1-HIDROXIPIRENO URINARIO, PARÁMETROS HEMATOLÓGICOS Y ENZIMAS HEPÁTICAS EN PERSONAS EXPUESTAS A ALTO TRÁFICO VEHICULAR

Gabriela Romero [1,2] Aura Palencia [1,3] Maritza Vargas [1] Daniela Gutiérrez [4] Ana Montoya [4].
1.Unidad de Investigación en Toxicología Molecular. Escuela de Bioanálisis, Sede Carabobo. Universidad de Carabobo, Campus Bárbula. 2.Departamento de Ciencias Básicas. Escuela de Bioanálisis Sede Carabobo (UC). 3.Departamento de Investigación y Desarrollo Profesional. Escuela de Bioanálisis Sede Carabobo(UC). 4. Escuela de Bioanálisis Sede Carabobo. Universidad de Carabobo
Recibido para publicación el 20 noviembre 2013. Aprobado para publicación el 15 diciembre 2013

RESUMEN:
La exposición a altas densidades vehiculares puede afectar de manera importante la salud del individuo alterando parámetros bioquímicos y hematológicos. Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos se encuentran en estas emisiones y sus niveles biológicos son medidos a través del biomarcador 1-Hidroxipireno (1-OHP). Para evaluar la exposición a estos compuestos se realizó un estudio transversal, en 18 trabajadores del turno diurno de estaciones de servicio del Edo. Carabobo (GE), y un grupo control conformado por 8 voluntarios trabajadores de una institución de educación superior (GC). El 1-OHP se determinó por Cromatografía líquida de alta eficiencia con detector de fluorescencia (HPLC-FD), además se midieron parámetros hematológicos y enzimas hepáticas. Los primeros no mostraron variaciones fuera de los valores de referencia ni diferencias entre los grupos. Las transaminasas mostraron incremento en los valores promedio de GE en relación a GC (transaminasa glutámico oxalacética (TGO) 30,28 y 22,1 UI.L^{-1} respectivamente; p= 0,03; transaminasa glutámico pirúvica (TGP) 32,71 y 22,25 UI.L^{-1}; p= 0,073). El 1-OHP mostró concentraciones más altas en los individuos expuestos a alto tráfico vehicular en comparación con el grupo control (med= 0,052 y 0,015 µmol.mol^{-1} creatinina respectivamente; p=0,062), con diferencias entre fumadores y no fumadores de ambos grupos. Las variables estudiadas no sobrepasan los valores de referencia sin embargo se observan diferencias que sugieren un riesgo potencial para desarrollar enfermedades oncogénicas.

Palabras claves: 1-hidroxipireno; Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos; contaminantes ambientales, hepatotoxicidad, hematotoxicidad.

URINARY 1-HYDROXYPYRENE, BLOOD PARAMETERS AND HEPATICS ENZYMES IN HUMANS EXPOSED TO HIGH VEHICULAR TRAFFIC

SUMMARY
Exposure to high vehicular densities can significantly affect the health of individuals altering biochemical and hematological parameters. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons found in these emissions and their biological levels are measured through 1- Hydroxypyrene biomarker (1-OHP). To assess exposure to these compounds sectional study was performed on 18 dayshift workers of gas stations of Carabobo state (GE) and a control group of 8 volunteers, office workers in a higher education institution (GC). 1-OHP was determined by High performance liquid chromatography-fluorescense detector as well hematological and hepatics parameters were measured. This first showed no changes outside the reference values and differences between groups. Transaminase showed higher average values of GE relative to GC (glutamic pyruvic transaminase 32,72 and 22,25 UI.L^{-1} respectively, p = 0,039; glutamic oxalacetic transaminase 30,28 y 22,13 UI.L^{-1} respectively, p= 0,073). 1-OHP showed higher concentrations in individuals exposed to high traffic compared to the control group (med = 0,052 and 0,015 µmol.mol^{-1} creatinina, respectively, p=0.062), with differences between smokers and non-smokers of both groups. The variables studied did not exceed the reference values but differences suggest potential oncogenic risk for disease is observed.

