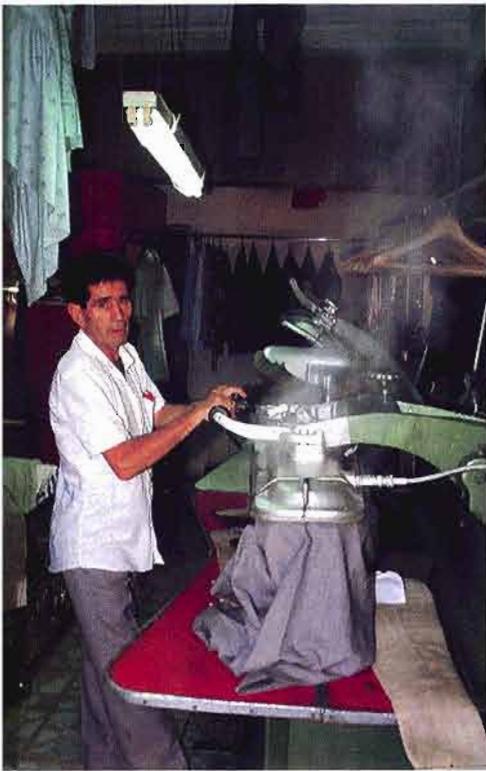


Determinación de tioéteres urinarios en trabajadores expuestos al percloroetileno



DR. JORGE MALLOL MIRON
DRA. AMALIA LAFUENTE FLO
DRA. M. CARMEN PUJADES BENEIT

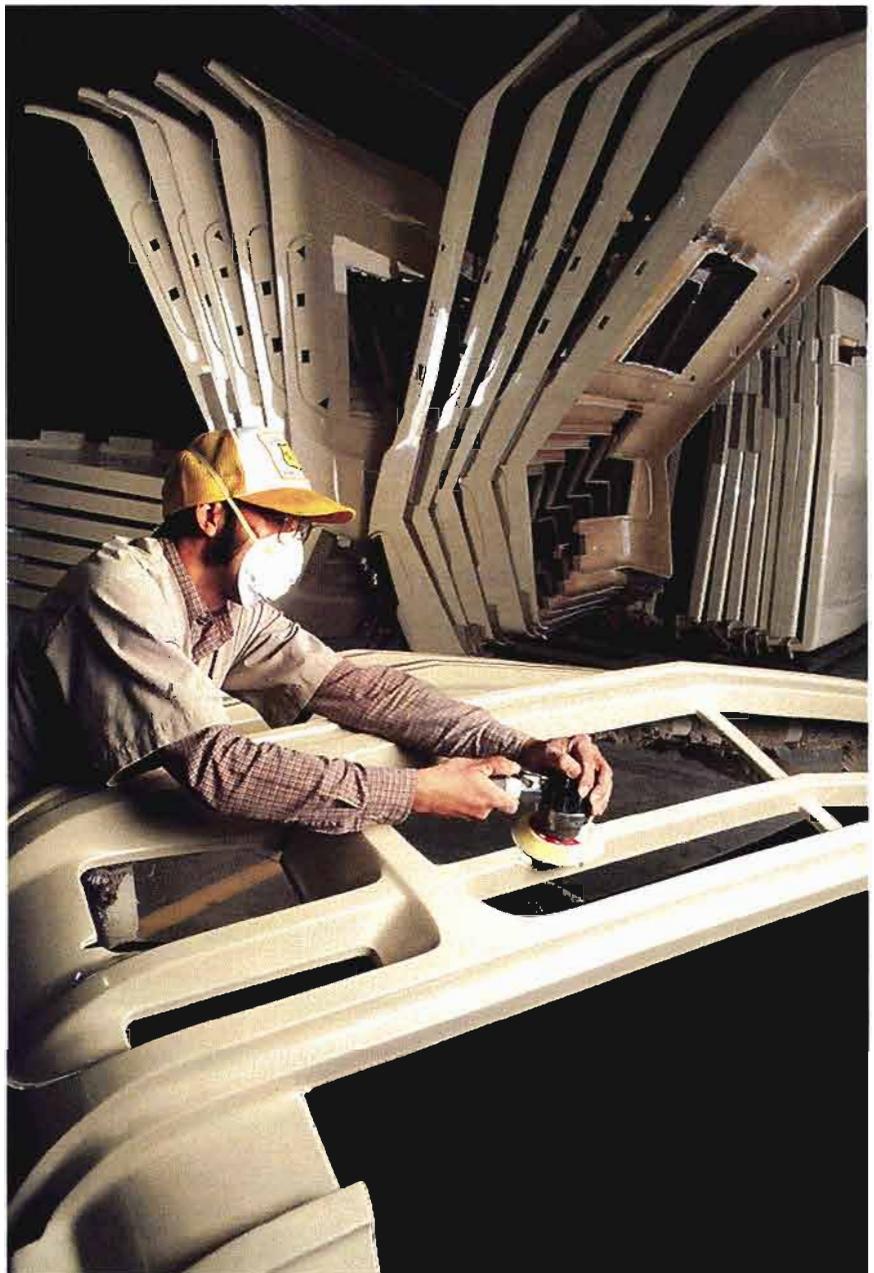
Cátedra de Farmacología de la Facultad de Medicina de Reus. Universidad de Barcelona

PROF. GEOFFREY J. BECKETT

*Royal Infirmary. Department of Clinical Chemistry
Edimburg (Reino Unido).*

EXISTEN numerosas actividades profesionales que exponen al hombre a determinadas sustancias capaces de afectar su estado de salud. En el campo de la seguridad laboral, la prevención de este tipo de patología cobra una especial importancia. Por ello, uno de los frentes en que más se trabaja, es el seguimiento y detección de los llamados indicadores de exposición e indicadores de riesgo, de aplicación selectiva en las exposiciones a múltiples compuestos que penetran en nuestro organismo por diversas vías, especialmente la oral, la respiratoria y la cutánea.

Clásicamente se ha venido trabajando en el control de los llamados niveles de exposición ambiental a determinados productos, mediante la valoración sistemática de cada uno de ellos en el ambiente laboral y, en todo caso, manteniendo su concentración ambiental dentro de los límites legales establecidos. De todos modos, somos



conscientes que dichos límites, característicos de cada sustancia, son relativamente arbitrarios y no se basan exclusivamente en parámetros sanitarios. Más preciso sería tomar decisiones en función del grado de contaminación interna o «real» del individuo. Dicha contaminación interna viene determinada por dos factores: la intensidad de la exposición externa y la capacidad detoxificadora del individuo. A igualdad de exposición, los individuos con poca capacidad de detoxificación estarán sometidos a un mayor riesgo.

