativas (Edad y Tiempo de Exposición)</b> | <b>49</b> |
| <b>8</b>     | <b>CONCLUSIONES</b>   | <b>53</b> |
| <b>9</b>     | <b>RECOMENDACIONES</b>  | <b>54</b> |
|              | <b>BIBLIOGRAFIA</b>   | <b>55</b> |
|              | <b>ANEXOS</b>   | <b>72</b> |



## LISTA DE CUADROS

|  | pág. |
|--|------|
| <b>Cuadro 1.</b> Propiedades físico-químicas del formaldehído.....   | 18   |
| <b>Cuadro 2.</b> Concentración en ppm de formaldehído en algunos productos.....  | 20   |
| <b>Cuadro 3.</b> Criterios definidos por el Humn-Project para la selección de células...<br>binucleadas y de micronúcleos en cultivos de células humanas.          | 28   |
| <b>Cuadro 4.</b> Estudios realizados para evaluar el efecto toxico del formaldehído.....   | 30   |
| <b>Cuadro 5.</b> Criterios de inclusión y exclusión.....   | 33   |
| <b>Cuadro 6.</b> Características de la Población de Estudio .....  | 37   |
| <b>Cuadro 7.</b> Características Ocupacionales de Exposición y Ambientales.....<br>del grupo expuesto  | 38   |
| <b>Cuadro 8.</b> Signos y Síntomas.....  | 40   |
| <b>Cuadro 9.</b> Efecto Citotóxico (Índice Mitótico).....  | 41   |
| <b>Cuadro 10.</b> Efecto Genotóxico (Alteraciones Cromosómicas y.....<br>Micronúcleos)   | 42   |
| <b>Cuadro 11.</b> Asociación entre el uso de implementos de Protección y.....<br>Prevención y una frecuencia alta (>6) o baja (≤6) de Alteraciones<br>Cromosómicas | 49   |

## LISTA DE FIGURAS

|  | pág. |
|--|------|
| <b>Figura 1.</b> Estructura química del Formaldehído.....  | 17   |
| <b>Figura 2.</b> Metabolismo del Formaldehído.....   | 19   |
| <b>Figura 3.</b> (a) Célula binucleada con 3 micronúcleos. (b) Célula binucleada con 1 micronúcleo.....                              | 26   |
| <b>Figura 4.</b> Formación de Micronúcleos con Citocalasina B.....   | 27   |
| <b>Figura 5.</b> Quiebre Cromatídico.....  | 43   |
| <b>Figura 6.</b> Quiebre Cromosómico.....  | 44   |
| <b>Figura 7.</b> Célula Binucleada con un Micronúcleo.....   | 46   |
| <b>Figura 8.</b> Célula Binucleada Normal (A). Célula Binucleada con dos Micronúcleos (B).....                                       | 47   |
| <b>Figura 9.</b> Célula binucleada con varios Micronúcleos.....  | 47   |
| <b>Figura 10.</b> Análisis de Asociación entre el tiempo de Exposición (Horas-año) y la Frecuencia de Alteraciones Cromosómicas..... | 51   |
| <b>Figura 11.</b> Análisis de Asociación entre el tiempo de Exposición (Horas-año) y la Frecuencia de Micronúcleos.....              | 51   |

## LISTA DE ANEXOS

|  | <b>pág.</b> |
|--|-------------|
| <b>Anexo A.</b> Encuesta corta.....                        | 72          |
| <b>Anexo B.</b> Encuesta larga.....                        | 73          |
| <b>Anexo C.</b> Consentimiento Informado.....              | 75          |
| <b>Anexo D.</b> Registro de Alteraciones Cromosómicas..... | 78          |
| <b>Anexo E.</b> Registro de Micronúcleos.....              | 79          |

## RESUMEN

El formaldehído es un químico industrial que se ha utilizado durante más de 60 años en la fabricación de resinas, adhesivos, plásticos y como agente antimicrobiano en el tratamiento de especímenes anatómicos e histológicos (Coggon et al. 2003). Está presente en sistemas biológicos (National Research Council 1981), y en las células humanas en bajas concentraciones (Lutz 1990). La Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) desde junio de 2004 ha clasificado al formaldehído como un cancerígeno humano (Grupo 1) (IARC 2006).

El propósito de este estudio fue determinar el efecto citotóxico y genotóxico por exposición ocupacional al formaldehído en linfocitos de sangre periférica de 25 personas que trabajan en anfiteatros (docentes, monitores y estudiantes), y en hospitales (patólogos y auxiliares) comparado con un grupo referente (no expuesto) de la ciudad de Popayán, mediante las pruebas de Índice Mitótico, Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos.

Los resultados obtenidos en esta investigación, muestran que los signos y síntomas más frecuentes en el grupo de estudio fueron: prurito nasal, tos seca, ardor de garganta, resequedad de la piel, lagrimeo, irritación ocular y dolor de cabeza, debido a la exposición ocupacional al formaldehído.

En este estudio se evidencia el efecto bloqueador premitótico, además del efecto genotóxico, al demostrarse el incremento en la frecuencia tanto de alteraciones como de micronúcleos observado en el grupo expuesto en comparación con el grupo referente.

Al establecer una asociación entre: las características ambientales de los sitios de trabajo y los Biomarcadores y entre la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y de Micronúcleos con el género no fue posible obtener resultados estadísticamente significativos debido a que el tamaño de muestra fue pequeño.

Se identificó asociación positiva entre la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos con el tiempo de exposición (horas-año). Tal asociación es curvilínea y se describe mejor mediante la ecuación cúbica.

## INTRODUCCION

El contacto, inhalación y tiempo de exposición de sustancias tóxicas presentes en el ambiente de trabajo, así como la falta de conocimiento sobre la necesidad o posibilidad de protección, representa un peligro directo para quienes manipulan estas sustancias, lo que se traduce en la multiplicación de casos de intoxicación química (Guevara y Moya 1995).

Una de estas sustancias es el formaldehído (HCHO), el cual es un gas volátil, ligeramente más pesado que el aire, incoloro y muy soluble en agua, posee un olor penetrante e irritante, se utiliza principalmente para la conservación de tejidos y muestras biológicas, y es posible encontrarlo en numerosos productos como: textiles, cigarrillos, desinfectantes, desodorantes, etc. (Moret 1990).

Se ha demostrado claramente que la exposición al formaldehído tiene propiedades genotóxicas en las vías respiratorias de ratas y en seres humanos (Swenberg et al. 1980, Kerns et al. 1983, Shaham et al. 2002). El formaldehído es un producto químico altamente reactivo, cuya exposición aumenta el nivel de daño en el ADN y se caracteriza por enlaces cruzados de ADN-proteína (Heck et al. 1990, Heck y Casanova 1999, Shaham et al. 2003).

Debido a las propiedades físico-químicas que posee este aldehído, se le ha conferido un cierto grado de toxicidad. Al respecto, Heras (1988), comenta que: "estudios realizados en Laboratorios de Anatomía Humana y de Anatomía Patológica, revelan que durante la realización de ciertos trabajos como biopsias, perfusiones, lavados etc., se producen niveles de contaminación ambiental por formaldehído que superan los criterios mínimos de riesgo propuestos para el contaminante. Por otra parte, la realización de estos trabajos o las simples manipulaciones de las soluciones como transvases del formaldehído, dosificaciones, lavados de material y otras manipulaciones, que debido a su carácter manual y a la diversidad de circunstancias, provocan considerables niveles de contaminación residual". Lo anterior, sumado al uso inadecuado, sin las correctas medidas de prevención y seguridad laboral, provocan, intoxicaciones químicas, de modo que se ven afectados, no sólo quienes están encargados de los trabajos nombrados anteriormente, sino todo el personal que permanece en las instalaciones.

Por lo anterior; se realizó un estudio para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico producido por la exposición ocupacional al formaldehído durante 1 año o mas; éste estudio se realizó en personas que trabajan en anfiteatros (docentes, monitores y estudiantes), y en hospitales (Patólogos y auxiliares) de la ciudad de Popayán. En este estudio se analizaron 25 personas expuestas y 25 personas no expuestas o grupo referente, mediante los biomarcadores de Índice Mitótico, Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos, en linfocitos de sangre periférica, cultivados *in vitro*.

Los criterios de valoración genética más sensibles para la detección de mutagenicidad por formaldehído son efectos cromosómicos como alteraciones y micronúcleos (Merk et al. 1998, Speit et al. 2002).

La prueba de Alteraciones Cromosómicas ha sido utilizada por más de 30 años como un biomarcador de genotoxicidad tanto *in vivo* como *in vitro* que ha demostrado una asociación con el riesgo de cáncer (Bonassi et al. 2004). Esta prueba detecta o representa cambios citológicamente visibles al microscopio óptico, que afectan el número o la estructura de los cromosomas que constituyen el cariotipo de la especie. Este biomarcador monitorea el genoma entero evaluando interacción de agentes genotóxicos prediciendo efectos adversos a la salud (Harmas et al. 2004).

El ensayo de micronúcleos (Norppa et al. 2003), es un biomarcador de inestabilidad genómica y daño cromosómico evaluado en estudios de biomonitoring humano (Bonassi et al. 2004). La medición de micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica se utiliza ampliamente en la epidemiología molecular y citogenética para evaluar la presencia y el grado de daño cromosómico, detectando indirectamente rotura o pérdida cromosómica en poblaciones humanas expuestas a agentes genotóxicos (Fenech et al. 1999). Actualmente se encuentra en gran auge dada su utilización en líneas de investigación sobre mutagenesis, para conocer, *in vitro*, el efecto genotóxico de una amplia gama de agentes químicos tanto a nivel ambiental (plaguicidas y pesticidas), como en el ámbito sanitario (drogas citostáticas en tratamientos antitumorales) (Fenech et al. 2001).

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA E HIPOTESIS

El formaldehído está considerado como un factor de riesgo laboral de tipo químico cuya agresión puede producir una enfermedad profesional. Según la Ley Orgánica de prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (1986), la enfermedad profesional se define como "el estado patológico contraído con ocasión del trabajo o exposición al medio en el que el empleado se encuentra obligado a trabajar; y aquellos estados patológicos imputables a la acción de agentes químicos, agentes biológicos, factores psicológicos y emocionales que se manifiestan por una lesión orgánica, trastornos enzimáticos o bioquímicos, trastornos funcionales o desequilibrio mental, temporales o permanentes, contraídos en el ambiente de trabajo" (Moret 1990).

Publicaciones realizadas sobre la toxicidad del formaldehído confirman las propiedades irritantes de la exposición a este aldehído en los humanos y animales, y opinan sobre los efectos tóxicos que probablemente se relacionan a las propiedades irritantes de este químico. En estudios realizados en Estados Unidos, el Programa Nacional de Toxicología (NTP), en su Quinto Informe del Anuario sobre los Carcinógenos, encontró al formaldehído como una sustancia que "tiene riesgos para ser razonablemente cancerígena". La Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA), en el año de 1993, consideran al formaldehído como un agente carcinógeno. "La Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) concluyó que la citotoxicidad y genotoxicidad del formaldehído tienen papeles importantes en la carcinogénesis de los tejidos nasales. Por lo tanto, basado fundamentalmente en datos obtenidos de estudios en animales, se considera que el formaldehído representan un peligro carcinogénico para los seres humanos (Liteplo y Meek 2003), clasificándolo así como un agente carcinógeno humano del grupo 1 (IARC 2006)".

El formaldehído es considerado como un potente irritante respiratorio y conjuntival ya que su inhalación induce a la respuesta inflamatoria, incluyendo una gran variedad de signos y síntomas alérgicos (Hendrick et al. 1982, Krakowiak et al. 1998, Godish, 1990, Casset et al. 2006). En el caso de exposiciones prolongadas, el formaldehído se ha relacionado con un aumento del riesgo de carcinomas de células escamosas de las cavidades nasales de animales y cáncer nasofaríngeo en humanos, actuando como una sustancia genotóxica, a través de la formación de enlaces cruzados de ADN-proteína (Casanova et al. 1994). El grado de entrecruzamientos se ha propuesto como una de las causas de efectos mutagénicos y es, por tanto, un biomarcador de daño genotóxico causado por intoxicación al formaldehído (Shaham et al. 2003).

En 1984, la EPA. y la OSHA, estimaron que los grupos de más riesgos a las exposiciones y contacto con el formaldehído son: patólogos, anatomistas, histólogos, médicos forenses, estudiantes de Medicina y Enfermería, embalsamadores (aproximadamente 400.000 personas), con un riesgo de cáncer de 2000 casos por 10.000 personas (Council of Scientific Affairs 1989), lo que coincide con algunos de los grupos motivo de esta investigación: estudiantes de medicina y enfermería, médicos docentes, patólogos y laboratoristas.

La exposición al formaldehído en los trabajadores (patólogos/anatomistas) se produce principalmente a través de la inhalación de su forma gaseosa (Liteplo y Meek 2003), o a través de la absorción en su forma líquida. Los efectos causados por el formaldehído son bien conocidos y difieren en función de la duración de la exposición. La ruta de absorción cutánea puede dar lugar a irritación de la piel y alergias de contacto (Bracamonte et al. 1995). La inhalación de gases de formaldehído puede provocar irritación sensorial de las vías aéreas respiratorias, mucosas y algunos tejidos (ojos, nariz y garganta) (Bender et al. 1983, Kulle et al. 1987, Weber-Tschopp et al. 1977).

Una de las pruebas que se ha utilizado para evaluar el efecto genotóxico del formaldehído en seres humanos es el ensayo de micronúcleos en células de mucosa nasal y bucal. Este enfoque se considera de gran relevancia ya que estos tejidos son los posibles órganos diana del formaldehído, y los micronúcleos son un indicador sensible de la acción mutagénica de este. Los estudios publicados indican que la inhalación de formaldehído conduce a un aumento de las frecuencias de micronúcleos en células nasales y/o en células de la mucosa bucal. Sobre la base de los datos disponibles, aún no es posible extraer conclusiones significativas sobre la genotoxicidad del formaldehído en los seres humanos (Speit et al. 2006).

Por lo tanto, este estudio buscó comprobar los posibles efectos citotóxicos y/o genotóxicos, que produce el formaldehído en humanos mediante la utilización de protocolos estandarizados y un adecuado análisis estadístico.

Por lo antes expuesto, en esta investigación se respondió el siguiente interrogante:

¿La exposición al formaldehído, produce efecto citotóxico y genotóxico en linfocitos de sangre periférica de personas que laboran en Anfiteatros de Anatomía Humana y en centros hospitalarios donde se procesan muestras patológicas, en la ciudad de Popayán?



Debido a la problemática planteada anteriormente, en este estudio se sometieron a prueba las siguientes hipótesis:

Si la exposición al formaldehído tiene efecto citotóxico, se espera que el Índice Mitótico sea menor en los linfocitos de personas expuestas, respecto de las no expuestas (referente); de lo contrario, la frecuencia será igual o incluso mayor.

Si la exposición al formaldehído tiene efecto genotóxico, se espera que la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y de Micronúcleos sea mayor en los linfocitos de personas expuestas, respecto de las no expuestas (referente); de lo contrario, la frecuencia será igual o incluso menor.

## 2. JUSTIFICACIÓN

El formaldehído es un compuesto químico que irrita el sistema respiratorio superior igualmente afecta los ojos. Según Coleman (1995) los riesgos para los trabajadores que están en contacto con formaldehído son elevados: la exposición aguda causa envenenamiento y puede ser letal si se exceden las 100 partes de formaldehído por cada millón de partes de aire (100 ppm). Principalmente afecta a personas sensibles o que padezcan afecciones como asma y rinitis, en cuyo caso puede agravar los ataques o los síntomas; por otro lado, provoca sensibilización tanto al mismo formaldehído como frente a otras sustancias químicas (Coleman 1995).

Estudios realizados por la Organización Mundial de Salud (2002), demuestran que la inhalación del formaldehído por animales de laboratorio, provoca efectos degenerativos no neoplásicos en ratones y monos y tumores nasales en ratas. El formaldehído administrado por inhalación o mediante sonda a ratas, *in vivo*, indujo anomalías cromosómicas en las células pulmonares y la formación de micronúcleos en la mucosa gastrointestinal (WHO 2002).

A largo plazo, la exposición al formaldehído está estrechamente asociado con efectos adversos para la salud que van desde irritación e inflamación (Alexandersson y Hedenstierna 1988, Kane y Alarie 1977) hasta carcinomas de células escamosas en las cavidades nasales (Kerns et al. 1983), en función de la concentración y duración de la exposición. La evaluación de los datos disponibles indican que el formaldehído es genotóxico *in vitro* (Merk y Speit 2002), aunque es débilmente genotóxico en ensayos *in vivo* (Speit et al. 2007). El efecto cancerígeno del formaldehído es causado por la proliferación de las células regenerativas asociadas a su citotoxicidad, lo que aumenta el número de repeticiones de ADN y por lo tanto aumenta la probabilidad de enlaces cruzados de ADN-proteína iniciado por los errores en la replicación (Liteplo y Meek 2003, Speit et al. 2000).

En general, se supone que la alteración primaria del ADN, después de la exposición al formaldehído, son enlaces cruzados de ADN-proteína. (Heck et al. 2004). Estos enlaces cruzados pueden detener la replicación del ADN y conducir a la inducción de otros efectos genotóxicos, como intercambios de cromátidas hermanas (SCE) en células proliferantes (Merk et al. 1998). La incompleta reparación de los enlaces cruzados puede conducir a la formación de mutaciones (Barrer et al. 2005). Parece que los criterios de valoración genética más sensibles

para la detección de la mutagenicidad por formaldehído, son alteraciones cromosómicas y micronúcleos (Speit et al. 2006).

Los estudios epidemiológicos de trabajadores de la industria, embalsamadores, patólogos y anatomistas han asociado con la exposición a formaldehído elevados riesgos de cáncer en diversos órganos, incluyendo cavidades nasales (Blair et al. 1990, Luce et al. 2002, Coggon et al. 2003), nasofaringe (Blair et al. 1990, Coggon et al. 2003, Blair et al. 1986, Partanen 1993, Hildesheim et al. 2001, Hauptmann et al. 2004), pulmón (Coggon et al. 2003, Bertazzi et al. 1986, Gardner et al. 1993, Stone et al. 2001), cerebro (Coggon et al. 2003, Walrath et al. 1984, Hayes et al. 1990), páncreas (Collins et al. 2001, Walrath et al. 1984), próstata, colon (Walrath et al. 1984, Hayes et al. 1990). El mayor daño cromosómico (en particular la pérdida de cromosomas), en los linfocitos periféricos de patólogos/anatomistas, hace hincapié en la necesidad de desarrollar programas de seguridad.