Keywords: 1-hydroxypyrene; Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; environmental pollutants, hepatotoxicity, hematotoxicity.

Introducción

La contaminación ambiental se produce, en muchos casos, por la transmisión y difusión de humos o gases tóxicos a medios como el aire y el agua, tal es el caso de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs), grupo de derivados poliméricos del benceno, que provienen de la combustión incompleta de la materia orgánica, de fuentes naturales o antropogénicas (1,2), tales como vertidos de petróleo crudo o refinado, humo del tabaco, alimentos a la parrilla, ahumados, fritos y en las emisiones vehiculares (3,4).

La exposición prolongada a HAPs, previamente activados en el organismo, puede producir cáncer cutáneo (escroto y cara), broncogénico, de vejiga entre otros (5). En el sistema hematopoyético puede originar leucemia y linfoma, también se conoce que actúa como disruptor endocrino (6).

Solicitar copia a: Gabriela Romero. (e-mail: gvromero@uc.edu.ve)

La Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC), ha clasificado algunos HAPs como compuestos del Grupo 1, categoría usada cuando hay suficiente evidencia de carcinogenicidad en humanos (7). Recientemente la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado carcinógeno para seres humanos en el Grupo 1, a las emisiones de gases de escape de los motores diesel sobre la base de pruebas científicas suficientes que muestran que esa exposición está asociada con un mayor riesgo de cáncer de pulmón (8).

Por su ubicuidad en el medio ambiente toda persona puede estar expuesta a estas sustancias, en el hogar, al aire libre o en el lugar de trabajo, existiendo una mayor contaminación en las áreas urbanas o industriales en las que las emisiones vehiculares o de las fábricas contaminan el ambiente. Varias categorías de trabajadores como los policías, fiscales de tránsito, conductores de transporte público y trabajadores de estaciones de servicio, conforman un grupo laboral expuesto a estas emisiones (9).

Se ha propuesto la evaluación del riesgo a ésta exposición ambiental, a través del monitoreo biológico mediante diferentes biomarcadores, siendo el más utilizado 1-Hidroxipireno (1-OHP), metabolito hidroxilado del pireno, no cancerígeno, pero que se encuentra presente en las mezclas de HAPs (10).

Estudios en diferentes entornos laborales y ambientales han demostrado una relación significativa entre la concentración urinaria de 1-OHP y la exposición ocupacional y ambiental a la mezcla de HAPs, resaltando las diferencias de exposición en ciudades altamente pobladas y por tanto con gran densidad vehicular, como fuente principal de emisiones de HAPs (11-18).

Con casi 2 millones y medio de habitantes (1.435 hab/Km^2) (19), Valencia (Venezuela) es la capital de un estado industrial por excelencia cuya zona urbana se caracteriza por su gran actividad comercial y alta densidad vehicular con aproximadamente 500.000 automóviles particulares (20), factores que dan cabida al alto tráfico vehicular particular y colectivo en las estaciones de servicio, lo que motivó evaluar la exposición a HAPs del personal que labora en ese microambiente a través de la medición de 1-hidroxipireno urinario, parámetros hematológicos y hepáticos.

Materiales y Métodos

En el estudio, realizado durante el período abril-junio 2012, participaron 18 voluntarios (GE) de una población de 40 trabajadores del turno diurno, de estaciones de servicios de los municipios Puerto Cabello y San Diego del Estado Carabobo, quienes voluntariamente expresaron su interés de participar en el estudio a través de la firma de un formato de consentimiento informado y respondieron a un cuestionario para conocer variables tales como: edad, sexo, hábitos tabáquico y alimenticio, sector en el que labora, antiguedad en el puesto de trabajo, entre otros. Como grupo control (GC) se evaluaron 8 trabajadores de oficina de una institución de educación superior, no expuestos a alto tránsito vehicular en su zona de trabajo.