El conocimiento de esta exposición interna debe ir acompañado, si es posible, del conocimiento del impacto que el contaminante ha ejercido en nuestro organismo.

Podemos conocer ambos procesos a través de los denominados indicadores biológicos. Por ejemplo, la valoración de la carboxihemoglobina nos permitirá conocer la intensidad de exposición al CO. La valoración de ciertos parámetros enzimáticos permitirá ponderar el impacto sobre el funcionamiento hepático. Así pues, la COHb y las transaminasas plasmáticas serían indicadores biológicos de exposición y de impacto, respectivamente.

La utilidad de dichos indicadores radica en que permiten conocer con mayor o menor precocidad el riesgo de determinados individuos expuestos y evitar así la aparición de un cuadro patológico. Es decir, los indicadores biológicos serían el nexo de unión entre el agente tóxico y la patología característica que desencadena. Lamentablemente no conocemos indicadores biológicos específicos para todos los productos a que está expuesto el hombre en sus múltiples actividades profesionales y no profesionales, ni todos los indicadores de que disponemos tienen la misma utilidad en cuanto a la precocidad de su aplicación.

El tema concreto que nos ocupa en este trabajo es la exposición al percloroetileno o tetracloroetileno (PER), solvente industrial muy utilizado como desengrasante y de amplia difusión en el lavado en seco de prendas de vestir. La introducción del PER como sustituyente del tricloroetileno, entre otras razones, se debe a su menor toxicidad. No obstante, es bien conocido que una exposición aguda al PER o la exposición crónica a sus vapores, genera una patología precisa, con intoxicación grave de hígado, riñón y sistema nervioso (1-2).

Se conoce relativamente poco la ci-

nética intraorgánica del PER en el ser humano. Su absorción es buena a través del epitelio alveolar, difundiendo bien por todos los tejidos debido a su gran lipofilia. La mayor parte del PER absorbido se elimina íntegramente por vía pulmonar. No obstante, existen procesos de biotransformación a nivel hepático, que originan diversos metabolitos clorados, detectables en la orina (3-6). En 1960 Yllner sugirió que el PER podía sufrir un paso intermedio de biotransformación a epóxido (7), lo que le convertiría en un producto altamente electrofílico, capaz de fijarse a macromoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, etc.) y desencadenar mutaciones y carcinogénesis.

La peligrosidad de los productos electrofílicos puede neutralizarse mediante la formación de tioéteres a través del sistema de la glutatión-S-transferasa (GST). Dicho enzima cataliza la unión de numerosas sustancias de carácter electrofílico con el grupo -SH de la cisteína del glutatión (8). El tioéter formado se elimina a través de la orina generalmente en forma de ácido mercaptúrico, después de la acetilación de la cisteína. Así pues, la determinación de tioéteres urinarios (TU) es un buen indicador biológico para evaluar el grado de exposición a diversos productos electrofílicos, que no sólo nos indica la intensidad de dicha exposición, sino también la capacidad individual del sistema de la GST (9, 10).

Hasta el presente no tenemos conocimiento de ningún trabajo que demuestre que el PER puede eliminarse, al menos parcialmente, en forma de TU; únicamente existe la evidencia indirecta apuntada por Yllner que hemos mencionado anteriormente.

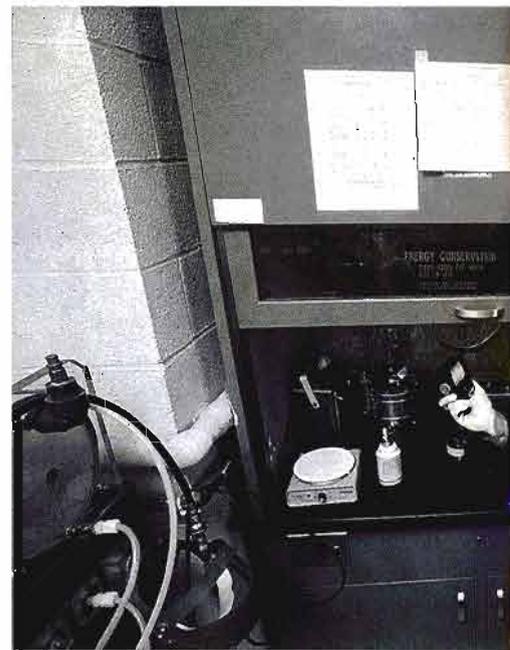
En este trabajo presentamos nuestros resultados acerca de la utilidad de determinar TU en individuos expuestos al PER, junto con algunos resultados obtenidos «in vitro» para evaluar directamente la formación de derivados de glutatión, mediante la transformación del PER a epóxido.

MATERIAL Y METODOS

El estudio se ha desarrollado en distintos ámbitos:

VALORACION DE TU: en empleados de tintorerías, empleados de planta productora de PER y trabajadores de una empresa de electrodomésticos en contacto con PER.

FORMACION DE TIOETERES «IN



La exposición al PER origina un aumento de tioéteres urinarios.

VITRO: valoración de la transformación del PER en un conjugado de glutatión.

EVALUACION DE LA TOXICIDAD HEPATICA: tras la exposición crónica al PER, mediante la determinación de GPT, gamma-GT y GST-B1B1 plasmática.

VALORACION DE TU

Distinguiremos dos apartados: las poblaciones estudiadas y los métodos analíticos estudiados.

Empleados de tintorerías. Colaboraron cinco mujeres empleadas en diversas empresas de lavado de ropa en seco, mediante la utilización de



El PER puede transformarse en epóxidos mutagénicos y carcinogénicos.

PER. Sus edades estaban comprendidas entre los 32 y los 55 años y ninguna de ellas era fumadora. En un estudio de grupo las muestras de orina se recogieron por la noche, durante tres días laborables y al final de un día festivo. Ya que la manipulación de PER en algunos casos no era continuada, se escogieron los días de la semana de máxima exposición. La concentración de PER en el ambiente de trabajo, al final de una jornada habitual osciló entre 15 y 45 ppm, es decir, siempre por debajo de los límites máximos legales permitidos en nuestro país (100 ppm).

