



El Colegio de la Frontera Sur

**Biomarcadores de estrés oxidativo y exposición a HAPs en cortadores de caña de la Ribera del río Hondo, Quintana Roo.**

TESIS

**presentada como requisito parcial para optar al grado de  
Maestra en Ciencias en Recursos Naturales y Desarrollo Rural  
Con orientación en Biotecnología Ambiental**

Por

**Citlali Guadalupe Carrillo García**

Chetumal, Quintana Roo, 2020.

## *DEDICATORIA*

*A Lilia María García Alpuche por darme la vida y todo su amor incondicional.*

*A la memoria de Jesús Óscar Carrillo Núñez, siempre conmigo.*

*A mis hermanos Diego y David, los mejores compañeros de vida.*

*A mi familia materna y paterna.*

## AGRADECIMIENTOS

*Agradezco a las personas que han contribuido para lograr este paso en mi formación académica.*

*Al la Dra. Teresa Álvarez Legorreta, por su apoyo, paciencia y enseñanzas, para que pudiera realizar este proyecto.*

*A mis asesores Dra. María Concepción Ortiz Hernández y Dr. Jaime Rendon Von Osten, por sus valiosos comentarios.*

*Al Q.B.P. Alejandro Ortíz, técnico de investigación del laboratorio de Biotecnología Ambiental, por el apoyo y asesoría técnicos que me brindó durante la realización de este proyecto.*

*A la Dra. María de los Ángeles Calixto Romo, Dra. Elia Diego García y a la Dra. Zandy Evelyn Olivo Vidal por aceptar ser mis sinodales y por sus valiosas aportaciones a la tesis.*

*A la familia Díaz Rodríguez por brindarme siempre su apoyo y motivación en el ejido Álvaro Obregón para la realización de este trabajo.*

*Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico brindado para la realización de mis estudios.*

*A mis profesoras, profesores, compañeras y compañeros de la maestría.*

*A todas estas personas especiales, que confiaron en mis aptitudes más que yo misma... Gracias Infinitas.*

# Índice

<b>RESUMEN</b> .....	6
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>2. JUSTIFICACIÓN</b> .....	22
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	24
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	24
<b>5. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	25
5.1. <i>Trabajo de campo</i> .....	27
5.1.1. <i>Área de estudio</i> .....	27
5.1.2. <i>Tamaño de muestra</i> .....	29
5.1.3. <i>Toma de muestras sanguíneas</i> .....	29
5.1.4. <i>Obtención de plasma sanguíneo</i> .....	31
5.1.5. <i>Obtención de eritrocitos hemolizados</i> .....	31
5.2. <i>Análisis en laboratorio</i> .....	31
5.2.1. <i>Lavado de material</i> .....	31
5.2.2. <i>Análisis de CAT y GST en plasma sanguíneo y eritrocitos hemolizados</i> .....	32
5.2.3. <i>Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en plasma sanguíneo</i> .....	34
5.3. <i>Análisis estadístico</i> .....	35
<b>6. RESULTADOS</b> .....	37
6.1. <i>Biomarcadores de estrés oxidativo</i> .....	37
6.1.1. <i>Plasma sanguíneo</i> .....	37
6.1.2. <i>Eritrocitos hemolizados</i> .....	37
6.1.3. <i>Actividad de los biomarcadores</i> .....	38
6.2. <i>Hidrocarburos aromáticos policíclicos</i> .....	44
6.2.1. <i>Concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de plasma</i> .....	44
6.3. <i>Correlación entre biomarcadores de estrés oxidativo y HAPs</i> .....	54
<b>7. DISCUSIÓN</b> .....	60
7.1. <i>Biomarcadores de estrés oxidativo</i> .....	60
7.2. <i>Hidrocarburos aromáticos policíclicos</i> .....	65
7.3. <i>Correlación biomarcadores de estrés oxidativo y HAPs</i> .....	70
7.4. <i>Fuentes potenciales de HAPs</i> .....	73
<b>8. CONCLUSIONES</b> .....	78
<b>9. RECOMENDACIONES</b> .....	79

<b>10. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>80</b>
<b>11. ANEXOS .....</b>	<b>97</b>
<b>12. ARTICULO .....</b>	<b>99</b>

## RESUMEN

En los últimos años, los biomarcadores han sido utilizados para medir la exposición y el efecto de una gran variedad de compuestos contaminantes, y como indicadores para el monitoreo en la salud humana y de animales. Particularmente, enzimas como la CAT y la GST han sido ampliamente utilizadas como biomarcadores de efecto por su capacidad para evaluar el estrés oxidativo ante la exposición a compuestos contaminantes, tales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs). Algunos estudios han reportado la presencia de HAPs en matrices ambientales y biológicas. En sitios cercanos al río Hondo, ubicado en el límite geográfico entre México y Belice, se han reportado concentraciones de HAPs en sedimentos y animales. El presente estudio analiza la presencia de HAPs en el plasma sanguíneo de habitantes de la zona cañera en la ribera mexicana del río Hondo, y evalúa la actividad de catalasa (CAT) y glutatión-S-transferasa (GST) como biomarcadores de estrés oxidativo en eritrocitos y plasma sanguíneo ante la exposición a los HAPs, esto durante el segundo mes de la temporada de zafra de la caña de azúcar. Se estudiaron las muestras de un grupo de cortadores de caña (grupo expuesto; n = 41) y un segundo grupo como control (n = 25). Se colectaron 66 muestras de sangre en total para el estudio. Para el análisis de los biomarcadores de estrés oxidativo, se utilizó la detección por espectrofotometría y para el análisis de HAPs se utilizó cromatografía de gases con detector de ionización de flama. En los eritrocitos, la CAT fue detectada en el 100 % de las muestras (n = 66) con una media de 2,378 U/ml ( $\pm$  521.44) en el grupo expuesto y 2,465 U/ml ( $\pm$  538.83) en el grupo control, sin diferencia estadísticamente

significativa. La GST en eritrocitos fue detectada en el 92 % de las muestras con una media de  $25.6 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 14 \times 10^{-3}$ ) en el grupo expuesto y  $31.6 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 17 \times 10^{-3}$ ) en el grupo control, sin diferencia significativa. En plasma, la GST fue detectada en el 92 % (n = 61) de las muestras con un promedio de  $2.4 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 0.7 \times 10^{-3}$ ) en el grupo expuesto y de  $1.9 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 0.9 \times 10^{-3}$ ) en el grupo control; de acuerdo con el análisis estadístico, existe una diferencia significativa entre la actividad de la GST plasmática del grupo expuesto con respecto al grupo control, lo que apunta a un mayor estrés oxidativo en el grupo expuesto con respecto al grupo control. Principalmente, se detectaron, de acuerdo con la Agencia Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC), HAPs del grupo 1 (benzo(a)pireno), grupo 2B (benzo(a)antraceno) y grupo 3 (antraceno, fluoreno, fluoranteno y fenantreno). La relación entre la actividad de GST en plasma del grupo expuesto y los HAPs tuvo una significancia con acenafteno, benzo(a)antraceno y benzo(a)pireno. Finalmente, a partir del análisis de índices moleculares se sugiere que los HAPs detectados en las 41 muestras de plasma del grupo expuesto provienen de la combustión de la biomasa vegetal, al mismo tiempo 8 casos de este mismo grupo provienen de la combustión de fósiles líquidos y 1 caso proviene de una fuente petrogénica no quemada. En el caso del grupo control, se observa que el 100% de los HAPs en las muestras de plasma provienen de la combustión de la biomasa vegetal. Con este estudio, se reporta por primera vez la presencia de HAPs en plasma en población humana de río Hondo y su asociación con biomarcadores de estrés oxidativo, confirmándose que el incremento de la actividad antioxidante se asocia a la exposición por HAPs.

**Palabras clave:** Caña de azúcar, HAPs, biomarcadores, estrés oxidativo.

## 1. INTRODUCCIÓN

En México, la caña de azúcar se cultiva en 22 estados tanto del sureste como del noreste, superando las 800 mil hectáreas de tierra sembrada. El estado de Quintana Roo forma parte de la región agroindustrial azucarera del sureste del país, junto con Campeche, Tabasco y Chiapas. Actualmente, en Quintana Roo la caña de azúcar se sigue cosechando manualmente, aproximadamente 1,134 cortadores de caña trabajan en la cosecha cada año para el ingenio azucarero San Rafael de Pucté, ubicado en el municipio de Othón P. Blanco, al sur del estado (García-Ortega 2016; SAGARPA 2017; CONADESUCA 2019).

Este proceso de cosecha no mecanizada suele ir precedido de una etapa de preparación que consiste en quemar la caña de azúcar un día antes de la cosecha para eliminar las hojas de los tallos y facilitar el proceso de corte, con lo que se aumenta la productividad y se disminuye el volumen de residuos, favoreciendo la incorporación del residuo al suelo. Este método de quema de biomasa agrícola es responsable de la emisión de grandes cantidades de gases de efecto invernadero, precursores del ozono y material particulado (Prado et al. 2012). Asimismo, existen varios factores que influyen en la extensión espacial de estos contaminantes atmosféricos, como la naturaleza del contaminante (particulado o gaseoso, inerte o reactiva), el tamaño de las partículas, la concentración, el ritmo de emisión y las condiciones meteorológicas tales como la dirección y velocidad del viento, la humedad del aire y la tasa de precipitaciones (Zhou y Levy 2007; Prado et al. 2012).

Una de las principales inquietudes ante la combustión incompleta de esta biomasa es la generación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) dado sus efectos tóxicos sobre la salud. Estos compuestos orgánicos distribuidos ampliamente en el medioambiente contienen dos o más anillos de benceno unidos entre sí. Sus características fisicoquímicas tales como altos puntos de fusión y de ebullición, baja presión de vapor y muy baja solubilidad acuosa, determinan su transporte en el ambiente y su absorción en los tejidos de organismos vivos, los cuales pueden ser susceptibles de presentar un efecto tóxico agudo o crónico por la exposición a estos compuestos. Los HAPs que contienen 2 o 3 anillos aromáticos son conocidos como HAPs livianos y son característicos por sus propiedades físicas y químicas de bajo peso molecular, lo que los hacen candidatos ideales para su dispersión a través de la atmósfera. Por su parte, los que contienen más de cuatro anillos denominados HAPs pesados, se caracterizan por ser más estables y tóxicos, y por tener mayor afinidad por el material particulado como cenizas y con la materia orgánica del suelo, siendo más persistentes en el ambiente (Skupinska et al. 2004; Daly et al. 2007; De Andrade et al. 2010; Martínez 2011; Ortiz-Salinas et al. 2012; Caba et al. 2015; Meléndez et al. 2016).

Estos compuestos emitidos por fuentes antropogénicas, se encuentran asociados con varios efectos negativos en las poblaciones expuestas (por ejemplo, diversos trastornos respiratorios, entre otros. La exposición a corto o largo plazo implica el desencadenamiento de inflamaciones agudas y/o crónicas respiratorias y/o de la piel, así como estrés oxidativo asociado a varias patologías, y también a alteraciones epigenéticas (Prado et al. 2012). Es por ello que la exposición de un

individuo a los compuestos emitidos por fuentes como la quema de biomasa u otras fuentes petrogénicas, debe ser cuantificada y cualificada. Una manera es mediante la medición de marcadores biológicos asociados a la exposición de los compuestos contaminantes. Básicamente, los marcadores biológicos o biomarcadores, hacen referencia a las alteraciones bioquímicas, fisiológicas, morfológicas e histopatológicas inducidas por un xenobiótico en un organismo (Rendón 2005; Buenfil 2014). Los biomarcadores pueden ser clasificados en: biomarcadores de exposición, efecto o susceptibilidad. Los biomarcadores de exposición evalúan en un organismo la presencia de un xenobiótico. Los biomarcadores de efecto evalúan la alteración bioquímica, fisiológica o de comportamiento en un organismo, la cual puede estar asociada a una patología. Mientras, los biomarcadores de susceptibilidad indican la capacidad inherente o adquirida de un organismo para responder ante un xenobiótico (Cançado et al. 2006; Arango 2012).

En un organismo, existen distintas especies reactivas, estas son: las especies reactivas de oxígeno (ERO), las especies reactivas de nitrógeno (ERN), de cloro (ERCl) y Bromo (ERBr), aunque las ERO y ERN son los dos grandes grupos implicados dentro de la biología de oxidación-reducción (redox) (Corrales y Muñoz 2012). Estos conjuntos de moléculas se forman como resultado del metabolismo celular, y se originan tanto en procesos fisiológicos normales como en procesos patológicos. Esta situación es incompatible con la vida, a menos que existan en las células mecanismos de defensa que neutralicen a las especies reactivas de cualquier elemento. Evolutivamente, los organismos hemos desarrollado un sistema

de defensa antioxidante formado por elementos tanto enzimáticos como no enzimáticos, que actúan conjuntamente para así proteger a las células (Corrales y Muñoz 2012). Mantener el control de los niveles de las especies reactivas, permite que a condiciones bajas y moderadas éstas sean beneficiosas dentro de los procesos celulares. En contraste, cuando los niveles de las especies reactivas se elevan pueden generar estrés oxidativo, condición que trae como consecuencia una perturbación en el equilibrio de los mecanismos de defensa y la reacción entre las especies reactivas con moléculas orgánicas, como las proteínas o lípidos, dando como resultado la activación celular de neutrófilos, macrófagos, y liberación de citoquinas, quimiocinas y moléculas de adhesión que pueden generar daños celulares e incluso genéticos (Romieu et al. 2008; Mayor-Oxilia 2010; Meléndez et al. 2016; Meléndez 2018; Carvajal 2019).

En algunos estudios, se ha observado que la presencia de HAPs induce cambios en la actividad de enzimas antioxidantes. Básicamente, una vez que los HAPs ingresan a un organismo, pueden activarse metabólicamente y transformarse mediante una serie de enzimas que catalizan reacciones de oxidación, reducción, hidrólisis y conjugación de estos compuestos (Mastandrea et al. 2005). En primera instancia el sistema citocromo P450 (CYP450) junto con la epóxido hidrolasa son las enzimas responsables de la activación metabólica de los HAPs y de la formación de epóxidos que pueden desencadenar fenoles o dihidrodioles. De estos fenoles algunos son oxidados a quinonas y otros producen epóxidos secundarios (dihidrodiolépóxidos), que son altamente inestables y cuando no reaccionan rápidamente, son hidrolizados a tetroles, además de ser las formas más reactivas

con el ADN (Villa-Cruz 2009). Estos metabolitos son capaces de reaccionar con lípidos, ácidos nucleicos, enzimas y otras moléculas pudiendo causar interferencia con la homeostasis celular, así como enlaces covalentes con alguna guanina del ADN, inducir cambios estructurales y roturas del ADN, además de bloquear la actividad de los sistemas enzimáticos de reparación y provocar errores en su replicación (Armendáriz et al. 2006; Singh et al. 2008; Valavanidis et al. 2011).

Asimismo, la síntesis de las enzimas metabolizadoras de HAPs se debe a la activación del receptor de hidrocarburos de arilos (AhR). Dicha activación del AhR se caracteriza por su translocación al núcleo y la disociación del complejo al cual está unido. Una vez en el núcleo, el AhR, forma un heterodímero con la proteína nuclear del receptor de arilos (ARNT). Este heterodímero AhR/ARNT interacciona con proteínas como histonas y factores remodeladores de cromatina, lo que resulta en la unión del complejo AhR/ARNT a una secuencia de ADN (GCGTGA) conocida como elemento de respuesta a xenobióticos, formando así una secuencia de genes que codifican enzimas de fase I como el citocromo y enzimas de fase II como la GST para convertir a los HAPs en moléculas polares, conjugarlos con moléculas endógenas y poder expulsarlos (Mastandrea et al. 2005; Vázquez-Gómez et al. 2016).

Es así que, a través del conocimiento de la función del sistema de defensa biológico pueden emplearse varias técnicas que permitan evaluar el impacto causado por agentes oxidantes y la actividad del estrés oxidativo. Algunas técnicas ya implementadas son: la evaluación de proteínas (técnica de Lowry y método de Bradford), sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS), actividad de

superóxido dismutasa (SOD), determinación de catalasa (CAT), determinación de la enzima Glutathion peroxidasa (GPx), medición de Glutathion-S- Transferasa (GST), medición de glutathión reducido (GSH) y determinación de nitritos y nitratos. Particularmente, los antioxidantes enzimáticos pueden emplearse potencialmente como herramientas de monitoreo biológico que indiquen el estrés oxidativo en un organismo por la exposición a HAPs. Las defensas antioxidantes enzimáticas incluyen la SOD, GPx y CAT, mientras los antioxidantes no enzimáticos incluyen al ácido ascórbico (Vitamina C), -tocoferol (Vitamina E), GSH, carotenoides, flavonoides y otros antioxidantes, (Valko et al. 2007; Corrales y Muñoz 2012; Lushchak 2014).

La SOD y CAT son parte de la primera línea de defensa contra las ERO. La SOD convierte los radicales superóxido ( $O_2 \bullet$ ) en peróxido ( $H_2O_2$ ), mientras que la CAT y la GPx catalizan la reacción de reducción del  $H_2O_2$  para obtener como productos agua ( $H_2O$ ) y oxígeno molecular ( $O_2$ ), evitando así que se forme el radical hidroxilo ( $\bullet OH$ ) y el oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), especies de oxígeno que son muy reactivas. La regulación de la CAT es una de las respuestas adaptativas más importantes de protección celular (Díaz 2003; Kamal et al. 2015). A nivel celular se ubica en los peroxisomas y resulta más elevada en el hígado y los riñones, utiliza hierro como cofactor para la eliminación de  $H_2O_2$  (Céspedes, et al. 1996).

Por su parte, la GST, tiene como principal función la desintoxicación de compuestos electrofílicos y alquilantes. Esta enzima cataliza la conjugación de GSH a sustratos electrofílicos, generando compuestos menos reactivos y más solubles que son fácilmente eliminados de la célula a través de transportadores de membrana

específicos. Esta enzima evolucionó para proteger a las células contra los metabolitos reactivos del oxígeno, además presentan múltiples reacciones con una multitud de sustratos endógenos y exógenos como los halogenonitrobenzenos, los compuestos organofosforados, esteroides, compuestos carbonílicos  $\alpha,\beta$ -insaturados, haluros de arilo epóxidos, quinonas, isotiocianatos y arilnitrocompuestos (Dasari et al. 2018).

La localización celular de la GST puede variar, aunque se han descrito en el citoplasma, el núcleo, los peroxisomas y la mitocondria (Barreto 2006). También se han identificado expresadas en hígado, bazo, páncreas, cerebro, pulmones, corazón, testículos, riñón, tejido nervioso, eritrocitos y plasma. (Bocedi et al. 2016; Czuczejko et al. 2019).