Al final de la jornada y de la semana laboral, se recolectaron muestras de sangre y de orina, que inmediatamente se trasladaron a la Unidad de Investigación en Toxicología Molecular (UTM), las muestras de orina fueron separadas en alícuotas y congeladas a 78°C hasta el momento del análisis y las muestras sanguíneas fueron procesadas en un equipo Mindray BC-2600. La determinación de la actividad enzimática (TGP y TGO) se realizó por Cinética-UV (Wiener Lab ®). La creatinina se determinó con el método de Jaffé modificado.

El procedimiento analítico utilizado para la determinación del 1-OHP fue el descrito y aceptado por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo de España (21), con modificaciones en la hidrólisis, y desarrollado en la UTM. Al momento del análisis las muestras fueron descongeladas hasta temperatura ambiente y centrifugadas, se tomó del sobrenadante de cada muestra 2 mL y se sometieron a hidrólisis enzimática con la enzima B-glucoronidas-arilsulfatasa tipo HP-2 2: de Helix pomatia, 104800 $U.mL^{-1}$(Sigma-Aldrich®), y en condiciones de pH 7,0 Buffer Acetato de sodio trihidratado, grado reactivo, durante 3 horas en un baño de agitación a 37°C.

Luego de la hidrólisis, el sobrenadante se sometió a extracción en fase sólida con cartuchos Enviro-clean C-18, 500 $mg.mL^{-1}$ (UCT® cat. EEC18153), con gradiente de solventes (agua ultrapura, acetonitrilo J.T. Baker® Grado HPLC). El extracto fue llevado a sequedad con rotavapor, retomado con 1mL de acetonitrilo y finalmente, inyectado en el Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiencia, con bomba binaria serie 200, acoplado a detector de fluorescencia serie 200 (Perkin Elmer®), con Columna Supelcosil® LC-PAH 5µm, 15cm. Según las condiciones que se describen: Temperatura: 20°C; Fase móvil: acetonitrilo - agua 70:30; Flujo 1 $ml.min^{-1}$; Muestra: 20 µl; Longitud de onda: excitación: 275 emisión 382nm.

A un pool de orina de personas no fumadoras, no expuestas se agregó patrón del analito (1-OH-pireno, 100mg, 98% de pureza, Aldrich®, CAS 5315-79-7) y se preparó una curva de calibración en el rango de interés para el estudio (5 - 20 nmol.L^{-1}). Para obtener la concentración en las muestras de las personas expuestas se realizó la interpolación en la curva de calibración (R2= 0,9975). Los resultados se presentan corregidos con creatinina para reducir la variación interindividual y se expresan en µmol.mol-1 de creatinina (22).

Como referencia se asumen valores del biomarcador para individuos no expuestos ocupacionalmente, no fumadores ≤ 0,24 y fumadores ≤ 0,76 umol.mol^{-1} de creatinina (10). El análisis de datos se realizó a través del programa PASW Statistic versión 18.0 para Windows, considerándose un nivel de significancia de $p < 0,05$. A través de la prueba de Kolmogorov-Smirnov se probó si las variables estudiadas siguieron la distribución normal. Se calcularon medidas de tendencia central para las variables continuas, así como frecuencias absolutas para las variables categóricas. Se estimó la diferencia entre los promedios usando la prueba de Student, también pruebas no paramétricas como U de Mann-Whitney y correlación de Spearman para las variables de escala.

Resultados

El grupo de estudio estuvo conformado por 18 trabajadores de Estaciones de Servicio (GE) del Estado Carabobo, todos de género masculino, con edad promedio de 33,9 ± 6,8 años, de los cuales el 22% declararon ser fumadores y 78% no fumadores, con antiguedad promedio de 6,53 años. En el grupo control (GC) se evaluaron 8 individuos del género masculino con una edad promedio de 40,75 ± 7,2 años (37,5% fumadores y 62,5% no fumadores). En cuanto a la ingesta de alimentos asados a la parrilla y de alcohol todos los trabajadores refirieron consumirlos eventualmente por lo que no se consideró en el análisis de datos.