En definitiva, el Grupo Federal de Formaldehído (1982) llegó a la conclusión de que existen experimentos que demuestran la mutagenicidad y carcinogenicidad del formaldehído en condiciones de laboratorio<sup>1</sup>.

Por consiguiente, tomando como base los datos obtenidos en estudios de laboratorio, se considera que la exposición al formaldehído en condiciones que inducen citotóxicidad y proliferación regenerativa sostenida, representa un peligro carcinogénico para las personas (WHO 2002).

Estas consideraciones alertan sobre los efectos tóxicos y el riesgo cancerígeno que pueden afectar a todas aquellas personas que de alguna manera se exponen o tienen contacto con el formaldehído, en sus ambientes laborales.

Dado lo anterior, el estudio es importante porque: por un lado, no ha sido realizado en la población caucana bajo las condiciones ambientales y genéticas particulares y por otro, porque permite conocer los efectos citotóxicos y genotóxicos producidos por la exposición al formaldehído mediante los Biomarcadores de Índice Mitótico, Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos. Por medio de la divulgación de los resultados obtenidos, se busca concientizar a las empresas encargadas y a las personas sobre los efectos que a corto o largo plazo pueda ocasionarles esta exposición, igualmente para que se tomen las medidas

---

<sup>1</sup> REPORT OF THE FEDERAL PANEL ON FORMALDEHYDE. Environmental Health Perspectives. Vol. 43, 1982; p. 139-168.

preventivas en cuanto a una buena adecuación de los diferentes sitios de trabajo como los anfiteatros de anatomía humana utilizados para la docencia y los hospitales donde se procesen muestras patológicas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Determinar el efecto citotóxico y genotóxico inducido por la exposición ocupacional al formaldehído, mediante la utilización de los Biomarcadores Índice Mitótico (IM), Alteraciones Cromosómicas (AC) y Micronúcleos (MNs) en linfocitos de sangre periférica, cultivados *in Vitro*.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

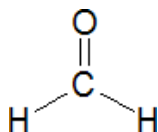
- Determinar el efecto citotóxico inducido por la exposición ocupacional al formaldehído, mediante la prueba de Índice Mitótico.
- Determinar el efecto genotóxico inducido por la exposición ocupacional al formaldehído, mediante las pruebas de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos.
- Establecer la asociación entre las características ambientales de los sitios de trabajo y los Biomarcadores Índice Mitótico (IM), Alteraciones Cromosómicas (AC) y Micronúcleos (MNs).

## 4. MARCO TEORICO

### 4.1 FORMALDEHIDO

El nombre tradicional del formaldehído proviene de fórmica, que significa hormiga en latín. Según la nomenclatura sistemática de la IUPAC se denomina metanal, también es conocido como formalina, formol y aldehído fórmico, es el primer miembro de las series de los aldehídos alifáticos. Este compuesto de carbono, hidrógeno y oxígeno de fórmula molecular CH<sub>2</sub>O (Ullmann's 1986).

**Figura 1.** Estructura química del formaldehído



El formaldehído fue descubierto en 1867 por el químico alemán August Wilhelm von Hofmann. Se obtiene por oxidación catalítica del alcohol metílico. A temperatura normal es un gas incoloro de un olor penetrante, sofocante y muy irritante para las mucosas de los ojos, nariz y garganta (Ullmann's 1986). Su olor es detectado y/o reconocido por la mayoría de los seres humanos en concentraciones por debajo de 1 ppm (Arts et al. 2006). El umbral de olor para el formaldehído se encuentra entre 0,04 y 0,4 ppm (Van Gemert 2003).

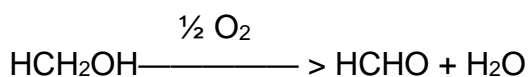
Es un gas muy volátil, altamente reactivo, combustible, de moléculas pequeñas, poco liposoluble, de hidrosolubilidad infinita, lo que le permite acumularse en aquellos tejidos ricos en agua como el globo ocular (retina), pulmones y el sistema nervioso (Austin 1995). Otras propiedades físico-químicas se resumen en el Cuadro 1.

**Cuadro 1.** Propiedades físico-químicas del formaldehído

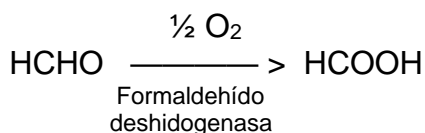
| <b>DATOS FÍSICO-QUÍMICOS BÁSICOS</b> |   |                                  |                                |
|--------------------------------------|---|----------------------------------|--------------------------------|
| <b>Fórmula empírica</b>              | CH <sub>2</sub> O                             | <b>Masa molecular relativa</b>   | 30,03 UMA                      |
| <b>Densidad:</b>                     | 0,8153 g/cm <sup>3</sup><br>(líquido a -20°C) | <b>Densidad relativa del gas</b> | 1,04                           |
| <b>Punto de ebullición</b>           | -19,2°C (sustancia pura)                      | <b>Punto de fusión</b>           | -92,0 -118,0°C                 |
| <b>Punto de inflamación</b>          | 32-61°C (solución acuosa)                     | <b>Temperatura de ignición</b>   | 300-430°C<br>(solución acuosa) |

Tomado de: Encyclopedia of Industrial Chemistry 1986.

**4.1.1 Metabolismo Intermediario.** El formaldehído es un producto de la oxidación del alcohol metílico o metanol:



Es un gas altamente soluble en agua que, al ser inhalado, reacciona rápidamente en el lugar de contacto, más del 90% del gas inhalado se absorbe en el tracto respiratorio superior (Heck et al. 1985), aunque pequeñas cantidades pueden penetrar en los pulmones. El aldehído, una vez inhalado, se metaboliza fundamentalmente en el hígado y en la sangre a ácido fórmico (HCOOH), por la acción de la enzima formaldehído deshidrogenasa". (Moret 1990), esta es una de las principales enzimas metabólicas implicadas en el metabolismo del formaldehído, su actividad también ha sido encontrada en una serie de tejidos, por ejemplo, vías respiratorias, hígado, riñón, cerebro y músculo (Keller et al. 1990), lo que sugiere que el formaldehído sufre el metabolismo en todo el cuerpo.



En los tejidos respiratorios el formaldehído se une rápidamente y de forma reversible al sustrato glutatión reducido para formar el aducto S-hidroximetilglutathion. Este es oxidado por formaldehído deshidrogenasa para formar S-formilglutathion, que luego es hidrolizado a formato y glutatión (Heck y Keller 1988). La presencia de formaldehído deshidrogenasa y sustrato glutatión

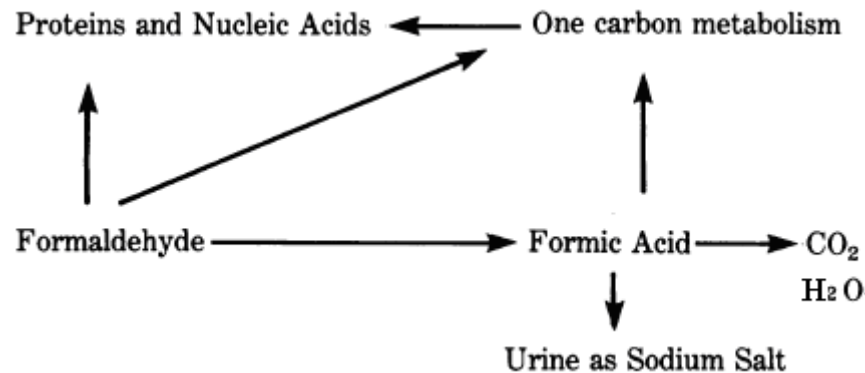
reducido en la capas epiteliales de la cavidad nasal proporcionan una barrera a la inhalación de formaldehído en bajas concentraciones, por lo tanto desempeñan un papel importante en la defensa contra la toxicidad de formaldehído (Casanova et al. 1984).

Después de la oxidación del formaldehído a formato, el átomo de carbono es aún más oxidado a dióxido de carbono y una pequeña fracción se elimina por la orina. Si el formaldehído no es metabolizado por la formaldehído deshidrogenasa, puede interactuar con macromoléculas biológicas como ADN, ARN y proteínas (Carrasco 2002)

El formaldehído, a su vez, puede seguir diversos caminos metabólicos, (Figura 2) como:

- Ser oxidado a dióxido de carbono y agua (Clark et al. 1983)
- Ser eliminado por la orina como sal sódica (NaHCOO)
- Entrar en el metabolismo de los compuestos de 1C (Gottschling et al. 1984)

**Figura 2.** Metabolismo del formaldehído



(Fuente: The Formaldehyde Metabolic Detoxification Enzyme Systems and Molecular Cytotoxic Mechanism in Isolated Rat Hepatocytes, 2001)

El formaldehído es un metabolito normal en el hombre, que, dependiendo de la concentración, puede reaccionar con muchas sustancias químicas de la célula y deprimir sus funciones y causar la muerte (Dreisbach 1989). Este es químicamente más activo que cualquiera de sus metabolitos y, por lo tanto, parece



ser la sustancia química de mayor preocupación para la carcinogenicidad (Report of the Federal Panel on Formaldehyde 1982)

**4.1.2 Usos y Aplicaciones.** El formaldehído es una sustancia natural, puede encontrarse en el medio a niveles bajos y como tal, no es peligrosa. Se halla en la mayor parte de las formas de vida: seres humanos, animales, plantas, etc. Las células que funcionan normalmente producen y utilizan el formaldehído. Hasta se puede encontrar formaldehído en el espacio exterior. Los humanos lo respiran y lo comen diariamente (Grupo Sectorial FormaCare 2004)

El formaldehído se encuentra en muchos productos alimenticios, tales como fruta, carne y verduras (Cuadro 2):

**Cuadro 2.** Concentración en ppm de formaldehído en algunos productos.

| <b>Producto</b>        | <b>Concentración ppm*</b> | <b>Producto</b>  | <b>Concentración ppm*</b> |
|------------------------|---------------------------|------------------|---------------------------|
| <b>Pescado ahumado</b> | 1000                      | <b>Carotte</b>   | 8                         |
| <b>Crustáceos</b>      | hasta 98                  | <b>Coca-cola</b> | 7                         |
| <b>Pera</b>            | 60                        | <b>Zanahoria</b> | 6                         |
| <b>Cerdo</b>           | 20                        | <b>Espinacas</b> | 5                         |
| <b>Manzana</b>         | 20                        | <b>Leche</b>     | 1                         |
| <b>Cebolla</b>         | 20                        | <b>Cerveza</b>   | 0.7                       |

(Fuente: OMS – Criterios Sanitarios Medioambientales, 1989)

\*ppm: unidad de concentración frecuentemente utilizada para medir niveles de polución en el aire, agua, fluidos corporales, etc. Un ppm es 1 parte en 1.000.000 de partes. Las unidades usuales mg/litro ó mg/kg son equivalentes a ppm. Esta es una manera de expresar concentraciones muy diluidas de sustancias. Así como por ciento significa por cada cien, partes por millón o ppm significa por cada millón.

También es uno de los químicos orgánicos más importantes utilizado hoy en día en una gran cantidad de actividades y aplicaciones. Se usa como desinfectante, antiséptico, en la preservación y conservación de cadáveres y tejidos orgánicos (Smeddey 1996).

Otro uso es la fabricación de textiles libres de arrugas. En éstas, el contenido en metanal libre podía alcanzar hasta el 2% del peso total del textil. Actualmente se ha bajado el contenido y si supera el 0,15% este debe ser declarado en la etiqueta con la recomendación de lavar la prenda antes de usarla. Aún se utiliza como

conservante en la formulación de algunos cosméticos y productos de higiene personal como champúes. Además se usa en síntesis orgánica, para producir abonos, papel, madera contrachapada, resinas de urea-formaldehído, colorantes y explosivos, entre otros usos (Jensen y Bach 1992).

**4.1.3 Toxicidad del Formaldehído.** La exposición al formaldehído exógeno en concentraciones relativamente bajas, se ha asociado con una serie de efectos biológicos en los seres humanos, tales como la sensibilización de la piel (Fisher 1986), y los ojos y la irritación de las vías respiratorias superiores (Witek et al. 1987). La exposición al formaldehído ha sido asociada con cáncer nasal (Hayes et al. 1986, Olson et al. 1986), cáncer nasofaríngeo (Roush et al. 1987, Vaughan et al. 1987, Blair et al. 1987), cáncer bucal (Stayner et al. 1988) y leucemia (Hayes et al. 1990, Walrath et al. 1984). Aunque estudios en animales sobre el potencial genotóxico del formaldehído no generó resultados definitivos (Dallas et al. 1992, Migliore et al. 1989), se ha demostrado claramente que tiene propiedades genotóxicas en el sitio de contacto (Speit et al. 2006).

En el caso de exposiciones prolongadas, el formaldehído se ha relacionado con un aumento del riesgo de carcinomas de células escamosas de las cavidades nasales de animales y cáncer nasofaríngeo en humanos, actuando como una sustancia genotóxica (Casanova et al. 1994). Cuando el formaldehído llega al ADN nuclear, forma enlaces cruzados de ADN-proteína, la reparación incompleta de los entrecruzamientos puede dar lugar a la formación de mutaciones (Barker et al. 2005), en particular, mutaciones cromosómicas y micronúcleos (MN) en células proliferantes. Por esta razón, se ha clasificado como un cancerígeno humano (Grupo 1) por la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer, desde junio de 2004 (IARC, 2004).

El carácter tóxico del formaldehído, sumado al uso inadecuado, sin las correctas medidas de prevención y seguridad laboral, provocan intoxicaciones químicas en quienes trabajan en las salas de disección, laboratorios de docencia e investigación, clínicas, hospitales, morgues, funerarias, fábricas, industrias, etc. (Walrath 1984, Stroup 1986, Chia 1992, Kilburn 1993, 1994, Collins y Acquavella 1997). Estas intoxicaciones se pueden manifestar desde simples irritaciones de mucosas, lagrimeo, prurito hasta severos daños como: alteraciones neurológicas irreversibles, cáncer nasal, pulmonar y cerebral, que provocan incapacidad o la muerte de la persona expuesta (Rosen y Andersson 1990, McLaughlin 1994, Hansen 1995, Marsh 1996).

Las intoxicaciones químicas, van a depender de: la dosis, la concentración, las vías de absorción (respiratoria y digestiva) y el tiempo de exposición (McLaughlin 1994, Wantke et al. 1996). Estas pueden ser agudas o crónicas.

Las intoxicaciones agudas ocurren generalmente por accidentes, negligencia o por la falta de conocimiento en la manipulación del químico; las manifestaciones clínicas determinadas por la exposición al formaldehído dependen, por lo general, de concentraciones elevadas del compuesto, y los síntomas son inmediatos y severos. En los casos graves, la muerte ocurre generalmente dentro de las 10 primeras horas de exposición al aldehído, en otros casos la recuperación es rápida y de buen pronóstico (Russo 2003).

Entre los síntomas y signos de intoxicación están: fuerte olor de formaldehído en el aire expirado y en la orina, sensación de náuseas, vómitos, vértigo, molestias epigástricas, diarrea, cefalea, visión borrosa, taquicardia, depresión del Sistema Nervioso Central, piel sudorosa, fría y cianótica, edema pulmonar, disnea, neumonía secundaria, convulsiones, daño renal, hematuria, anuria y en casos extremos puede haber un colapso cardiovascular, shock secundario, acidosis metabólica, coma e incluso la muerte. Si el paciente muestra mejoría de sus síntomas en las primeras 48 horas, el pronóstico es bueno. La evolución puede llevar al intoxicado a la muerte o a una recuperación total o parcial, de la cual quedarían secuelas o lesiones persistentes (Moret 1990, Ladrón de Guevara y Moya 1995).

Las intoxicaciones crónicas, son consecuentes a la inhalación, exposición y contacto por un largo periodo de tiempo con el formaldehído, es decir, una exposición ocupacional crónica; a veces estas inhalaciones, exposiciones y contactos son insuficientes para presentar evidentes trastornos tóxicos, pero por acumulación del químico dentro del organismo, en órganos o tejidos específicos o por suma de efectos lesivos, con el transcurso del tiempo llevan a estados patológicos severos (Hardmann 1996).

En las intoxicaciones crónicas, como las personas están habitualmente expuestas o en contacto con el tóxico, toleran mayores concentraciones que superan los máximos permisibles por la resistencia a la acción irritante de los vapores y la pérdida progresiva de la olfacción (anosmia). Estas son las más frecuentes y también las más peligrosas, ya que pueden ser asintomáticas o presentar afecciones sutiles, casi imperceptibles con cuadros clínicos difusos, suaves, poco claros que se pueden confundir con diversas enfermedades, dificultando su diagnóstico y tratamiento. Ellas van evolucionando progresivamente, causando daños muy graves a veces irreversibles e irreparables que pueden causar

incapacidad, invalidez y la muerte (Koppel 1995, Lohmann 1996, Guevara 1997, Write y Proctor 1997).

Por lo tanto, la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), la Conferencia Americana de Higienistas Industriales Gubernamentales (ACGIH), el Centro de Salud Ambiental (EHC) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA), establecieron que el nivel permisible de exposición al formaldehído es de 0.5 a 1 ppm en una exposición de 8 horas diarias, cinco días a la semana (Coleman 1995, National Safety Council 1997).

## **4.2 PRUEBAS CITOTOXICAS**

Estas pruebas permiten detectar daños a nivel celular, expresados como cambios en su forma normal, bloqueo de los mecanismos de reparación y alteraciones en la cinética del ciclo celular, que se producen cuando un agente físico, químico o biológico interactúa con la célula.

## **4.3 PRUEBAS GENOTÓXICAS**

Son pruebas que permiten detectar daños a nivel del ADN ocasionados por agentes químicos que interactúan con este, produciendo cambios en su estructura, manifestados como alteraciones cromosómicas, micronúcleos etc. y en casos extremos produciendo la muerte celular (apoptosis).

Tanto los mutágenos como los agentes carcinogénicos o teratogénicos están estrechamente relacionados por su acción directa sobre los cromosomas. La capacidad que poseen de fracturar al cromosoma se denomina clastogénesis, un término propuesto por la genetista Margery Shaw (Shaw 1970), quien empleó la raíz griega "*clastos*" que significa fracturar o romper, para crear este término cuya aceptación es ahora universal en los medios especializados.