Además de este estudio, se llevó a cabo una valoración más sistematizada de los TU en una de las voluntarias. Para ello, se recogió la orina diariamente, durante dos semanas, al final de la jornada laboral y a una hora similar en los días festivos.

Planta productora de PER. El estudio se llevó a cabo en 25 voluntarios, trabajadores de una planta productora de PER, varones, cuyas edades estaban comprendidas entre 25 y 59 años, de los cuales 9 eran fumadores.

Se recogieron tres muestras de orina de cada individuo. La primera muestra correspondía al último día del período de descanso de los cuatro consecutivos de que dispone cada trabajador. La segunda muestra se recogió al final de una semana de trabajo y la tercera al final de una semana laboral. La hora de recogida de las muestras variaba, según el turno de trabajo del sujeto.

La concentración de PER en el ambiente fue indetectable, ya que la producción se efectúa al aire libre, mediante circuitos cerrados.

Trabajadores de una empresa de electrodomésticos. participaron 34 individuos varones expuestos de muy diversa manera a los vapores del PER. En la tabla I se detallan sus edades, lugares de trabajo y hábito tabáquico. De cada individuo se recogieron dos muestras de orina, una al final del descanso semanal y otra al final de una semana laboral. La hora de recogida varió en función del turno de trabajo de cada sujeto.

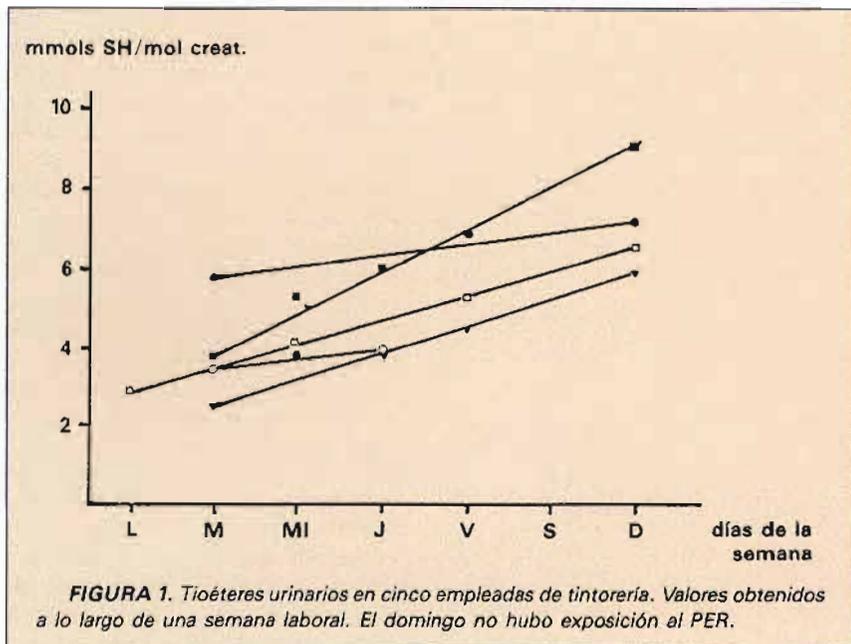
Asimismo se efectuó una toma de sangre venosa en la flexura del codo para determinar parámetros bioquímicos, como comentaremos más adelante.

Determinación de los TU. Las

TABLA 1

Descripción de la muestra de trabajadores de una empresa de electrodomésticos, sometidos regularmente al PER.

CASO	EDAD	LUGAR TRABAJO	CIG/DIA	CONVIVENCIA FUMADOR
1	38	pintura	no	no
2	52	pintura	no	no
3	29	pintura	6	si
4	35	pintura	20	no
5	43	pintura	no	no
6	35	pintura	no	no
7	29	pintura	40	no
8	38	pintura	no	no
11	55	cromados	no	no
12	46	cromados	no	no
13	36	cromados	no	no
14	34	cromados	no	no
15	43	cromados	11	si
16	53	cromados	20	no
17	49	cromados	30	si
18	54	cromados	no	no
19	35	cromados	3	no
20	40	cromados	no	no
21	46	cromados	2 puros	no
22	52	cromados	20	no
24	54	cromados	8	no
25	54	cromados	no	no
26	42	cromados	8	no
27	54	cromados	8	si
28	34	cromados	no	no
29	37	cromados	20	si
30	51	cromados	12	no
31	48	acabados	4	no
32	44	acabados	20	si
33	55	acabados	no	si
34	53	acabados	no	no



muestras de orina se almacenaron a -20°C hasta el momento de su análisis (no superior a un mes). La valoración de TU se llevó a cabo por el método de Van Doorn et al. (11), que en esencia consiste en acidificar la orina con ClH, extraer los TU mediante acetato de etilo y evaporar a sequedad el extracto. Tras redissolver el residuo seco en agua destilada, se reserva un alícuota para valorar los grupos SH libres y se procede a una hidrólisis alcalina con NaOH, durante una hora en ebullición. Los grupos SH liberados de la hidrólisis y los previamente existentes se cuantifican mediante la reacción de Ellman (12) con ácido di-tio bisnitrobenzoico. La recta patrón de grupos SH se realizó con N-acetil cisteína.

Las mediciones colorimétricas se llevaron a cabo a 412 nm en un espectrofotómetro PYE UNICAM 8800, equipado con dispositivo de lectura automática y termostatazada.

Determinación de creatinina urinaria. Los valores de TU se expresan en moles de SH por mol de creatinina. Para valorar dicho compuesto se utilizó un equipo comercial (Sigma Chem. Co.) basado en la reacción del ácido pícrico.

Las muestras de orina con valores de creatinina por debajo de 5 mmol/litro fueron sistemáticamente descartadas. Por ello, en muchos casos, el número de sujetos expresados en los resultados no refleja en su totalidad el número

de casos que iniciaron el resultado.

FORMACION DE TIOETERES «IN VITRO»

Preparación de la fracción subcelular hepática. Se utilizaron ratas macho Sprague Dawley, de unos 200 gramos de peso. Los animales fueron sacrificados mediante un golpe en la cabeza y posterior decapitación. Inmediatamente se extrajo el hígado, que fue introducido en un recipiente enfriado con hielo en escamas. Tras cortar el órgano finamente mediante tijeras, se homogenizó en tampón fosfato 0,1 M pH 6,5 en una relación peso/volumen 1:10, mediante un homogenizador Potter-Elvehjem con émbolo de teflón.