Los niveles de 1-OHP se muestran en la tabla 1, al comparar fumadores y no fumadores de los individuos en estudio se observan diferencias significativas (p=0,040). Cuando se discrimina por grupos, la diferencia tiene significación estadística entre no fumadores de ambos grupos (p=0,012), así como en fumadores y no fumadores de GC (p=0,025).

Al correlacionar la antiguedad y los valores de 1-OHP en GE se observa una correlación positiva sin significación estadística (Spearman p= 0,053).

Los promedios de parámetros hematológicos y hepáticos, asi como los valores de p para las diferencias entre los grupos se muestran en la tabla 2.

TABLA 1. Niveles de 1-Hidroxipireno urinario en la muestra en estudio y en relación con el hábito tabáquico.

	1-Hidroxipireno (µmol.mol^{-1}creatinina) GE (18) mediana p (10-90)	GC (8) mediana p (10-90)	p-value
Exposición a HAPs	0,052 (0,01 – 0,40)	0,015 (0,02 – 0,14)	0,062
Fumador	0,20 * (0,04-0,54)	0,09** (0,09-0,46)	0,70
No fumador	0,05 (0,10-0,40)	0,01 (0,01-0,05)	0,012

GE: Grupo expuesto. GC: Grupo control; U Mann- Whitney: *p=0,20 **p=0,025

TABLA 2. Parámetros Hematológicos y Hepáticos de la muestra en estudio.

	GE (n=18) X ± SD	GC (n=8) X ± SD	Prueba T p-value
Hemoglobina (gr.dL^{-1})	15,28 ± 1,08	15,05 ± 1,3	0,630
Hematocrito (%)	46,58 ±2,13	46,05 ± 3,66	0,643
Glóbulos Blancos (x10-9.L^{-1})	8,58 ± 2,23	7,10 ± 1,98	0,119
Plaquetas (x10-9.L^{-1})	286±52,45	284 ± 65	0,947
TGO (UI.L^{-1})	30,28±9,17	22,13±8,00	0,040
TGP (UI.L^{-1})	32,71±12,99	22,25±13,50	0,073

GE: Grupo expuesto; GC: Grupo control; TGO: transaminase glutámico oxalacética; TGP: transaminasa glutámico pirúvica.

Al correlacionar los valores de parámetros hematológicos y hepáticos con los del biomarcador solo presentan interés las correlaciones positivas con las transaminasas (Spearman p=0,300).

Discusión

Las zonas urbanas en las que existe alta densidad vehicular presentan niveles más altos de contaminantes entre los que se encuentran los HAPs. Una zona de particular riesgo la representan las estaciones de servicio, en las que el tráfico automotor es permanente, para la evaluación del riesgo numerosos autores han propuesto el 1-OHP como biomarcador de elección.

Los valores de 1-OHP en los grupos estudiados se encuentran entre los establecidos como puntos de corte para poblaciones no expuestas ocupacionalmente (10), sin embargo el grupo expuesto presentó valores ligeramente más altos que el grupo control. Dichos resultados coinciden con autores quienes han evaluado la exposición a HAPs en puestos de trabajo que involucran un alto tránsito vehicular, importante fuente antropogénica de estos compuestos (12,13,18). Wattana y col. (15), reportan valores promedios de 1-OHP iguales a 0,37 y 0,19 $\mu mol.mol^{-1}$ creatinina en personas con y sin exposiciones a emisiones vehiculares en Thailandia, respectivamente. Asimismo, Chuang y col. (16) señalaron niveles del biomarcador en conductores de taxi de 0,17 $\mu mol.mol^{-1}$ creatinina, mientras que empleados de oficina muestran valores de 0,10 $\mu mol.mol^{-1}$ creatinina, estos autores enfatizan la alta correlación entre los niveles de 1-OHP urinario y la exposición ambiental a mezclas de HAPs. Vargas y col. (23) señalan que en la ciudad de Valencia (Edo. Carabobo) la concentración promedio total de HAPs en el particulado atmosférico fue de 1,97 $ng.m^3$ cifra que encuentra por debajo de las reportadas para ciudades con gran contaminación ambiental, lo que podría estar relacionado con los niveles de 1-OHP encontrados en la presente de investigación.