## **ANTECEDENTES**

Existen diferentes vías por las cuales una gran cantidad de compuestos pueden ingresar a un organismo, estas son: vía inhalatoria, digestiva y dérmica. Básicamente, las poblaciones humanas pueden estar sometidas a exposiciones de tipo ambiental y ocupacional. Particularmente, en algunas personas la principal fuente de exposición a los HAPs ocurre en el lugar de trabajo por la inhalación de gases y partículas, o al entrar en contacto con sustancias o la manipulación de éstas (Agudo 2010). La exposición ocupacional puede considerarse como una forma de exposición ambiental, pero con unas características peculiares. La principal es que la exposición ocupacional tiene lugar a concentraciones mucho

mayores que la exposición ambiental, de igual manera, puede tener variaciones en la concentración durante un período limitado de tiempo. Además, con frecuencia esta exposición ocurre en lugares sometidos a condiciones no habituales de temperatura, y en muchas ocasiones con exposición concomitante a otros compuestos químicos. (Agudo 2010).

La exposición laboral a los HAPs, es muy común, y existe un gran número de industrias y procesos en los que están presentes estos compuestos. En algunos casos la base de la exposición es a causa de la combustión de materia orgánica necesaria para un proceso determinado. En otros se debe a la utilización de productos ricos en HAPs, y en otros más a la exposición secundaria a emisiones de los tubos de escape que contienen HAPs, durante la operación de maquinaria y vehículos de transporte (Agudo, 2010).

La vía de exposición ambiental a los HAPs es fundamentalmente inhalatoria, siendo las fuentes principales: los gases de los tubos de escape de los vehículos, los incendios forestales, y la incineración de desechos industriales, agrícolas y domésticos. También se considera la exposición dentro de las casas, a partir de la combustión de madera y de productos de madera tratados con creosota (Agudo 2010).

Los estudios, han demostrado que la exposición a altos niveles de HAPs puede ocasionar efectos sobre la salud como aumento del riesgo de cáncer, enfermedades respiratorias, arteriosclerosis, daño renal, cambios en la variabilidad de la frecuencia cardíaca (Lodovici y Bigagli 2011; Prado et al. 2012; Leite et al. 2018).

Esto potencialmente debido a que, inicialmente, la exposición por HAPs puede inducir toxicidad en el organismo al interferir con el funcionamiento de componentes celulares, así como con los sistemas de acoplamiento de enzimas, pues los metabolitos de los HAPs pueden causar interrupciones bioquímicas y conducir a la sobre formación de especies reactivas de oxígeno y a la posterior inducción del estrés oxidativo, asociado a múltiples enfermedades (Elejalde 2001; Meléndez et al. 2016).

El estrés oxidativo, fue definido por primera vez en 1985 por el profesor Helmut Sies, como: "un desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes a favor de los oxidantes, que conduce a una alteración de la señalización y el control redox y/o al daño molecular", Según Sies (1985), estos procesos de oxidación, vinculados al oxígeno pueden ser potencialmente peligrosos y constituir la base de una serie de fenómenos fisiológicos y fisiopatológicos. Recientemente se propuso una definición más por Lushchak (2011), indicando que el estrés oxidativo es "una situación en la que la concentración de especies reactivas en estado estable, aumenta de forma transitoria o crónica, perturbando el metabolismo y regulación de componentes celulares". Como se ha descrito anteriormente, en condiciones normales, los organismos vivos mantienen un nivel basal de ERO en estado estacionario dentro de un determinado rango. La homeostasis se da gracias a que los sistemas de generación de ERO se contrarrestan con los sistemas de defensa y eliminación junto con cualquier otro componente que interactúe con las ERO. No obstante, en determinadas circunstancias, este equilibrio puede verse alterado, lo que da lugar a un mayor nivel de ERO en estado estacionario. En este contexto, si los niveles de

ERO en estado estacionario vuelven a su valor inicial a los pocos minutos/horas después de la inducción del estrés, se denomina "estrés oxidativo agudo". Sin embargo, a veces los niveles de ERO no vuelven al rango inicial, sino que se estabilizan a un nivel más alto o simplemente amplían el rango de ERO en estado estacionario que existe en condiciones normales, y en este caso se denominaría "estrés oxidativo crónico" (Lushchak 2011).

Dependiendo de la duración, el EO puede ser agudo (hasta 15 días) o crónico (más de 15 días). Por ejemplo, el EO agudo puede presentarse inmediatamente después de una comida abundante y rica en grasas o poco después de hacer ejercicio. Mientras que el EO crónico puede producirse en fumadores o en pacientes diabéticos que permanecen con hiperglucemia durante periodos prolongados (Ceriello 2006; Halliwell 2012; Villanueva et al. 2013).

Básicamente, el organismo responde al estrés oxidativo con un aumento en la defensa antioxidante. Sin embargo, si el estrés oxidativo es severo o muy prolongado, la defensa antioxidante se desequilibra y pueden afectarse los mecanismos que el organismo desarrolla para contrarrestar el estrés oxidativo. En estas condiciones los radicales libres atacan estructuras celulares como los lípidos, las proteínas o el ADN, y dependiendo de la duración e intensidad del daño, los efectos pueden ser irreversibles (Ceriello 2006).

Es así que, el origen de los efectos nocivos para la salud desencadenados por estos compuestos radica en sus propiedades pro-oxidantes, que pueden inducir estrés oxidativo mediante la producción de radicales libres y la subsecuente activación de

vías de señalización sensibles al redox. Estas vías pueden indicar que la exposición a las partículas contaminantes desencadena respuestas de inflamación sistémica cuando las defensas oxidantes son inadecuadas, siendo, el estrés oxidativo y la inflamación sistémica, resultados de los efectos por exposición a los HAPs (Delfino et al. 2011).

De modo que estudiar el estrés oxidativo resulta sumamente interesante e importante, así como aquellos parámetros indicativos como los biomarcadores que subyacen a los efectos adversos ante la exposición ambiental, e incluso ocupacional de una gran variedad de compuestos contaminantes, tales como los HAPs.

Por ejemplo, Moro y colaboradores (2013) emplearon biomarcadores de estrés oxidativo como herramientas de evaluación ante la exposición a los HAPs. En sus resultados se observó una disminución en la actividad de las enzimas SOD, CAT y GST en el grupo de trabajadores de estaciones de gasolina con respecto al grupo control. Dicha reducción fue acompañada por el aumento de la concentración tras la exposición al benceno y la excreción de su metabolito trans, trans ácido mucónico (t,t-MA).

Por otra parte, Kamal y colaboradores (2015) evaluaron la exposición a los HAPs por contaminación del tráfico en Lahore, Pakistán, en tres grupos expuestos y un grupo control. Para ello estudiaron la actividad de 1-hidroxipireno (1-OHP) empleado como biomarcador de exposición a HAPs y las enzimas antioxidantes como CAT, GSH y GPx, como biomarcadores del estrés oxidativo. En los resultados observaron una fuerte correlación entre el aumento de la concentración de 1-OHP

y el aumento de la actividad de CAT y GSH en el grupo expuesto con respecto a un grupo control.

En otro estudio, Costa-Amaral y colaboradores (2019), emplearon CAT, GST, SOD, MDA y THIOL como biomarcadores de estrés oxidativo por exposición a benceno y, como biomarcadores de exposición emplearon trans,trans ácido-mucónico (ttMA) y Ácido S-fenilmercapturico (S-PMA) que son metabolitos de benceno. En los resultados, la correlación que se obtuvo, indicó una disminución de los biomarcadores de estrés oxidativo y un aumento en los biomarcadores de exposición.

Otro estudio aún más relevante es el de Prado y colaboradores (2012). Ellos compararon la actividad enzimática de un grupo de trabajadores de caña de azúcar, precisamente cortadores de caña, y como grupo control los residentes de Mendoza, en Brasil, durante la temporada de cosecha y no cosecha. En el estudio emplearon como biomarcadores de estrés oxidativo CAT y GST, y como biomarcador de exposición el metabolito 1-OHP. El análisis reveló que la concentración de 1-OHP en los residentes permaneció casi sin cambios en ambos periodos, mientras que, en los trabajadores de la caña de azúcar, este biomarcador se elevó más de 11 veces durante el periodo de cosecha. En cuanto a los biomarcadores de estrés oxidativo, se observó una disminución en la actividad de las enzimas antioxidantes (CAT y GST) durante la temporada de zafra en mayor magnitud en los trabajadores de la caña de azúcar.

Por otra parte, existen estudios relacionados con la quema vegetal de sitios agroindustriales azucareros en los cuales registran cualitativa y cuantitativamente la presencia de los HAPs, situación que podría relacionarse con la salud de los habitantes. De Andrade y colaboradores (2010), en Araraquara (Brasil), registraron concentraciones de HAPs en suelo en temporada de no cosecha ( $2.5 \text{ ng}\cdot\text{m}^3$ ) y en temporada de cosecha ( $11.6 \text{ ng}\cdot\text{m}^3$ ) generados a partir de la quema de las plantaciones de caña, la concentración de los HAPs aumentó casi 5 veces, y de los cuales los más abundantes fueron fenantreno, fluoranteno, y antraceno.

Múgica-Álvarez y colaboradores (2015), también reportaron al antraceno, fenantreno, fluoranteno y pireno como los HAPs más abundantes en suelo, generados por la quema de caña en los municipios de Huixtla, ubicado al sur de Chiapas, y Zacatepec, ubicado en el estado de Morelos. Para ambos sitios, durante la temporada de no cosecha se reportaron concentraciones de HAPs de  $4.95$  y  $2.84 \text{ ng}\cdot\text{m}^3$  respectivamente, mientras que durante la temporada de cosecha ésta incrementó significativamente a  $9.97 \text{ ng}\cdot\text{m}^3$  en Huixtla y  $10.62 \text{ ng}\cdot\text{m}^3$  en Zacatepec.

Álvarez-Legorreta (2014) también reportó en la zona cañera de Quintana Roo, los HAPs generados por la quema vegetal y por la combustión de gasolina. El estudio, realizado en sedimentos de 8 sitios ubicados en la ribera del río Hondo, registró una concentración de  $3.44$  a  $20.30 \text{ }\mu\text{g/g}$  de HAPs, con predominancia de compuestos de 4 a 6 anillos, tales como antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, criseno, pireno, dibenzo(a,h)antraceno, fluoranteno y fenantreno, provenientes principalmente de la combustión de gasolinas del área estudiada y de la ciudad de

Chetumal así como de la combustión de la vegetación de las zonas agrícolas en ambas riberas.

Es pertinente mencionar cómo estos compuestos están asociados a los problemas de salud pública, pues con base a la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (ATSDR) (1995), se presenta una clasificación de los HAPs de mayor toxicidad, entre ellos acenafteno, acenaftileno, antraceno, benzo(a)antraceno, benzo(a)pireno, benzo(e)pireno, benzo(a)fluoranteno, criseno, fluoranteno, fluoreno, fenantreno y pireno. Asimismo, la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) (1996), identificó los HAPs más peligrosos para la salud, ellos fueron: naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, antraceno, fenantreno, fluoranteno, pireno, benzo(a)antraceno, criseno, benzo(a)pireno, benzo(k)fluoranteno, benzo(b) fluoranteno, benzo(g,h,i)perileno, dibenzo(a,h) antraceno, indeno(1,2,3-c,d)pireno.

También, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) (2010) identificó un grupo de HAPs como carcinogénicos para los humanos: benzo(a)pireno (1), criseno (2A), dibenzo(a,h)antraceno(2A), benzo(a)antraceno (2B), benzo(b)fluoranteno (2B), benzo(j)fluoranteno (2B), benzo(k)fluoranteno (2B), indeno(1,2,3-c,d)pireno(2B), fenantreno (2B), fluorantreno (2B), antraceno (2B) y pireno (2B). En donde el grupo 1 se refiere a aquellos compuestos cancerígenos para los humanos; el grupo 2A son probablemente cancerígenos (existen pruebas sólidas, pero no son concluyentes) y el grupo 2B en el que encuentran los compuestos posibles cancerígenos para los humanos (es decir, que existen algunas evidencias, pero están lejos de ser concluyentes) y el grupo 3 que corresponde a

evidencia suficiente en los animales de experimentación (IARC 2010; Quijano y Meléndez 2014; Quijano et al. 2015).

El registro de los HAPs generados por la quema de biomasa vegetal encontrados en distintos sitios, permite dimensionar la magnitud de la exposición en la que se encuentran inmersos múltiples grupos poblacionales. Por tanto, un análisis toxicológico resulta una buena oportunidad para emplear biomarcadores para una evaluación de estrés oxidativo, a manera de sistematizar la utilización de estas herramientas en el diagnóstico de los efectos adversos por contaminantes como los HAPs.

## **2. JUSTIFICACIÓN**

En los últimos años, se ha demostrado que la presencia de HAPs en el organismo, induce el estrés oxidativo, el cual está asociado a múltiples enfermedades. En las zonas rurales, la quema de la caña de azúcar emite una gran cantidad de HAPs, lo que representa un potencial riesgo para la salud de la población local y de sitios vecinos, pero sobre todo para los trabajadores de caña de azúcar, quienes se encuentran en contacto directo con la biomasa quemada y en constante inhalación de estas partículas. La zona cañera de la ribera del río Hondo, cuenta con estudios de HAPs presentes en suelos y animales, por lo que estudiar la exposición en humanos, puede ampliar el panorama sobre el impacto ambiental por parte de estos contaminantes.

Los biomarcadores de estrés oxidativo son una buena herramienta que permiten observar los efectos por la exposición a los HAPs. La actividad de las enzimas antioxidantes como CAT y GST se han implementado en una amplia variedad de estudios y organismos como biomarcadores de estrés oxidativo y así poder monitorear y evaluar la exposición ambiental por HAPs.

Por consiguiente, en este estudio, se evaluó el estrés oxidativo mediante la actividad de dos enzimas antioxidantes: CAT y GST, y su posible influencia por los HAPs generados por la quema de caña durante la temporada de zafra, en el ejido de Álvaro Obregón dado las características de mayor extensión de cultivo y mayor productividad, lo que podría sugerir una mayor cantidad de emisión de HAPs. Esto en un grupo de cortadores de caña de azúcar, quienes dado la naturaleza de su trabajo se encuentran más expuestos a los HAPs.

Pregunta de investigación

¿Los cortadores de caña del ejido Álvaro Obregón presentan estrés oxidativo asociado a la exposición ocupacional a hidrocarburos aromáticos policíclicos por la quema de caña de azúcar durante la temporada de zafra?

### **3. OBJETIVOS**

#### **General.**

Evaluar el estrés oxidativo en cortadores de caña de azúcar y residentes del ejido Álvaro Obregón expuestos a los HAPs durante la temporada de zafra, mediante la actividad de las enzimas CAT y GST en muestras de sangre.

#### **Específicos**

- Cuantificar la actividad de CAT y GST en cortadores de caña y en residentes del ejido Álvaro Obregón durante la temporada de zafra.
- Determinar la concentración de los HAPs en cortadores de caña y en residentes del ejido Álvaro Obregón durante la temporada de zafra.
- Evaluar si existe relación entre la concentración de HAPs y la actividad de CAT y GST.

### **4. HIPÓTESIS**

El grupo expuesto, correspondiente a los cortadores de caña de azúcar, presentará mayor estrés oxidativo que el grupo control, dado la exposición ocupacional a hidrocarburos aromáticos policíclicos generados por la quema de caña de azúcar.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

Para los fines de esta investigación, se consideró necesario presentarse ante las autoridades del ejido, líderes y grupos cañeros, así como solicitar el consentimiento informado de cada voluntario para la toma de muestras sanguíneas y el uso de sus datos obtenidos mediante una breve encuesta informativa (ANEXO 1 y 2). Dada la naturaleza del estudio, el trabajo se mantuvo acorde a las normas éticas que rigen la investigación científica. Estos aspectos fueron revisados y aprobados por el Comité de Ética para la Investigación de Ecosur.

Se estableció comparar el estrés oxidativo de dos grupos. En el primero, denominado grupo expuesto, participaron 41 voluntarios, todos residentes del ejido, y trabajadores en el corte de caña, también realizan trabajo en el ciclo completo de la caña de azúcar, lo que incluye actividades de siembra, fumigación y cosecha. El rango de edades de este grupo osciló entre los 13 y 76 años, ambos grupos (expuesto y control) fueron categorizados con base a la clasificación de grupos etarios del Consejo Nacional de Población (CONAPO, 2000): jóvenes de 13 a 25 años; adultos de 26 a 59 años; adultos mayores de 60 años en adelante. La encuesta realizada a este grupo reveló que el 28 % de los participantes fuman. En cuanto a la exposición ocupacional, 100 % trabaja 8 o más horas en el corte de caña, el 41 % ha trabajado en el corte de caña por más de 10 años, el 33 % más de 5 años y el 26 % entre 1 y 5 años. También el 26 % ha presentado afecciones a la salud durante la cosecha de la caña, como tos, dolor de cabeza, visión borrosa, comezón, mareos, irritación en los ojos, calentura, cansancio y expulsión de fluidos mucosos negros.

Por su parte, el grupo denominado control incluyó 25 voluntarios, también residentes del ejido, que se dedican a trabajos como soldador, chofer, enfermero, carnicero, comerciante, mecánico, campesinos en su mayoría y estudiantes. El rango de edad osciló también entre los 13 a 76 años. Asimismo, la encuesta reveló que el 28 % son fumadores y que el 100 % de este grupo utiliza fogón para cocinar, aunque éste se encuentra afuera de sus casas. El 8 % mencionó que, durante la temporada de zafra, presentan afecciones de salud como problemas respiratorios y dolor de cabeza. El 16 % señaló contar con una enfermedad diagnosticada como diabetes e hipertensión.

Además de la encuesta informativa realizada a los grupos de estudio, se consideraron como antecedentes los informes del centro de salud rural de Álvaro Obregón, el cual cuenta con un registro de las afecciones presentes en la población. Siendo, las afecciones respiratorias agudas y crónicas el primer padecimiento reportado predominantemente en niños y en mujeres, y en menor medida en hombres; aunque en el caso de los hombres se señala que acuden con menor frecuencia a las consultas médicas y se presentan mayormente cuando se trata de una situación grave de salud o ante una emergencia. Algunas afecciones específicas reportadas en la población incluyen la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquitis crónica, rinoфаринgitis, faringoamigdalitis, otitis y otras afecciones como la dermatitis, enfermedades diarreicas, infecciones urinarias e infecciones micóticas, entre otras. Las causas de dichas afecciones pueden ser multifactoriales, no obstante, estas pueden mantener una estrecha relación con la exposición por combustión de biomasa vegetal. (Boopathy et al. 2002).

## *5.1. Trabajo de campo*

### *5.1.1. Área de estudio*

La ribera del Río Hondo, se localiza al sur del estado de Quintana Roo (figura 1), en ella se ubica la zona cañera del estado, alrededor de 29,300 ha son cosechadas por los aprox. 1,134 cortadores de caña (García-Ortega, 2016). Esta zona abarca los ejidos: Juan Sarabia, Sergio Butrón Casas, Carlos A. Madrazo, Sac-xan, Palmar, Ramonal, Allende, Sabidos, Álvaro Obregón, Pucté, Cacao, Cocoyol, San Francisco Botes y Nuevo Guadalajara, siendo los ejidos de Álvaro Obregón y Pucté las zonas con mayor extensión del cultivo de caña con 6,093 y 4,233 ha respectivamente (Ramos-Valencia 2012).