### **4.3.1 PRUEBA DE ALTERACIONES CROMOSÓMICAS**

Alteraciones cromosómicas en los linfocitos de sangre periférica se han utilizado durante décadas para la vigilancia de individuos sanos expuestos a conocidos o potenciales, mutágenos y cancerígenos (Carrano et al. 1988), siendo estas características de las células neoplásicas (Yunis 1983, Mitelman 2000). Aunque

las alteraciones cromosómicas específicas detectadas en los tumores son generados durante la carcinogénesis, se ha planteado la hipótesis de que la frecuencia de alteraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica de individuos sanos representa un marcador de susceptibilidad al cáncer, sobre la base de que el concepto de daño genético en linfocitos de sangre periférica refleja daños similares en diferentes células diana en la carcinogénesis (Carrano et al. 1988, Aitio et al. 1988).

Esta hipótesis se ha visto reforzada por hallazgos de los estudios de cohorte prospectivos en los países nórdicos (Dinamarca, Finlandia, Noruega y Suecia) y en Italia, Europa, República Checa, y Taiwán que han validado alteraciones cromosómicas como predictores de riesgo de cáncer, para apoyar su uso en poblaciones expuestas a agentes genotóxicos (Hagmar et al. 1994, Bonassi et al. 1995, Liou et al. 1999, Rossner et al. 2005, Hagmar et al. 1998).

Las alteraciones cromosómicas son cambios irreversibles originados en el material genético, clasificadas como un biomarcador de efecto muy importante y ampliamente utilizado en los estudios de poblaciones y ha mostrado buena correlación para muchos químicos hacia la inducción de daños en el ADN detectables a nivel microscópico. Las alteraciones cromosómicas pueden ser la causa de diferentes problemas de salud, como cáncer, problemas reproductivos, defectos genéticos transmisibles y no transmisibles, abortos, problemas de esterilidad y otras enfermedades genéticas (Carrano AV, Heddle JA. 1973, Albertine et al. 2000).

La ventaja de esta prueba reside en la posibilidad de evaluar daños a nivel genético (inducidos en linfocitos de sangre periférica), no reparados, acumulados durante varios años de exposición y expresados luego de sucederse una primera división *in vitro* (Evans HJ. 1982)

Las alteraciones cromosómicas pueden clasificarse en dos grandes grupos de acuerdo a si el número total de cromosomas difiere de la dotación cromosómica diploide (anomalías numéricas) o bien la morfología normal de uno o más cromosomas ha sido afectada (anomalías estructurales) (Martínez W y Folle G 2005).

♦ **Alteraciones numéricas.** Se originan por la no disyunción de los cromosomas durante la división celular (ganancia o pérdida de cromosomas). La alteración en el número normal de cromosomas de una especie determinada se denomina heteroploidía. Cuando la alteración numérica implica cambio en sólo

una parte de la dotación, pudiendo encontrar adiciones de algún cromosoma (como el síndrome de Down con un cromosoma adicional en el 21), o pérdida de algún cromosoma, las células se denominan aneuploides. Por el contrario, cuando la alteración numérica implica cambios en toda la dotación cromosómica, pudiendo tener organismo triploides, diploides, hexaploides, etc., se habla de dotaciones cromosómicas euploides (Martínez W y Folle G 2005).

♦ **Alteraciones estructurales.** Se presentan por daños en la estructura cromosómica los cuales, pueden causar la muerte celular o mantenerse estables a través de la división celular. Estas alteraciones pueden clasificarse en: alteraciones de tipo cromosómico, (donde las dos cromátidas están implicadas en el daño), y alteraciones de tipo cromatídico (donde está comprendida una sola cromátida de uno o de varios cromosomas). (Bianchi et al. 1982).

Las alteraciones de tipo cromosómico y de tipo cromatídico difieren entre sí morfológicamente y presentan diferentes mecanismos de formación (Hagmar et al. 2004), dependiendo del agente genotóxico o mezcla de los agentes que actúan sobre el ciclo celular, ya sea como S-dependientes o S-independientes. Así, la mayoría de la radiación ionizante produce alteraciones de tipo cromosómico y muchos mutágenos químicos pueden producir alteraciones de tipo de cromatídico (Boffetta et al. 2006).

#### **4.3.2 PRUEBA DE MICRONUCLEOS**

Entre los bioensayos utilizados para evaluar los efectos ambientales, genéticos y factores de estilo de vida sobre la estabilidad genómica en el ser humano, el ensayo de micronúcleos ha ganado cada vez más atención, y un número creciente de estudios han sido publicados (Randa et al. 2006). La ventaja clave del ensayo de micronúcleos comparado con otros ensayos citogenéticos, es la velocidad y la facilidad de análisis, la no exigencia de células en metafase, y la confiable identificación de las células que han completado sólo una división nuclear, además de su capacidad para detectar eventos clastogénicos y aneugénicos (Mateuca et al. 2006).

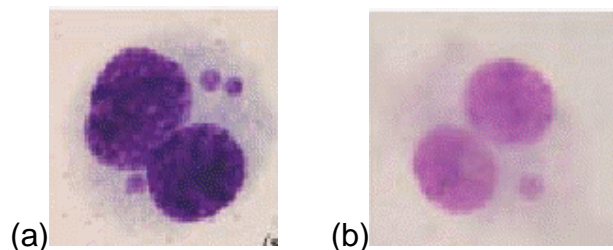
La frecuencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica es ampliamente utilizada como biomarcador de daño cromosómico y de inestabilidad del genoma en poblaciones humanas. La medición de la frecuencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica se utiliza ampliamente en la epidemiología molecular y citogenética para evaluar la presencia y el grado de daño cromosómico en poblaciones humanas expuestas a agentes genotóxicos o que lleven un

susceptible perfil genético (Fenech et al. 1999), proporcionando evidencia preliminar de que la frecuencia de micronúcleos en sangre periférica es un biomarcador de predicción de riesgo de cáncer en una población de sujetos sanos.

Por lo tanto, la alta fiabilidad y bajo costo de la técnica, ha contribuido al éxito mundial y a la aprobación de este biomarcador tanto *in vivo* como *in vitro*, en los estudios de daño en el genoma (Bonassi et al. 2005).

La formación de micronúcleos en la división celular es el resultado de la ruptura de cromosomas debido a la no reparación de lesiones en el ADN, o a una mal segregación cromosómica. Estos eventos pueden ser inducidas por el estrés oxidativo, la exposición a agentes clastogénicos y aneugénicos (Kimura et al. 2004, Fenech et al. 2000, Rajagopalan et al. 2004, MacGregor 1990, Crott et al. 2001, Bonassi et al. 2005), errores durante la replicación y posterior división del ADN, produciendo pérdida cromosómica y haciendo que el reparto del material genético no sea equitativo. Cuando esto ocurre, el material genético que se desprende y que, por tanto, queda excluido, origina un nuevo núcleo de menor tamaño que el primario, denominado “micronúcleo” (MN) (Figura 3). Los micronúcleos son pequeñas masas de cromatina con la apariencia de un núcleo pequeño (Schmid, 1975), que aparecen en el citoplasma de la célula interfásica, visible fácilmente al microscopio óptico (Fenech et al. 1999). El material genético desprendido puede derivar de cromosomas enteros o, más frecuentemente, de fragmentos cromosómicos acéntricos que quedan excluidos de los núcleos de las nuevas células durante la anafase.

**Figura 3.** (a) Célula binucleada con 3 micronúcleos. (b) Célula binucleada con 1 micronúcleo

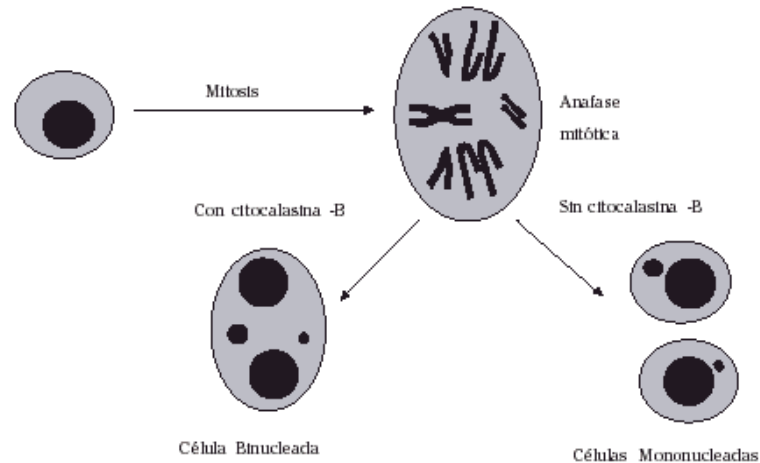


(Fuente: The cytogenetic assay as a measure of genetic instability induced by genotoxic agents).

El uso de la técnica del recuento de MN como medida de daño cromosómico sobre cultivos de linfocitos humanos fue propuesta por primera vez por Countryman y Heddle en 1976, cuyo único requisito era la elección de tipos celulares con gran actividad mitótica (Countryman PI, Heddle JA. 1976). Más tarde, en 1985, el ensayo de genotoxicidad fue mejorado por Fenech y Morley,

consiguiendo frenar el proceso de división celular cuando la célula sólo hubiese sufrido una división mitótica, para ello desarrollaron la técnica del bloqueo de la citocinesis cuyo fundamento es la utilización de un agente químico denominado citocalasina-B cuya función es impedir la citocinesis celular (Fenech M, Morley A. 1985) (Figura 4).

**Figura 4.** Formación de micronúcleos con citocalasina B



(Fuente: The cytogenetic assay as a measure of genetic instability induced by genotoxic agents).

Formación de micronúcleos debido a la pérdida de un cromosoma y fragmentos cromosómicos de tipo acrocéntrico en anafase mitótica. El esquema muestra el bloqueo con Citocalasina B y la consecuente obtención de las células binucleadas, sin el cual se observarían células mononucleadas con pérdida cromosómica, siendo imposible diferenciar si se trata de células madres o hijas.

♦ **Citocalasina-B.** Es una molécula aislada del hongo *Helminthosporium dematoidium*, que inhibe la polimerización de actina, impidiendo la citocinesis al imposibilitar la creación del anillo contráctil, constituido por microfilamentos de actina y miosina, necesario para la partición celular en telofase mitótica. Esta molécula no afecta a las fibras del huso ni a la división del núcleo, por lo que origina células binucleadas y que han sufrido una sola división (Fenech M. 1993 - 2000).

♦ **Criterios de Selección para registrar Micronúcleos.** Se han descrito criterios de selección para reconocer tanto las células en las que se va a realizar el recuento, como criterios para seleccionar los MN que presenten las características necesarias para ser reconocidos como tales y que el recuento realizado sea confiable (Fenech M. et al. 2003) (Fenech M. 2000) (Cuadro 3).



**Cuadro 3.** Criterios definidos por el Humn-Project para la selección de células binucleadas y de micronúcleos en cultivos de células humanas.

| <b>Criterios para células binucleadas</b>                      | <b>Criterios para micronúcleos</b>  |
|--|---|
| El citoplasma debe distinguirse claramente                     | El diámetro oscila entre 1/16 – 1/3 de la media del diámetro del núcleo principal |
| Membranas citoplasmática y nuclear intactas                    | No refractarios   |
| Núcleos con similar grado de condensación de la cromatina      | Intensidad de tinción similar a lo núcleos principales o superiores               |
| Igual tamaño, forma (ovalados) y patrón de tinción             | Forma similar a los núcleos de la célula binucleada                               |
| Pueden estar unidos por puentes nucleoplasmáticos              | No conectados con ninguno de los núcleos de las células binucleadas               |
| Pueden tocarse pero no solaparse                               | Pueden tocar los núcleos de las células pero no sobre ellos                       |
| Ninguno de los núcleos debe encontrarse en etapas de apoptosis |   |

Fuente: The cytogenetic assay as a measure of genetic instability induced by genotoxic agents).

## 5. ANTECEDENTES

El formaldehído fue preparado por primera vez por el químico ruso A.M. Butlerov en 1859 como el producto de una tentativa, al parecer poco afortunada, para sintetizar el glicol metilénico por hidrólisis del diacetato de metileno.

August Wilhem V. Hofmann (1818-1892) químico alemán, sintetizó el formaldehído deliberadamente en 1868, por la reacción del metanol y el aire en presencia de un catalizador de platino. Con este descubrimiento se produce una innovación en las técnicas de fijación de tejidos, tanto que hasta la fecha ha sido la base de la conservación y fijación de piezas anatómicas tanto en las salas de disección en Facultades de Medicina y Veterinaria, como en la preparación de piezas para estudios de histología y en el sector funerario para embalsamamiento y conservación temporal de cadáveres (Complucad International S.A. 1997).

La primera evidencia de que el formaldehído puede representar un riesgo cancerígeno para el hombre se obtuvo en octubre de 1979 de un experimento llevado a cabo por Battelle Columbus Laboratories of the Industry Chemical Institute of Toxicology (CIIT) (CIIT 1979).

Debido al carácter tóxico del formaldehído, se han realizado diversos estudios para determinar el efecto cancerígeno que trae consigo su utilización.

Los estudios encontrados se resumen en el Cuadro 4.

**Cuadro 4.** Estudios realizados para evaluar el efecto tóxico del formaldehído.

| AUTOR  | EXPUESTOS  | VIA DE EXPOSICION | RESULTADOS   |
|--|--|-------------------|--|
| Instituto de Toxicología Química Industrial de Estados Unidos (1979) | En ratas   | Inhalación        | El formaldehído es capaz de inducir la aparición de carcinomas en la mucosa nasal.   |
| Migliore et al. (1989)   | En ratas   | Oral              | El formaldehído indujo un aumento en la frecuencia de micronúcleos en el epitelio gastrointestinal.  |
| Olga J. Moret de Arcia (1990)  | En trabajadores del Anfiteatro de Anatomía humana de la Universidad de Los Andes (Venezuela) | Inhalación        | El contacto directo con el formaldehído, determina la aparición de signos y síntomas como irritación de la conjuntiva ocular y de la garganta, sequedad de la piel y de la boca, engrosamiento de la piel e hipoalgesia.                                 |
| Kitaeva et al. (1990)  | En ratas   | Inhalación        | El formaldehído indujo un aumento de las alteraciones cromosómicas en células de médula ósea.  |
| Suruda et al. (1993)   | En Humanos   | Inhalación        | El formaldehído indujo un aumento en la frecuencia de micronúcleos en: linfocitos de sangre periférica, células del epitelio bucal y nasal.  |
| Monticello et al. (1996)<br>Kamata et al. (1997)                     | En ratas   | Inhalación        | El formaldehído inhalado induce carcinomas de células escamosas de las cavidades nasales.  |
| J.R. Lazutka et al. (1999)   | En Humanos   | Inhalación        | El formaldehído indujo alteraciones cromosómicas.  |
| Annia González y V. M. Espinosa. (2003)                              | En gallinas ponedoras <i>White Leghorn</i>   | Ingestión         | Dosis superiores a 2ml/l les provocó estrés que ocasionó disminución en la producción de huevos y afectó el estado de salud de las aves, presentaron tristeza, somnolencia, cianosis con edema en cresta y barbillas y se produjo la muerte de dos aves. |

|  |  |            |  |
|--|--|------------|--|
| Teresa Russo de Méndez (Venezuela, 2003)                                     | En trabajadores de: Anfiteatros, morgue y funerarias | Inhalación | La toxicidad del formaldehído genera como patologías más Frecuentes: respiratorias, neurológicas, dermatológicas y oculares.   |
| Shaham et al. (2003)   | En Humanos   | Inhalación | El formaldehído indujo enlaces cruzados de ADN - proteínas   |
| La Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC) (2004) | En ratas   | Inhalación | Carcinoma epidermoide de la cavidad nasal  |
|  | En animales y humanos                                | In Vitro   | Aumento de entrecruzamientos proteínas-ADN en linfocitos de sangre periférica de trabajadores expuestos y en las vías aéreas superiores de monos y en la mucosa nasal de ratas.            |
| Speit (Universidad de Ulm, Alemania, 2005)                                   | En Humanos   | In Vitro   | El formaldehído no condujo a un aumento en la formación de micronúcleos en células bucales, por lo tanto los efectos mutágenos de este son poco probables de ocurrir en sangre periférica. |
| M. Zhao et al. (2005)  | En Humanos   | Inhalación | El formaldehído indujo intercambio de cromatidas hermanas y micronúcleos en mucosa nasal.  |
| Botta et al. (2006)  | En Humanos   | Inhalación | El formaldehído indujo una mayor frecuencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica.  |

Mediante los estudios mencionados anteriormente, se ha demostrado que en animales, el formaldehído produce efectos tóxicos que los llevan incluso a la muerte, en humanos se han comprobado los efectos sintomatológicos que este aldehído puede producir; en cuanto al efecto citotóxico y/o genotóxico, se han realizado estudios que comprueban dicho efecto pero algunos de estos han sido duramente criticados debido a que se han encontrado algunas inconsistencias tanto en la metodología como en el análisis estadístico de los datos. Por lo tanto, este estudio buscó comprobar el posible efecto mediante la utilización de protocolos estandarizados y un adecuado análisis estadístico.

## **6. METODOLOGIA**

### **6.1 TIPO DE ESTUDIO**

Estudio *post Facto* u observacional, de tipo Transversal, realizado mediante Monitoreo Genético

### **6.2 POBLACION OBJETO DE ESTUDIO**

Se realizó un monitoreo genético utilizando como Biomarcadores Índice Mitótico (IM), Alteraciones Cromosómicas (AC) y Micronúcleos (MN), para evaluar el efecto citotóxico y genotóxico producido por la exposición ocupacional al formaldehído durante 1 año o más; éste estudio se realizó en personas que trabajan en anfiteatros (docentes, monitores y estudiantes), y en hospitales (Patólogos y auxiliares) de la ciudad de Popayán.

### **6.3 SELECCIÓN DE LA MUESTRA OBJETO DE ESTUDIO**

Mediante una encuesta corta (Anexo A), se establecieron los parámetros necesarios para determinar si la población objeto de estudio se encontraba realmente expuesta y si cumplía con los criterios de inclusión o de exclusión (Cuadro 5). Una vez realizado lo anterior, se seleccionaron las personas que cumplieron con los parámetros establecidos para el estudio; posterior a esta selección, se entregó una encuesta detallada con el objetivo de conocer información personal como: edad, estilo de vida, estado de salud, historia ocupacional y familiar, entre otras (Anexo C). Además, a las personas seleccionadas se les facilitó un consentimiento informado que les permitió conocer con detalle el objetivo, justificación, metodología y los posibles riesgos y beneficios que se pudieran presentar al participar de este estudio (Anexo D); de esta manera, se seleccionaron las personas que voluntariamente estuvieron dispuestas a participar. Finalmente, se les tomó la muestra de sangre para su posterior análisis.