El homogeneizado se sometió a una centrifugación diferencial con el fin de obtener las distintas preparaciones enzimáticas. El sobrenadante crudo de $20.000 \times g$ contiene una mezcla de enzimas oxidantes en la fracción microsomal (FM) y GST en la fracción soluble (FS). Este tipo de preparación es útil en aquellas experiencias en las que convenía estudiar la actividad de ambos sistemas enzimáticos simultáneamente. En los casos en que fue necesario utilizar separadamente estas fracciones, la FS se obtuvo tras centrifugar el sobrenadante crudo de $20.000 \times g$ durante una hora a $105.000 \times g$. Estas centrifugaciones se llevaron a cabo en una ultracentrífuga Beckman.

Valoración de la actividad GST.

Para ello se utilizó el método descrito por Habig et al. (8), basado en el desplazamiento espectral del cloruro de p-nitro bencilo (CPNB) en la zona ultravioleta (310 nm) al combinarse con el glutatión (GSH), en presencia de GST, para formar el tioéter correspondiente.

En nuestras experiencias de rutina, cada cubeta contenía: 1,1 ml de tampón fosfato potásico, pH 7; 0,6 ml de GSH (5 mM final); FS nativa (alrededor de 8 mg de proteína/ml) en un volumen variable de 25 a 50 μl ; y finalmente 72 μl de una solución variable de CPNB en etanol (de 0,05 a 0,25 mM final). El cálculo de la actividad de la GST se valoró teniendo en cuenta que el incremento de absorbencia a 310 nm para el CPNB es de 1,9 mM cm. Estas valoraciones se llevaron a cabo en un espectrofotómetro PYE UNICAM 8800 equipado con lector multicubeta automatizado y termostatazado a 25 $^{\circ}\text{C}$.

Influencia del PER sobre la GST hepática

A) En un primer grupo de experiencias se estudiaron los efectos del PER sobre la actividad de la GST. Para ello se hizo competir el PER disuelto en etanol a diferentes concentraciones (2,18 mM y 1,8 mM) y sin ninguna incubación previa, con el CPNB. La concentración final de etanol fue siempre inferior al 4% para no interferir con la actividad enzimática. La actividad de la GST en presencia de PER se comparó con una experiencia control, en ausencia de PER.

En estas experiencias se utilizó el sobrenadante de $20.000 \times g$ como fuente de GST.

B) En un segundo grupo de experiencias, el PER se preincubó con FM pura durante 15 minutos a 37°C , en presencia de NADPH (2,5 mM). Pasado este tiempo, se añadió una alícuota de este incubado a una cubeta que contenía los elementos habituales para la reacción de la GST, con la particularidad de que, en este caso, la fuente de GST era la FS pura: 1,175 ml de tampón fosfato potásico 0,1 M a pH 7; 0,6 ml de GSH (5 mM final), 25 μl de FS (alrededor de 10 mg de proteínas/ml); 36 μl de CPNB a concentraciones variables (de 0,075 a 0,25 mM final) y finalmente 36 μl del incubado e FM y PER a distintas concentraciones (de 30 μM a 150 μM final). Además de los controles habituales, se hizo un control con FS pura y sin FM.

mmols SH/mol creat.

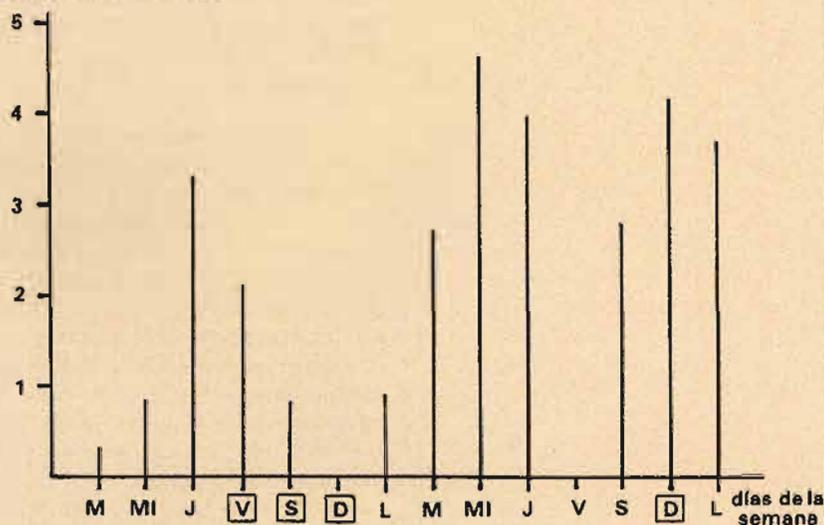


FIGURA 2. Valores de tioéteres urinarios obtenidos en un caso, al que se ha seguido durante dos semanas. Los días encuadrados corresponden a días festivos, sin contacto con PER.

casos

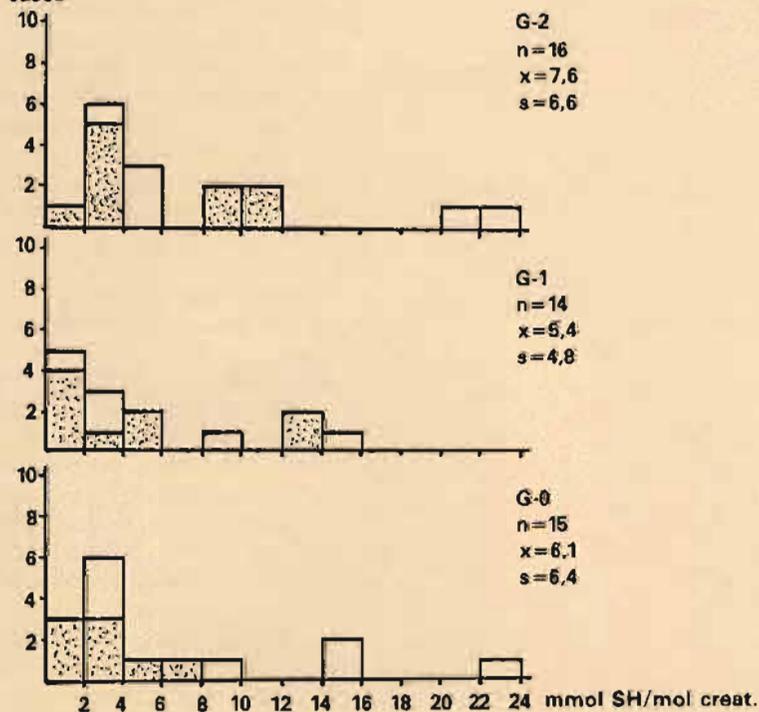


FIGURA 3. Distribución de frecuencias de los valores de TU (mmols de SH/mol de creatinina) en trabajadores de una planta productora de PER. G-0 se refiere a las muestras obtenidas tras el período de descanso semanal. G-1 y G-2 se refiere a las muestras obtenidas al final de una o dos semanas de trabajo. En punteado los casos correspondientes a individuos no fumadores.