En 2019, Benjamín Gutiérrez Reyes, líder de la asociación de productores de caña de la Confederación Nacional de Productores Rurales (CNPR), informó que los ejidos de mayor productividad de la Ribera del Río Hondo corresponden a Álvaro Obregón, Pucté, Cacao, Sergio Butrón Casas y Sabidos. Por consiguiente, el ejido de interés en este estudio es Álvaro Obregón (Figura 1) dado las características de mayor extensión de cultivo y mayor productividad, lo que podría sugerir una mayor cantidad de emisión de HAPs.

En el año del estudio (2020), la temporada de zafra en el ingenio San Rafael de Pucté se estimó para el periodo del 2 de enero al 30 de mayo (CONADESUCA, 2020).

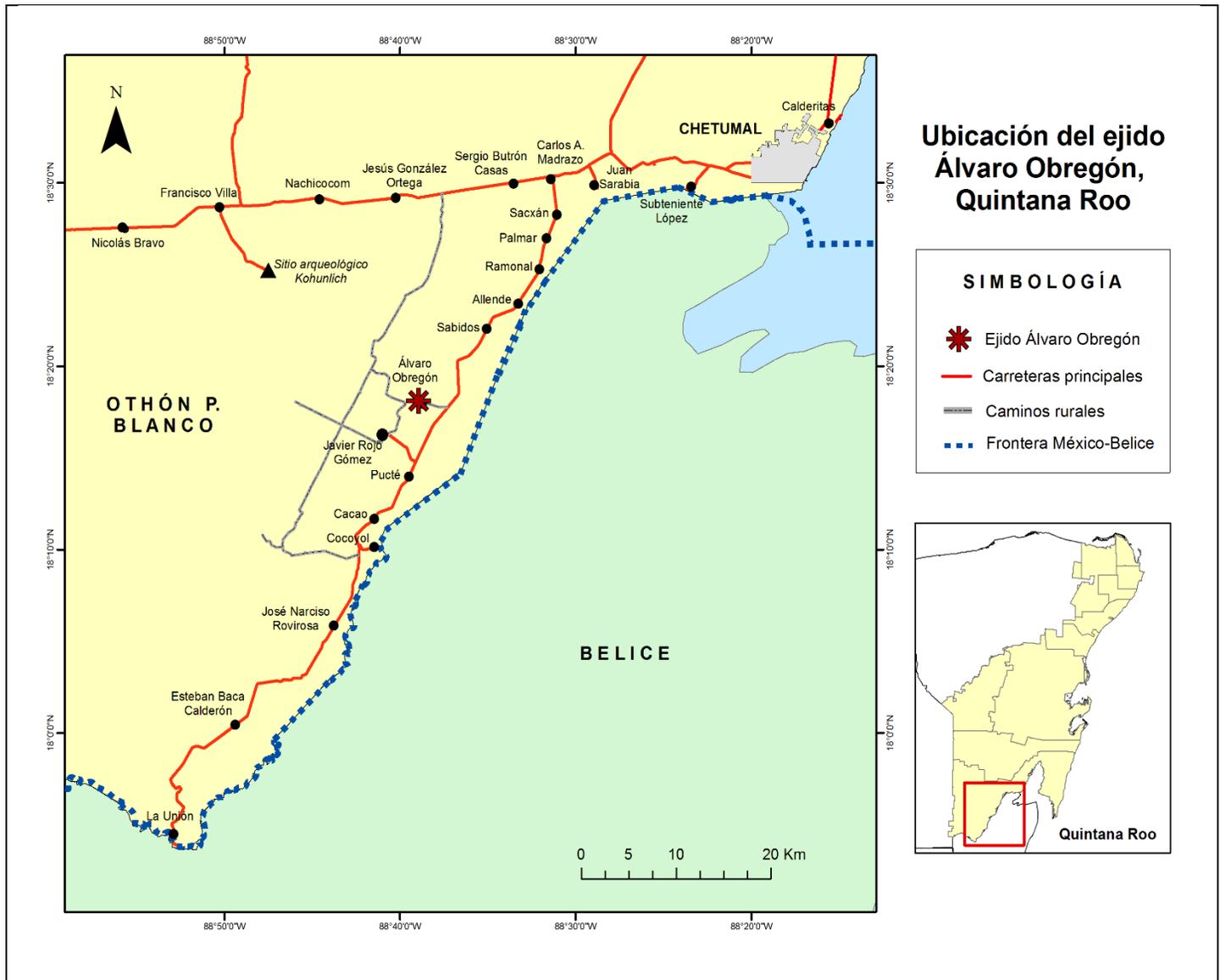


Figura 1. Mapa de ubicación del ejido Álvaro Obregón, Quintana Roo.

### *5.1.2. Tamaño de muestra*

En este estudio se pretende obtener un primer acercamiento a la evaluación de biomarcadores de estrés oxidativo en respuesta a la exposición a hidrocarburos aromáticos policíclicos, para lo cual participaron 66 voluntarios (residentes todos) del ejido Álvaro Obregón, zona cañera del río Hondo, Quintana Roo. Dado el enfoque experimental del trabajo, se consideró el rango entre 30 y 60 participantes, que es la cantidad de muestras correspondientes para un estudio piloto, y la cual sería suficiente para obtener una curva de normalidad (García-García et al. 2013; Mora et al. 2015).

### *5.1.3. Toma de muestras sanguíneas*

La toma de muestras del grupo de cortadores de caña se realizó en dos días. La primera toma se realizó en el sitio de trabajo que correspondió a uno de los cañales referido como “La Ceiba”. La segunda toma se realizó una semana después a unos metros del sitio del corte. Ambas tomas se realizaron al finalizar la jornada laboral con ayuda de personal médico. Para el caso del grupo control, éstos fueron citados en el centro de salud del ejido y otras muestras fueron tomadas en las casas de los voluntarios, estas tomas se realizaron en un solo día, una semana después de la toma del grupo expuesto.

Se tomaron aproximadamente 6 ml de sangre mediante punción venosa, con el sistema Vacutainer en tubos con EDTA. Una vez obtenida la sangre, se mezcló cuidadosamente por inversión, se etiquetaron de acuerdo con un código de marcaje, se trasladaron al laboratorio y se almacenaron a -20°C.



Figura 2. Obtención de muestras de sangre de los cortadores de caña.  
Foto: C. Carrillo-García y J. Díaz-Rodríguez.

#### *5.1.4. Obtención de plasma sanguíneo*

El plasma sanguíneo se separó por centrifugación a 3000 RPM durante 15 min, éste fue separado en dos alícuotas: 0.1 ml para el análisis de biomarcadores (CAT y GST) por espectrofotometría y 1.5 ml para el análisis de HAPs por cromatografía de gases. Las alícuotas se almacenaron a -20°C hasta sus respectivos análisis.

#### *5.1.5. Obtención de eritrocitos hemolizados*

Para el análisis de biomarcadores en eritrocitos hemolizados, una vez removido el plasma del tubo Vacutainer, se tomó una muestra de 0.1 ml del paquete celular y se transfirió a un tubo Eppendorf de 2 ml. Éstos se almacenaron a -20°C hasta su respectivo análisis.

### *5.2. Análisis en laboratorio*

#### *5.2.1. Lavado de material*

Todos los materiales fueron lavados con soluciones ácidas ( $\text{HNO}_3$  5% y HCl 1N), detergente libre de fosfatos (EXTRAN neutro) en solución 1:1 y agua ultrapura. Para el material empleado en cromatografía se utilizaron solventes grado HPLC. Todo el material se dejó secar por lo menos 24 horas y fue almacenado hasta los respectivos análisis.

### *5.2.2. Análisis de CAT y GST en plasma sanguíneo y eritrocitos hemolizados*

La actividad de catalasa en plasma se analizó mediante la metodología de Aebi (1984). En primera instancia las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente. Seguidamente, en un tubo Eppendorf se colocaron 25  $\mu$ l de plasma y 475  $\mu$ l de solución buffer (fosfato de potasio pH=7, 0.05M) (factor de dilución 1:20) y se homogeneizaron. Posteriormente, se preparó la solución de reacción constituida por buffer y peróxido de hidrógeno. Para la lectura de la actividad de catalasa, se utilizaron microplacas de acrílico a las que se les adicionaron 200  $\mu$ l de plasma y 100  $\mu$ l de solución de reacción. La actividad del biomarcador fue leída en un espectrofotómetro Genesys 10uv Thermo® a una absorbancia de 240 nm. La actividad de catalasa fue expresada en  $\mu$ mol/min/ml.

Para la GST plasmática, se utilizó la metodología de Habig y colaboradores (1974) mediante el método espectrofotométrico. Después de que las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, se colocaron en un tubo Eppendorf 50  $\mu$ l de plasma y 450  $\mu$ l de solución buffer (fosfato de potasio pH=6.5, 1M) (factor de dilución 1:10) y se homogeneizaron. Posteriormente se preparó la solución de reacción constituida por buffer, enzima GSH (L-Glutathione reduced Sigma-Aldrich®) y el reaccionante 1-Chloro-2,4-Dinitrobenzeno (CDNB). Para la lectura se utilizaron microplacas de poliacrílico a las que se les adicionaron 100  $\mu$ l de plasma y 200  $\mu$ l de solución de reacción. La actividad del biomarcador fue leída en un espectrofotómetro Genesys 10uv Thermo® a una absorbancia de 340 nm. Su actividad fue expresada en nmol/min/ml.

Los biomarcadores en eritrocitos, se analizaron, una vez removido el plasma del tubo Vacutainer, para ello, se tomó una muestra de 0.1 ml del paquete celular y se transfirió a un tubo Eppendorf de 2 ml. Estos se almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta su respectivo análisis. Posteriormente, las muestras fueron descongeladas a temperatura ambiente. Seguidamente se agregaron 1000  $\mu\text{l}$  de agua ultrapura y se continuó con centrifugación. En este punto se obtuvieron dos fases, los eritrocitos hemolizados y las membranas de los eritrocitos hemolizados conocidas como "ghost". Se separó el ghost de los eritrocitos hemolizados. Para el análisis de CAT se tomaron 4  $\mu\text{l}$  de eritrocitos hemolizados y se colocaron en un tubo Eppendorf junto con 996  $\mu\text{l}$  de buffer (Factor de dilución 250). Para la lectura del biomarcador se utilizaron microplacas de acrílico a las que se les adicionaron 200  $\mu\text{l}$  de eritrocitos hemolizados y 100  $\mu\text{l}$  de solución reacción.

En el caso de la GST, se tomaron 10  $\mu\text{l}$  de eritrocitos hemolizados y se colocaron en un tubo Eppendorf junto con 990  $\mu\text{l}$  de buffer (Factor de dilución 100). Para la lectura del biomarcador se utilizaron microplacas de poliacrílico a las que se les adicionaron 100  $\mu\text{l}$  de la alícuota de eritrocitos hemolizados y 200  $\mu\text{l}$  de solución reacción.

Esencialmente, para expresar los resultados en una misma medida, se homogeneizaron las unidades de la actividad de los biomarcadores a U/ml.

Equivalentes:

- $U = \mu\text{mol}/\text{min}$
- $1 \mu\text{mol} = 1,000 \text{ nmol}$

Tabla 1. Ejemplo. Valores homólogos de la actividad media de los biomarcadores en muestras totales.

Actividad	GST plasma	GST eritrocitos	CAT eritrocitos
unidades	2.228 nmol/min/ml	28.204 nmol/ min/ ml	2,411 $\mu$ mol/ min/ ml
unidades homogeneizadas	$2.2 \times 10^{-3}$ U/ml	$28.2 \times 10^{-3}$ U/ ml	2,411 U/ ml

### 5.2.3. Análisis de hidrocarburos aromáticos policíclicos en plasma sanguíneo

Los análisis de extracción, determinación y cuantificación de HAPs se llevaron a cabo en el Laboratorio de Biotecnología Ambiental de El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Unidad Chetumal. Se analizaron en total 16 HAPs, los cuales fueron elegidos por representar una toxicidad considerable con impactos negativos en la salud y que además han sido evaluados con mayor frecuencia en los programas de vigilancia de contaminantes (González 2015). Para la extracción de HAPs, se utilizó la metodología de Pleil y colaboradores (2010) con algunas modificaciones. Básicamente, la técnica consiste en preparar un medio de extracción con Hexano/Diclorometano (80/20), colocar 10 ml del medio en tubos de 10 ml y añadir de 1 a 1.5 ml de plasma, seguido de una agitación en vortex por 20 segundos; otra agitación por 40 min en una plataforma de eje de balancín y centrifugación a 3000 rpm por 5 min a  $-20^{\circ}\text{C}$ . Las muestras se transfirieron a tubos de 12 ml y finalmente fueron evaporados a sequedad con una corriente de gas nitrógeno de ultra pureza. Para la determinación de los analitos, las muestras fueron reconstituidas con hexano, posteriormente se inyectó 1  $\mu$ l de extracto de muestra en un cromatógrafo de gases Agilent modelo 7890A, con detector de ionización de flama y una columna

capilar HP-5 (30 m de longitud x 0.320 mm d.i. x 0.25 µm de grosor de película). El programa de temperaturas fue: temperatura inicial 90°C (2 min), calentamiento a 180°C a una tasa de 10 ° C/ min, calentamiento a 300°C a una tasa de 6°C/min durante 15 min. Para la identificación de HAPs se utilizó un estándar (SUPELCO EPA-610) con una mezcla de 16 compuestos (Álvarez-Legorreta, 2014). El límite de detección fue de 0.08 a 0.125 µg/ml. Se corrieron blancos con cada serie de muestras procesadas. Todos los solventes utilizados fueron grado HPLC. Los resultados se reportaron en µg/ml de plasma. De las muestras analizadas, no se hicieron réplicas, debido a que no se contó con suficiente volumen de muestra que la técnica requiere.

### *5.3. Análisis estadístico*

Los análisis estadísticos se realizaron con el programa IBM SPSS Statistics versión 25. El tamaño total de muestras fue de 66 personas (varones todos) en un rango de edad de entre 13 a 76 años.

En primera instancia, para los biomarcadores se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov ( $n > 50$ ) que indicó una distribución normal para CAT y GST en eritrocitos, por lo que se emplearon pruebas paramétricas. En el caso de GST en plasma se obtuvo una distribución no normal, por lo que se emplearon pruebas no paramétricas. Dado que CAT en plasma presentó valores por debajo del límite de detección mediante el método empleado, se omitió el cálculo estadístico del biomarcador en dicha matriz.

Asimismo, se utilizó la prueba de t de Student para evaluar diferencias entre la actividad de CAT y GST en eritrocitos y los grupos de estudio (expuesto y control). También se utilizó t de Student para los parámetros demográficos: “consumo de tabaco” y “horas en el corte de caña”. Se utilizó ANOVA para los parámetros: “grupos de edad”, “afecciones en la salud”, “tiempo trabajado en el corte de caña”.

La prueba U de Mann-Whitney se empleó para evaluar diferencias entre la actividad de GST en plasma y los grupos de estudio (expuesto y control), y los parámetros “consumo de tabaco” y “horas en el corte de caña”. La prueba Kruskal-Wallis se empleó para los parámetros “grupos de edad”, “afecciones a la salud” y “tiempo en el corte de caña”.

Por su parte, los datos de los HAPs presentaron una distribución no normal, por lo que se emplearon las pruebas de U de Mann-Whitney para los parámetros demográficos “consumo de tabaco” y “horas en el corte de caña” y la prueba de Kruskal-Wallis para los parámetros: “grupos de edad” y “tiempo trabajado en el corte de caña”.

Finalmente, se realizaron correlaciones de Spearman para detectar relaciones entre la actividad de los biomarcadores y las concentraciones de los HAPs individuales y totales. Seguidamente se efectuaron regresiones lineales para observar la relación entre los biomarcadores y los HAPs y así determinar si son estadísticamente significativos o no.

Todas las pruebas estadísticas empleadas se consideraron con un nivel de confianza del 95 % ( $p \leq 0.05$ ).

## 6. RESULTADOS

En total se colectaron 66 muestras de sangre correspondientes a un grupo expuesto (n= 41) y un grupo control (n= 25) obtenidas en el mes de febrero del 2020. Se procesaron las 66 muestras para analizar los biomarcadores de estrés oxidativo en eritrocitos y en plasma, e hidrocarburos aromáticos policíclicos en plasma.

### 6.1. Biomarcadores de estrés oxidativo

#### 6.1.1. Plasma sanguíneo

La actividad de GST en plasma fue detectada en el 92 % (n= 61) de las muestras con un promedio de  $2.4 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 0.71 \times 10^{-3}$ ) en el grupo expuesto y de  $1.9 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 0.92 \times 10^{-3}$ ) en el grupo control. Para el 8% restante de las muestras no se obtuvieron valores detectables.

#### 6.1.2. Eritrocitos hemolizados

La actividad de catalasa en los eritrocitos hemolizados fue detectada en 100 % de las muestras con un valor medio de 2,378 U/ml ( $\pm 521.44$ ) en el grupo expuesto y de 2,465 U/ml ( $\pm 538.83$ ) en el grupo control. Así mismo, la actividad de GST en los eritrocitos hemolizados fue detectada en 92 % de las muestras con un promedio de  $25.6 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 14 \times 10^{-3}$ ) en el grupo expuesto y de  $31.6 \times 10^{-3}$  U/ml ( $\pm 17.5 \times 10^{-3}$ ) en el grupo control. Para el 8 % restante de las muestras no se obtuvieron valores detectables.

### *6.1.3. Actividad de los biomarcadores*

Se analizó la relación de la actividad de los biomarcadores CAT y GST con los distintos parámetros demográficos y entre el grupo expuesto y grupo control. A groso modo, se observa en los biomarcadores eritrocitarios de acuerdo con los grupos de edad, mayor actividad de CAT en los adultos mayores del grupo control, seguido de los jóvenes y por último en los adultos. En el caso de la actividad de GST en eritrocitos, se obtuvo mayor actividad en los adultos del grupo control, seguido de los adultos mayores y por último en los jóvenes. La actividad de GST en el plasma del grupo control fue mayor en los adultos, seguido de los jóvenes y finalmente en los adultos mayores (Figura 3). No obstante, no hubo diferencias significativas entre la actividad de los biomarcadores y los grupos de edad al igual que tampoco lo hubo con los parámetros “consumo de tabaco” y “afecciones a la salud” (Tabla 2). En el grupo expuesto, se observa mayor actividad de CAT eritrocitaria en el grupo de los adultos mayores, seguido de los jóvenes y desciende hacia los adultos. Por su parte, la actividad de GST eritrocitaria fue mayor en los jóvenes, seguido de los adultos y por último en los adultos mayores. Finalmente, la GST plasmática presentó mayor actividad en los adultos, seguido de los jóvenes y por último en los adultos mayores (Figura 3). Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre la actividad de los biomarcadores y los grupos de edad al igual que con los parámetros “tiempo trabajado en el corte de caña”, “horas trabajadas”, “consumo de tabaco” y “afecciones a la salud” (Tabla 3).