Se analizó la asociaciones entre estos valores y la antigüedad, corroborando que el metabolito no se acumula ya que es excretado alrededor de 18 horas después de la exposición en su forma glucoronidada por vía renal, hecho que determina que el muestreo se realice al final de la jornada y de la semana laboral (24). Con respecto al hábito tabáquico se observan valores más elevados en los fumadores, hallazgos similares a lo reportado por diferentes autores debido al alto contenido de HAPs presente en el humo del tabaco (13,16,25), quienes además refieren que los niveles pudieran estar afectados por el polimorfismo de las enzimas del sistema de citocromo (CYP1A1), específicamente las que participan en la 1-hidroxilación. Nuestros resultados evidencian que la contribución del hábito tabáquico para la valoración del biomarcador en personas expuestas no supone una diferencia relevante, sin embargo es un factor a tomar en cuenta en la interpretación de resultados en personas no expuestas.

Es importante resaltar que aunque los niveles del metabolito en el GE no sobrepasan los valores referidos como de exposición laboral de riesgo, la exposición a HAPs es considerada insegura en cualquier nivel pues se incrementa el riesgo de cáncer por exposición a estos xenobióticos, al respecto Okona-Mensah (26) señala que es necesario establecer prioridades para la calidad del aire como medida de prevención.

Al analizar los parámetros hematológicos, no se observaron diferencias entre los grupos, es relevante el hecho de que estos trabajadores presentan una co-exposición debido a que están en contacto con benceno proveniente de la gasolina y las mezclas que expenden. De igual modo, Wiwanitkit y col. (27), Kobt y col. (28), Mohammed y col. (29) no encontraron alteraciones en dichos parámetros, aun cuando otros autores afirman que algunas células hematopoyéticas bioactivan los HAPs constituyéndose como blancos potenciales de estos contaminantes (30).

En referencia a la actividad de las enzimas hepáticas evaluadas se observan diferencias entre los grupos (TGO p=0,040; TGP p= 0,073) y una correlación positiva con el biomarcador de exposición (p=0,300), sin embargo los valores de GE resultaron más elevados que los de GC. Hallazgos similares reportan Ferreira y col.(31), quienes evalúan las mismas enzimas como determinantes en la formación de aductos de hemoglobina de benzo(a) pirenodiol en trabajadores expuestos a HAPs, se explican estas diferencias por el metabolismo hepático de estos compuestos en los que se involucra el sistema de citocromo p-450. Así mismo, Mohammed y col. (29) y Mahmood (32) reportan la actividad enzimática dentro de los valores de referencia y afirman que algunos xenobióticos con metabolismo hepático permiten que permanezcan sin alteración significativa en exposiciones no prolongadas.

En conclusión, aun cuando las variables estudiadas no sobrepasan los valores de referencia, lo que pudiera estar influenciado estadísticamente por el n muestral, se observan diferencias que sugieren un riesgo

potencial para desarrollar enfermedades oncogénicas, representando un problema de salud pública que amerita el monitoreo ambiental de HAPs así como el cumplimiento del marco regulatorio referente a las emisiones vehiculares. Recomendamos incrementar la población en estudio así como la implementación de monitoreo biológico como parte de la prevención en ambientes laborales en los que se pueda presentar co-exposición por mezclas de compuestos.