Valoración del consumo de GSH.

Se puso a punto una técnica combinada, en la que en una primera fase se realizó la reacción del CPNB con la GST en presencia de GSH hasta la estabilización de la reacción. Luego se procedió a valorar el GSH consumido en la cubeta mediante la reacción de Ellman.

Esta técnica nos permitió valorar la transformación del PER o de sus derivados oxidados en tioéteres, sustituyendo en este caso el CPNB por el PER y deteniendo la reacción al mismo tiempo que la reacción control en presencia de CPNB.

EVALUACION DE LA TOXICIDAD HEPATICA

Existía la posibilidad de dosificar la GST-B181 hepática en suero, mediante un radioinmunoensayo descrito por Hayes et al. (13), gracias a la colaboración desinteresada del Prof. G. J. Beckett de Edimburgo. La presencia de GST hepática en plasma es un índice de hepatotoxicidad más precoz aún que la elevación de transaminasas y gamma-GT. Para ello se extrajo sangre venosa de los voluntarios de la empresa de electrodomésticos, se separó el suero y se conservó a -80°C para su posterior envío a Edimburgo. Paralelamente se determinaron la GPT y la gamma-GT mediante un autoanalizador AURORA Ultralab.

RESULTADOS

TU en empleados en tintorerías.

En el estudio de grupo se aprecia un aumento de los valores de TU a medida que transcurre la semana laboral (figura 1), alcanzándose el máximo en domingo. Este aumento es significativo para $p < 0,02$, y se hace más patente en el estudio secuencial llevado a cabo durante dos semanas (figura 2); en este caso se aprecia claramente que los valores de TU disminuyen tras los tres días consecutivos de descanso.

TU en planta productora de PER.

En la figura 3 se representan los valores de TU obtenidos en toda la población estudiada. No se observan diferencias entre las cifras de TU correspondientes al período de descanso y las correspondientes al período de trabajo, cuando se considera la totalidad de la muestra estudiada. Sin embargo,

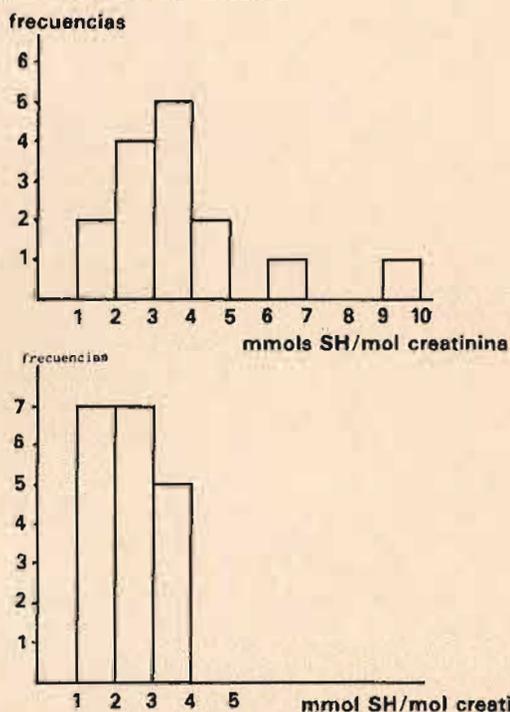


FIGURA 4. Tioéteres urinarios en trabajadores de empresa de electrodomésticos. En la parte superior, valores obtenidos tras una semana laboral en contacto con PER. En la parte inferior, valores obtenidos tras los días de descanso semanal.

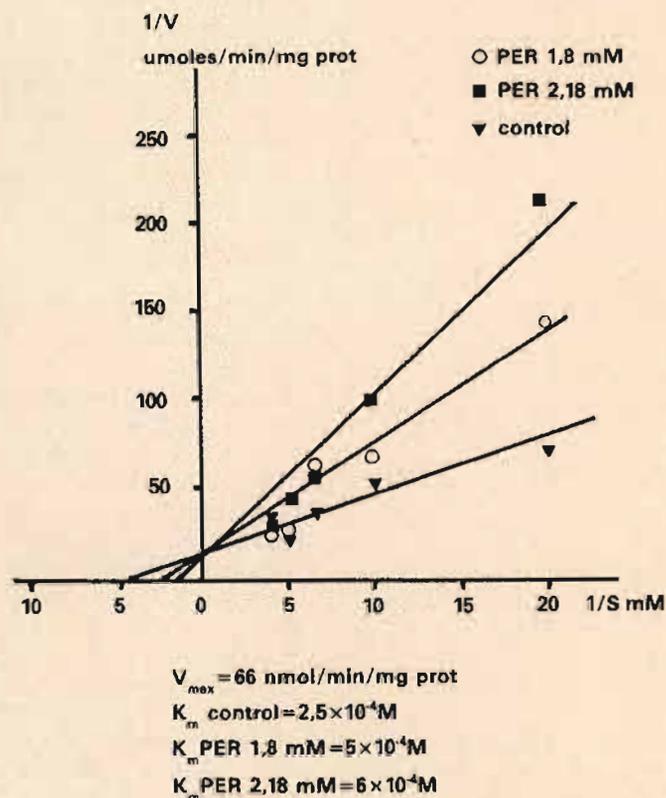


FIGURA 5. Actividad de GST en sobrenadante de 20.000 x g. Valores basales y en presencia de diversas concentraciones de PER.

si se consideran únicamente los individuos no fumadores, se observa que los valores de TU son más bajos tras el período de descanso laboral, aunque las diferencias no son significativas.