Otro análisis (Tabla 4) realizado entre el grupo expuesto y grupo control, revela que la actividad de CAT y GST eritrocitaria es mayor en el grupo control, sin embargo, estas no presentan una diferencia estadísticamente significativa (Figura 4 y 5). Por su parte, la GST plasmática presenta mayor actividad en el grupo expuesto, toda vez que se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa con respecto al grupo control (Figura 6). Adicionalmente, puede observarse que la actividad de GST en los eritrocitos es mayor que la actividad de GST plasmática.

Tabla 2. Análisis comparativo de parámetros demográficos y actividad de los biomarcadores de estrés oxidativo en eritrocitos y plasma en muestras del grupo control.

Parámetros demográficos	Grupo control (n=25)			p valor		
				CAT eritrocitos	GST eritrocitos	GST plasma
Grupos de edad (años)	CAT eritro (U/ml) <sup>a</sup>	GST eritro (U/ml) <sup>a</sup>	GST plasma (U/ml) <sup>a</sup>	<b>0.532</b> <sup>c</sup>	<b>0.735</b> <sup>c</sup>	<b>0.488</b> <sup>f</sup>
Jóvenes	2557(±489)	28x10 <sup>-3</sup> (±12x10 <sup>-3</sup> )	1.6x10 <sup>3</sup> (±0.3x1 <sup>-3</sup> )			
Adultos	2364(±578)	34x10 <sup>-3</sup> (±21x10 <sup>3</sup> )	2.2x10 <sup>-3</sup> (±1.1x10 <sup>-3</sup> )			
A.Mayores	2758(±565)	29x10 <sup>-3</sup> (±11x10 <sup>3</sup> )	1.5x10 <sup>-3</sup> (±0.3x10 <sup>-3</sup> )			
Consumo de tabaco <sup>b</sup>	Sí: 7 (28) No: 18 (72)			<b>0.102</b> <sup>d</sup>	<b>0.848</b> <sup>d</sup>	<b>0.708</b> <sup>e</sup>
Afecciones a la salud por zafra <sup>b</sup>	Respiratorios: 3 (12) Piel: - Resp. y piel: - Otros: 1 (4) Ninguno: 21 (84)			<b>0.343</b> <sup>c</sup>	<b>0.892</b> <sup>c</sup>	<b>0.248</b> <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Actividad media (desv. estándar)

<sup>b</sup> Frecuencia (Porcentaje)

<sup>c</sup> Análisis comparativo mediante la prueba ANOVA

<sup>d</sup> Análisis comparativo mediante la prueba t de Student

<sup>e</sup> Análisis comparativo mediante la Prueba U de Mann-Whitney

<sup>f</sup> Análisis comparativo mediante la prueba Kruskal-Wallis

Tabla 3. Análisis comparativo de parámetros demográficos y actividad de los biomarcadores de estrés oxidativo en eritrocitos y plasma en muestras del grupo expuesto.

Parámetros demográficos	Grupo expuesto (n=41)			P valor		
				CAT eritrocitos	GST eritrocitos	GST plasma
Grupos de edad (años) jóvenes Adultos AMayores	CAT eritro (U/ml) <sup>a</sup>	GST eritro (U/ml) <sup>a</sup>	GST plasma (U/ml) <sup>a</sup>	<b>0.170</b> <sup>c</sup>	<b>0.760</b> <sup>c</sup>	<b>0.537</b> <sup>f</sup>
	2478(±567)	26x10 <sup>-3</sup> (±13x10 <sup>-3</sup> )	2.3x10 <sup>-3</sup> (±0.6x10 <sup>-3</sup> )			
	2200(±491)	24x10 <sup>-3</sup> (±16x10 <sup>-3</sup> )	2.5x10 <sup>-3</sup> (±0.8x10 <sup>-3</sup> )			
	2597(±247)	22x10 <sup>-3</sup> (±2x10 <sup>-3</sup> )	2.2x10 <sup>-3</sup> (±0.7x10 <sup>-3</sup> )			
Tiempo trabajando en el corte de caña <sup>b</sup>	1 a 5 años: 11 (26.8) 5 a 10 años: 12 (29.3) Mas de 10 años: 18 (43.9)			<b>0.167</b> <sup>c</sup>	<b>0.132</b> <sup>c</sup>	<b>0.183</b> <sup>f</sup>
Horas que trabaja en el corte de caña <sup>b</sup>	8 horas: 15 (37) Más de 8 horas: 26 (63)			<b>0.438</b> <sup>d</sup>	<b>0.393</b> <sup>d</sup>	<b>0.422</b> <sup>e</sup>
Consumo de tabaco <sup>b</sup>	Sí: 13 (31.7) No: 28 (68.3)			<b>0.837</b> <sup>d</sup>	<b>0.782</b> <sup>d</sup>	<b>0.538</b> <sup>e</sup>
Afecciones a la salud por zafra <sup>b</sup>	respiratorios: 5 (12.2) Piel: 2 (4.9) Resp. y piel: 2 (4.9) Otros: 4 (9.7) Ninguno: 28 (68.3)			<b>0.795</b> <sup>c</sup>	<b>0.510</b> <sup>c</sup>	<b>0.766</b> <sup>f</sup>

<sup>a</sup> Actividad media (desv. estándar)

<sup>b</sup> Frecuencia (Porcentaje)

<sup>c</sup> Análisis comparativo mediante la prueba ANOVA

<sup>d</sup> Análisis comparativo mediante la prueba t de Student

<sup>e</sup> Análisis comparativo mediante la Prueba U de Mann-Whitney

<sup>f</sup> Análisis comparativo mediante la prueba Kruskal-Wallis

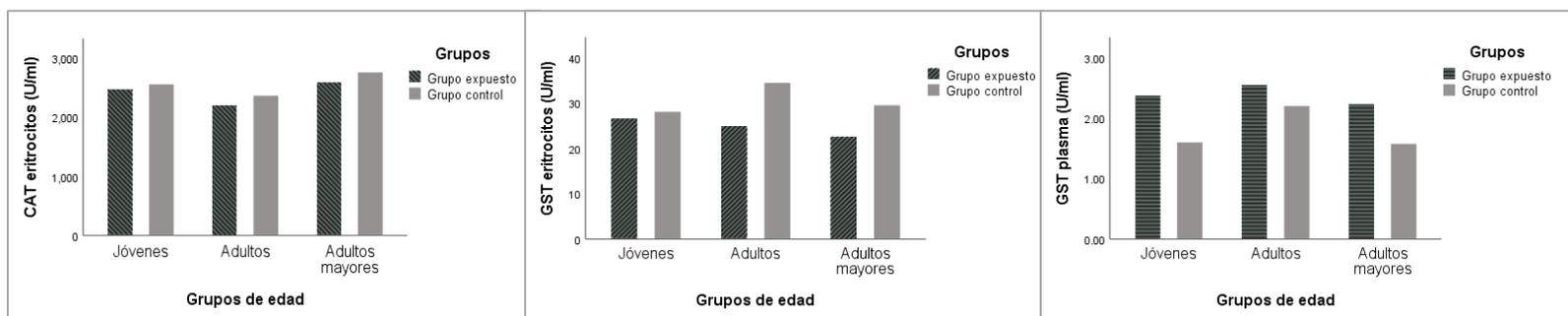


Figura 3. Actividad de CAT y GST en el grupo expuesto y control en función a los grupos de edad.

Tabla 4. Análisis comparativo de la actividad de los biomarcadores de estrés oxidativo en eritrocitos y plasma en muestras del grupo expuesto y grupo control.

Biomarcadores de EO	Grupo expuesto N=41	Grupo control N=25	<i>p</i> valor
CAT eritrocitos (U/ml) <sup>a</sup>	2,461 (771.50) 2,378.09 (±521.44) 1,248 – 3315	2,523 (903) 2,465.40 (±538.83) 1,386 – 3274	<b>0.517</b> <sup>b</sup>
GST eritrocitos (U/ml) <sup>a</sup>	22.7x10 <sup>-3</sup> (24x10 <sup>-3</sup> ) 25.6x10 <sup>-3</sup> (±14x10 <sup>-3</sup> ) 4.16x10 <sup>-3</sup> – 62.7x10 <sup>-3</sup>	29.1x10 <sup>-3</sup> (25x10 <sup>-3</sup> ) 31.6x10 <sup>-3</sup> (±17.5x10 <sup>-3</sup> ) 5.16x10 <sup>-3</sup> – 68.06x10 <sup>-3</sup>	<b>0.182</b> <sup>b</sup>
GST plasma (U/ml) <sup>a</sup>	2.42x10 <sup>-3</sup> (0.88x10 <sup>-3</sup> ) 2.40x10 <sup>-3</sup> (±0.71x10 <sup>-3</sup> ) 1.03x10 <sup>-3</sup> – 3.83x10 <sup>-3</sup>	1.49x10 <sup>-3</sup> (0.48x10 <sup>-3</sup> ) 1.95x10 <sup>-3</sup> (±0.92x10 <sup>-3</sup> ) 0.78x10 <sup>-3</sup> – 2.26x10 <sup>-3</sup>	<b>0.008</b> <sup>c</sup>

<sup>a</sup> Actividad mediana (rango intercuartil)/ Actividad media (±std.dev)/Min-Max.

<sup>b</sup> Análisis comparativo mediante la prueba t de Student

<sup>c</sup> Análisis comparativo mediante la Prueba U de Mann-Whitney

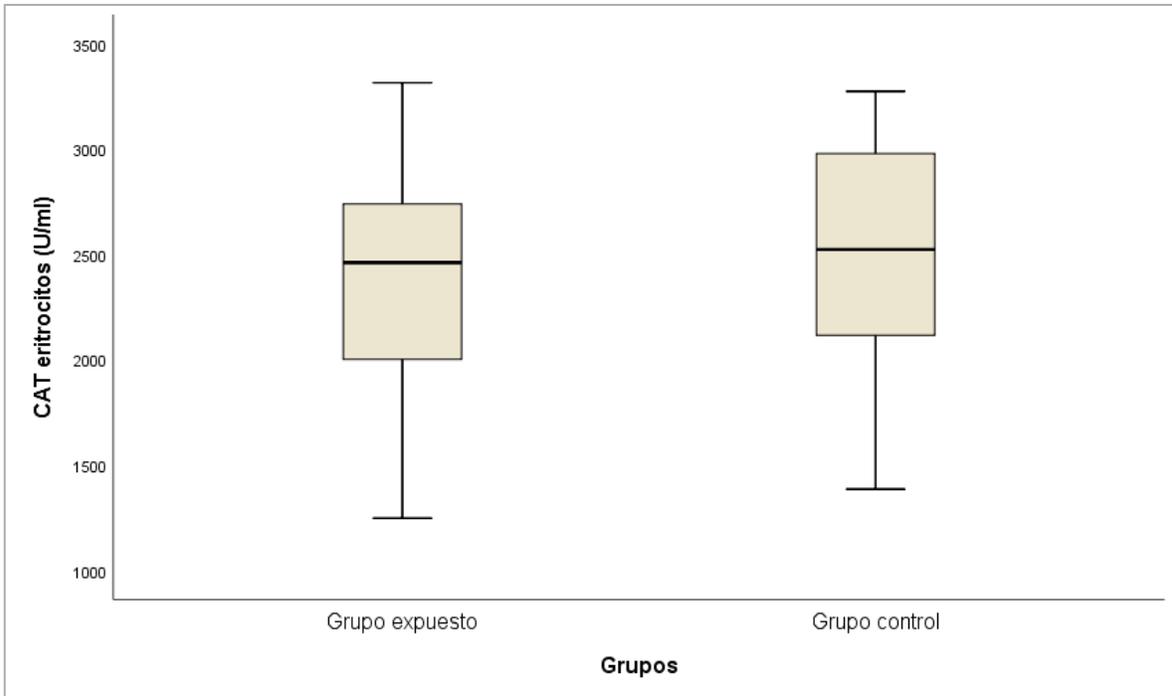


figura 4. Análisis comparativo de la actividad de CAT en eritrocitos entre el grupo expuesto y grupo control. Sin diferencia significativa  $p = 0.517$ .

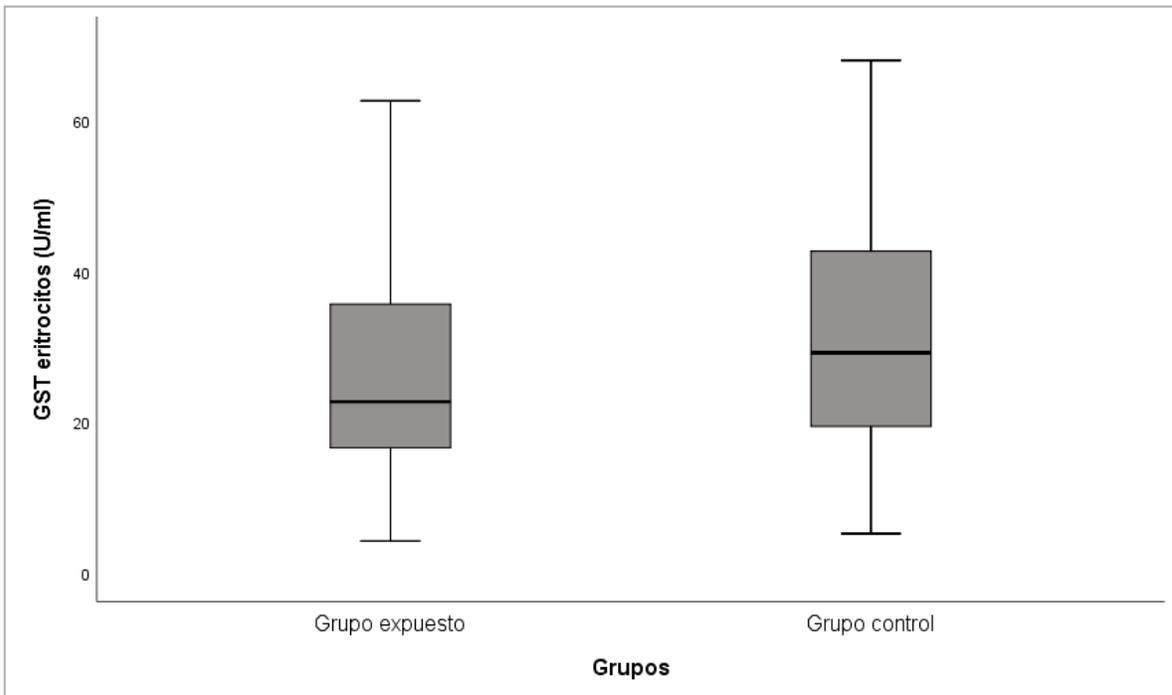


figura 5. Análisis comparativo de la actividad de GST en eritrocitos entre el grupo expuesto y grupo control. Sin diferencia significativa  $p = 0.182$ .

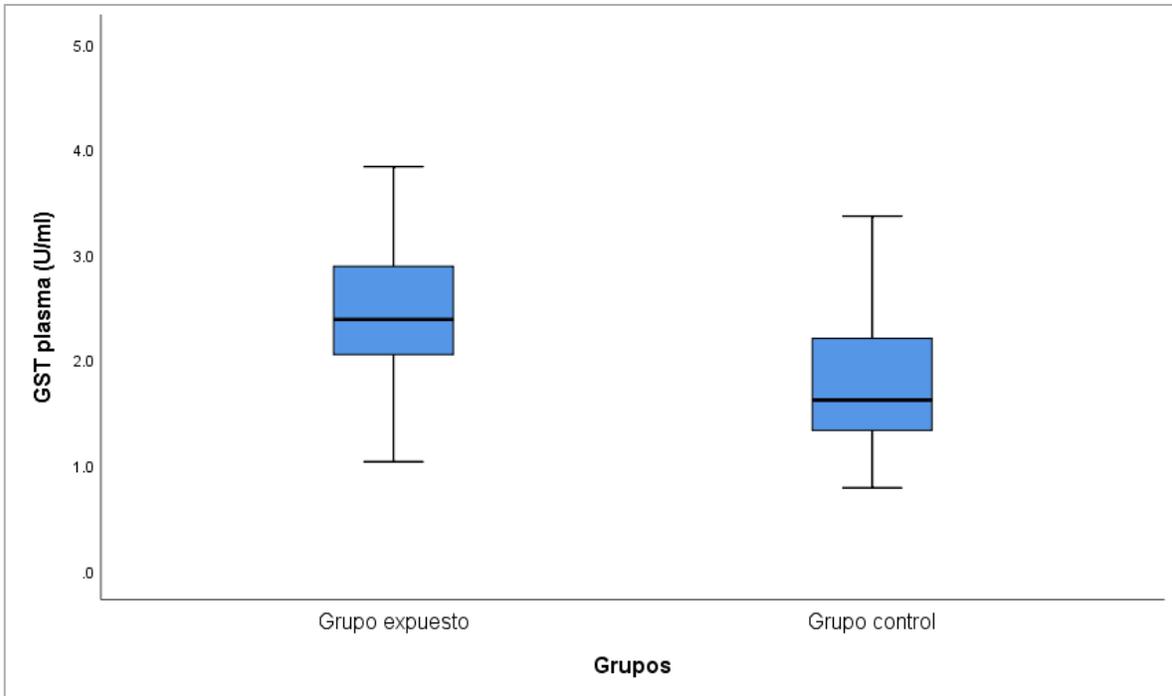


figura 6. Análisis comparativo de la actividad de GST en plasma entre el grupo expuesto y grupo control. Diferencia significativa en el grupo expuesto  $p = 0.008$ .

## 6.2. Hidrocarburos aromáticos policíclicos

### 6.2.1. Concentración de hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de plasma

La concentración de los HAPs se analizó en el plasma sanguíneo. Siendo el antraceno y el benzo(b)fluoranteno los HAPs detectados en el 100 % de las muestras totales con una concentración promedio de 0.072 µg/ml ( $\pm$  0.051) y 0.225 µg/ml ( $\pm$  0.141), respectivamente. Seguidamente benzo(a)antraceno (0.055 µg/ml ( $\pm$  0.051), benzo(a)pireno (0.113 µg/ml  $\pm$  0.119) y benzo(g,h,i)perileno (0.338 µg/ml  $\pm$  0.466) se detectaron en más del 50 % de las muestras totales. El Indeno(1,2,3,c,d)pireno se encontró en el 48.5 % de las muestras y es el compuesto con mayor concentración media en las muestras de plasma (0.367 µg/ml) ( $\pm$  0.403) (Tabla 5).

Tabla 5. Concentración de HAPs individuales y HAPs totales ( $\mu\text{g/ml}$ ) analizados en el plasma de las muestras totales, grupo expuesto y grupo control.