Para el grupo referente, las personas debían tener características similares a la población expuesta, como edad y sexo, además que cumplieran con los criterios de exclusión.

**Cuadro 5. Criterios de Inclusión y Exclusión**

| <b>CRITERIOS DE INCLUSION</b>   | <b>CRITERIOS DE EXCLUSIÓN</b>          |
|---|--|
| Exposición de 1 año en adelante   | Fumadores                              |
| Exposición al formaldehído de manera continua (al menos 5h a la semana) | Enfermedades genéticas familiares      |
|   | Consumo de drogas psicoactivas         |
|   | Radiaciones como mínimo, 5 meses antes |

#### **6.4 CULTIVO DE LINFOCITOS**

A las personas seleccionadas para el estudio, se les tomó una muestra de 2 a 4mL de sangre periférica. La sangre se tomó del brazo por personal capacitado y con todas las medidas de bioseguridad. La sangre se procesó en la Unidad de Toxicología Genética y Citogenética mediante el protocolo de Morread y cols. (1960), con algunas modificaciones para registrar Índice Mitótico y Alteraciones Cromosómicas y mediante el protocolo de Fenech y Morley (1985), para registrar Micronúcleos.

Para la preparación del Medio de cultivo RPMI 1640 simple: se pesaron 10.4 g de RPMI – 1640 y se disolvieron en 800 ml de agua tridestilada, se adicionó 2 g de  $\text{NHCO}_3$  (Bicarbonato de Sodio) y se completó con 200 ml de agua tridestilada, posteriormente se llevó a un pH entre 7.5 y 7.20 con HCl 1N. Luego se adicionó 1 ml de antibiótico a la concentración final de: penicilina: 100  $\mu\text{m}$ , streptomina: 100  $\mu\text{m}$ . Finalmente se esterilizó en filtro miliporo 0.22  $\mu\text{m}$ .

Para la preparación del Medio de cultivo completo: se adicionó 50 ml de medio de cultivo RPMI 1640 simple, 5 ml de Suero Fetal Bovino (10%), 0.5 ml de L-Glutamina.

Para la siembra, en cada tubo se adicionó: 4.5 ml de medio completo, 0.5 ml de sangre heparinizada y 0.1 ml de fitohemaglutinina, a una concentración final de 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Los tubos se llevaron a incubadora a una temperatura de 37°C, durante 48 horas para Índice Mitótico y Alteraciones Cromosómicas, y durante 72 horas para Micronúcleos.

Después de 46 h de transcurrida la siembra, a la mitad de los tubos se les adicionó 0.1 ml de Colcemid a una concertación final de 0.1  $\mu\text{g/ml}$ , y se llevaron nuevamente a la incubadora hasta completar las 48 h.

Al resto de tubos, después de 44 h de transcurrida la siembra, se les adicionó 0.2 ml de Citocalacina B a una concertación final de 6  $\mu\text{g/ml}$ , y se llevaron nuevamente a la incubadora hasta completar las 72 h.

Los procedimientos anteriores se realizaron bajo condiciones de completa esterilidad, en cámara de flujo laminar.

**Para la prueba de Alteraciones Cromosómicas.** Una vez completadas las 48 h, los tubos se centrifugaron a 1000 rpm por 5 min., se removió el sobrenadante y se resuspendieron las células en 0.5 ml de este, se adicionó 6 ml de solución hipotónica y se llevaron a la incubadora por 20 min.

Después de transcurrido este tiempo, se agregó 1 ml de fijador Carnoy (3 metanol: 1 ácido acético) y se dejó reposar por 1 min.

Se centrifugó a 1000 rpm por 5 min., se removió y se resuspendió el sobrenadante, se agregaron 5 ml de fijador Carnoy y se llevaron a refrigeración por 20 min.

Posteriormente, se centrifugó y se removió el sobrenadante. Este proceso de fijación se repitió dos veces más. Se hizo una última centrifugación, se removió el sobrenadante dejando una pequeña cantidad de fijador para realizar el goteo.

El goteo se realizó sobre una placa bien fría y humedecida con ácido acético (60%) a una altura adecuada para que las células se rompan y luego se secaron al calor.

Finalmente se tiñeron las placas con Giemsa al 2% - 5% por 2 a 4 min y se lavaron un par de segundos en agua de chorro, se dejaron secar para la observación al microscopio.

**Para la prueba de Micronúcleos.** Una vez completadas las 72 h, los tubos se centrifugaron a 1000 rpm por 5 min., se removió el sobrenadante y se resuspendieron las células en 0.5 ml de este, se adicionó: 3 ml de solución hipotónica por 3 min. y 1 ml de fijador Carnoy (3 metanol : 1 ácido acético), se resuspendió, y se completó hasta 5 ml con el fijador.

Después de esta fijación, se centrifugó a 1000 rpm por 5 min., se removió y se resuspendió el sobrenadante, se realizaron dos fijaciones más con 5 ml de Carnoy, posteriormente, se realizó el goteo sobre una placa seca y bien fría a una altura de 1 – 5 cms, para evitar que las células se rompieran.

Finalmente se tiñeron las placas con Giemsa al 10% por 7min y se lavaron tres veces en agua destilada, se dejaron secar para la observación al microscopio.

Para el registro de **alteraciones cromosómicas**, se analizaron al menos 100 metafases en primer ciclo de división, por persona.

El registro de **micronúcleos** se hizo solo en células binucleadas, donde se analizaron 500 células por placa, para obtener un total de 2000 células por individuo.

## **6.5 DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANALISIS ESTADÍSTICO**

En este estudio se analizaron 25 personas expuestas y 25 personas no expuestas o grupo referente. De cada persona se realizaron 4 cultivos (2 para AC y 2 para MN), y de cada cultivo se obtuvieron 2 placas (Total: 8 placas por persona).

**Índice Mitótico y Alteraciones Cromosómicas.** En 4 placas de cada persona se analizaron 2000 células para identificar el Índice Mitótico el cual se registro como la fracción que resulta de dividir el N<sup>o</sup> de metafases entre 2000 células, por cada persona.

En las 4 placas se analizaron 200 metafases para el registro de Alteraciones Cromosómicas, en las cuales se identificaron rupturas cromatídicas, rupturas cromosómicas y el total de alteraciones cromosómicas. El dato se reportó como el número promedio de alteraciones Cromosómicas / 200 células.



**Micronúcleos:** En 4 placas de cada persona se analizaron 2000 células binucleadas para identificar micronúcleos, el cual se registró como: N° de Mn / 2000 células binucleadas, por cada persona.

El análisis de asociación entre el factor de exposición (expuesto, referente) y cada una de las variables cualitativas que caracterizan a los grupos se hizo mediante la prueba chi-cuadrado  $\chi^2$  en tabla de contingencia. La comparación de los grupos (expuesto, referente), desde el punto de vista de las variables cuantitativas como edad y tiempo de exposición, se hizo con la prueba t.

Para el análisis de los Biomarcadores de Citotóxicidad (IM) y Genotóxicidad (AC y MN); los datos se sometieron a prueba de normalidad, homogeneidad de varianza e independencia y luego se compararon los grupos (expuestos vs. no expuestos) mediante la prueba t (paramétrica).

Se hizo prueba de asociación entre los biomarcadores (IM, AC y MN) versus el tiempo de exposición y la edad mediante prueba de correlación y curva de mejor ajuste.

Los análisis se realizaron con el programa estadístico SPSS versión 14, con un nivel de significancia máximo de 0.05.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

En el cuadro 6 se observa que, desde el punto de vista del género y la edad, los grupos (expuesto, referente) son semejantes, determinándose que entre estas no hay diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ).

**Cuadro 6.** Características de la Población de Estudio

| <b>Variables</b>     | <b>Expuestos n (%)</b>      | <b>Referente n (%)</b>      | <b>P</b>           |
|----------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------|
| <b>Sujetos</b>       | 25                          | 25                          |                    |
| <b>Genero</b>        |                             |                             |                    |
| Masculino            | 14 (56)                     | 14 (56)                     | 1,000 <sup>a</sup> |
| Femenino             | 11 (44)                     | 11 (44)                     |                    |
| <b>Edad (Rangos)</b> |                             |                             |                    |
| ≤ 21                 | 9 (36)                      | 9 (36)                      | 0.319 <sup>a</sup> |
| 22 - 37              | 8 (32)                      | 8 (32)                      |                    |
| ≥ 38                 | 8 (32)                      | 8 (32)                      |                    |
| <b>Media ± DE</b>    | 30.40 ± 11.881 <sup>b</sup> | 30.56 ± 12.173 <sup>b</sup> |                    |

<sup>a</sup> Prueba de chi-cuadrado  $\chi^2$

<sup>b</sup> Prueba t

En el cuadro 7 se resumen algunas de las características ocupacionales, de exposición y ambientales correspondientes al grupo de individuos ocupacionalmente expuestos al formaldehído.

En cuanto a la ocupación, los individuos expuestos son principalmente monitores (32%), laboratoristas (28%) y estudiantes (24%) y en una menor proporción se encuentran médicos docentes (8%) y patólogos (8%). Para el tiempo de exposición, las personas del grupo expuesto, se distribuyen por igual ( $p > 0.05$ ) entre los tres rangos establecidos ( $\leq 7$ ,  $8 - 30$ ,  $\geq 31$  Horas-año de exposición), con un promedio de  $40.0064 \pm 52.12304$  horas-año. En general, las personas no utilizan adecuadamente los implementos de protección y prevención (64%). Cabe resaltar que, además de la exposición al formaldehído, un 12% de los individuos se encuentran expuestos a otros químicos (xilol, alcoholes).

En cuanto a las características medio ambientales, los sitios de trabajo tienen cámara de extracción, aunque no presentan una adecuada ventilación.

**Cuadro 7.** Características Ocupacionales, de Exposición y Ambientales del grupo Expuesto

| <b>Variables</b>                              | <b>Expuestos<br/>n (%)</b> |
|---|----------------------------|
| <b>Ocupación</b>                              |                            |
| Medico docente                                | 2 (8)                      |
| Laboratorista                                 | 7 (28)                     |
| Monitor                                       | 8 (32)                     |
| Estudiante                                    | 6 (24)                     |
| Patólogo                                      | 2 (8)                      |
| <b>Horas-año de exposición *</b>              |                            |
| ≤ 7   | 8 (32)                     |
| 8 – 30  | 9 (36)                     |
| ≥ 31  | 8 (32)                     |
| <b>Implementos de protección y prevención</b> |                            |
| Si  | 9 (36)                     |
| No  | 16 (64)                    |
| <b>Exposición a otros químicos</b>            |                            |
| Si  | 3 (12)                     |
| No  | 22 (88)                    |
| <b>Ventilación</b>                            |                            |
| Si  | 4 (16)                     |
| No  | 21 (84)                    |
| <b>Cámara de Extracción</b>                   |                            |
| Si  | 16 (64)                    |
| No  | 9 (36)                     |

\* Horas-año de exposición, definido como el número de horas diarias multiplicado por los años de exposición al formaldehído<sup>2</sup>.

<sup>2</sup> Sierra, H. et al, Polymorphisms for chemical metabolizing genes and risk for cervical neoplasia. Citado por ARBOLEDA, Yexania. Alteraciones en la Frecuencia de Aberraciones Cromosómicas en Linfocitos de Jóvenes Fumadores de Cigarrillo 2003.

## 7.2 SIGNOS Y SINTOMAS

En el cuadro 8 se reportan los diferentes signos y síntomas identificados en el grupo expuesto. Los más representativos, desde el punto de vista de la frecuencia relativa (%), son:

- **Signos y Síntomas Respiratorios:** prurito nasal (60%), tos seca (60%) y ardor de garganta (88%).
- **Signos y Síntomas Dermatológicos:** resequedad de la piel (60 %).
- **Signos y Síntomas Oculares:** lagrimeo (76%) e irritación ocular (80%).
- **Signos y Síntomas Neurológicos:** dolor de cabeza (68 %).

La exposición al formaldehído está estrechamente asociada con efectos adversos para la salud como irritación e inflamación. Las primeras manifestaciones, además de las nasales, comprometen la conjuntiva ocular, la garganta, la mucosa bucal y la piel. En las primeras aparecen signos de enrojecimiento e irritación severa y en la piel irritación y sequedad (Bruzl 1989, Alexanderson et al. 1988, Pabst 1987, Berk 1987, Sauder 1986, Schachter et al. 1986).

Los resultados obtenidos en esta investigación son muy similares con resultados obtenidos por otros investigadores: Moret (1990) estudió 28 individuos, todos trabajadores de la Cátedra de Anatomía Humana de la Universidad de Los Andes (Docentes, Empleados y Obreros), expuestos en forma crónica al formaldehído. Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron: sequedad de la piel (67.7%), engrosamiento de la piel (63.4%), irritación de garganta (71.4%), irritación de la conjuntiva (67.9%), sequedad de la boca (67.9 %) e hipoalgesia (50%). Kriebel y cols. (1993) estudiaron los efectos irritantes del formaldehído sobre estudiantes de Anatomía, observando que los más frecuentes fueron: tos, irritación de garganta y asma. Akbar y cols. (1994) realizaron una investigación sobre un grupo de 34 trabajadores en los laboratorios de Anatomía durante disecciones, obteniendo los siguientes resultados: Irritación de los ojos (88%); irritación de la mucosa nasal (74%), irritación de garganta (29%).

Estas manifestaciones pueden presentarse debido a la acción irritante del formaldehído sobre las mucosas, por tiempo prolongado o a una alta intensidad a corto plazo, sin la debida protección durante su manipulación.

**Cuadro 8. Signos y Síntomas**

| <b>Signos y Síntomas</b> |                                | <b>SI n (%)</b> | <b>NO n (%)</b> |
|--------------------------|--------------------------------|-----------------|-----------------|
| <b>Respiratorios</b>     | Prurito nasal                  | 15 (60)         | 10 (40)         |
|                          | Obstrucción nasal              | 9 (36)          | 16 (64)         |
|                          | Hemorragia nasal               | 0               | 25 (100)        |
|                          | Disminución de la sensibilidad | 10 (40)         | 15 (60)         |
|                          | Tos seca                       | 15 (60)         | 10 (40)         |
|                          | Ardor de garganta              | 22 (88)         | 3 (12)          |
|                          | Dificultad para respirar       | 8 (32)          | 17 (68)         |
|                          | Asma                           | 3 (12)          | 22 (88)         |
|                          | Hiposmia                       | 5 (20)          | 20 (80)         |
| <b>Dermatológicos</b>    | Urticaria                      | 0               | 25 (100)        |
|                          | Prurito                        | 10 (40)         | 15 (60)         |
|                          | Ampollas                       | 0               | 25 (100)        |
|                          | Dermatitis                     | 8 (32)          | 17 (68)         |
|                          | Onicolisis                     | 1 (4)           | 24 (96)         |
|                          | Resequedad de la piel          | 15 (60)         | 10 (40)         |
|                          | Engrosamiento de la piel       | 3 (12)          | 22 (88)         |
| <b>Oculares</b>          | Lagrimeo                       | 19 (76)         | 6 (24)          |
|                          | Irritación ocular              | 20 (80)         | 5 (20)          |
|                          | Conjuntivitis                  | 2 (8)           | 23 (92)         |
|                          | Leucoma                        | 0               | 25 (100)        |
| <b>Neurológicos</b>      | Dolor de cabeza                | 17 (68)         | 8 (32)          |
|                          | Fatiga                         | 11 (44)         | 14 (56)         |
|                          | Somnolencia                    | 8 (32)          | 17 (68)         |
|                          | Mareo                          | 7 (28)          | 18 (72)         |
|                          | Disminución de la memoria      | 6 (24)          | 19 (76)         |

### 7.3 CITOTOXICIDAD

En el Cuadro 9 se observa el Índice Mitótico tanto del grupo expuesto como del grupo referente.

Debido a que los datos de índice mitótico se ajustaron a la distribución normal (Shapiro-wilk:  $p= 0.247$  para el grupo expuesto y  $p= 0.762$  para el grupo referente), y a la homogeneidad de varianza (Levene:  $p= 0.341$ ), el análisis comparativo se hizo mediante la prueba t, con un promedio significativamente menor ( $p= 0.000$ )

para el grupo expuesto ( $0.04320 \pm 0.025$ ) en comparación con el grupo referente ( $0.06177 \pm 0.003$ ). La reducción del Índice Mitótico en el grupo expuesto, respecto del grupo referente, es de un 30%.

**Cuadro 9.** Efecto Citotóxico (Índice Mitótico)

|                                      | <b>Expuestos*</b>           | <b>Referente*</b>   |
|--------------------------------------|-----------------------------|---------------------|
| 1                                    | 0,0310                      | 0,0745              |
| 2                                    | 0,0445                      | 0,0640              |
| 3                                    | 0,0350                      | 0,0490              |
| 4                                    | 0,0700                      | 0,0920              |
| 5                                    | 0,0320                      | 0,0700              |
| 6                                    | 0,0455                      | 0,0645              |
| 7                                    | 0,0290                      | 0,0530              |
| 8                                    | 0,0300                      | 0,0290              |
| 9                                    | 0,0580                      | 0,0475              |
| 10                                   | 0,0695                      | 0,0725              |
| 11                                   | 0,0470                      | 0,0615              |
| 12                                   | 0,0625                      | 0,0575              |
| 13                                   | 0,0530                      | 0,0625              |
| 14                                   | 0,0390                      | 0,0845              |
| 15                                   | 0,0315                      | 0,0540              |
| 16                                   | 0,0270                      | 0,0445              |
| 17                                   | 0,0485                      | 0,0725              |
| 18                                   | 0,0485                      | 0,0514              |
| 19                                   | 0,0460                      | 0,0825              |
| 20                                   | 0,0380                      | 0,0560              |
| 21                                   | 0,0460                      | 0,0865              |
| 22                                   | 0,0455                      | 0,0525              |
| 23                                   | 0,0385                      | 0,0660              |
| 24                                   | 0,0415                      | 0,0460              |
| 25                                   | 0,0230                      | 0,0505              |
| <b>Promedio Total**</b>              | $0.04320 \pm 0.025$         | $0.06177 \pm 0.003$ |
| <b>Significancia Estadística ***</b> | $t = 4.731 \quad p = 0.000$ |                     |

\* Índice Mitótico, resultado de analizar 2000 células por individuo

\*\* Promedio  $\pm$  Error Estándar

\*\*\* Significancia Estadística identificada mediante la prueba t-Student para grupos con varianzas homogéneas

Se concluye, por lo tanto, que el formaldehído o sus metabolitos acumulados durante la exposición crónica, actúan como un bloqueador premitótico, es decir que inhiben el ciclo celular, disminuyendo el número de células que pasan a la

etapa de mitosis, con base en los estudios de Rojas y cols. (1993), es posible que esto ocurra por apoptosis o muerte celular.