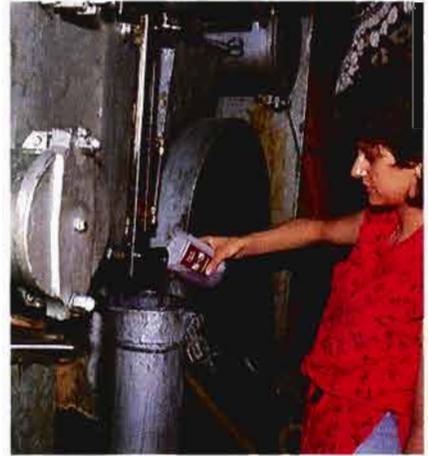
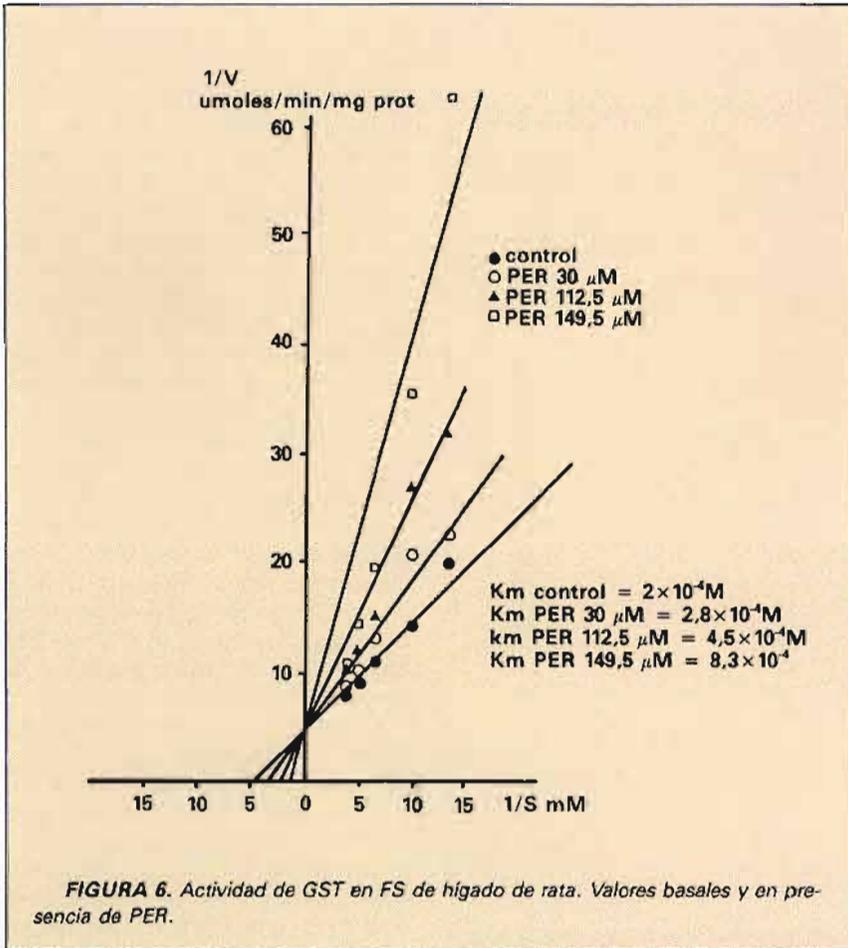
TU en empresa de electrodomésticos. En este estudio se han obtenido unos valores medios de TU de 3,28 mmol SH/mol de creatinina al final de la semana laboral, mientras que los obtenidos tras los días de descanso fueron de 2,24 mmol SH/mol de creatinina. La representación de dichos valores según una distribución de frecuencias se observa en la figura 4. En ella se aprecia claramente que dicha distribución se alarga hacia la derecha tras la exposición continuada al PER.

No ha sido posible hacer un estudio estadístico de muestras apareadas de todos los resultados, ya que en muchos casos los valores bajos de creatinina obligaron a descartar las muestras de orina. Sin embargo, en los trece casos en los que ello sí fue posible, únicamente en dos de ellos los valores de TU fueron superiores en el período control, en los once restantes los valores de TU fueron superiores tras la exposición al PER. Haciendo un estudio estadístico por muestras apareadas de estos trece casos, se concluye que los valores tras el período de exposición son significativamente superiores a los del período control para un valor de $p < 0,05$.

Valores basales de GST hepática. La actividad GST es proporcional a la concentración de GSH, a la cantidad de proteínas y a la concentración de CPNB del medio de incubación. La reacción es lineal durante los tres primeros minutos. Estas características son típicas de la GST y ya fueron descritas por Habig (8). En condiciones óptimas de trabajo, en nuestro caso, los valores de actividad obtenidos fueron los siguientes:

- Para GST en sobrenadante de 20.000 x g: $V_{max} = 66 \text{ nmol/min/mg de proteína}$ y una $K_m = 2,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ (fig. 5).
- Para GST en FS pura: $V_{max} = 200 \text{ nmol/min/mg de proteína}$ y $K_m = 2 \times 10^{-4} \text{ M}$ (fig. 6).

Efecto del PER sobre la GST hepática. En la figura 5 se aprecia cómo la adición de PER al medio disminuye la actividad de la GST, es decir, aumentando los valores de K_m proporcionalmente a la cantidad de PER añadido



La transformación del PER en derivados epóxidos puede modificar la noción de peligrosidad al mismo.

al medio, sin que varíen los valores de V_{max} . En todas las experiencias realizadas, se obtienen valores de V_{max} que oscilan entre 7 y 78 nmol/min/mg proteína, con una K_m de $5 + 0,05 \times 10^{-4} M$ para PER 1,8 mM y K_m de $6 + 0,03 \times 10^{-4} M$ para PER 2,18 mM.

En el caso de la preincubación con FM y posterior análisis de la actividad GST en FS pura, los resultados son superponibles, como se aprecia en la figura 6, es decir, la actividad GST disminuye en función de la presencia del incubado de PER + FM. A partir de los datos experimentales, se obtienen los valores correspondientes de V_{max} y K_m , manteniéndose los valores de $V_{max} = 200 + 0,005$ nmol/min/mg proteína, con una K_m control $2 + 0,02 \times 10^{-4} M$. Los valores de K_m aumentan en función del PER añadido: $2,8 + 0,05 \times 10^{-4} M$ (30 μM de PER); $4,5 + 0,07 \times 10^{-4} M$ (112,5 μM de PER); y $8,3 + 0,06 \times 10^{-4} M$ (150 μM de PER).