$\mu\text{g/ml}$	N	Muestras totales n=66; Media	Desv. Estándar	Grupo Expuesto n=41; Media	Desv. Estándar	Grupo Control n=25; Media	Desv. Estándar
Naftaleno	10	0.021	0.020	-	-	0.016	$\pm 0.011$
Acenaftileno	4	0.049	0.052	0.049	$\pm 0.052$	ND	ND
Acenafteno	17	0.056	0.021	0.053	$\pm 0.015$	0.063	$\pm 0.031$
Fluoreno	33	0.097	0.046	0.130	$\pm 0.021$	0.072	$\pm 0.036$
Fenantreno	12	0.046	0.033	0.033	$\pm 0.002$	0.050	$\pm 0.012$
Antraceno	66	0.072	0.051	0.047	$\pm 0.038$	0.050	$\pm 0.014$
Fluoranteno	15	0.068	0.052	0.083	$\pm 0.048$	0.012	$\pm 0.015$
Pireno	13	0.057	0.020	0.065	$\pm 0.027$	0.050	$\pm 0.008$
Benzo(a)antraceno	41	0.055	0.051	0.054	$\pm 0.048$	0.056	$\pm 0.052$
Criseno	3	0.194	0.165	0.194	$\pm 0.165$	ND	ND
Benzo(b)fluoranteno	66	0.225	0.141	0.239	$\pm 0.168$	0.201	$\pm 0.079$
Benzo(k)fluoranteno	0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Benzo(a)pireno	47	0.113	0.119	0.099	$\pm 0.081$	0.063	$\pm 0.044$
Benzo(g,h,i)perileno	44	0.338	0.466	0.317	$\pm 0.482$	0.385	$\pm 0.444$
Dibenzo(a,h)antraceno	10	0.202	0.127	0.195	$\pm 0.127$	0.212	$\pm 0.147$
Indeno(123c,d)pireno	32	0.367	0.403	0.380	$\pm 0.413$	0.172	$\pm 0.087$
HAPs totales	66	0.965	0.791	1.089	$\pm 0.872$	0.760	$\pm 0.599$

ND: Valor No Detectable

El análisis estadístico de U de Mann-Whitney indicó diferencias estadísticamente significativas en 5 HAPs entre el grupo expuesto y grupo control (Tabla 6). En el grupo expuesto se identificaron concentraciones mayores con respecto al grupo control de fluoreno (0.130 µg/ml ±0.021) (Figura 7), fluoranteno (0.083 µg/ml ±0.048) (Figura 10) y benzo(a)pireno (0.099 µg/ml ±0.081) (Figura 11). En el grupo control se encontró mayor concentración con respecto al grupo expuesto de fenantreno (0.050 µg/ml ±0.012) (Figura 8) y antraceno (0.050 µg/ml ±0.014) (Figura 9). La concentración de HAPs totales es estadísticamente significativa ( $p=0.011$ ) siendo mayor la concentración en el grupo expuesto (0.854 µg/ml ±0.872) (Figura 12).

Tabla 6. Análisis comparativo de la concentración media de HAPs para el grupo expuesto y grupo control mediante U de Mann-Whitney

HAPs (µg/ml)	Grupo expuesto <sup>a</sup>	Grupo control <sup>a</sup>	<i>p</i> valor <sup>b</sup>
Fluoreno	0.130 (±0.021)	0.072 (±0.036)	< 0.001
Fenantreno	0.033 (±0.002)	0.050 (±0.012)	0.017
Antraceno	0.047 (±0.038)	0.050 (±0.014)	0.016
Fluoranteno	0.083 (±0.048)	0.012 (±0.015)	0.009
Benzo(a)pireno	0.099 (±0.081)	0.063 (±0.044)	0.05
HAPs Totales	1.089 (±0.872)	0.760 (±0.599)	0.011

<sup>a</sup> Concentración media (±std.dev)

<sup>b</sup> Probabilidad de significancia

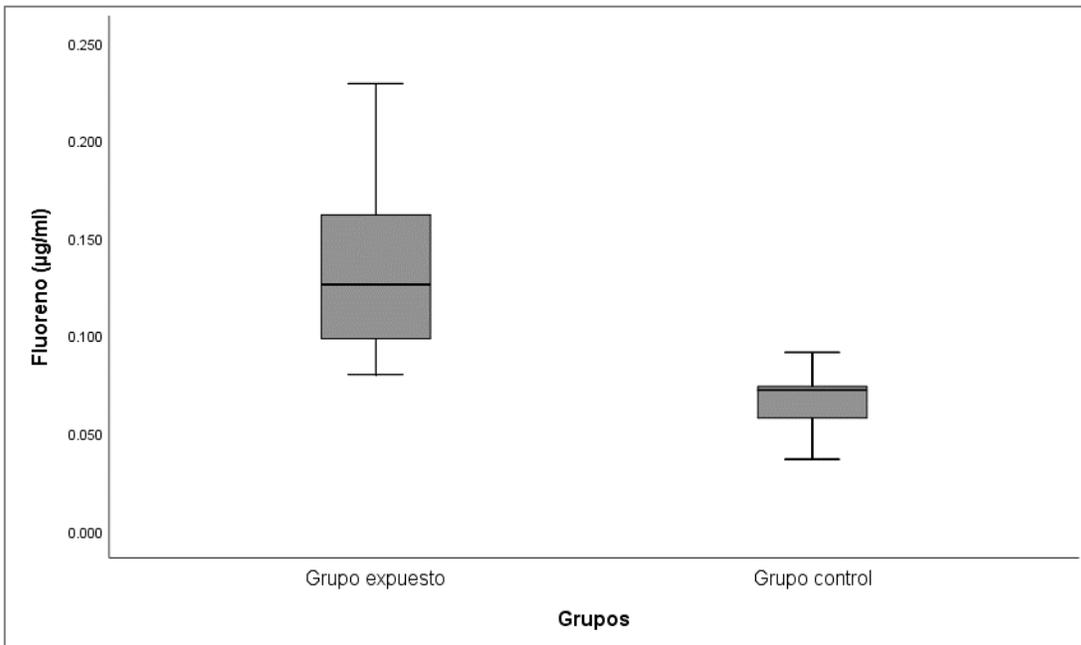


figura 7. Análisis comparativo de la concentración de fluoreno en el grupo expuesto y grupo control. Diferencia significativa en el grupo expuesto  $p < 0.001$ .

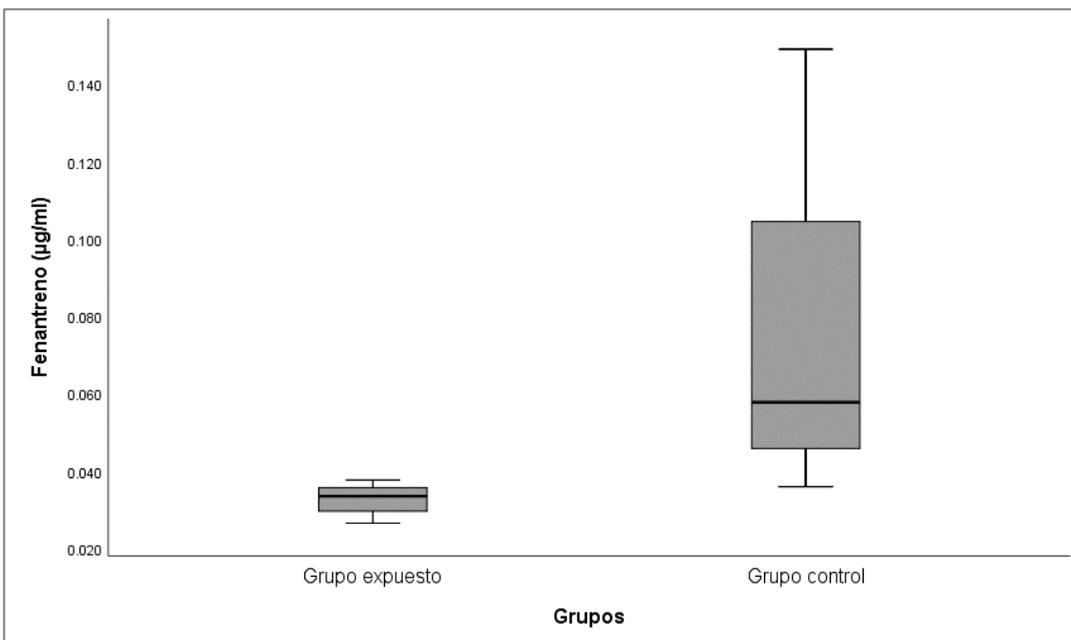


Figura 8. Análisis comparativo de la concentración de fenantreno en el grupo expuesto y grupo control. Diferencia significativa en el grupo control  $p = 0.017$ .

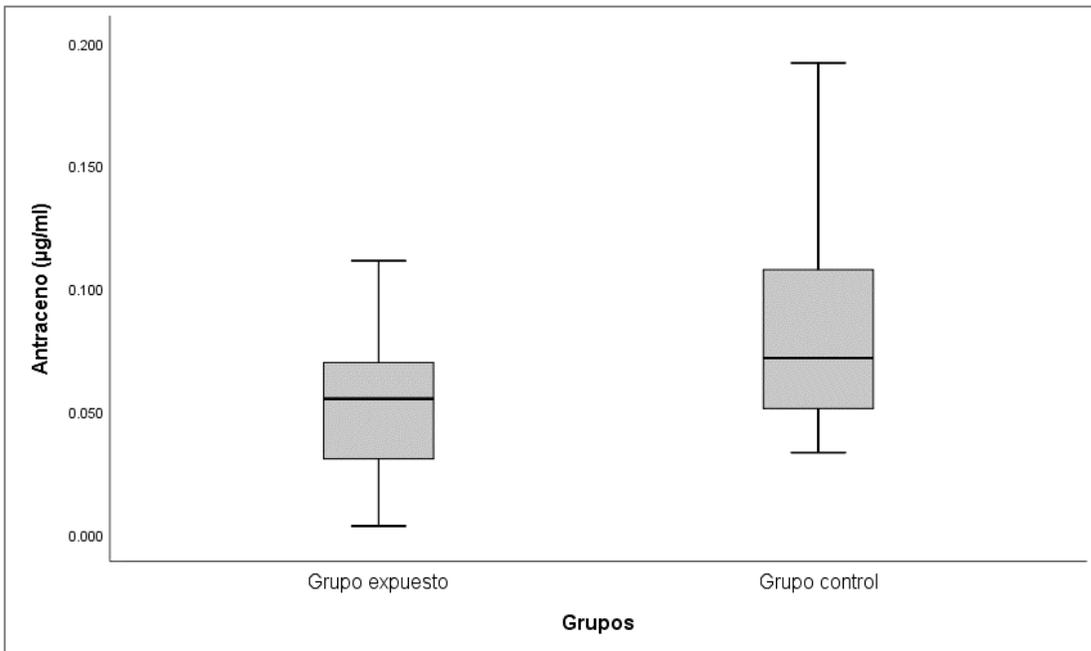


figura 9. Análisis comparativo de la concentración de antraceno en el grupo expuesto y grupo control. Diferencia significativa en el grupo control  $p = 0.016$

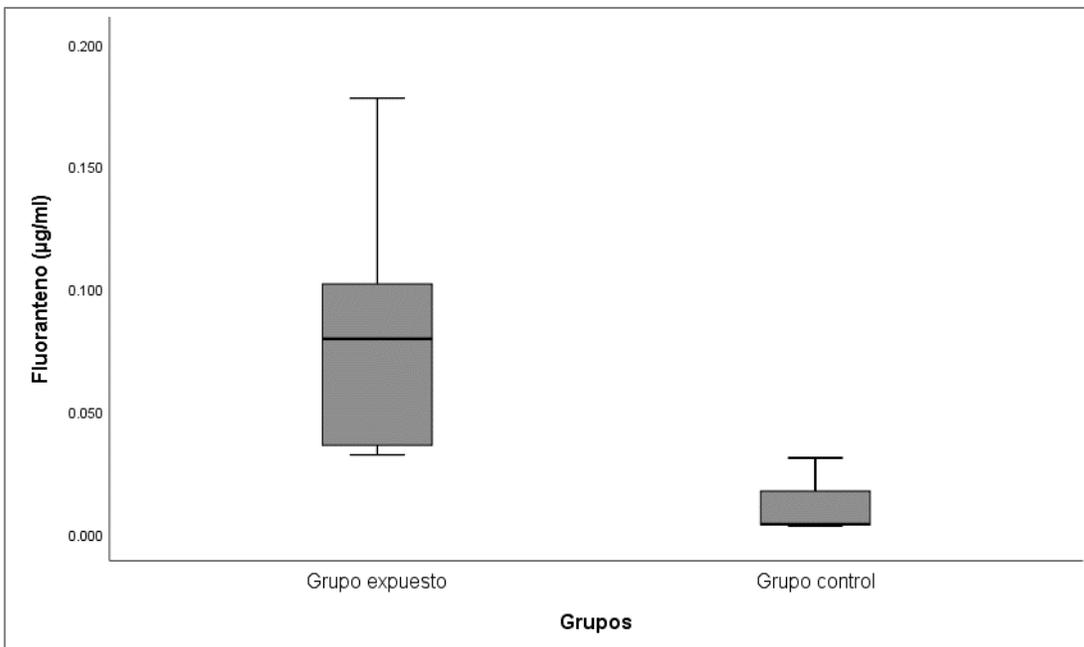


Figura 10. Análisis comparativo de la concentración de Fluoranteno en el grupo expuesto y grupo control. Diferencia significativa en el grupo expuesto  $p = 0.009$

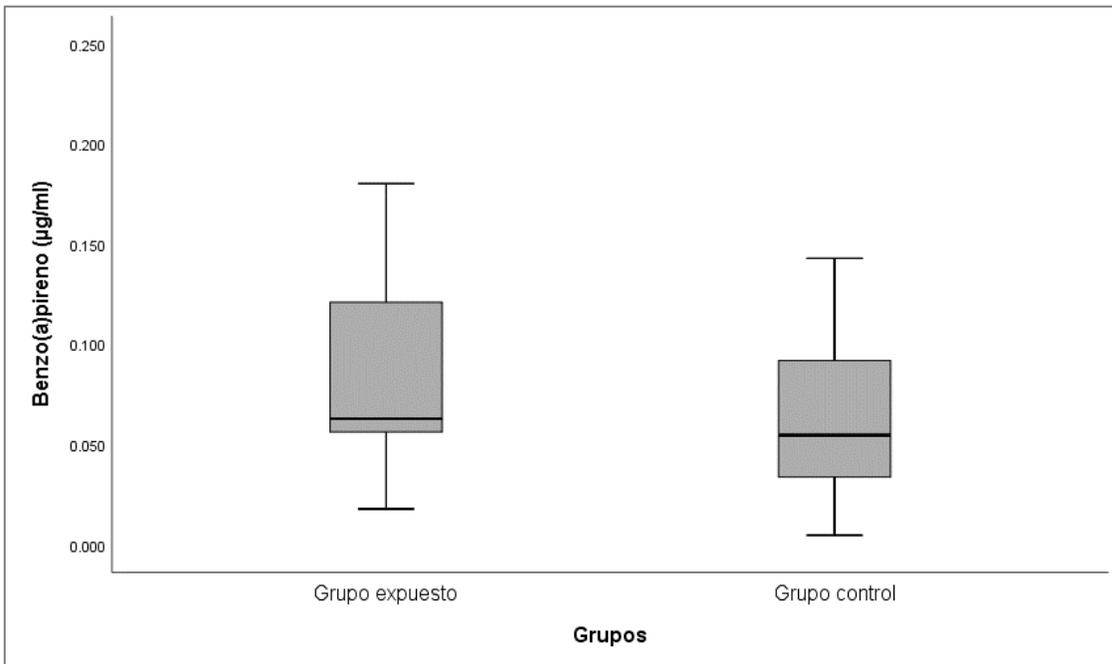


Figura 11. Análisis comparativo de la concentración de Benzo(a)pireno en el grupo expuesto y grupo control. Diferencia significativa en el grupo expuesto  $p = 0.05$

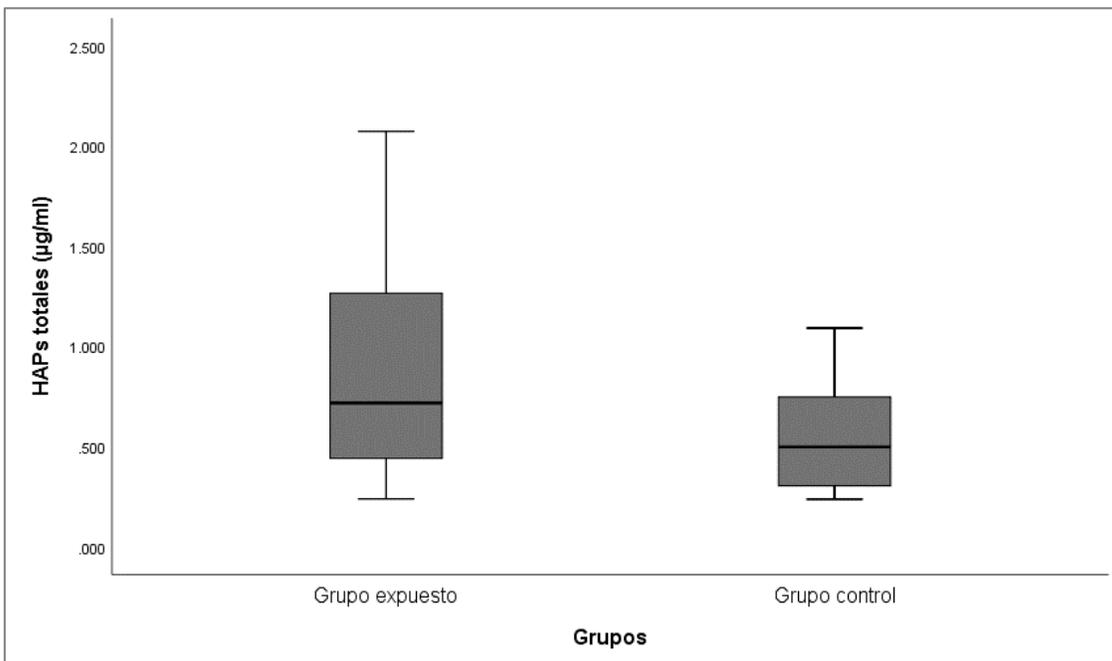


Figura 12. Análisis comparativo de la concentración de HAPs totales en el grupo expuesto y grupo control. Diferencia significativa en el grupo expuesto  $p = 0.011$

Asimismo, en las muestras de plasma del grupo expuesto en función al “tiempo trabajado en el corte de caña”, presentó una diferencia estadística significativa en benzo(a)antraceno. De modo que, los trabajadores de 1 a 5 años presentan una media de 0.028  $\mu\text{g/ml}$  ( $\pm 0.038$ ), los trabajadores de 5 a 10 años tienen una media de 0.064  $\mu\text{g/ml}$  ( $\pm 0.038$ ), mientras que los trabajadores de más de 10 años presentan un promedio de 0.073  $\mu\text{g/ml}$  ( $\pm 0.059$ ), siendo los trabajadores que llevan más de 10 años quienes presentan mayor concentración del hidrocarburo ( $p= 0.017$ ; Figura 13).