Agradecimientos

Las autoras agradecemos el financiamiento parcial recibido del Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad de Carabobo para el desarrollo de este trabajo, asi mismo declaramos que no existe conflicto de intereses en la presentación del mismo.

Referencias

1. McMurry J. Química Orgánica. México: CENGAGE 2008.
2. Vives I, Grimalt J O, Guitart R. Los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos y la salud humana. ACyT. 2001; 2(3):45-51.
3. Brandt H, Watson W. Monitoring Human Occupational and Environmental Exposures to Polycyclic Aromatic Compounds. Ann. Occup Hyg 2003; 47(5):349-378. Disponible en: http://annhyg.oxfordjournals.org/content/47/5/349.full.pdf+html.
4. Mastandrea C, Chichizola C, Ludueña B, Sánchez H, Álvarez H, Gutiérrez A. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. Acta Bioquim Clin Latinoam. ene./mar. 2005; 39(1): 27-36
5. Bosetti C, Boffetta P, La Vecchia C. Occupational exposure to polycyclic aromatic Hydrocarbons and respiratory and urinary tract cancers: A quantitative review to 2005. Ann Oncol 2007; 18 (3):431-446.
6. Allan L, Sherr D. Disruption of human plasma cell differentiation by an environmental polycyclic aromatic hydrocarbon: a mechanistic immunotoxicological study. Environ Health. 2010; 9:15. Disponible en http://www.ehjournal.net/content/pdf/1476-069X-9-15.pdf
7. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Francia; 2010. Disponible en http://monographs.iarc.fr/
8. Organización Mundial de la Salud. Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer. Gases de Escape de los Motores Diesel son Carcinógenos. Francia; 2012. Disponible en www.iarc.fr/en/media-centre/pr/2012/pdfs/pr213_S.pdf
9. Ciarrocca M, Rosati M, Tomei F, Capozella A, Andreozzi G, Tomei G, et al. Is urinary 1-hidroxypyrene a valid biomarker for exposure to air pollution in outdoor workers? A meta-analysis. J Expo Sci Environ Epidemio 2014; 24:17-26.
10. Jongeneelen F.: Benchmark guideline for urinary 1-hydroxypyrene as biomarker of occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. Annals Occup Hyg. 2001; 45(1): 3-13.
11. Hansen A M, Walin H, Binderup M L, Dybdahl M, Autrup H, Loft S, et al. Urinary 1-Hydroxypyrene and mutagenicity in bus drivers and mail Carriers exposed to urban air pollution in Denmark. Mutat Research. 2004; 557:7-17.
12. Ruchirawat M, Mahidol Ch, Tangjarukij Ch, Puiock S, Jensen O, Kampeerawipakorn O, et al. Exposure to genotoxins present in ambient air in Bangkok, Thailand-particle associated polycyclic aromatic hydrocarbons and biomarkers. Sci Total Environ. 2001; 287: 121-132.
13. Perico A, Gottardi M, Boddi V, Bavazzano P, Lanciotti E. Assessment of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in police in Florence, Italy, through personal air sampling and biological monitoring of the urinary metabolite 1-hydroxypirene. Arch Environ Health 2001; 56(6): 506-512.
14. Castaño-Vinyals G, D´Errico A, Malats N, Kogevinas M. Biomarkers of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons from environmental air pollution. Occup Environ Med. 2003; 61. Disponible en http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1740739/pdf/v061p00e12.pdf
15. Wattana S, Wittaryalerpanya S. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbons exposure from automobile exhaust fumes using urinary 1-hydrxypyrene levels as an index. J med assoc Thai. 2004; 87,suppl 2:233-8.
16. Chuang C Y, Chang CC. Urinary 1-hydroxypyrene level relative to vehicle exhaust exposure mediated by metabolic enzyme polymorphism. J Occup Health 2007; 49(2): 140-51.
17. Cocco P, Moore P S, Ennas M G, Tocco M G, Ibba

A. Effect of urban traffic, individuals habits, and genetic polymorphism on background urinary 1-hydroxypyrene excretion. Ann Epidemiol. 2007; 17(1):1-8.