Estos resultados son similares a los reportados por Miretskaia y Shvartsman (1982) quienes concluyen que, a altas concentraciones, el formaldehído inhibe la actividad mitótica de las células.

En esta investigación no se encontraron más estudios que evalúen el efecto Citotóxico del formaldehído mediante el Biomarcador Índice Mitótico.

## 7.4 GENOTOXICIDAD

Para Identificar el efecto genotóxico inducido por la exposición ocupacional al formaldehído (considerado como un agente mutagénico y/o cancerígeno humano) se realizaron las pruebas de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos.

**7.4.1 Efecto genotóxico evaluado mediante la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas.** En el cuadro 10 se registra la frecuencia promedio de alteraciones cromatídicas, alteraciones cromosómicas y alteraciones totales, con su respectivo error estándar, tanto para el grupo expuesto como para el referente.

**Cuadro 10.** Efecto Genotóxico (Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos)

|                              | <b>Expuesto</b><br><b>Media ± EE (n)*</b> | <b>Referente</b><br><b>Media ± EE (n)*</b> | <b>P**</b> |
|------------------------------|---|--|------------|
| <b>Quiebres Cromatídicos</b> | 5,64 ± 0,526 (25)                         | 1,08 ± 0,191 (25)                          | 0.000      |
| <b>Quiebres Cromosómicos</b> | 3,40 ± 0,651(25)                          | 0,20 ± 0,115 (25)                          | 0.000      |
| <b>Quiebres Totales</b>      | 9,04 ± 0,893(25)                          | 1,28 ± 0,187(25)                           | 0.000      |
| <b>Micronúcleos</b>          | 29,28 ± 4,955(25)                         | 2,16 ± 0,562(25)                           | 0.000      |

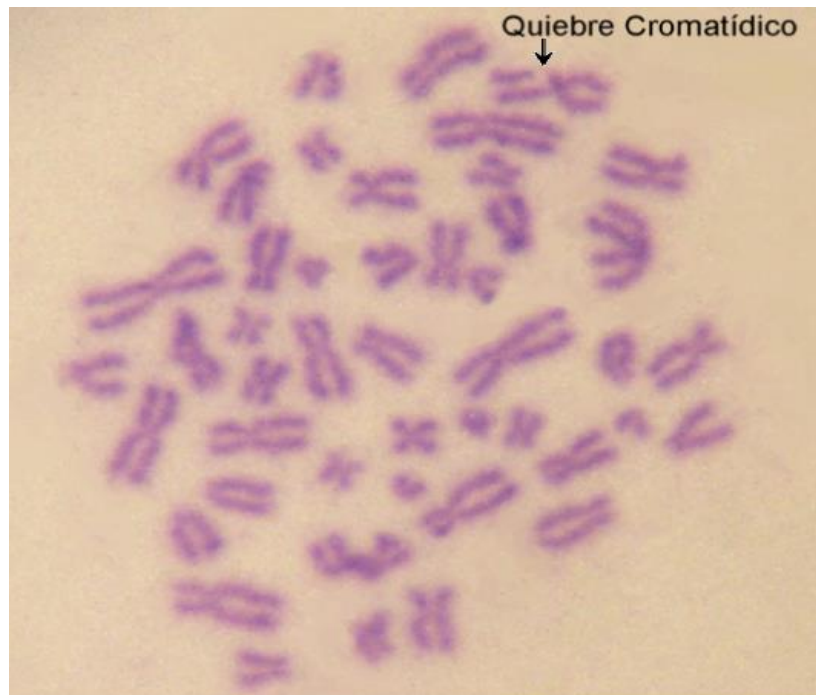
\* Media ± error estándar (número de individuos). Resultado de analizar 200 células por individuo para quiebres y 2000 células por individuo para micronúcleos.

\*\* Significancia estadística identificada mediante prueba t-Student para grupos con varianzas no homogéneas.

En el grupo expuesto, el promedio de Alteraciones Cromosómicas Totales ( $9,04 \pm 0,893$ ) fue significativamente mayor ( $p = 0.000$ ) que el promedio registrado en el grupo referente ( $1,28 \pm 0,187$ ), lo mismo ocurre con las Alteraciones Cromatídicas (Ver foto en la figura 5) y Cromosómicas (Ver foto en la figura 6). En consecuencia, se puede concluir que la exposición ocupacional al formaldehído induce daño genotóxico en los linfocitos.

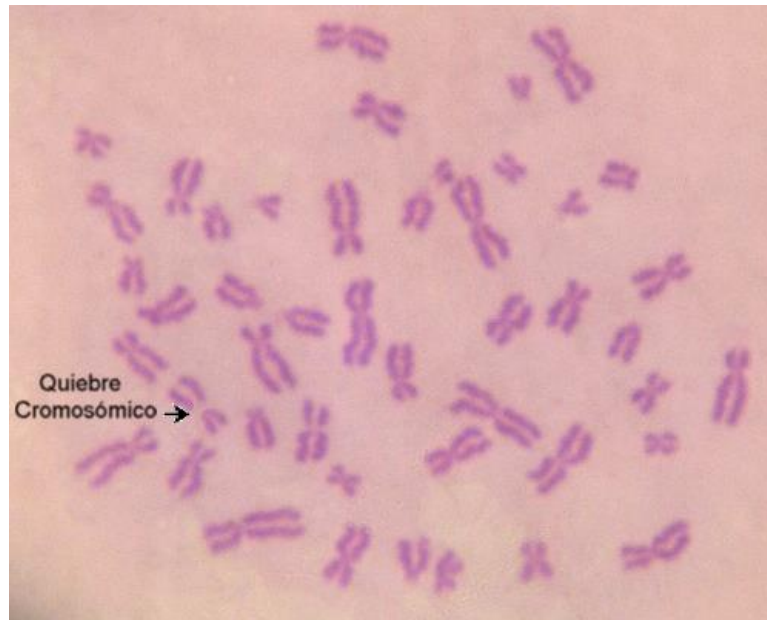
Lo anterior se demuestra mediante el incremento en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas del grupo expuesto en comparación con el grupo referente. Este resultado está de acuerdo con la conclusión del Grupo Federal de formaldehído (1982) quienes demuestran que este aldehído produce mutaciones genéticas y Alteraciones Cromosómicas.

**Figura 5.** Quiebre Cromatídico





**Figura 6.** Quiebre Cromosómico



Las alteraciones cromosómicas pueden ser de tipo cromatídico y de tipo cromosómico, atendiendo al momento de la etapa del ciclo celular en la cual se encuentren los linfocitos en el momento de la inducción del daño (Martínez W y Folle G 2005). Las alteraciones de tipo cromosómico se observan habitualmente en células cuyo contenido cromosómico ha sido dañado durante el período inicial de la interfase del ciclo celular (G1) y que se manifiestan como fracturas o intercambios previamente a la replicación del ADN. Las alteraciones de tipo cromatídico, son características del daño genético inducido en una cromátida durante la replicación del material hereditario o incluso, posteriormente, en el transcurso de la fase G2 (Máximo et al. 1987). El quiebre de la cromátida implica una ruptura de la continuidad de la misma, con desplazamiento del segmento distal al sitio de la lesión, dando origen a un cromosoma deficiente en información genética y un fragmento acéntrico. Esta alteración constituye una de las lesiones inducidas con mayor frecuencia por los mutágenos químicos (Máximo et al. 1987).

Los resultados de esta investigación están de acuerdo con lo dicho anteriormente ya que la alteración cromatídica es el daño cromosómico estructural mas frecuente en el grupo expuesto.

Debido a lo anterior, se puede considerar que el incremento en la frecuencia de alteraciones, se debe a la acción del formaldehído, el cual probablemente podría modificar algunas proteínas de reparación del ADN (por ejemplo, el heterodímero

Ku, según Goldberg (2001). “Ku se encuentra en el núcleo lista para detectar daños en el ADN y para unir los extremos del mismo”), lo que retrasa la eliminación de los daños del ADN y la inhibición de la reparación (Barret 1997, Emri 2004).

Los resultados de esta investigación son consistentes con estudios anteriores en linfocitos periféricos. He y cols. (1998) en un grupo de 13 estudiantes de anatomía, reportaron un incremento en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas en el grupo expuesto (5.92%) en comparación con la frecuencia del grupo referente (3.4%) con una significancia estadística de  $p < 0.01$ . Miretskaia y Shvartsman (1982) encontraron un aumento en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas en linfocitos expuestos *in vitro* al formaldehído tanto a bajas como altas concentraciones. Kitaeva y cols. (1996) estudiaron un grupo de trabajadores de una fábrica de fertilizantes de nitrógeno expuestos al formaldehído en concentraciones superiores al máximo autorizado, observando una diferencia en la frecuencia de alteraciones cromosómicas en comparación con el grupo referente. Chebotarev y cols. (1986) estudiaron un grupo de 37 trabajadores de una fábrica de procesamiento de madera, expuestos al formaldehído, reportando un incremento en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas en el grupo expuesto (2.76%) en comparación con el grupo referente (1.64%). Jin y Zhu (1992) estudiaron un grupo de 20 trabajadores de una fábrica de vinilos, expuestos al formaldehído, reportando un incremento en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas en linfocitos de sangre periférica en el grupo expuesto (5.08%) en comparación con el grupo referente (1.57%).

En contraste a estos resultados, Kitaeva y cols. (1996), estudiaron un grupo de trabajadores del departamento de anatomía y estudiantes de morfología, no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo expuesto y el referente. Igualmente, Thomson y cols. (1984), quienes estudiaron un grupo de 6 trabajadores de patología expuestos al formaldehído, no encontraron diferencia en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas entre el grupo expuesto y el grupo referente. Vasudeva y Anand (1996) no observaron una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas en el grupo expuesto (30 estudiantes de medicina) en comparación con el grupo referente, reportando un promedio de 1.2% frente a 0.9%. Fleig y cols. (1982) estudiaron un grupo de 15 trabajadores en la fabricación de formaldehído, no encontraron diferencia en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas entre el grupo expuesto (1.67%) y el grupo referente (1.07%).

#### **7.4.2 Efecto genotóxico evaluado mediante la frecuencia de Micronúcleos.**

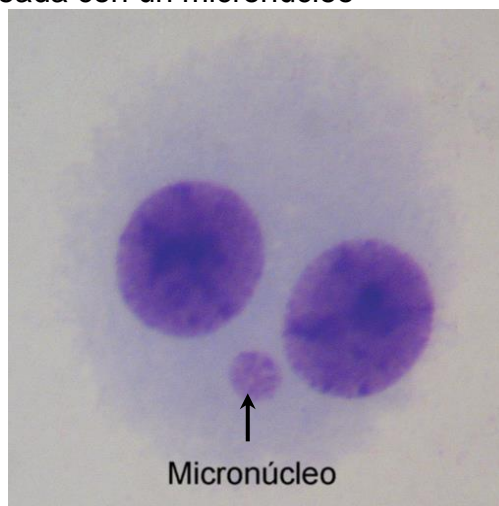
En el cuadro 10 se registra el promedio de Micronúcleos, con su respectivo error estándar, tanto para el grupo expuesto como para el referente.

En el grupo expuesto, el promedio de Micronúcleos ( $29,28 \pm 4,955$ , Media  $\pm$  EE) fue significativamente mayor ( $p = 0.000$ ) que el promedio registrado en el grupo referente ( $2,16 \pm 0,562$ ). Por consiguiente, se puede concluir que la exposición ocupacional al formaldehído induce daño genotóxico en los linfocitos (Ver fotos en las figuras 7, 8 y 9).

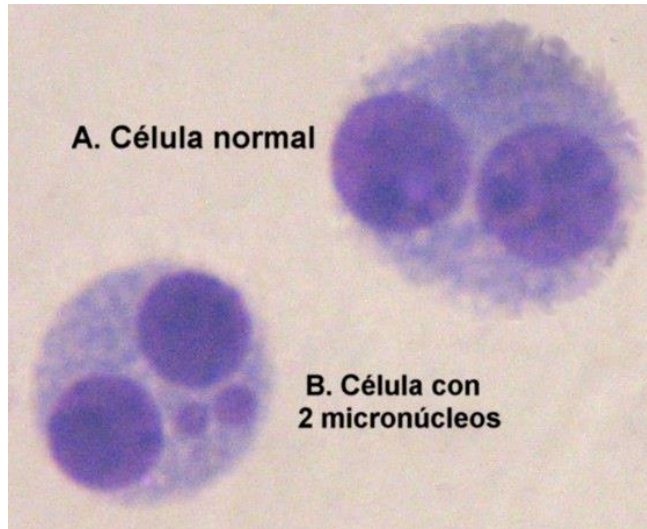
Los resultados de esta investigación son consistentes con estudios anteriores en linfocitos periféricos. He JL y cols. (1998) reportaron un incremento significativo ( $P < 0.01$ ) en un grupo de estudiantes expuestos al formaldehído (0.638%) en comparación con el grupo referente (0.315%). Orsière y cols. (2006) observaron un aumento estadísticamente significativo en la frecuencia de Micronúcleos en linfocitos periféricos en el grupo expuesto (anatomistas, patólogos y trabajadores de laboratorio) en comparación con el grupo referente, reportando un promedio de  $16,9 \pm 9,3$  frente a  $11,1 \pm 6,0$  ( $P = 0,001$ ). Bonassi y cols. (2007), observaron una mayor frecuencia de Micronúcleos entre un grupo de Patólogos/Anatomistas respecto al grupo referente. Sari-Minodier y cols. (2001) en un grupo de 10 mujeres trabajadoras en laboratorios de patología, reportaron un incremento en la frecuencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica del grupo expuesto (1.88%) en comparación con la frecuencia del grupo referente (0.88%).

Los resultados del presente trabajo difieren con los reportados por Ying y cols. (1997) quienes no encontraron una diferencia estadísticamente significativa en la frecuencia de Micronúcleos en el grupo expuesto (23 estudiantes de anatomía) en comparación con el grupo referente, reportando un promedio de 0.111% frente a 0.091%.

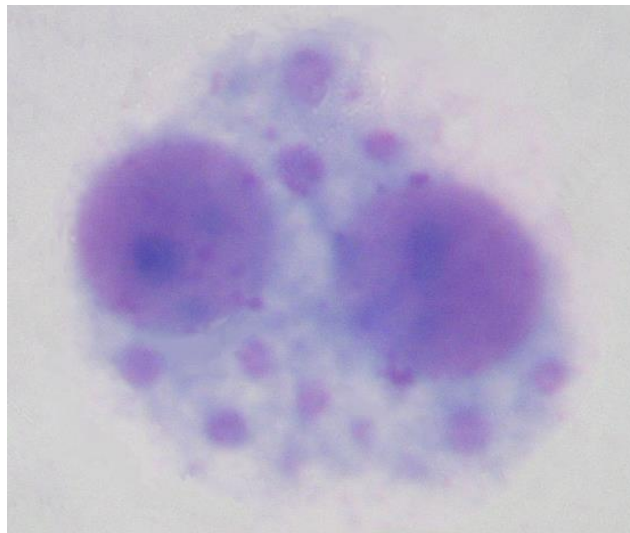
**Figura 7.** Célula binucleada con un micronúcleo



**Figura 8.** Célula binucleada normal (A). Célula binucleada con dos micronúcleos (B).



**Figura 9.** Célula binucleada con varios micronúcleos.



Los mecanismos de formación de micronúcleos, permiten determinar la actividad clastogénica (ruptura cromosómica) y/o aneugénica (pérdida de cromosomas) de diferentes sustancias. Estos mecanismos ocurren aproximadamente en la misma proporción (Fenech 1999).

La formación de micronúcleos en la división de las células es el resultado de la ruptura de cromosomas debido a la mala reparación o a la no reparación de las lesiones en el ADN, o a la mala segregación cromosómica, debido al mal funcionamiento mitótico. Estos eventos pueden ser inducidos por el estrés oxidativo, defectos genéticos en los puntos de control del ciclo celular y/o de los genes de reparación del ADN, deficiencias en los nutrientes necesarios como co-factores en el metabolismo del ADN, así como a la exposición de agentes clastogénicos y/o aneugénicos (Kimura et al. 2004, Fenech y Umegaki, 2000, Rajagopalan et al. 2004, MacGregor 1990, Crott et al. 2001, Bonassi et al. 2005).

Al parecer, la exposición al formaldehído puede presentar efectos ya sea aneugénicos, resultado de lesiones/aductos a nivel del ADN o proteínas que participan directa o indirectamente en la segregación y en la migración cromosómica (por ejemplo, tubulina) y/o efectos clastogénicos mediante la formación de micronúcleos originados por fragmentos cromosómicos (Fenech y Umegaki 2000).

**7.4.3 Efecto genotóxico asociado a las variables cualitativas identificadas en el grupo expuesto.** Para determinar la influencia de las variables cualitativas: ocupación, género, implementos de prevención y protección, exposición a químicos, ventilación y cámara de extracción, sobre los biomarcadores de genotoxicidad, fue necesario reclasificar la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos en los individuos, ya que se observó una alta variabilidad entre ellas. Clasificándolos como individuos de alta frecuencia ( $> 6$  para Alteraciones Cromosómicas y  $> 20$  para Micronúcleos) y baja frecuencia ( $\leq 6$  para Alteraciones Cromosómicas y  $\leq 20$  para Micronúcleos).

Solo se halló una asociación marginalmente significativa entre la variable “implementos de prevención y protección” y la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas ( $p = 0.058$ ) (Cuadro 11), ya que el 76.5% de los individuos que presentan una alta frecuencia de alteraciones cromosómicas, no utilizan adecuadamente los implementos de protección y prevención.

Mediante el análisis de chi-cuadrado  $\chi^2$  no se identificó asociación estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ) entre las variables cualitativas y ambientales que caracterizan al grupo expuesto, con la frecuencia de Micronúcleos, debido posiblemente al pequeño tamaño de muestra.