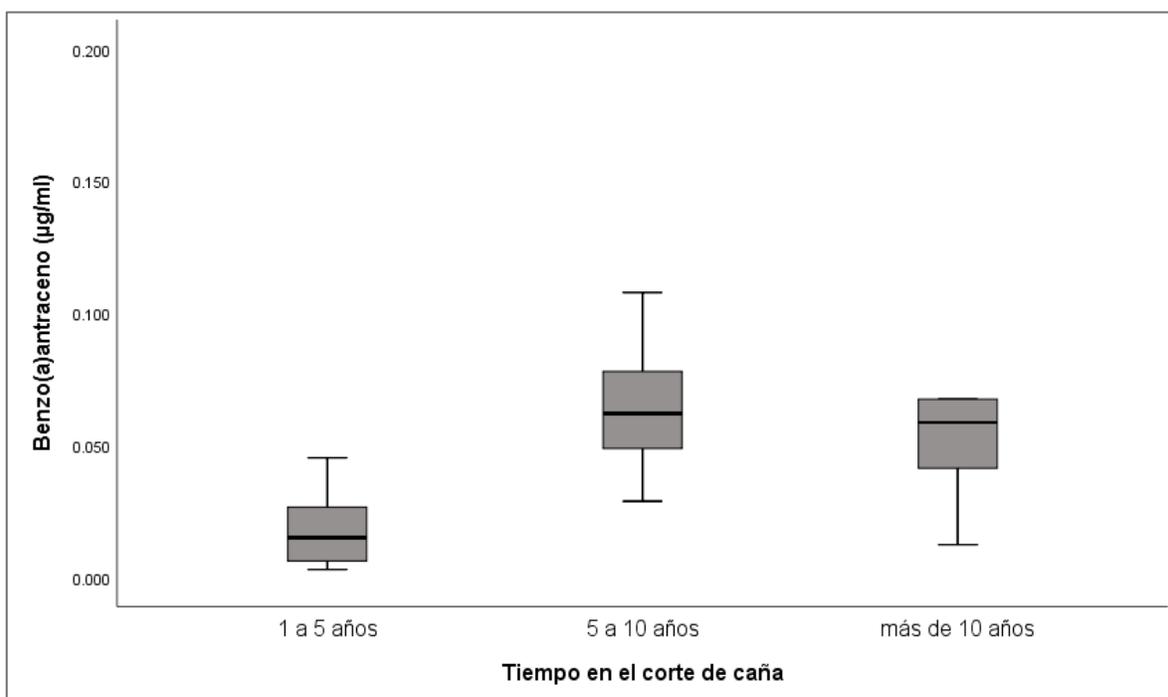


figura 13. Análisis comparativo de la concentración del Benzo(a)antaceno en el grupo expuesto en función al tiempo trabajado en el corte de caña. Diferencia significativa en el grupo de trabajadores que llevan más de 10 años en el corte de caña  $p=0.017$

En cuanto al consumo de tabaco y las afecciones a la salud, no se detectaron diferencias significativas en el grupo expuesto y grupo control con las muestras de HAPs totales ni con los HAPs individuales.

El análisis de HAPs en función a los “grupos de edad” presentó diferencias significativas (tabla 7). Como se observa en la tabla, el grupo control no tuvo ninguna diferencia estadística entre las edades con los HAPs totales (Figura 15), pero sí tuvo una diferencia significativa con benzo(a)pireno (Figura 14), siendo los adultos quienes presentan mayor concentración de este hidrocarburo, seguido de los adultos mayores y por último en los jóvenes. Por su parte, el grupo expuesto, presentó diferencias significativas con antraceno (Figura 16) en los HAPs totales (Figura 17) siendo el grupo de los adultos quienes presentan mayor concentración de los compuestos, descendiendo a los adultos mayores y jóvenes.

Tabla 7. Análisis comparativo de la concentración de HAPs mediante la prueba Kruskal-Wallis para los grupos de edad.

HAPs (µg/ml)	Grupo control			<i>p</i> valor <sup>b</sup>
	<i>Jóvenes</i> <sup>a</sup> (13-25 años)	<i>Adultos</i> <sup>a</sup> (26-59 años)	<i>Adultos mayores</i> <sup>a</sup> (≥60 años)	
Benzo(a)pireno	0.031 (±0.017)	0.087 (±0.047)	0.056 (±0.012)	0.037
HAPs totales	0.603 (±0.530)	0.851 (±0.679)	0.835 (±0.111)	0.413
	Grupo expuesto			
	<i>Jóvenes</i> <sup>a</sup> (13-25 años)	<i>Adultos</i> <sup>a</sup> (26-59 años)	<i>Adultos mayores</i> <sup>a</sup> (≥60 años)	
Antraceno	0.043 (±0.026)	0.062 (±0.019)	0.061 (±0.005)	0.042
HAPs totales	0.570 (±0.227)	1.151 (±0.742)	1.121 (±0.673)	0.031

<sup>a</sup> Concentración media (±std.dev)

<sup>b</sup> Análisis comparativo mediante la prueba Kruskal-Wallis

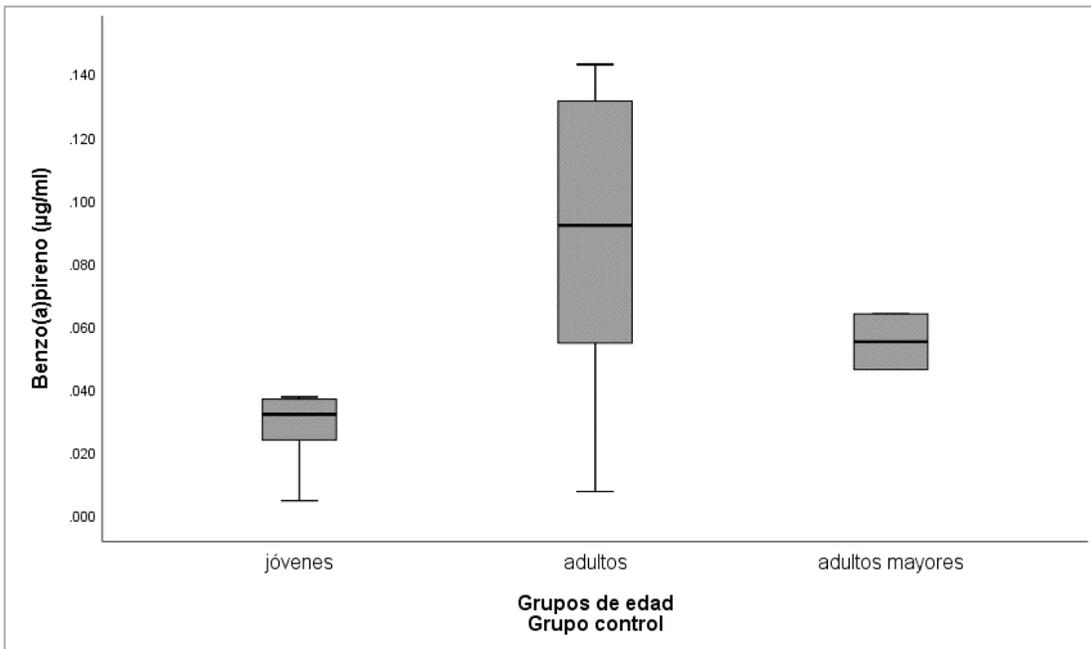


figura 14. Análisis comparativo de la concentración de benzo(a)pireno en el grupo control en función a los grupos de edad. Diferencia significativa en el grupo de adultos;  $p=0.037$

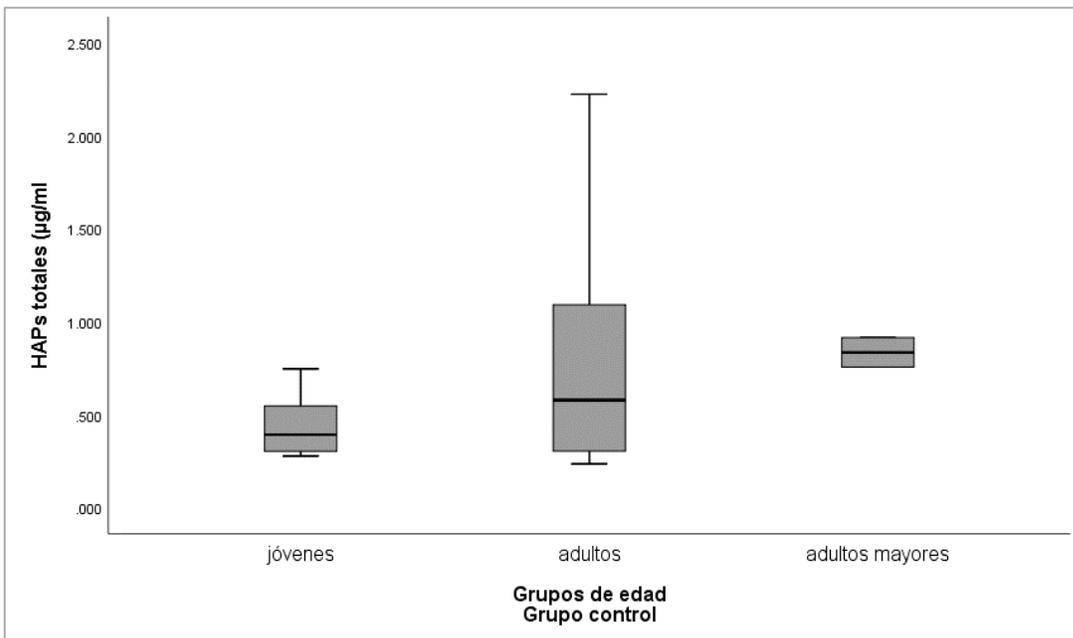


figura 15. Análisis comparativo de la concentración de HAPs totales en el grupo control en función a los grupos de edad. Sin diferencia significativa;  $p=0.413$ .

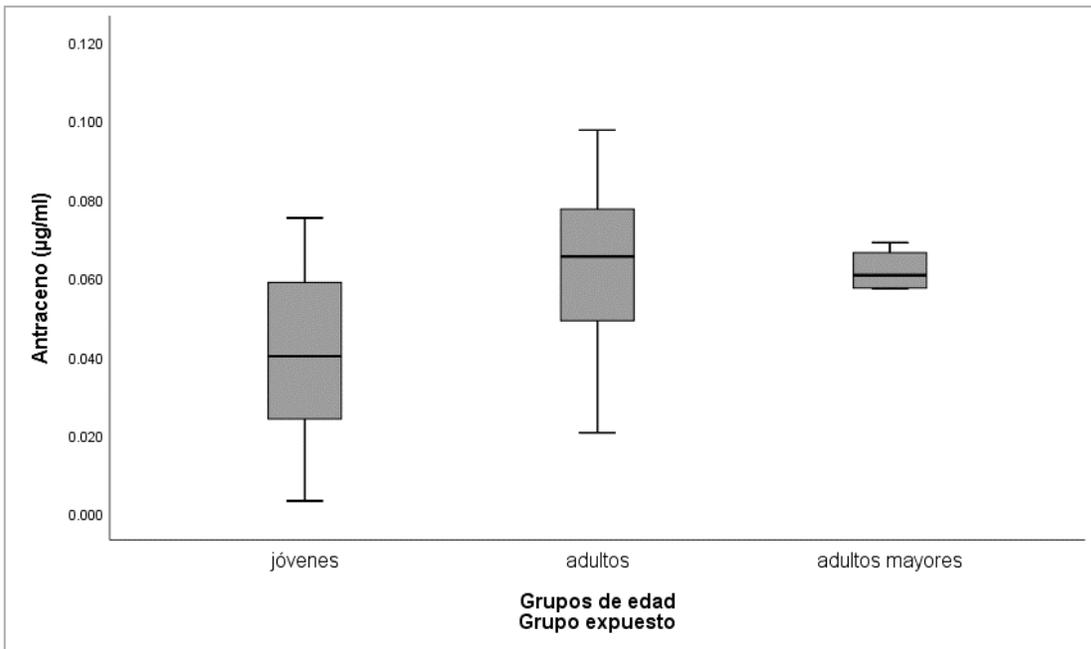


figura 16. Análisis comparativo de la concentración de antraceno en el grupo expuesto en función a los grupos de edad. Diferencia significativa en el grupo de los adultos;  $p=0.042$ .

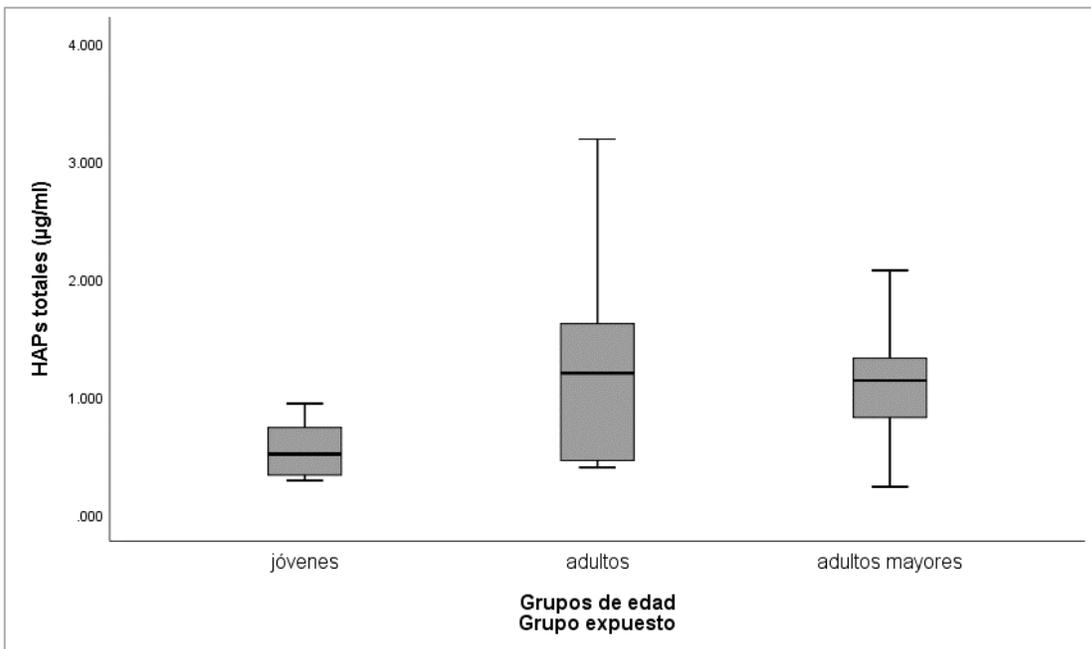


figura 17. Análisis comparativo de la concentración de HAPs totales en el grupo expuesto en función a los grupos de edad. Diferencia significativa en el grupo de los adultos;  $p=0.031$ .

### 6.3. Correlación entre biomarcadores de estrés oxidativo y HAPs

La asociación entre biomarcadores y HAPs sugiere que la actividad de CAT eritrocitaria del grupo expuesto y grupo control, no presentan correlaciones significativas con algún HAP individual, ni con los HAPs totales (Tabla 8).

Tabla 8. Análisis de correlación entre la actividad de CAT en eritrocitos y la concentración de HAPs.

		HAPs totales
Grupo expuesto	Rho de Spearman	-0.029
	<i>P</i>	0.855
	N	41
Grupo control	Rho de Spearman	-0.337
	<i>P</i>	0.100
	N	25

Rho: Coeficiente de correlación

P: nivel de significancia

N: número de individuos

La asociación entre los HAPs individuales y la actividad de GST en eritrocitos presentaron correlaciones significativas negativas con pireno en el caso del grupo expuesto ( $r=-0.829$ ; Figura 18) y una correlación significativa negativa en el caso del grupo control con antraceno ( $r=-0.425$ ; Figura 19). La correlación entre GST eritrocitaria de ambos grupos y los HAPs totales no es estadísticamente significativa (tabla 9).

Tabla 9. Análisis de correlación entre la actividad de GST en eritrocitos y la concentración de HAPs.

		Antraceno	Pireno	HAPs totales
Grupo expuesto	Rho de Spearman	0.013	-0.829	0.201
	<i>P</i>	0.935	0.042	0.214
	N	40	6	40
Grupo control	Rho de Spearman	-0.425	0.800	-0.294
	<i>P</i>	0.049	0.200	0.184
	N	22	4	22

Rho: Coeficiente de correlación

*P*: nivel de significancia

N: número de individuos

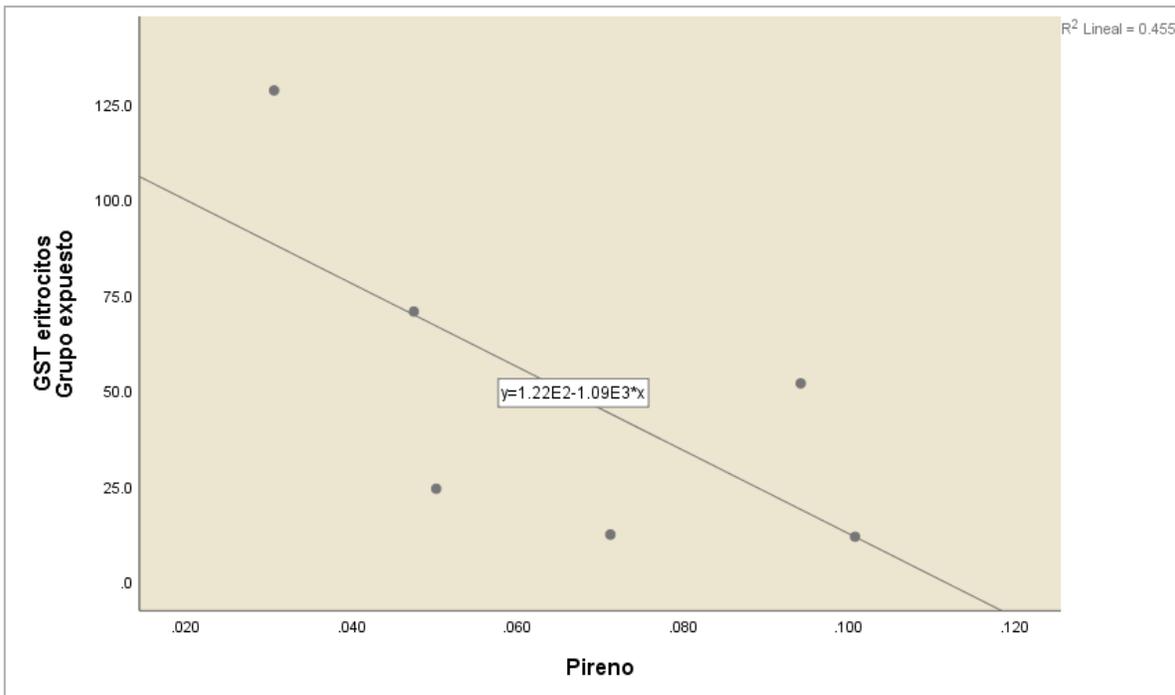


Figura 18. Correlación estadística entre la actividad de GST en eritrocitos del grupo expuesto y la concentración de Pireno. Se obtuvo una correlación significativa negativa  $r = -0.829$ ;  $p = 0.042$ .