18. Lai C, Liou S, Jaakkola J, Huang H, Su T. Exposure to Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Associated with Traffic Exhaust Increases Lipid Peroxidation and Reduces Antioxidant Capacity. Aerosol Air Qual Res. 2012; 12: 941–950.
19. Instituto Nacional de Estadística, INE. Censo de la Nación. Disponible en http://www.ine.gov.ve/documentos/Demografia/CensodePoblacionyVivienda/pdf/presentacion_carabobo.pdf 2011.
20. Ramírez L. El parque automotor en la República Bolivariana de Venezuela 1990-2011, estratos medios de la población y elecciones 2012; 39(1): 38-48.
21. Montes N, Urbieta M, Eguiarte I. Metabolitos de hidrocarburos aromáticos policlicos en orina: estudio comparativo de dos métodos cromatográficos para el análisis de 1-hidroxipireno. 2001. Instituto Nacional de Higiene y Salud del Trabajo de España. Disponible en http://www.mtas.es/insht/revista/
22. Coopman M. Corrección de Indicadores Biológicos por Creatinina. ¿Alternativa correcta? Ciencia y Trabajo. Chile. 2007; 9(24):76-80
23. Vargas M, Romero G, Palencia A, Piñero S, Rivero E. Equivalentes tóxicos de hidrocarburos aromáticos políciclicos en particulado atmosférico en Valencia, Venezuela. Acta toxicol. argent. [online]. 2013, .21(.2), 69-77. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-37432013000200001&lng=es&nrm=iso>. ISSN 1851-3743.
24. Bouchard M, Viau C. Urinary 1-hydroxypyrene as a biomarker of exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons: biological monitoring strategies and methodology for determining biological exposure indices for various work environment. Biomarkers 1999; 4(3): 159-187.
25. Kawamoto T, Yang M, Kim Y, Kim H, Oyama T. Effects of Lifestyle on Urinary 1-Hydroxypyrene Concentration. J Occup Health. 2007; 49: 183-189.
26. Okona-Mensah K B, Battershill J, Boobis A, Fielder R. An approach to investigating the importance of high potency polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in the induction of lung cancer by air pollution. Food Chem Toxicol 2005. 43; 1103-1116.
27. Wiwanitkit V, Soogarun S, Suwansaksri J. A correlative study on red blood cell parameters and urine trans, trans-muconic acid in subjects with occupational benzene exposure. Toxicol Pathol. 2007. 35(2):268-269.
28. Kotb M A, Ramadan H S, Shams El-Din R, Mataweh H A, Shenata R R, El-Bassiouni E A. Changes in some biophysical and biochemical parameters in blood and urine of workers chronically exposed to benzene. Eur Sci J. 2013; 9 (24):411-422.
29. Mohammed S M. Hematological, Biochemical and Blood Lead Level Profile among Gasoline Exposed Station Workers in Sulaimaniya City. ARO, The Scientific Journal of Koya University, 2014; 2(1): 6-11. Disponible en http://dx.doi.org/10.14500/aro.100
30. van Grevenynghe J, Bernard M, Langouet S, Le Berre C, Fest T, Fardel O. Human CD-34 positive hematopoietic stem cells constitute targets for carcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbons. J Pharmacol Exp Ther. 2005; 314(2):693-702.
31. Ferreira M, Tas S. Determinants of benzo(a) pyrenediol epoxide adducts to haemoglobin in workers exposed to polycyclic aromatic hydrocarbons. Occup Env Med. 1994; 51:451-455.
32. Mahmood N M A. Relationship between exposure to petrol products and the trace metal status, liver toxicity and hematological markers in gasoline filling workers in Sulaimani city. J Environ Occup Sci. 2012; 1(1): 6-11. doi:10.5455/jeos.20120419103934.