En este último caso se calculó también la constante de inhibición enzimática (K_i) del PER incubado con FM, mediante la ecuación $1/S = -1/KM (1+(I)/K_i)$, cuando $1/V = 0$, siendo I

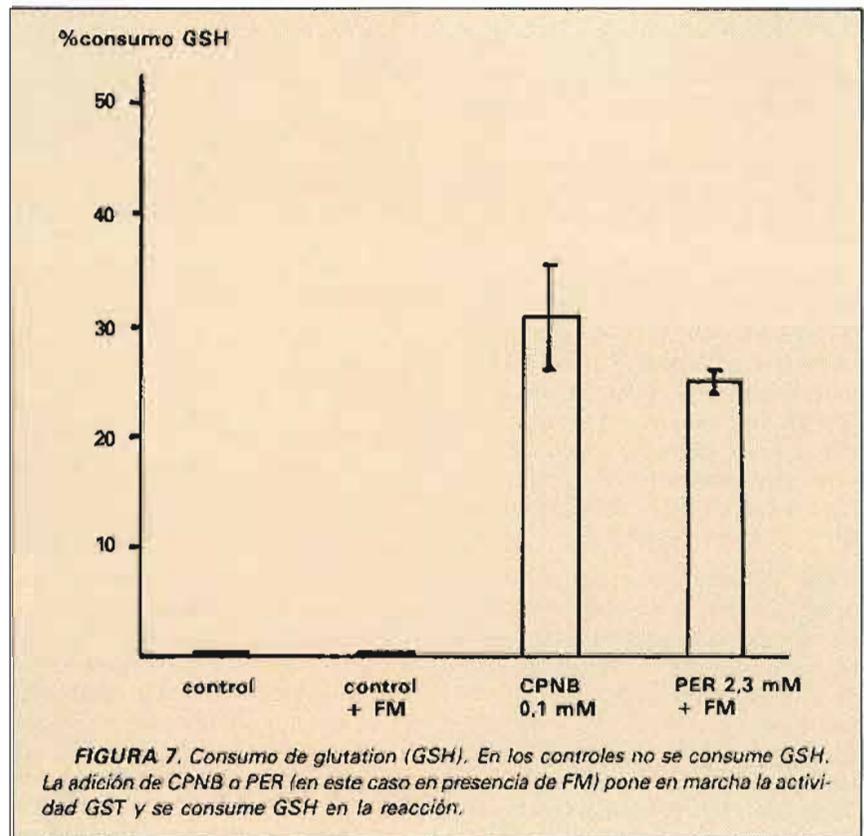


TABLA 2

Valores de enzimas hepáticas GPT, gamma-GT y GSH (B1B1), obtenidos en suero de trabajadores expuestos regularmente al PER.

CASO	GPT	gamma-GT	GST
1	14,3	40,2	3,7
2	22,2	31	3,6
3	31,6	316	5,5
4	29,1	66	3,4
5	28,3	93,9	3,2
6	36,9	73,6	2,6
7	51,2	190	13,5
8	27,7	37,1	4,5
11	15,3	44,2	3,2
12	34,6	59,8	7,6
13	—	29,6	9,9
14	14,1	24,4	2,1
15	11,8	15,7	3,-
16	20	141,7	4,6
19	64,3	234,5	5,5
21	11,6	15,6	2,1
26	27,6	15	3,7
27	—	40,7	5
28	12,75	14,8	2,9
29	11,4	27,9	6,7
30	23,6	21,2	4,7
31	24,5	16,2	2,9
32	20,4	41,8	4,7
33	23,3	29,3	4,2
34	11,6	16,2	1,8

forma de TU, hay que señalar que, en general, los valores obtenidos no son tan altos como los que se obtienen, por ejemplo, en casos de tabaquismo intenso. De cualquier modo, en la mayoría de casos estudiados se demuestra un aumento de la eliminación de TU tras la exposición al PER.

Si tenemos en cuenta que habitualmente el PER se elimina íntegramente por el pulmón, podemos deducir que la aparición de TU después de la exposición al PER sería un indicio de saturación de la vía principal de eliminación (el pulmón). En este sentido, el aumento de TU en trabajadores expuestos al PER, aun en condiciones ambientales dentro de la legalidad vigente, sería un buen indicador biológico de exceso de exposición. La obtención de patrones basales de cada individuo y el posterior seguimiento a lo largo de exposiciones repetidas al PER nos permitirá conocer el grado real de exposición interna.

Los resultados obtenidos «in vitro» ponen en evidencia que el PER es incapaz de formar tioéteres a menos que sufra un paso oxidativo previo en la fracción microsomal hepática. En este sentido, se validaría la hipótesis emitida hace más de veinte años por Yllner (7) sobre la posible transformación del PER en un intermediario epóxido. Este epóxido se formaría por la acción de los sistemas microsomales hepáticos y sería el responsable de la formación de tioéteres. A la conocida toxicidad del PER, debida a su carácter de disolvente orgánico, se uniría la toxicidad debida al carácter electrofílico del epóxido formado.

Por todo ello, podría pensarse que la aparición de epóxidos y la subsiguiente formación de tioéteres, se iniciaría una vez que las concentraciones hemáticas de PER alcanzaran un cierto umbral, determinado por la concentración ambiental y por el clearance pulmonar; es decir, en concentraciones pequeñas de PER no se llegarían a formar epóxidos porque la concentración de PER en hígado sería pequeña o incluso nula. No obstante, debemos contemplar esta posibilidad con ciertas reservas, ya que cada vez son más evidentes las pruebas de la existencia de procesos de biotransformación pulmonar de fármacos y otros tóxicos que penetran por dicha vía. En este caso no sería de extrañar que el PER se transformara en epóxido en el propio pulmón. Si esto fuera así, el PER sería más tóxico de lo que se cree, ya que incluso en pe-

la concentración molar del inhibidor. En nuestro caso, la K_i del PER fue de $16,6 \times 10^{-4}$ M.

En todas las experiencias realizadas, como se aprecia en las figuras 5 y 6, la inhibición observada es del tipo competitivo.

En los controles con FS pura, sin incubación previa del PER con FM, éste no fue capaz de inhibir la actividad del GST.

En la figura 7 se representa el consumo de GSH tras la incubación con PER, en relación con el que se consume en una experiencia control sin PER (es decir únicamente en presencia de CPNB). Podemos observar cómo en ambos casos el consumo de GSH es evidente, mientras que en condiciones basales (sin CPNB o sin PER) el consumo de GSH es nulo.