**Cuadro 11.** Asociación entre el uso de implementos de protección y prevención y una frecuencia alta (> 6) o baja ( $\leq 6$ ) de Alteraciones Cromosómicas.

|  |    | Alteraciones Cromosómicas |            |
|--|----|---------------------------|------------|
|  |    | Baja n (%)                | Alta n (%) |
| Implementos de protección y prevención | SI | 5 (62.5)                  | 4 (23.5)   |
|  | NO | 3 (37.5)                  | 13 (76.5)  |

Significancia de 0.058 identificada mediante la prueba de chi-cuadrado  $\chi^2$

En cuanto al género, los resultados obtenidos en esta investigación son consistentes con los planteados por Kulle (1993), quien demostró que los hombres y las mujeres reaccionan de la misma manera y, por tanto, su porcentaje de respuesta irritante fue similar; además, Andersen y Molhave (1983), informaron que el sexo no influye en la sensibilidad.

En contraste a estos resultados, Orsière y cols. (2006), encontraron que la frecuencia de micronúcleos fue mayor en mujeres que en hombres con un promedio de  $16,4 \pm 8,7$  frente a  $8,2 \pm 3,9$  ( $P < 0,001$ ), Suruda y cols. (1993), reportaron esta misma conclusión.

**7.4.4 Análisis de asociación entre el Índice Mitótico, Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos versus las Variables Cuantitativas (edad y tiempo de exposición).** El análisis de asociación entre los biomarcadores y las variables se hizo para el total de los individuos (expuesto + referente).

No se halló asociación estadísticamente significativa entre el biomarcador de citotoxicidad (Índice Mitótico) y las variables cuantitativas (edad y tiempo de exposición).

Mediante análisis de correlación de Pearson, se identificó asociación lineal positiva, estadísticamente significativa ( $r = 0.395$  y  $p = 0.005$ ), entre la frecuencia total de Alteraciones Cromosómicas y el tiempo de exposición (horas-año).

Mediante análisis de correlación Rho de Sperman, la frecuencia de Micronúcleos se relaciona de forma lineal y positiva con el tiempo de exposición (horas-año) ( $r = 0.770$  y  $p = 0.000$ ).

No se encontró asociación significativa estadísticamente ( $p > 0.05$ ) entre la frecuencia total de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos versus la edad. Estos datos son consistentes a los reportados por Andersen y Molhave (1983) quienes informaron que la edad no influye en la sensibilidad al formaldehído.

Por el contrario, Orsière y cols. (2006) y Suruda y cols. (1993), plantean que la frecuencia de micronúcleos se asocia de manera positiva con la edad (test de Spearman  $P < 0,001$ ).

Mediante análisis de curva de mejor ajuste se logró identificar que la asociación entre la frecuencia total de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos versus el tiempo de exposición (horas-año), se explica mejor mediante una relación cúbica, la cual se describe por medio de las formulas:

$$AC = 1.9574 + 0.5603 (\text{horas-año}) - 0.0063 (\text{horas-año})^2 + 0.000018 (\text{horas-año})^3$$

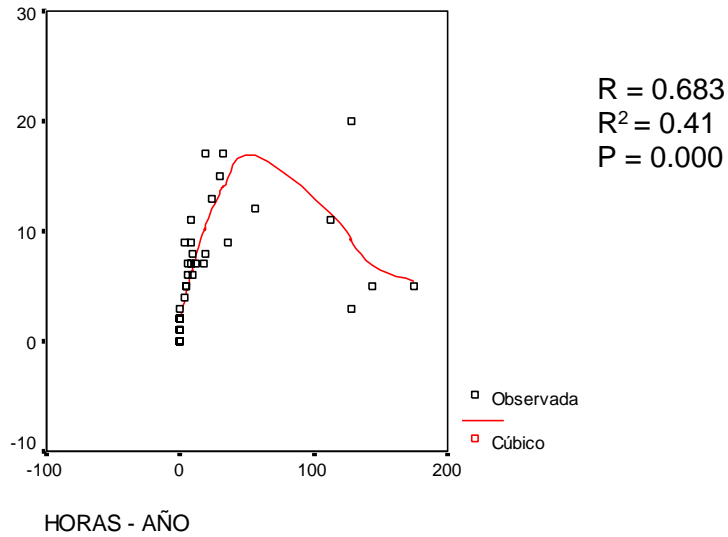
$$Mn = 3.3512 + 2.5155 (\text{horas-año}) - 0.0312 (\text{horas-año})^2 + 0.000097 (\text{horas-año})^3$$

Con base en el coeficiente de determinación ( $R^2 = 0.41$  para Alteraciones Cromosómicas y  $R^2 = 0.35$  para Micronúcleos) se puede inferir que la variabilidad observada en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos dependen en un 41% y un 35% respectivamente, de la variabilidad observada en el tiempo de exposición (horas-año).

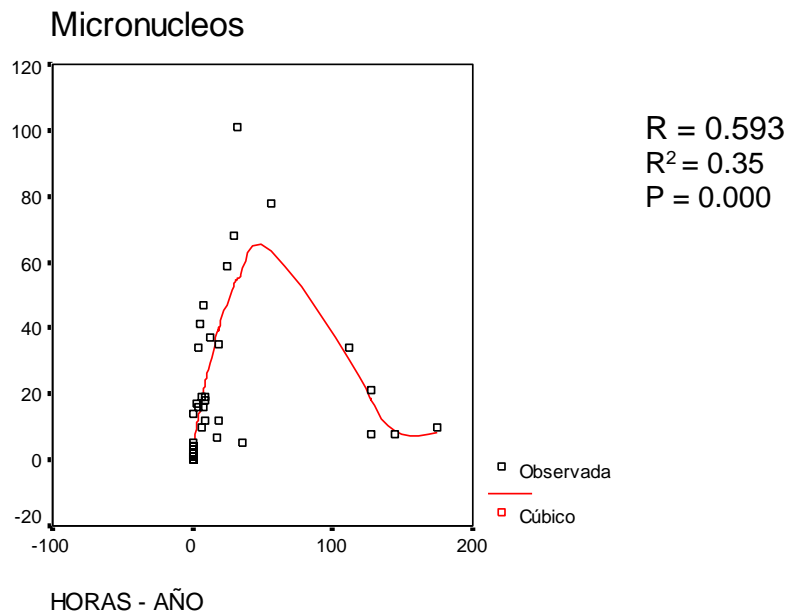
Mediante este modelo de regresión es posible observar (Figura 10) que entre 3 a 32 horas-año de exposición, el número de alteraciones cromosómicas aumenta progresivamente, se estabiliza bajando un poco hasta 128 horas-año, y luego disminuye notablemente. Algo muy similar ocurre con la asociación micronúcleos y horas-año (Figura 11), donde el incremento en la frecuencia de micronúcleos se observa de 3 a 32 horas-año de exposición, trata de estabilizarse bajando un poco hasta 56 horas-año, y luego disminuye notablemente hasta 175 horas-año.

**Figura 10.** Análisis de asociación entre el tiempo de exposición (horas-año) y la frecuencia de alteraciones cromosómicas

**AC Totales / 200 cel.**



**Figura 11.** Análisis de asociación entre el tiempo de exposición (horas-año) y la frecuencia de micronúcleos



Una posible explicación del incremento y posterior disminución en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos asociados con el tiempo de



exposición, puede ser que el daño ejercido por la exposición al formaldehído es tan drástico que la célula se muere y por lo tanto no es registrable, esto concuerda con la disminución observada en el índice mitótico. Por otro lado, esta disminución puede ser por la tolerancia al formaldehído, ya que se ha comprobado que las personas expuestas habitualmente al formol soportan mayores concentraciones del mismo, con pérdida de su capacidad para percibir los olores. Esto esta de acuerdo con estudios realizados por Coldiron y cols. (1983) y Clark (1983), quienes encuentran evidencias de la tolerancia al formaldehído, particularmente en lo que respecta a los efectos irritantes (Moret 1990). Con base en esto, quienes llevan más tiempo de exposición al formaldehído, tienden a resistir más su acción toxica, manifestándose en una disminución en la frecuencia de daño y ruptura cromosómica.

Los resultados de esta investigación contribuyen en la determinación de la capacidad genotóxica del formaldehído en sitios dístales (linfocitos de sangre periférica), ya que estos datos muestran un incremento en el promedio de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos en el grupo expuesto en comparación con el grupo referente, evidenciando así el daño genotóxico en los linfocitos de las personas que se encuentran ocupacionalmente expuestas al formaldehído, igualmente Bauchinger y Schmid (1985), Kitaeva y cols. (1996) y Yager y cols. (1986), reportaron el efecto citotóxico y genotóxico en personas expuestas.

Es posible que los cambios en las células de sangre periférica, no indiquen un mecanismo directo de la carcinogénesis por la exposición al formaldehído, pero si indican que se ha producido una alteración en el ADN.

La asociación de estos efectos citogenéticos con la exposición al formaldehído indica que pueden ser útiles como marcadores de dosis biológicamente efectivas (Griffith et al. 1989, Schulte 1989)

Estos resultados aportan datos científicos sobre el efecto citotóxico y genotóxico del formaldehído, determinando así la necesidad de desarrollar programas de prevención, protección y seguridad laboral.

## 8. CONCLUSIONES

- Mediante los resultados obtenidos en este estudio, no fue posible determinar una asociación entre las características ambientales de los sitios de trabajo y los Biomarcadores dado que el tamaño de la muestra objeto de estudio fue pequeña, debido a esto se obtuvieron valores estadísticamente no significativos.
- Los signos y síntomas más frecuentes en el grupo de personas expuestas al formaldehído fueron: prurito nasal, tos seca, ardor de garganta, resequead de la piel, lagrimeo, irritación ocular y dolor de cabeza, las cuales se relacionan con los riesgos propios de trabajar con sustancias químicas irritantes y cáusticas como el formaldehído, por tiempo prolongado o a una alta intensidad sin la debida protección durante su manipulación.
- Los resultados obtenidos en este estudio evidencian el efecto citotóxico en los linfocitos de las personas que se encuentran ocupacionalmente expuestas al formaldehído, debido a que el Índice Mitótico fue significativamente menor en expuestos, en comparación con el grupo referente, determinando así que el formaldehído actúa como un bloqueador premitótico.
- Se observó un efecto genotóxico inducido por la exposición al formaldehído, mediante el incremento en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y de Micronúcleos en el grupo expuesto en comparación con el grupo referente, además, una asociación positiva entre la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas totales y Micronúcleos versus el tiempo de exposición, lo que indica que el tiempo si influye en la respuesta genotóxica.
- Mediante el modelo de regresión cúbica, fue posible asociar Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos con el tiempo de exposición (horas-año), observándose un incremento y posterior disminución en la frecuencia del daño y ruptura cromosómica, ya sea debido a la muerte celular o a la tolerancia al formaldehído, es decir, quienes llevan más tiempo de exposición, tienden a resistir más su acción toxica, manifestándose en una disminución en la frecuencia de Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos. La variable edad, no fue posible asociarla con ninguno de los biomarcadores ya que no fue estadísticamente significativa.

## 9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda la realización de estudios con un mayor tamaño de muestra, para determinar con más precisión la posible correlación entre las variables cualitativas planteadas en este estudio y los biomarcadores utilizados.
- Los resultados obtenidos en este estudio demuestran la necesidad de concientizar a las empresas encargadas y a las personas que se encuentren expuestos al formaldehído sobre sus efectos citotóxicos y genotóxicos así como también, plantear y desarrollar medidas de prevención, protección y seguridad laboral
- Con base en la revisión bibliográfica realizada y en los resultados de esta investigación, se sugiere continuar con la evaluación de los efectos que produce el formaldehído, utilizando diferentes marcadores biológicos, de esa manera se obtendrá un mayor conocimiento acerca de los efectos que a corto o largo plazo pueda ocasionar la exposición al formaldehído, además de obtener información acerca de su absorción, transporte, metabolismo y su reacción con macromoléculas.

## BIBLIOGRAFIA

AITIO, A et al. Indicators for assessing exposure and biological effects of genotoxic chemicals. Consensus and technical reports. Brussels, Belgium: Commission of the European Communities (1988).

AKBAR, K et al. Formaldehyde exposure, acute pulmonary response, and exposure control: options in a gross anatomy laboratory. *Am J Ind Med.* Vol. 26 (1994); p. 61-75.

ALEXANDERSSON, R and HEDENSTIERNA, G. Respiratory hazards associated with exposure to formaldehyde and solvents in acid-curing paints. *Arch Environ Health.* Vol. 43 (1988); p. 222–227.

ALEXANDERSON, R et al. Exposure to Formaldehyde. Effects on pulmonary function. *Arch Environ Hith.* Vol. 37 (1982); p. 279-284.

ANDERSEN, I and MOLHAVE, L. Controlled human studies with formaldehyde. In: Gibson JE, ed. *Formaldehyde toxicity.* Washington DC, Hemisphere Publishing. (1983); p. 155-165.

ARTS, J; RENNEN, M and DE HEER, C. Inhaled formaldehyde: evaluation of sensory irritation in relation to carcinogenicity. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* Vol. 44 (2006); p.144 – 160.

AUSTIN, George. *Manual de procesos químicos en la industria.* 5 ed. Tomo III. Cap. 34. Nueva York : Mc Graw-Hill (1995).

BARKER, M and WEINFELD, D. Murray. DNA–protein crosslinks: their induction, repair, and biological consequences, *Mutat. Res.* Vol. 589 (2005); p. 111–135.

BARRET, J.M et al. Evaluation of DNA repair inhibition by antitumor or antibiotic drugs using a chemiluminescence microplate assay. *Carcinogenesis.* Vol. 18 (1997); p. 2441–2445.

BAUCHINGER, M and SCHMID, E. Cytogenetic events in lymphocytes of formaldehyde workers of a paper factory. *Mutat. Res.* Vol. 158 (1985); p. 195–199.

BENDER, J.R. et al. Eye irritation response of humans to formaldehyde. *Am. Ind. Hyg. Assoc. J.* Vol. 44 (1983); p. 463–465.

BERK, J. Cytologic Examination of the nasal Mucosa in formaldehyde exposed Workers. *Occup Med.* Vol. 29 (1987); p.681-684.

BERTAZZI, P.A. et al. Exposure to formaldehyde and cancer mortality in a cohort of workers producing resins, *Scand. J. Work Environ. Health.* Vol.12 (1986); p. 461–468.

BIANCHI, M. et al. Evaluation of radatio-induced chromosomal aberrations in human peripheral blood lymphocytes in vitro. Results of an IAEA coordinated programme. *Mutation Research.* Vol. 96 (1982); p. 233-242.

BLAIR, A. et al. Cancers of the nasopharynx and oropharynx and formaldehyde exposure. *I. Natl. Cancer Inst.* Vol. 78 (1987); p.191-193.

----- . Epidemiologic evidence on the relationship between formaldehyde exposure and cancer, *Scand. J. Work Environ Health.* Vol.16 (1990); p. 381–393.

----- . Mortality among industrial workers exposed to formaldehyde, *J. Natl. Cancer Inst.* Vol. 76 (1986); p. 1071 – 1084.

BOFFETTA, Paolo. Chromosomal aberrations and cancer risk: results of a cohort study from central Europe. Vol. 165 (May 2006).

BONASSI, S. et al. Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of a future cancer onset in humans? Preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet. Cytogenet.* Vol. 79 (1995); p.133–135.

----- . Low intake of calcium, folate, nicotinic acid, vitamin E, retinol, b-carotene and high intake of pantothenic acid, biotin and riboflavin are significantly

associated with increased genome instability—results from a dietary intake and micronucleus index survey in South Australia. *Carcinogenesis*. Vol. 26 (2005); p. 991–999.

BONASSI, S. et al. Human population studies with cytogenetic biomarkers: review of the literature and future perspectives. *Environ. Mol. Mutagenesis*. Vol. 54 (2005); p.258–270.

BRACAMONTE, G.G; ORTIZ DE FRUTOS, F.J. and DIEZ, L.I. Occupational allergic contact dermatitis due to formaldehyde and textile finish resins. *Contact Dermatitis*. Vol. 33 (1995); p. 139–140.

BRUZL, M. Occupational Dermatoses in Workers exposed to Resins based on Phenol and Formaldehyde. *Contact Dermat*. Vol. 19 (1988); p. 272-277.

CARRANO, AV and HEDDLE, JA. The fate of chromosome aberrations. *Theor Biol*. Vol. 38 (February 1973); p. 289-304.

CARRANO, AV and NATARAJAN, AT. International considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. Commission for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. *Mutat Res*. Vol. 204 (1988); p. 379–406.

CARRASCO, S. Programas de vigilancia epidemiológica para expuestos a agentes de riesgo. (2002); p. 3–4.

CARVAJAL, Silvio y HOYOS, Luz Stella. Manual de citogenética : Linfocitos humanos. Grupo de investigación en Toxicología genética y citogenética. Universidad del Cauca. (2002); p. 31–38.

CASANOVA, M. et al. DNA–protein cross-links and cell replication at specific sites in the nose of F344 rats exposed subchronically to formaldehyde. *Fundam. Appl. Toxicol*. Vol. 23 (1994); p. 525–536.

CASANOVA, M; STARR, T.B. and HECK, H. Differentiation between metabolic incorporation and covalent binding in the labelling of macromolecules in the rat

nasal mucosa and bone marrow by inhaled [14C]-and [3H]-formaldehyde. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* Vol. 76 (1984); p. 26– 44.

CASANOVA, M; DAVID, R.M. and HECK, H. Oxidation of formaldehyde and acetaldehyde by NAD<sup>+</sup>-dependent dehydrogenases in rat nasal mucosal homogenates. *Biochem. Pharmacol.* Vol. 33 (1984); p. 1137–1142.

CASSET, A. et al. Inhaled formaldehyde exposure: effect on bronchial response to mite allergen in sensitized asthma patients. *Allergy.* Vol. 61 (2006); p. 1344–1350.

CHEBOTAREV, AN. et al. Comparison of chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and unscheduled DNA synthesis in the evaluation of the mutagenicity of environmental factors. *Tsitol. Genet.* Vol. 20 (1986); p. 109-115.

Chemical Industry Institute of Toxicology. Statement concerning research findings, Docket #11109. (October 8, 1979).

CHIA, SE. et al. Medical students exposure to formaldehyde in a gross anatomy dissection laboratory. *J Am Coll Health.* Vol. 41 (1992); p. 115-119.

CLARK, R.P. Formaldehyde in pathology departments *Clin Pathol.* Vol. 36 (1983); p. 389.

COGGON, D. et al. Extended Follow-Up Of A Cohort Of British Chemical Workers Exposed To Formaldehyde *Journal of the National Cancer Institute.* Vol. 95. No. 21. (November 2003); p. 1608–1615.

COGLIANO, V. et al. Resumen de las monografías de IARC en el formaldehído, 2-Butoxyethanol, y 1-tert-Butoxy-2-Propanol. Vol. 113 (2005); p. 1205 - 1208.