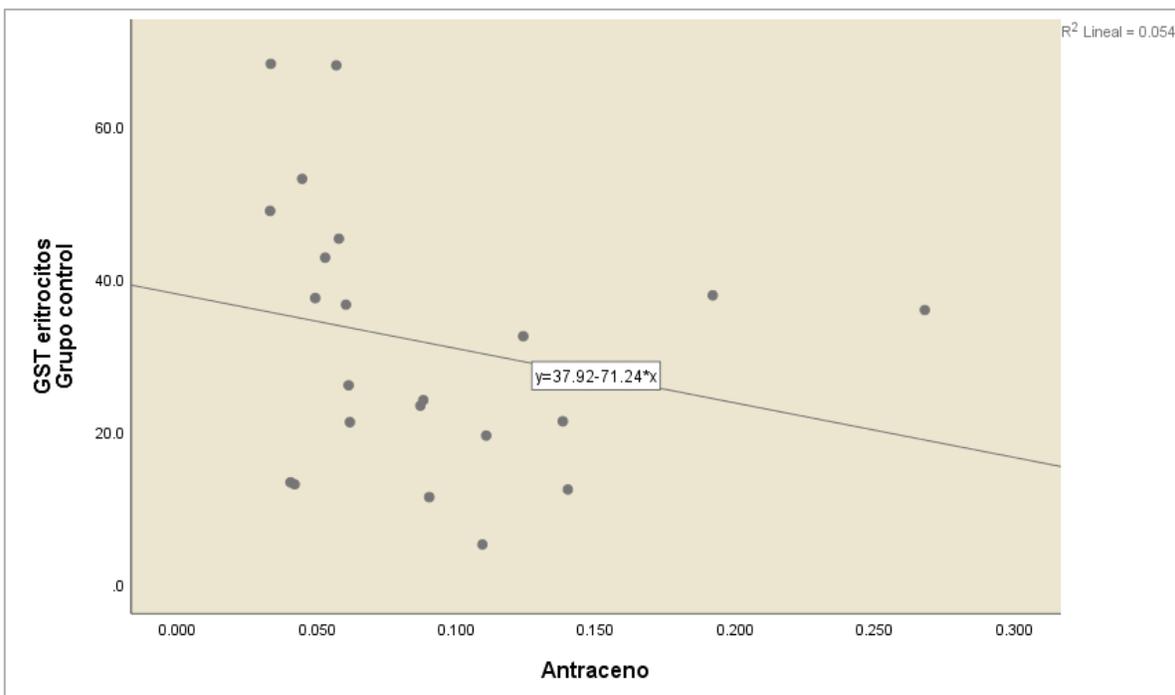


Figura 19. Correlación estadística entre la actividad de GST en eritrocitos del grupo control y la concentración de Antraceno. Se obtuvo una correlación significativa negativa  $r = -0.425$ ;  $p = 0.049$ .

Por su parte, la asociación entre la actividad de GST plasmática del grupo expuesto y los HAPs presentó correlaciones significativas positivas con acenafteno ( $r=0.833$ ;  $p=0.010$ ) (Figura 20), benzo(a)antraceno ( $r=0.444$ ;  $p=0.038$ ) (Figura 21) y con benzo(a)pireno ( $r=0.427$ ;  $p=0.053$ ) (Figura 22). Las muestras de GST plasmática del grupo control no presentaron correlaciones significativas con los HAPs individuales ni con los HAPs totales (Tabla 10).

Tabla 10. Análisis de correlación entre la actividad de GST en plasma y la concentración de HAPs.

GST en plasma		Acenafteno	Benzo(a)antraceno	Benzo(a)pireno	HAPs totales
Grupo expuesto	Rho de Spearman	0.833	0.444	0.427	0.201
	<i>P</i>	0.010	0.038	0.053	0.234
	N	8	22	21	37
Grupo control	Rho de Spearman	0.300	0.164	0.354	-0.052
	<i>P</i>	0.624	0.558	0.150	0.812
	N	5	15	18	23

Rho: Coeficiente de correlación  
P: nivel de significancia  
N: número de individuos

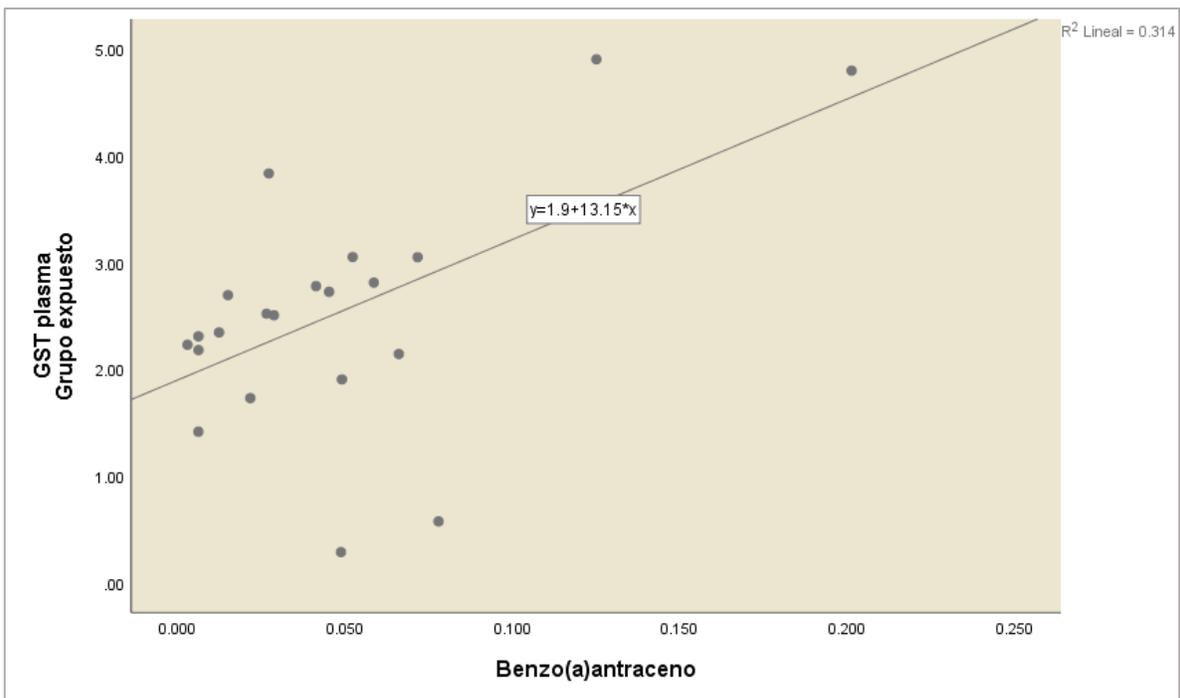
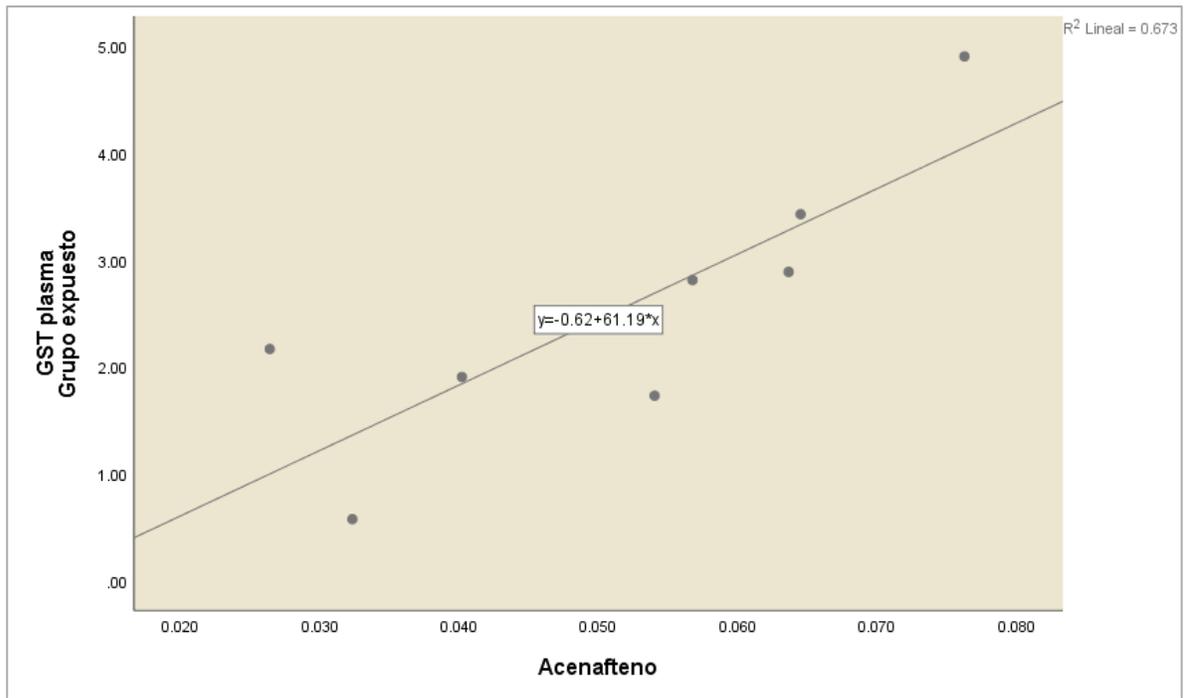


Figura 21. Correlación estadística entre la actividad de GST en plasma del grupo expuesto y la concentración de Benzo(a)antraceno. Se obtuvo una correlación significativa positiva  $r = -0.444$ ;  $p = 0.038$ .

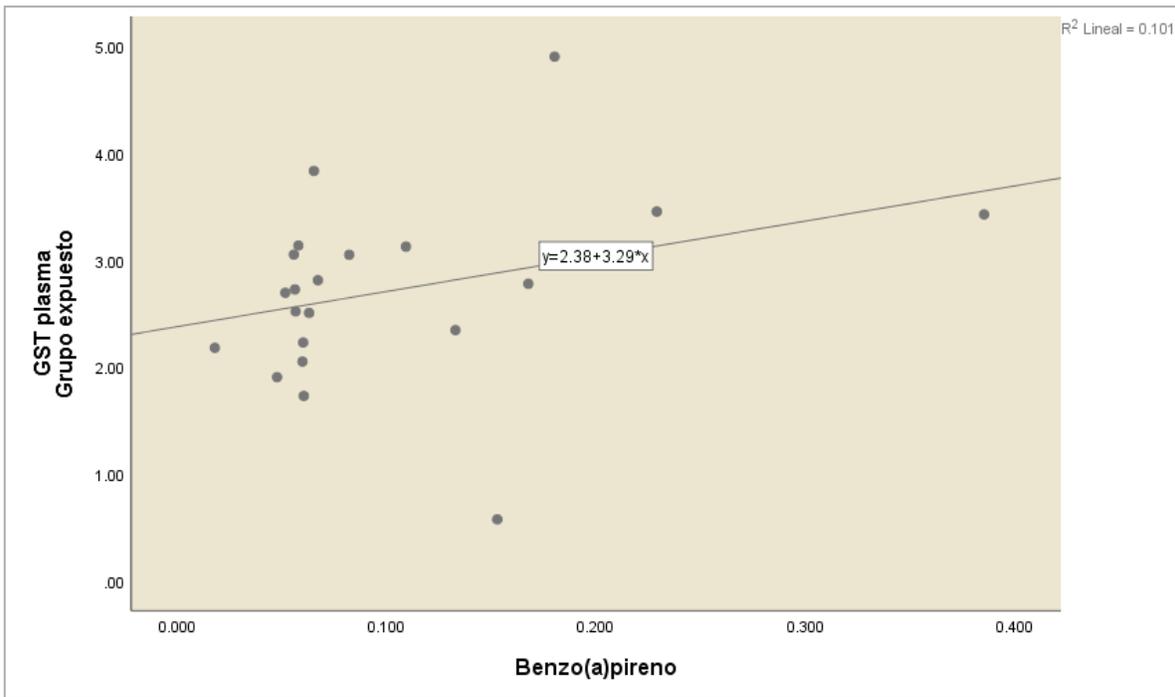


Figura 22. Correlación estadística entre la actividad de GST en plasma del grupo expuesto y la concentración de Benzo(a)pireno. Se obtuvo una correlación significativa positiva  $r=-0.427$ ;  $p=0.053$ .

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1. *Biomarcadores de estrés oxidativo*

Las condiciones ambientales adversas como la contaminación del medio, promueven la activación de enzimas y proteínas que ayudan a mitigar el estrés oxidativo en los organismos (Meléndez 2018). Para el caso de los residentes del ejido de Álvaro Obregón, Quintana Roo, el presente trabajo confirma la actividad de enzimas antioxidantes empleadas como biomarcadores de estrés oxidativo. Las enzimas antioxidantes son cruciales para mantener los oxidantes endógenos y ambientales dentro de los niveles fisiológicos de un organismo. Un desequilibrio en entre la generación y eliminación de especies reactivas puede desencadenar estrés oxidativo y subsecuentes daños celulares (Ghio et al. 2012; Corrales et al. 2012).

Con base a los resultados (figura 6), se observa que la actividad de GST plasmática de los cortadores de caña, es significativamente mayor con respecto al grupo control, ( $2.40 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm 0.71 \times 10^{-3}$  y  $1.95 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm 0.92 \times 10^{-3}$ , respectivamente). Por lo que la diferencia en la actividad de la GST plasmática en los sujetos expuestos a los HAPs estaría indicando que sufren mayor estrés oxidativo. Posiblemente esto se debe a que están constante y directamente más expuestos a los contaminantes debido a sus actividades laborales que implican un mayor contacto e inhalación con los HAPs. Comparando este resultado con los obtenidos por Costa-Amaral y col. (2019) se observa una tendencia similar hacia su grupo expuesto principalmente a benceno, el cual presentó mayor actividad de GST

plasmática con respecto a un grupo control (0.0202 U/ml  $\pm$ 0.0179 y 0.0134 U/ml  $\pm$ 0.0041, respectivamente). Esta similar tendencia en el incremento de la GST plasmática en el grupo expuesto, puede deberse a que una vez que los HAPs son biotransformados, la GST actúa neutralizando los metabolitos, actuando así como una proteína transportadora en el plasma sanguíneo, con ello impide la difusión de los metabolitos hacia otros tejidos y células, favoreciendo finalmente la excreción de los metabolitos (Mohanty et al 2014; Sívori 1993). Cabe mencionar que la síntesis de GST no se produce en el plasma sanguíneo, sino que se libera en grandes cantidades desde el hígado, pulmón y/o riñón en respuesta a la presencia de los xenobióticos (Czuczejko 2019).

Por otra parte, la actividad de CAT y GST en los eritrocitos es mayor que en el plasma. De acuerdo con la literatura, el plasma contiene trazas de GST, mientras que los eritrocitos presentan mayor proporción de enzimas antioxidantes (Bocedi et al. 2019). En este sentido, se observó una tendencia menor hacia el grupo expuesto con respecto al grupo control en la actividad de la CAT eritrocitaria (2,378 U/ml  $\pm$ 521.44 y 2,465 U/ml  $\pm$ 538.83) y de GST eritrocitaria ( $25.6 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm$  $14 \times 10^{-3}$  y  $31.6 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm$  $17.5 \times 10^{-3}$ , respectivamente). Sin embargo, la diferencia entre ambos grupos no es estadísticamente significativa. No obstante, esta tendencia de menor actividad de CAT y GST eritrocitaria en el grupo expuesto podría indicar una alteración en estos antioxidantes, debido a un aumento de las especies reactivas, las cuales pueden causar la oxidación de grupos sulfhidrilos de proteínas de la membrana del eritrocito y la peroxidación de los lípidos de la membrana del

eritrocito, así como oxidar grupos sulfhidrilos de la hemoglobina haciendo que ésta precipite y se formen los llamados cuerpos de Heinz. De este modo los eritrocitos pueden sufrir daños y disminuir su capacidad antioxidante, provocando su eventual hemólisis, liberando enzimas al plasma (Terrado et al. 2003; Gutiérrez-Salinas et al. 2009; Kumar et al. 2015; Czuczejko et al. 2019). Asimismo, enzimas antioxidantes como CAT y GST parecen ser inducibles, es decir, la expresión de estas enzimas en los eritrocitos está modulada por los niveles de toxinas circulantes, por lo tanto, la actividad enzimática representa una respuesta de defensa ante la toxicidad de los contaminantes pero también implica un “desgaste” o una disminución en su capacidad antioxidante, esto, a partir de que, el eritrocito no tiene un núcleo y no puede, en consecuencia, sintetizar enzimas, por lo que, en todo caso, la actividad como mecanismo de defensa de CAT y GST puede disminuir en los eritrocitos ante un significativo estrés oxidativo (Bocedi et al. 2019). Por lo tanto, se postula que una menor actividad de CAT y GST eritrocitaria en el grupo expuesto puede asociarse a un mayor estrés oxidativo en los eritrocitos, mientras que una tendencia de mayor actividad de CAT y GST observada en el grupo control indicaría una mayor integridad para los eritrocitos y por consiguiente menor estrés oxidativo (Kumar et al. 2015).

Por su parte, los parámetros demográficos: “grupos de edad”, “consumo de tabaco”, “tiempo trabajado en el corte de caña” y “afecciones a la salud”, no presentaron diferencias significativas en la actividad de CAT y GST en ambos grupos estudiados, por lo que no se utilizaron los parámetros demográficos en los análisis de

correlación. No obstante, aunque no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de edad en la actividad de CAT y GST, claramente se observa un comportamiento diferente en el parámetro de los grupos de edad (Figura 3).

En primera instancia, la actividad de CAT eritrocitaria de ambos grupos (control y expuesto), es mayor en los adultos mayores, seguido de los jóvenes y más baja en los adultos. Mientras la actividad de GST eritrocitaria es mayor en los adultos del grupo control, seguido de los adultos mayores y por último los jóvenes. En tanto que en el grupo expuesto la actividad es mayor en los jóvenes y desciende hacia los adultos mayores.

Referente a lo anterior, CAT y GST eritrocitaria, tanto en el grupo expuesto como en el grupo control, se elevó sobre todo en las personas adultas y adultas mayores y desciende en los jóvenes. En algunos estudios se ha observado mayor estrés oxidativo en personas de mayor edad, asociado con un incremento en la actividad de CAT en (Kuma et al. 2015; Kumawat et al. 2013; Jiménez-Mora y Rodríguez-Romero. 2018). De acuerdo con la hipótesis planteada por los autores, las concentraciones de GSH, GPx y en ocasiones de SOD, se reducen ya que durante años trabajan continuamente para neutralizar los superóxidos, el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos producidos en mayor cantidad al paso de los años, por lo que la actividad de la catalasa puede aumentar cuando el nivel de GPx disminuye, lo que podría explicar porque en los adultos mayores se observa una mayor actividad de CAT. Por su parte, la actividad de GST en eritrocitos tiende a

descender en los adultos mayores posiblemente por la misma disminución de GSH, tal como lo plantea Konseko y col. (2012), quienes observaron en una población de adultos mayores, mayor estrés oxidativo en los glóbulos rojos asociado a concentraciones elevadas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e hidroperóxidos orgánicos, disminuyendo así la relación GSH/GSSG y la actividad de la GST.