Toxicidad hepática. Los resultados de las pruebas funcionales hepáticas de los trabajadores de una empresa de electrodomésticos se recogen en la tabla II. En estos resultados se aprecia que hay 8 individuos con transaminasas y/o gamma-GT elevadas. De ellos, hay 5 que tienen, además, valores altos de GST. Por otra parte, hay 5 sujetos que presentan valores elevados de



GST con valores normales de transaminasas y gamma-GT.

DISCUSION

La determinación de TU se ha demostrado válida para detectar exposiciones a compuestos electrofílicos. En casos específicos (tabaquismo, bromobenceno, estireno, xileno, etc.), el aumento de TU es muy evidente. Hasta la fecha no se habían obtenido datos referentes a la exposición al PER, por ello creemos que los resultados aquí presentados tienen el doble interés de una nueva aplicación de la determinación TU y de la puesta en evidencia de una nueva vía metabólica del PER.

Respecto a la eliminación del PER en



El control periódico de TU puede ser un buen indicador biológico de la exposición crónica al PER.

localizado otros tres casos en los que la GST era normal, siendo los valores de gamma-GT ligeramente altos; en este caso, o bien la elevación de dicho parámetro no es significativa, o se debe a causas extrahepáticas, lo que es poco frecuente. El uso más generalizado de la determinación de la GST podrá, en el futuro, confirmar la utilidad de dicho parámetro analítico.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos «in vitro» ponen en evidencia la necesidad de que el PER se transforme en un derivado oxidado para formar tioéteres. Este derivado oxidado se formaría en la fracción microsomal, y probablemente sería un epóxido.

La formación de epóxidos del PER representaría una nueva vía metabólica no descrita hasta el momento. La importancia de esta vía a nivel sistémico tendría probablemente poco valor en exposiciones controladas. No obstante, se especula sobre la importancia de la formación de epóxidos a nivel pulmonar, en cuyo caso, la trascendencia, aún en exposiciones débiles, sería mayor.

En la mayoría de los casos estudiados, los valores de tioéteres urinarios de individuos expuestos a concentraciones ambientales de PER dentro de la legalidad vigente, aumentan a lo largo del período de exposición.

Puesto que la vía habitual de eliminación del PER es el pulmón, podemos concluir que un aumento de tioéteres

urinarios sería un indicio de que se han saturado los sistemas de detoxificación habituales. Por otra parte, la existencia de estos tioéteres, pone en evidencia la formación de intermediarios epóxidos, altamente reactivos por su mutagenicidad.

La determinación sistemática de tioéteres urinarios en sujetos habitualmente expuestos al PER sería un dato más para controlar el grado real de exposición a dicho disolvente. ■

BIBLIOGRAFIA

- Servicio Social de Higiene y Seguridad del Trabajo; «Estudio efectuado sobre el percloroetileno» (1). *Tintolimp* 1982; 6, 34-36.
- Servicio Social de Higiene y Seguridad en el Trabajo; «Percloroetileno, tetracloretileno $Cl_2C::CCl_2$ ». *Tintolimp* 1983; 12, 22-23.
- IKEDA, M. «Metabolism of trichloroethylene and tetrachloroethylene in human subjects.» *Environ Health Perspect.* 1977; 21, 239-245.
- IKEDA, M., OHTSUJI, J., IMMAMURA, T., y KOMOIKE Y. «Urinary excretion of total trichloro-compounds, trichloroethanol and trichloroacetic acid as a measure of exposure to trichloroethylene and tetrachloroethylene.» *Br. J. Ind. Med.* 1972; 29, 328-333.
- OGATA, M., TAKATSUKA Y., TOMOKUNI, K., y MUROI, K. «Excretion of organic chlorine compounds in the urine of persons exposed to vapours of trichloroethylene and tetrachloroethylene.» *Br. J. Ind. Med.* 1971; 28, 386-391.
- STEWART, R. D., BARETTA, E. D., DOOD MILWAKEE H. C., TORKELSON, T. R. y MIDLAND MICH SC. D. «Experimental human exposure to tetrachloroethylene.» *Arch. Environ Health*, 1970. Feb.; vol. 20, 224-229.
- YLLNER SVEN. «Urinary metabolites of ^{14}C -tetrachloro ethylene in mice.» *Nature*. August 19, 1961; vol. 191, 820.
- HABIG, W. H., PABST, M. J., y JAKOBY, W. B. «Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation.» *J. Biol. Chem.* 1974. Nov. 25; vol. 249, n.º 22, 7130-7139.
- HAYAKAWA, T. «Glutathione S-transferases in the metabolism of foreign compounds.» *Ecotoxicol. Environ Safety*, 1977; 1, 305-309.
- HENDERSON, P. H. «Development and maturation of drug-metabolizing enzymes.» *Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokin.* 1978; 1, 1-14.
- VAN DOORN, R., BORM, P. J. A., LEIJDEKKERS, CH. M., HENDERSON, P. TH. REUVERS, J. y VAN BERGEN, T. J. «Detection and identification of S-methylcysteine in urine of workers exposed to methylchloride.» *Int. Arch. Occup. Environ Health*. 1980; 46, 99-109.
- ELLMAN, G. L. «Tissue sulphhydryl groups.» *Arch. Biochem. Biophys.* 1959; 82, 70-77.
- HAYES, J. D., GILLIGAN, D., CHAPMAN, B. J. y BECKETT, G. J. «Purification of human hepatic glutathione-S-transferases and the development of a radioimmunoassay for their measurement in plasma.» *Clin. Chim. Acta.* 1983; 134, 107-121.

queñas concentraciones ambientales, la transformación a epóxido sería inmediata, en el propio pulmón, con el agravante de que su carácter electrofílico permitiría su fijación a las células pulmonares, causando lesiones en la misma puerta de entrada. Este hecho, además, determinaría que la aparición de TU fuera un indicio de exposición intensa, incluso cuando se hubiera saturado la capacidad de fijación pulmonar del epóxido.

Los resultados de la determinación de la GST plasmática son poco concluyentes. En efecto, en nuestro estudio existen cinco casos con valores de GST plasmática elevados, con pruebas hepáticas normales; en estos casos cabría suponer que existe una lesión hepática incipiente y que la determinación de la GST es un indicador precoz de esta situación. Ahora bien, hemos