COLEMAN, Raymond. Reducing the levels of formaldehyde exposure in gross anatomy laboratories. *Anat Rec.* Vol. 243 (1995); p. 531-533.

COLLINS, J. and ACQUAVELLA, J. An updated meta-analysis of formaldehyde : Exposure upper Respiratory Tract Cancer. *J Occup Environ Med.* Vol. 37 (1997); p. 639-651.

COLLINS, J. et al. Meta-analysis of formaldehyde exposure and pancreatic cancer, *Am. J. Ind. Med.* Vol. 39 (2001); p. 336–345.

Committee on Biological Markers of the National Research Council. Biological markers in environmental health research. *Environ. Health Persped.* Vol. 74 (1987); p. 3-9.

Complucad International S.A, 1997.

COUNTRYMAN, PI and HEDDLE, JA. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat Res.* Vol. 41 (1976); p. 321-332.

CROTT, J.W. et al. MTHFR C677T polymorphism does not alter folic acid deficiency-induced uracil incorporation into primary lymphocyte DNA in vitro. (Accelerated Paper). *Carcinogenesis.* Vol. 22 (2001); p. 1019–1025.

DALLAS CE. et al. Cytogenetic analysis of pulmonary lavage and bone marrow cells of rats after repeated formaldehyde inhalation. *J Appl Toxicol.* Vol. 12 (1992); p.199–203.

DOBIAS, L. et al. Genotoxication of formaldehyde in exposed children. *Mutat Res.* (1989); p. 216, 310.

EMRI, G. et al. Low concentrations of formaldehyde induce DNA damage and delay DNA repair after UV irradiation in human skin cells. *Exp. Dermatol.* Vol. 13 (2004); p. 305-315.

EVANS, HJ. Chromosomal mutations in human populations. *Cytogenetic Cell Genetic.* Vol. 33 (1982); p. 48-56.



FENECH, M. et al. Cytokinesis-block micronucleus assay in WIL2-NS cells: a sensitive system to detect chromosomal damage induced by reactive oxygen species and activated human neutrophils. *Mutagenesis*. Vol. 15 (2000); p. 261–269.

FENECH, M. et al. Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res*. Vol. 147 (1985); p. 29-36.

----- . The cytokinesis-block micronucleus technique : A detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Mutat Res*. Vol. 285 (1993); p. 35-44.

----- . The Human Micronucleus Project : An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat Res*. Vol. 428 (1999); p. 271-283.

----- . The Human Micronucleus Project. HUMN Project : Detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat Res*. Vol. 534 (2003); p. 65-75.

----- . The in vitro micronucleus technique. *Mutat Res*. Vol. 455 (2000); p. 81-95.

FISHER, A. Contact Dermatitis. Philadelphia: Lea and Febiger, 1986.

FLEIG, I. et al. Cytogenetic analyses of blood lymphocytes of workers exposed to formaldehyde manufacturing and processing. *J. Occupat. Med*. Vol. 24 (1982); p. 1009-1012.

GARDNER, M.J. et al. Cohort study of workers exposed to formaldehyde in the British chemical industry: an update, *Br. J. Ind. Med*. Vol. 50 (1993); p. 827–834.

GODISH, T. Residential formaldehyde: increased exposure levels aggravate adverse health effects. *J. Environ. Health*. Vol. 3 (1990); p. 34–37.

GOLDBERG, Jonathan. et al. Repair protein harbours to the damaged DNA. Nature (2001).

GOTTSCHILLING, L.M; BEAULIEU, H.J and MELVIN, W.W. Monitoring of formic acid in urine of humans exposed to low levels of formaldehyde. Am. Ind. Hyg. Assoc. J. Vol. 45 (1984); p. 19-23.

GRIFFITH, J; DUNCAN, R. and HULKA, B. Biochemical and biological markers : implications for epidemiologic studies. Arch. Environ. Health. Vol. 44 (1989); p. 375-381.

Grupo Sectorial FormaCare. Toxicología del Formaldehído. Europa ©Junio 2004.

GUEVARA, H y ROJAS, M. Exposición ocupacional a solventes orgánicos en una fabrica de pinturas en Venezuela. Salud de los trabajadores. Vol. 6 (1997); p. 41-49.

HAGMAR, L. et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). Cancer Res. Vol. 58 (1998); p. 4117–4121.

----- . Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosome aberrations in lymphocytes: Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosome Damage. Cancer Res. Vol. 54 (1994); p. 2919–2922.

HANSEN, J and OLSEN, J. Formaldehyde and cancer morbidity among male employees in Denmark. Cancer Causes Control. Vol. 6 (1995); p. 354-360.

HARDMANN, J y LIMBORAL, L. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Mc Graw Hill Interamericana. 9 ed. Capítulo 67. (1996); p. 1781-1791.

HARMAS. et al. Polymorphisms in DNA Repair Genes, Chromosome Aberrations, and Lung Cancer. Environ Mol Mutagen. (2004); p. 44: 74.

HAUPTMANN, M. et al. Mortality from solid cancers among workers in formaldehyde industries, *Am. J. Epidemiol.* Vol. 159 (2004); p. 1117–1130.

HAYES, R. B. et al. Mortality of U. S. embalmers and funeral directors. *Am. J. Ind. Med.* Vol. 18 (1990); p. 641-652.

------. Cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses and formaldehyde exposure. *Int. J. Cancer.* Vol. 37 (1986); p. 487-492.

HE JL; JIN LF and JIN HY. Detection of cytogenetic effects in peripheral lymphocytes of students exposed to formaldehyde with cytokinesis-blocked micronucleus assay. *Biomed. Environ. Sci.* Vol. 11 (1998); p. 87-92.

HECK H, et al. Formaldehyde (CH<sub>2</sub>O) concentrations in the blood of humans and Fischer-344 rats exposed to CH<sub>2</sub>O under controlled conditions. *Am Ind Hyg Assoc J.* Vol. 46 (1985); p. 1–3.

------. Pharmacodynamics of formaldehyde: applications of a model for the arrest of DNA replication by DNA-protein cross-links. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* Vol. 160 (1999); p. 86–100.

------. Formaldehyde toxicity—new understanding. *Crit. Rev. Toxicol.* Vol. 20 (1990); p. 397–426.

------. Toxicology of formaldehyde. *ISI Atlas Sci. Pharmacol.* Vol. 2 (1988); p. 5–9.

------. The implausibility of leukaemia induction by formaldehyde: a critical review of the biological evidence on distant-site toxicity, *Regul. Toxicol. Pharmacol.* Vol. 40 (2004); p. 92–106.

HENDRICK, D.J. et al. Formaldehyde asthma : challenge exposure levels and fate after five years. *J. Occup. Med.* Vol. 24 (1982); p. 893–897.

HERAS COBO, Carlos. Formaldehyde : Its control in anatomy and pathological anatomy laboratories. *Conf. Nal. de Med., Hig. y Seg. en el Trabajo FONM, Zaragoza.* (1988); p. 75-82.

HERAUSGEGEBEN, VON A. et al. Assessment of the Carcinogenicity of Formaldehyde. BfR-Wissenschaft. (2006); p. 23-104.

HILDESHEIM, A. et al. Occupational exposure to wood, formaldehyde, and solvents and risk of nasopharyngeal carcinoma, Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev. Vol. 10 (2001); p. 1145–1153.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert-Butoxy-2-propanol. IARC. World Health Organization International Agency for Research on Cancer, Lyon Vol. 88 (2004).

----- . Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert- Butoxypropan-2-ol. Lyon: IARC Press Vol. 86. (2005); p. 2-9.

----- . Formaldehyde, 2-Butoxyethanol and 1-tert- Butoxypropan-2-ol. Lyon: IARC Press Vol. 86. (2006).

----- . Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Wood dust and formaldehyde. Lyon (France): IARC. Vol. 62 (1995); p. 217–362.

JENSEN, OC and BACH, B. Formaldehyde in textiles as a possible cause of arthritis and angioedema. Ugeskr Laeger. Vol. 154 (1992); p. 141-142.

JIN, F and ZHU, R. Cytogenetic effects of formaldehyde on the peripheral blood lymphocytes among industrial workers. Chinese Journal of industrial hygiene and occupational disease. Vol.10 (1992); p. 277-281.

KANE, LE and ALARIE, Y. Sensory irritation to formaldehyde and acrolein during single and repeated exposures in mice. Am Ind Hyg Assoc J. Vol. 38 (1977); p. 509–522.

KELLER, D.A. et al. Histochemical localization of formaldehyde dehydrogenase in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. Vol. 106 (1990); p. 311 –326.

KERNS, W. et al. Carcinogenicity of formaldehyde in rats and mice after long-term inhalation exposure. *Cancer Res.* Vol. 43 (1983); p. 4382–4392.

KILBURN, K H. Neurobehavioral impairment at seizures from formaldehyde *Arch Environ Health.* Vol. 46 (1994); p. 37-44.

KIMURA, M. et al. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T polymorphism, folic acid and riboflavin are important determinants of genome stability in cultured human lymphocytes. *J. Nutr.* Vol. 134 (2004); p. 48–56.

KIRSCH-VOLDERS, M and FENECH, M. Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes. *Mutagenesis.* Vol. 16 (2001); p. 51-58.

KITAEVA, L. et al. Genotoxic event of formaldehyde in somatic human cells in vivo. *Genetic (in Russian).* Vol. 32 (1996); p. 1287–1290.

KOPPEL, C and FAHRON, G. Toxicological and neuropsychological findings in patients presenting to an environmental toxicology service. *Clinical Toxicology.* Vol. 33 (1995); p. 625-629.

KRAKOWIAK, A. et al. Airway response to formaldehyde inhalation in asthmatic subjects with suspected respiratory formaldehyde sensitisation. *Am. J. Ind. Med.* Vol. 33 (1998); p. 274–281.

KRIEBEL D, SAMA SR, y COCANOUR B. Reversible pulmonary responses to formaldehyde: A study of clinical anatomy students. *Am Rev Respir Dis* Vol. 148 (1993); p. 1509 - 1515.

KULLE, T.J. et al. Formaldehyde dose-response in healthy nonsmokers. *J. Air Pollut. Control Assoc.* Vol. 37 (1987); p. 919–924.

LADRON DE GUEVARA, J y MOYA, P. Toxicología médica clínica y laboral. Capítulo 60 y 80. Editorial Interamericana McGraw-Hill. España. (1995); p. 433-437, 695- 698, 710.

LARS HAGMAR, et al. Impact Of Types Of Lymphocyte Chromosomal Aberrations On Human Cancer Risk: Results From Nordic And Italian Cohorts Cancer Research. Vol. 64 (2004); p. 2258–2263.

LIOU, SH et al. Increased chromosome type chromosome aberration frequencies as biomarkers of cancer risk in a black foot endemic area. Cancer Res. Vol. 59 (1999); p. 1481–1484.

LITEPLO, R. and MEEK, M.E. Inhaled formaldehyde: exposure estimation, hazard characterization, and exposure–response analysis. J. Toxicol. Environ. Health B Crit. Rev. Vol. 6 (2003); p. 85–114.

LOHMANN, K et al. Multiple chemical sensitivity disorder in patients with neurotoxic illnesses. Gesundheitswesen. Vol. 58 (1996); p. 322-331.

LUCE, D. et al. Sinonasal cancer and occupational exposures: a pooled analysis of 12 case-control studies, Cancer Causes Control. Vol.13 (2002); p. 147–157.

LUTZ, WK. Endogenous genotoxic agents and processes as a basis of spontaneous carcinogenesis. Mutat. Res. Vol. 238 (1990); p. 287-95.

MACGREGOR, J. Dietary factors affecting spontaneous chromosomal damage in man. Prog. Clin. Biol. Res. Vol. 347 (1990); p. 139–153.

MARSH, GM. et al. Mortality among chemical workers in factory where formaldehyde was used. J Occup Environ Med. Vol. 53, (1996); p. 613-627.

MATEUCA, N. et al Chromosomal Changes: Induction, Detection Methods And Applicability In Human Biomonitoring Laboratorium voor Cellulaire Genetica, Vrije Universiteit Brussel (VUB), Pleinlaan 2, B-1050 Brussels. Vol. 88 (2006); p.1515–1531.

MCLAUGHLIN, JK. Formaldehyde and cancer : A critical review. Int Arch Occup Environ Health. Vol. 66 (1994); p. 295- 330.

MERK, G. and SPEIT. Significance of formaldehyde-induced DNA–protein crosslinks for mutagenesis, *Environ. Molec. Mutagen.* Vol. 32 (1998); p. 260–268.  
MIGLIORE, L. et al Micronuclei and nuclear anomalies induced in the gastrointestinal epithelium of rats treated with formaldehyde. *Mutagenesis.* Vol. 4 (1989); p. 327–334.

MIRETSKAIA, LV and SHVARTSMAN, PIA. Chromosome damages in human lymphocytes as affected by formaldehyde. I. Formaldehyde treatment of lymphocytes in culture. *Tsitologiia.* Vol. 24 (1982); p. 1056-60.

MITELMAN, F. Recurrent chromosome aberrations in cancer. *Mutat Res* Vol. 462 (2000); p. 247–53.

MORET DE ARCIA, Olga. Contribución al estudio de los efectos tóxicos del formaldehído. Trabajo de Ascenso. Facultad de Medicina. Universidad de Los Andes. (1990).

NATIONAL RESEARCH COUNCIL. Formaldehyde and Other Aldehydes. Washington, DC: National Academy Press. (1981).

NATIONAL SAFETY COUNCIL. Formaldehyde chemical backgrounder. Environmental Health Center. (1997).

NORPPA, H. And FALCK, G.C. What do human micronuclei contain? *Mutagenesis.* Vol. 18 (2003); p. 221–233.

OLSON, J. H. And ASNAES, S. Formaldehyde and the risk of squamous cell carcinoma of the sinonasal cavities. *Br. J. Ind. Med.* Vol. 43 (1986); p.769-774.

ORSIERE, T. et al. Genotoxic risk assessment of pathology and anatomy laboratory workers exposed to formaldehyde by use of personal air sampling and analysis of DNA damage in peripheral lymphocytes. *Mutat. Res.* Vol. 605 (2006); p. 30–41.

PABST, R. Exposure to formaldehyde in Anatomy: an Occupational Health Hazard?. Vol. 219 (1987); p.109 - 112.

PARTANEN. Formaldehyde exposure and respiratory cancer—a meta-analysis of the epidemiologic evidence, *Scand. J. Work Environ. Health* Vol. 19 (1993); p. 8–15

PATIÑO, A; SIERRASESÚMAGA, L and ZALACAIN, M. The cytogenetic assay as a measure of genetic instability induced by genotoxic agents. Pamplona. Universidad de Navarra. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra*. Vol. 28. No.2 (may – august 2005); p. 227–233.

RAJAGOPALAN, H et al. Inactivation of hCDC4 can cause chromosomal instability. *Nature*. Vol. 428 (2004); p. 77–81.

RANDA, A. Cytokinesis-Blocked Micronucleus Assay As A Novel Biomarker For Lung Cancer Risk Department of Epidemiology, The University of Texas M.D. Anderson Cancer Center, Houston, Texas *Cancer Res*. Vol. 66 (15 June 2006).

REPORT OF THE FEDERAL PANEL ON FORMALDEHYDE\* *Environmental Health Perspectives* Vol. 43 (1982); p. 139-168.

ROJAS, E et al. Mitotic index and cell proliferation kinetics for the identification of antineoplastic activity. En: *anti-cancer Drugs*. Vol. 4. (1993); p. 637-640.

ROSEN, G et al. Reduction of exposure to solvents and formaldehyde in surfacecoating operations in the woodworking industry. *Ann Occup Hyg*. Vol. 34 (1990); p. 293-303.

ROSSNER P. et al. Chromosomal aberrations in lymphocytes of healthy subjects and risk of cancer. *Environ Health Perspect*. Vol. 113 (2005); p. 517–20.

ROUSH, C. et al Nasopharyngeal cancer, sinonasal cancer and occupations related to formaldehyde: a case-control study. *J. Natl. Cancer Inst.*, Vol. 79 (1987); p. 1221-1225.

RUSSO DE MÉNDEZ, Teresa. Efectos tóxicos crónicos del formaldehído. Mérida. Venezuela. *Revista de la Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes*. Vol. 9 No. 1-4 (2003).



SARI-MINODIER I. et al Le test des micronoyaux dans l'évaluation du risque mutagène: étude auprès de 10 salariés au formaldéhyde. Arch. Mal. Prof. Vol. 62 (2001); p. 75-82.

SAUDER, LR. et al Acute pulmonary response to formaldehyde exposure in healthy nonsmokers. J. Occup. Med. Vol. 28 (1986); p. 420–424.

----- GREEN DJ; CHATHAM MD and KULLE TJ. Acute pulmonary response of asthmatics to 3.0 ppm formaldehyde. Toxicol. Ind. Health. Vol. 3 (1987); p. 569-578.

SCHACHTER, L. et al. Occup Med. Vol. 28. No. 41 (1986); p. 229-239.

----- TOSUN, T. and BECK, G. A Study of Respiratory Effects from Exposure to 2. ppm. Formaldehyde in Healthy Subjects. Arch Environ Hith. Vol. 41 (1986); p. 229-239.

SCHMID, O. and SPEIT, G. Genotoxic effects induced by formaldehyde in human blood and implications for the interpretation of biomonitoring studies. Mutagenesis. Vol. 22 No. 1 (2007); p. 69–74.

SCHULTE, P.A Conceptual Frame Work for the Validation and Use of Biologic Markers. Environ. Res. Vol. 48 (1989); p. 129-144.

SHAHAM, J. et al. DNA-protein crosslinks and p53 protein expression in relation to occupational exposure to formaldehyde. Occup Environ. Med. Vol. 60 (2003); p. 403–409

----- GURVICH, R. and KAUFMAN, Z. Sister chromatid exchange in pathology staff occupationally exposed to formaldehyde. Mutat. Res. Vol. 514 (2002); p. 115–123.

SHIRLEY TENG, A. et al. The Formaldehyde Metabolic Detoxification Enzyme Systems And Molecular Cytotoxic Mechanism In Isolated Rat Hepatocytes. Chemico-Biological Interactions. (2001); p. 130–132, 285–296.

SMEDDEY, J. Is formaldehyde an important cause of allergy respiratory disease. Clin Exp Allergy. Vol. 26 (1996); p. 247-249.

SPEIT, G. and MERK, O. Evaluation of mutagenic effects of formaldehyde in vitro: detection of crosslinks and mutations in mouse lymphoma cells. Mutagenesis Vol. 17 ( 2002); p. 183–187.

----- . Assessment of local genotoxic effects of formaldehyde in humans measured by the micronucleus test with exfoliated buccal mucosa cells. Mutat Res Vol. 627 (2007); p. 129–135.

----- . Local Genotoxic Effects of Formaldehyde In Humans Measured By The Micronucleus Test With Exfoliated Epithelial Cells, Germany. Vol. 613 (April 2006); p. 1–9.

----- . Induction and repair of formaldehyde-induced DNA-protein crosslinks in repair deficient human cell lines. Mutagenesis. Vol. 15 (2000); p.85–90.

STAYNER, L. et al. Retrospective cohort mortality study of workers exposed to formaldehyde in the garment industry. Am. J. Ind. Med. Vol. 13 (1988); p.667-681.

STONE, R.A. et al. Historical cohort study of US manmade vitreous fiber production workers. IV. Quantitative exposure–response analysis of the nested case-control study of respiratory system cancer, J. Occup. Environ. Med. Vol. 43 (2001); p. 779–792.

STROUP, N et al. Brain cancer and other causes of death in anatomists. J Nat Cancer Ins. Vol. 77 (1986); p. 1217-1724.

SURUDA, A. et al. Cytogenetic events of formaldehyde exposure in students of mortuary science. Cancer Epidemiol. Biomarkers Prevent. Vol. 2 (1993); p. 453–460.

SWENBERG, J.A et al. Induction of squamous cell carcinomas of the rat nasal cavity by inhalation exposure to formaldehyde vapor. Cancer Res. Vol. 40 (1980); p. 3398 – 3402.

THOMSON, EJ; SHACKLETON S and HARRINGTON JM. Chromosome aberrations and sister-chromatid exchange frequencies in pathology staff occupationally exposed to formaldehyde. *Mutat Res.* Vol. 141 (1984); p. 89-93.

ULLMANN'S. *Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Editorial Advisory. Germany. Vol. A5, A11 (1986); p. 264-266, 619, 651.

VAN GEMERT, L.J. *Compilations of odour threshold values in air and water*. Leongwell & Associates; [www.leongwell.com/bacis2.htm](http://www.leongwell.com/bacis2.htm). (2003).

VASUDEVA, N. and ANAND C. Cytogenetic evaluation of medical students exposed to formaldehyde vapor in the gross anatomy dissection laboratory. *J. Am. Coll. Health.* Vol. 44 (1996); p. 177-179.

VAUGHAN, T. et al. Formaldehyde and cancers of the pharynx, sinus, and nasal cavity. *Occupational exposures. Int. J. Cancer.* Vol. 38 (1986); p. 677-683.

WALRATH, J. and FRAUMENI, J.F. Cancer and other causes of death among embalmers, *Cancer Res.* Vol. 44 (1984); p. 4638-4641.

WANTKE, F et al. Formaldehyde and phenol exposure during an anatomy dissection. *Allergy.* Vol. 51 (1996); p. 837-841.

WEBER-TSCHOPP, A; FISCHER, T and GRANDJEAN, E., Irritating effects of formaldehyde on men. *Int. Arch. Occup. Environ Health.* Vol. 39 (1977); p. 207-218.

WITEK, T. et al. An evaluation of respiratory effects following exposure to 2.0 ppm formaldehyde in asthmatics: lung function, symptoms, and airway reactivity. *Arch. Env. Health.* Vol. 42 (1987); p.230-237.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Concise international chemical assessment document; 40. Formaldehyde. *Library Cataloguing-in-Publication Data* (2002); p. 71 – 72.

WRITE, R and PROCTOR, S. Solvents and neurotoxicity. *the lancet*. Vol. 346 (1997); p. 1239-1243.

YAGER, J.W. et al. Sister-chromatid exchanges in lymphocytes of anatomy students exposed to formaldehyde-embalming solution. *Mutat. Res.* Vol. 174 (1986); p.135–139.

YING, C.J. et al. Micronuclei in nasal mucosa, oral mucosa and lymphocytes in students exposed to formaldehyde vapour in anatomy class. *Biomed. Environ. Sci.* Vol.10 (1997); p. 451-455.

YUNIS, J.J. The chromosomal basis of human neoplasia. *Science* Vol. 221 (1983); p.227–36.

## ANEXOS

### ANEXO A

#### Estudio Sobre el “Efecto Citotóxico y Genotóxico por Exposición Ocupacional al Formaldehído Evaluado *In Vitro* Mediante Las Pruebas de Índice Mitótico, Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos”

La información que usted suministra en esta encuesta es absolutamente confidencial

Esta usted interesado en participar en este estudio: SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

NOMBRE: \_\_\_\_\_

DIRECCION: \_\_\_\_\_ TELEFONO: \_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_ SEXO: F \_\_\_\_ M \_\_\_\_ OCUPACION: \_\_\_\_\_

Esta usted expuesto al formaldehído SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Fuma cigarrillo: SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Ha tenido enfermedades infecciosas como hepatitis: SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Actualmente recibe tratamientos con medicamentos por largo periodo de tiempo:  
SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Consumen drogas psicoactivas (bazuco, morfina, heroína, etc.) SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Ha sido irradiado: SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_ Cuando: \_\_\_\_\_

En su familia han ocurrido casos de malformaciones? SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_  
Como cuales? \_\_\_\_\_

Ha sido hospitalizado? SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_ Hace cuanto \_\_\_\_\_  
Debido a que? \_\_\_\_\_

Otros problemas de salud: \_\_\_\_\_

Tiene exposición a otros químicos. SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_ Cuales? \_\_\_\_\_

AGRADECEMOS SU VALIOSA COLABORACION

**ANEXO B**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA  
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA  
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENETICA**

Código

|  |  |  |
|--|--|--|
|  |  |  |
|--|--|--|

Fecha \_\_\_\_\_

NOMBRE: \_\_\_\_\_

DIRECCION: \_\_\_\_\_ TELEFONO: \_\_\_\_\_

EDAD: \_\_\_\_ SEXO: F \_\_\_\_ M \_\_\_\_ OCUPACION: \_\_\_\_\_

Numero de años que lleva expuesto al formaldehído: \_\_\_\_\_

Numero de horas promedio de exposición semanal: \_\_\_\_\_

Estando usted expuesto al formaldehído, cree que el sitio de trabajo presenta:

Una adecuada ventilación: SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Cámara de extracción: SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

---

---

Ha tenido algún accidente de tipo laboral, al estar expuesto al formaldehído?

SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

---

---

Utiliza adecuadamente los implementos de protección y las medidas preventivas?

SI \_\_\_\_ NO \_\_\_\_

Porque? \_\_\_\_\_

Desde que usted esta en contacto con el formaldehído, ha presentado algunos de estos síntomas:

• RESPIRATORIAS:

| SINTOMAS                                  | SI | NO | OBSERVACIONES |
|---|----|----|---------------|
| Prurito nasal                             |    |    |               |
| Obstrucción nasal                         |    |    |               |
| Hemorragia nasal (Epistaxis)              |    |    |               |
| Disminución de la sensibilidad            |    |    |               |
| Tos seca                                  |    |    |               |
| Ardor de garganta                         |    |    |               |
| Dolor o dificultad para respirar (Disnea) |    |    |               |
| Asma                                      |    |    |               |
| Hiposmia                                  |    |    |               |

• DERMATOLÓGICAS:

| SINTOMAS                       | SI | NO | OBSERVACIONES |
|--------------------------------|----|----|---------------|
| Urticaria                      |    |    |               |
| Prurito                        |    |    |               |
| Ampollas                       |    |    |               |
| Dermatitis                     |    |    |               |
| Deformación de uñas (Onicosis) |    |    |               |
| Resequedad de la piel          |    |    |               |
| Engrosamiento de la piel       |    |    |               |

• OCULARES:

| SINTOMAS          | SI | NO | OBSERVACIONES |
|-------------------|----|----|---------------|
| Lagrimeo          |    |    |               |
| Irritación ocular |    |    |               |
| Conjuntivitis     |    |    |               |
| Leucoma           |    |    |               |

• NEUROLÓGICAS:

| SINTOMAS                  | SI | NO | OBSERVACIONES |
|---------------------------|----|----|---------------|
| Dolor de cabeza           |    |    |               |
| Fatiga                    |    |    |               |
| Somnolencia               |    |    |               |
| Mareo                     |    |    |               |
| Disminución de la memoria |    |    |               |

## ANEXO C

### CONSENTIMIENTO INFORMADO MONITOREO BIOLÓGICO EN PERSONAS EXPUESTAS AL FORMALDEHIDO

YO \_\_\_\_\_, mayor de edad. He sido informado por las estudiantes del grupo de TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGÉNÉTICA de la Universidad del Cauca, quienes realizarán el estudio **“EFECTO CITOTOXICO Y GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN OCUPACIONAL AL FORMALDEHÍDO, EVALUADO *IN VITRO*, MEDIANTE LAS PRUEBAS DE INDICE MITOTICO, ALTERACIONES CROMOSÓMICAS Y MICRONUCLEOS”** en la ciudad de Popayán. Se me ha solicitado participar voluntariamente como sujeto de estudio.

#### **OBJETIVO, PROPÓSITO Y METODOLOGIA DEL ESTUDIO**

Identificar el efecto genotóxico y citotóxico inducido por la exposición ocupacional al formaldehído, empleando como Biomarcadores, las pruebas de Alteraciones Cromosómicas (AC) y Micronúcleos (MN) en linfocitos de sangre periférica.

Los resultados de este estudio son de gran utilidad para motivar y desarrollar estrategias para prevenir el desarrollo de problemas de salud que están asociados a la exposición a vapores y/o soluciones de formaldehído, en personas que laboran en Anfiteatros de Anatomía Humana y encargadas del procesamiento de muestras patológicas, ya que este representa un factor de riesgo laboral, cuyos efectos tóxicos dependen de su concentración (expresada en ppm) y del tiempo de exposición al mismo.

En este estudio serán seleccionadas 25 personas expuestas al formaldehído y 25 personas no expuestas, pero que presentan características similares, como edad, estilo de vida, entre otras. El propósito de esta investigación tiene relevancia Social y Científica y obedece a una problemática de salud pública. El participar en este estudio supone un mínimo riesgo, especialmente contra la salud.



Los resultados del estudio serán informados y explicados de manera personal y confidencial al grupo objeto de estudio en forma anónima, por parte de las estudiantes.

**REQUERIMIENTOS.** Yo, en pleno uso de mis facultades mentales, libre y consiente, estoy de acuerdo en participar en este estudio y entiendo que éste requiere de mí, lo siguiente: contestar un cuestionario de aproximadamente 10 minutos, para suministrar información personal, referente a mi edad, estado de salud, estilo de vida, historia ocupacional y familiar. Si soy seleccionado para el estudio debo donar de 2 a 4mL de sangre periférica a las personas encargadas de la investigación. La sangre se tomará de mi brazo, para ser procesada en el laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca, mediante las pruebas de Índice Mitótico, Alteraciones Cromosómicas y Micronúcleos.

**RIESGO DE PARTICIPACIÓN:** Los riesgos de la participación en el estudio son: el sangrado e infección en el sitio de la toma de la muestra, los cuales serán controlados por un profesional experto en la toma de muestras de sangre, y el empleo de técnicas médicamente aceptadas y jeringas estériles nuevas.

Para garantizar la confiabilidad de la información suministrada, los resultados de las pruebas serán codificados y se dará a conocer en **“FORMA GRUPAL, MÁS NO INDIVIDUAL”**.

**BENEFICIOS PARA EL PARTICIPANTE:** Motivación hacia el cambio de actitud para la prevención de problemas de salud, y la concientización sobre el manejo adecuado de implementos y medidas de protección.

**SIENDO INFORMADO SOBRE LOS OBJETIVOS, PROPÓSITOS, JUSTIFICACIÓN, METODOLOGÍA, RIESGOS Y BENEFICIOS DEL ESTUDIO:**

#### **YO ENTIENDO QUE**

Mi participación es completamente voluntaria y puedo rehusarme a responder cualquier pregunta, si así lo deseo, o puedo tomar la decisión de finalizar mi participación en este monitoreo, en cualquier momento, sin que ello represente perjuicios de índole legal con mi trabajo. La información recolectada, será tratada de manera confidencial y mis respuestas serán reunidas con las de los otros participantes, para obtener resultados grupales.

La Universidad del Cauca se compromete a vigilar que las muestras de sangre serán reunidas por un profesional experto y autorizado, en forma aséptica para evitar complicaciones, además, se garantiza que las muestras serán utilizadas única y exclusivamente para este estudio.

Puedo formular cualquier interrogante o duda que tenga, durante o después del estudio, a las estudiantes de la Universidad del Cauca, responsables del estudio, en el Laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética, en la carrera 2° No 1 A 25, Barrio Caldas, Popayán. En el teléfono: 8209800 Ext. 2614.

Los procedimientos alternativos principales, incluyendo procedimientos experimentales en este estudio, me han sido explicados en un lenguaje claro que yo he podido entender. Los riesgos y molestias que puedan presentarse, me han sido explicados claramente. Los resultados de este estudio podrán ser divulgados y/o publicados en revistas científicas, en forma grupal, sin que se de a conocer nombres.

He leído este consentimiento, he entendido en que consiste el estudio y también me fueron aclaradas las dudas al respecto; en consecuencia, voluntariamente acepto participar como sujeto de estudio en el monitoreo biológico **“EFECTO CITOTÓXICO Y GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN OCUPACIONAL AL FORMALDEHÍDO, EVALUADO IN VITRO, MEDIANTE LAS PRUEBAS DE INDICE MIOTICO, ALTERACIONES CROMOSÓMICAS Y MICRONUCLEOS”**.

---

Nombre del participante

---

Firma del Participante

---

Nombre del testigo

---

Firma del testigo

Firmado en la Ciudad de Popayán a los \_\_\_\_ días del mes de \_\_\_\_\_ de 200\_\_

## ANEXO D

### REGISTRO ALTERACIONES CROMOSOMICAS

Proyecto: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_ Cod. Placa: \_\_\_\_\_  
 Registrador: \_\_\_\_\_ Fecha registro: \_\_\_\_\_ Microscopio: \_\_\_\_\_

| # Cel | # Cr | Aberraciones Cromosómicas |        |      |      | # Cel | #Cr | Aberraciones cromosómicas |        |      |      |
|-------|------|---------------------------|--------|------|------|-------|-----|---------------------------|--------|------|------|
|       |      | Cromat                    | Cromos | GAP  |      |       |     | Cromat                    | Cromos | GAP  |      |
|       |      |                           |        | Crot | Cros |       |     |                           |        | Crot | Cros |
| 1     |      |                           |        |      |      | 51    |     |                           |        |      |      |
| 2     |      |                           |        |      |      | 52    |     |                           |        |      |      |
| 3     |      |                           |        |      |      | 53    |     |                           |        |      |      |
| 4     |      |                           |        |      |      | 54    |     |                           |        |      |      |
| 5     |      |                           |        |      |      | 55    |     |                           |        |      |      |
| 6     |      |                           |        |      |      | 56    |     |                           |        |      |      |
| 7     |      |                           |        |      |      | 57    |     |                           |        |      |      |
| 8     |      |                           |        |      |      | 58    |     |                           |        |      |      |
| 9     |      |                           |        |      |      | 59    |     |                           |        |      |      |
| 10    |      |                           |        |      |      | 60    |     |                           |        |      |      |
| 11    |      |                           |        |      |      | 61    |     |                           |        |      |      |
| 12    |      |                           |        |      |      | 62    |     |                           |        |      |      |
| 13    |      |                           |        |      |      | 63    |     |                           |        |      |      |
| 14    |      |                           |        |      |      | 64    |     |                           |        |      |      |
| 15    |      |                           |        |      |      | 65    |     |                           |        |      |      |
| 16    |      |                           |        |      |      | 66    |     |                           |        |      |      |
| 17    |      |                           |        |      |      | 67    |     |                           |        |      |      |
| 18    |      |                           |        |      |      | 68    |     |                           |        |      |      |
| 19    |      |                           |        |      |      | 69    |     |                           |        |      |      |
| 20    |      |                           |        |      |      | 70    |     |                           |        |      |      |
| 21    |      |                           |        |      |      | 71    |     |                           |        |      |      |
| 22    |      |                           |        |      |      | 72    |     |                           |        |      |      |
| 23    |      |                           |        |      |      | 73    |     |                           |        |      |      |
| 24    |      |                           |        |      |      | 74    |     |                           |        |      |      |
| 25    |      |                           |        |      |      | 75    |     |                           |        |      |      |
| 26    |      |                           |        |      |      | 76    |     |                           |        |      |      |
| 27    |      |                           |        |      |      | 77    |     |                           |        |      |      |
| 28    |      |                           |        |      |      | 78    |     |                           |        |      |      |
| 29    |      |                           |        |      |      | 79    |     |                           |        |      |      |
| 30    |      |                           |        |      |      | 80    |     |                           |        |      |      |
| 31    |      |                           |        |      |      | 81    |     |                           |        |      |      |
| 32    |      |                           |        |      |      | 82    |     |                           |        |      |      |
| 33    |      |                           |        |      |      | 83    |     |                           |        |      |      |
| 34    |      |                           |        |      |      | 84    |     |                           |        |      |      |
| 35    |      |                           |        |      |      | 85    |     |                           |        |      |      |
| 36    |      |                           |        |      |      | 86    |     |                           |        |      |      |
| 37    |      |                           |        |      |      | 87    |     |                           |        |      |      |
| 38    |      |                           |        |      |      | 88    |     |                           |        |      |      |
| 39    |      |                           |        |      |      | 89    |     |                           |        |      |      |
| 40    |      |                           |        |      |      | 90    |     |                           |        |      |      |
| 41    |      |                           |        |      |      | 91    |     |                           |        |      |      |
| 42    |      |                           |        |      |      | 92    |     |                           |        |      |      |
| 43    |      |                           |        |      |      | 93    |     |                           |        |      |      |
| 44    |      |                           |        |      |      | 94    |     |                           |        |      |      |
| 45    |      |                           |        |      |      | 95    |     |                           |        |      |      |
| 46    |      |                           |        |      |      | 96    |     |                           |        |      |      |
| 47    |      |                           |        |      |      | 97    |     |                           |        |      |      |
| 48    |      |                           |        |      |      | 98    |     |                           |        |      |      |
| 49    |      |                           |        |      |      | 99    |     |                           |        |      |      |
| 50    |      |                           |        |      |      | 100   |     |                           |        |      |      |
| Total |      |                           |        |      |      |       |     |                           |        |      |      |