En cuanto a la GST plasmática, la cual presentó significativamente mayor actividad en el grupo expuesto, se observa una tendencia de mayor actividad en los adultos y jóvenes que desciende hacia los adultos mayores. Algunos estudios han reportado una correlación positiva entre la actividad de GST plasmática y la edad, lo que sugiere que a mayor edad mayor actividad de GST, esto como un mecanismo compensatorio en respuesta al decremento de la capacidad antioxidante plasmática (decremento de enzimas como GSH y SOD) y al aumento del estrés oxidativo por el aumento de ERO en los adultos mayores (Kumar e Ibrahim 2010). No obstante, este escenario se plantea en individuos que están sanos. En nuestro caso, la actividad de GST plasmática tiene una tendencia que decrece hacia los adultos mayores. Esta tendencia se ha observado en estudios de individuos que presentan toxicidad crónica (Loguercio et al. 1998), postulando que el GSH ayuda a estabilizar la GST, quizá protegiéndola de las lesiones provocadas por los electrófilos tóxicos. Sin embargo, la relación entre la concentración de GSH y la expresión de la GST es discutible. Por lo tanto, para nuestro estudio, se postula que, ante el posible decremento de la capacidad antioxidante en los adultos mayores del grupo expuesto

y la directa y prolongada exposición a los HAPs explicaría porque decrece la actividad de GST plasmática en este grupo etario.

## 7.2. *Hidrocarburos aromáticos policíclicos*

Los resultados de HAPs en las muestras de plasma en ambos grupos se reportan en la tabla 5, se observan diferentes concentraciones de HAPs en el grupo expuesto y control. Por ejemplo, el grupo expuesto presenta dos compuestos que no son detectables en el grupo control: acenaftileno y Criseno. De acuerdo con Lu y col. (2008), aquellos compuestos de 5 y 6 anillos provienen de fuentes externas a las residenciales, tales como vehiculares. Criseno, por ejemplo, generalmente es emitido tanto por la combustión de diésel como por combustión de gas natural. En este caso, los camiones de carga de caña emplean diésel para su funcionamiento, por lo que podrían asociarse a una fuente potencial de Criseno para los cortadores de caña. Por su parte, el acenaftileno, que tiende a estar en mayor concentración en la fase gaseosa se ha encontrado comúnmente en fuentes agrícolas. El 80-90 % de los HAPs emitidos por la quema de biomasa son HAPs de bajo peso molecular, incluidos naftaleno, acenaftileno, acenafteno, fluoreno, fenantreno y antraceno. No obstante, la emisión de HAPs puede incrementar al aumentar la temperatura de combustión, emitiendo tanto HAPs de bajo peso molecular como de alto peso molecular (Lu et al. 2009; Chirino et al. 2015).

Asimismo, se observaron diferencias en el patrón de acumulación de HAPs por grupo. En el grupo control se observó una mayor concentración media de

acenafteno, fenantreno, antraceno, benzo(a)pireno, benzo(ghi)perileno y dibenzo(ah) antraceno. Mientras que en el grupo expuesto se observó mayor concentración de fluoreno, fluoranteno, pireno, benzo(b)fluoranteno) e indeno(123cd) pireno. En este caso, en ambos grupos destacan HAPs de 3 a 6 anillos, lo que podría indicar que ambos se encuentran expuestos a fuentes de combustión de biomasa, aunque en el caso del grupo expuesto, predominan los HAPs de alto peso molecular, por lo que posiblemente influyan fuentes como la quema de biomasa de la caña de azúcar y la emisión de vehículos como camiones cañeros, mientras que en el grupo control podrían influir fuentes residenciales.

Los HAPs que presentaron diferencia significativa entre los dos grupos estudiados corresponden principalmente a benzo(a)pireno, (HAP del grupo 1, considerado carcinógeno para el ser humano); benzo(a)antraceno, (perteneciente al grupo 2B, posiblemente carcinogénicos para los humanos, pero con evidencias no concluyentes); y antraceno, fluoreno, fluoranteno y fenantreno (pertenecientes al grupo 3, actualmente no hay ninguna prueba de que cause cáncer a los humanos). Si bien algunos HAPs no metabolizados pueden no tener efectos tóxicos, una de las principales preocupaciones es la capacidad de sus metabolitos reactivos, como los epóxidos y los dihidrodioles, de unirse a las proteínas celulares y al ADN, así como las alteraciones bioquímicas y los daños celulares resultantes en mutaciones, malformaciones en el desarrollo, tumores y cáncer (IARC 2010; Quijano et al 2015; Rengarajan et al 2015)

También se obtuvo una concentración media de HAPs totales de 1.089  $\mu\text{g/ml}$  ( $\pm 0.872$ ) en el grupo de cortadores de caña y una concentración media de 0.760  $\mu\text{g/ml}$  ( $\pm 0.599$ ) en el grupo control. Algunos estudios referente a la presencia de HAPs en plasma, como el de Naufal y col. (2010), reportan concentraciones medias de 0.217  $\mu\text{g/ml}$  ( $\pm 0.027$ ) y 0.159  $\mu\text{g/ml}$  ( $\pm 0.023$ ), en un grupo expuesto y un grupo control, todos varones y habitantes de Shanxi, una comunidad rural de China. Comparando las concentraciones de HAPs de ambos estudios, se observa una mayor concentración de los contaminantes en los grupos estudiados en este trabajo. Posiblemente dichas diferencias se deban al tipo de fuente al que se encuentra expuesto cada grupo estudiado o a las estaciones temporales. Pues, por un lado, los grupos estudiados en Shanxi se encuentran sobre todo expuestos a la combustión de carbón en interiores, el cual parece ser la principal fuente de exposición a los HAPs. A diferencia de los cortadores de caña de nuestro estudio, quienes, debido al trabajo físico, el cual suele exigir una elevada tasa de ventilación, se encuentran expuestos a una cantidad potencialmente mayor de partículas inhaladas, además de la deposición de las partículas sobre la piel durante el corte de la caña (Prado et al. 2012). En cuanto al grupo control, si bien, este grupo no está en contacto directo con las plantaciones quemadas, es posible que se encuentren principalmente sujetos a la contaminación ambiental proveniente de fuentes como la combustión incompleta de combustibles fósiles (gas, petróleo, etc.) y/o de otros materiales orgánicos (madera, carbón, etc.), así como de emisiones de vehículos como los camiones cañeros que circulan por todo el ejido (Martínez-Salinas et al. 2010; Zuki 2012; Prado et al. 2012; Sánchez-Palencia et al. 2015).

El análisis de HAPs en función a los parámetros demográficos como los “grupos de edad” y “tiempo en el corte de caña” resultan sumamente importantes para monitorear si existe acumulación de estos contaminantes tras una exposición prolongada en una población. Además, estos contaminantes se consideran tóxicos, persistentes, bioacumulables y lipofílicos, por lo que pueden llegar a almacenarse en los lípidos durante mucho tiempo (Quin et al. 2011).

Específicamente en el grupo expuesto, se observó que las personas que llevan trabajando más de 10 años en el corte de caña, presentan significativamente mayor concentración de benzo(a)antraceno ( $0.073 \mu\text{g/ml} \pm 0.059$ ). También se observó una tendencia mayor en la concentración de HAPs totales, aunque sin diferencia significativa. Asimismo, el análisis en función a los grupos de edad indicó que el grupo de adultos (26 a 59 años) presenta una concentración mayor significativa de antraceno ( $0.062 \mu\text{g/ml} \pm 0.019$ ), seguido de los adultos mayores y en menor concentración en los jóvenes. Cabe señalar que el 73 % de los adultos llevan trabajando más de 10 años en el corte de caña. Esta presencia significativa de HAPs en los adultos y adultos mayores con más de 10 años trabajando en el corte de caña, posiblemente se deba a factores fisiológicos por la edad, poseen más tejido adiposo por lo que los compuestos liposolubles logran acumularse en mayor medida, también la función renal y hepática tiende a disminuir por lo que presentan menor actividad en las enzimas CYP450 (metabolizadoras de los HAPs) (Silbergeld et al. 1998; Alvariza et al. 2010; Tur 2012). No obstante, el análisis de correlación entre la edad y la concentración de HAPs no fue significativa, por lo que, la falta de

dependencia entre la edad y las concentraciones de HAPs sugieren que la presencia del contaminante depende principalmente del metabolismo y la eliminación de estos compuestos del cuerpo humano (Hyo-Band et al. 2011).

Un estudio realizado por la WWF (2005) en el que se analizaron muestras de sangre de trece miembros de familiares en diferentes países en la Unión Europea para identificar sustancias químicas persistentes y bioacumulables mostró que el diclorodifenildicloroetileno (p,p'-DDE), una sustancia persistente al igual que los HAPs, era detectable en muestras de sangre de tres generaciones, siendo la mayor concentración detectada en las abuelas, las cuales tenían concentraciones 2 veces superiores a las de las madres. La menor concentración se encontró en los hijos. De igual forma, Harrad y Porter (2007) reportaron en su estudio que el grupo de edad de entre 41 a 50 años presentó mayores concentraciones de éteres de difenilo polibromados (PBDE), seguidamente de las mujeres de entre 20 y 40 años, aunque sin correlaciones significativas entre la edad de los participantes y la concentración de PBDE. Esta tendencia en los estudios, podría sugerir que los compuestos orgánicos persistentes como los p,p'-DDE, PBDE o los HAPs, tienden a presentarse en mayor concentración en las personas adultas y adultas mayores, probablemente dado los diversos aspectos fisiológicos que poseen a su edad y a los tiempos prolongados de exposición (Hyo-Band et al. 2011; Qin et al. 2011).

### 7.3. Correlación biomarcadores de estrés oxidativo y HAPs

De acuerdo con los resultados, la CAT eritrocitaria no presentó correlaciones significativas con los HAPs individuales y totales, mientras la GST eritrocitaria y plasmática presentaron correlaciones significativas con algunos HAPs individuales.

El coeficiente de correlación indicó en las muestras del grupo expuesto, una asociación entre la GST plasmática con algunos HAPs. Se obtuvo una correlación significativa entre la actividad de GST plasmática y acenafteno ( $r=0.833$   $p=0.010$ ; figura 20), benzo(a)antraceno ( $r=0.444$   $p=0.038$ ; figura 21), benzo(a)pireno ( $r=0.427$   $p=0.053$ ; figura 22). La correlación entre la GST plasmática con los HAPs totales no fue significativa ( $p=0.234$ ) (tabla 10). En el caso del acenafteno (HAP de bajo peso molecular) su concentración puede estar mediada por la matriz en donde fue medido (plasma) y debido a sus características fisicoquímicas, particularmente a su mayor solubilidad (debido a su bajo peso molecular), en comparación con otros HAPs lo cual podría traducirse en su elevado nivel en sangre (Singh et al. 2008). Mientras que benzo(a)antraceno y benzo(a)pireno, no presentan una correlación tan alta con la GST plasmática, pues al ser HAPs de mayor peso molecular poseen menor afinidad a medios acuosos y mayor afinidad a tejidos ricos en lípidos.

En cambio, la GST eritrocitaria del grupo expuesto presentó una correlación negativa con Pireno ( $r= -0.829$ ,  $p= 0.042$ ), esta correlación considerada moderada, posiblemente se dio debido a que pireno, es un HAP de alto peso molecular (de fuente potencialmente por la quema de caña), por lo que presenta mayor afinidad hacia la membrana lipídica del eritrocito. A diferencia del grupo control que presentó

una correlación débil con Antraceno ( $r = -0.425$ ,  $p = 0.049$ ), HAP de bajo peso molecular (de fuente potencialmente residencial), por lo que posee una propiedad de mayor de solubilidad y menor “adherencia” a la membrana de eritrocitos.

La actividad negativa obtenida en los eritrocitos, podría indicar que a medida que la concentración de un hidrocarburo es mayor, la actividad de la GST disminuye, pues como se mencionó anteriormente, los eritrocitos contienen una cantidad de enzimas “finitas”, las cuales están moduladas por los niveles de contaminantes tóxicos circulantes, por lo que la actividad de la GST eritrocitaria representa una respuesta de defensa ante la toxicidad del contaminante, aunque esta implique una disminución en su capacidad antioxidante (correlación negativa), al no poderse sintetizar en el eritrocito (Kumar et al. 2015; Czuczejko et al. 2019).

Asimismo, la acción de la GST para eliminar xenobióticos de un organismo se debe principalmente a que la GST está estructuralmente compuesta por un dominio de unión a GSH (dominio N-terminal o dominio I o sitio G) y un dominio hidrofóbico de unión a sustratos (dominio C-terminal o dominio II o sitio H). El sitio H, tiene una gran variabilidad y distintas propiedades fisicoquímicas como la forma y la hidrofobicidad. Además, en este sitio existen isoenzimas de GST que poseen una secuencia específica que reconoce a los HAPs para su posterior eliminación (Dasari et al. 2018).

Otros investigadores han observado que los HAPs especialmente de alto peso molecular pueden mostrar mayor selectividad hacia la GST. En un trabajo realizado por Pushparajah y col (2008), se estudió la relación entre la GST y 6 HAPs

(benzo(a)pireno, fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, dibenzo(a,l)pireno, Dibenzo(a,h)antraceno y 1 metilfenantreno), siendo benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno y dibenzo(a,h)antraceno los HAPs (de alto peso molecular) que estimularon un aumento en la expresión génica de la GST. De acuerdo con estos autores, los HAPs de alto peso molecular resultan ser los mejores ligandos para el receptor de hidrocarburos de arilo (Ah) y los inductores más potentes del CYP450 y GST, lo que plantea la posibilidad de que el tamaño molecular sea un factor importante y poderoso en la evolución del mecanismo de inducción de la GST (Gowland et al. 2008; Pushparajah et al. 2008; Vázquez-Gómez et al. 2016).

Cabe mencionar, que además de los HAPs, existen otros factores y contaminantes que no fueron considerados en este estudio y que pueden estar contribuyendo al estrés oxidativo. Dado que el sitio de estudio es una zona con vasta actividad agrícola y ganadera, podrían considerarse fuentes de contaminación como el ingenio azucarero, los motores de los automóviles y camiones cañeros, la quema de materia orgánica, fertilizantes y plaguicidas, los cuales emiten contaminantes como el ozono, óxidos de azufre, dióxido y monóxido de carbono, óxidos de nitrógeno y metales pesados en el caso de los plaguicidas, los cuales han sido también asociados al estrés oxidativo (Yang y Omaye 2009; Romieu et al. 2008; Broberg et al. 2017).

#### 7.4. Fuentes potenciales de HAPs

Los HAPs se distribuyen de forma ubicua en diversas matrices ambientales, tanto por procesos naturales (diagénesis de la materia orgánica, síntesis vegetal, incendios forestales y de praderas, volcanes, etc.), como antropogénicos (quema de combustibles fósiles, combustión incompleta de materia orgánica, pirólisis de petróleo, incineración, etc.), siendo la actividad humana la fuente que más contribuye a las emisiones de los HAPs. Asimismo, los HAPs pueden tener un origen petrogénico, cuando son componentes del petróleo; pirogénico, cuando resultan de la quema incompleta de materia orgánica y combustibles fósiles; o incluso de origen biogénico atribuido a las fuentes naturales (Yunker et al. 2002; Wang et al. 2011). Generalmente, la fuente pirogénica desencadena altos porcentajes de HAPs de 4 o más anillos, mientras que el origen petrogénico, está caracterizado por la presencia de HAPs con 3 o menos anillos (Benner et al. 1990; Sánchez-Palencia et al. 2015).

En este estudio, de acuerdo con el análisis de HAPs individuales, se observa en las muestras de plasma del grupo expuesto, una mayor tendencia en la concentración de indeno(123cd)pireno, benzo(b)fluoranteno y benzo(ghi)perileno. En las muestras del grupo control también se observa mayor tendencia de benzo(ghi)perileno y benzo(b)fluoranteno (figura 23). Lo que sugiere una presencia mayor de HAPs de 5 y 6 anillos en ambos grupos (figura 24). La predominancia de los HAPs de más de 4 anillos se asocia a sus propiedades de mayor afinidad lipofílica, toxicidad y persistencia, que son más elevados cuanto mayor es el número de anillos de la molécula. Mientras que la menor contribución de los HAPs de 3 anillos o menos, está en consonancia con su alta volatilidad y mayor solubilidad en el medio (Maliszewska-Kordybach et al. 2009; Zambrano et al. 2012).

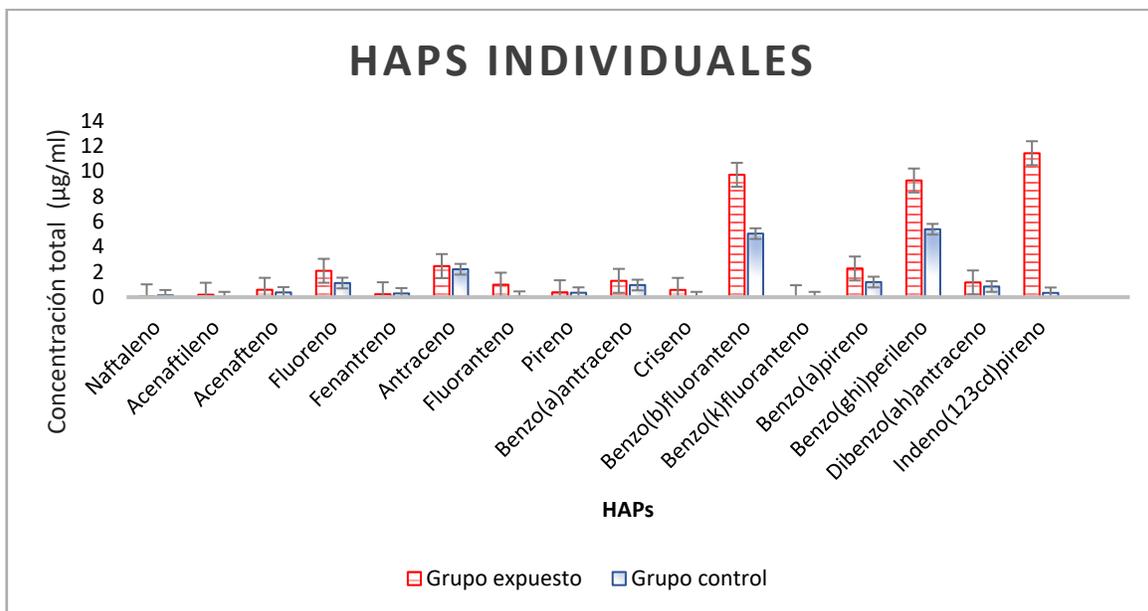


Figura 23. Concentración total de HAPs individuales (µg/ml) en muestras de plasma del grupo expuesto y grupo control

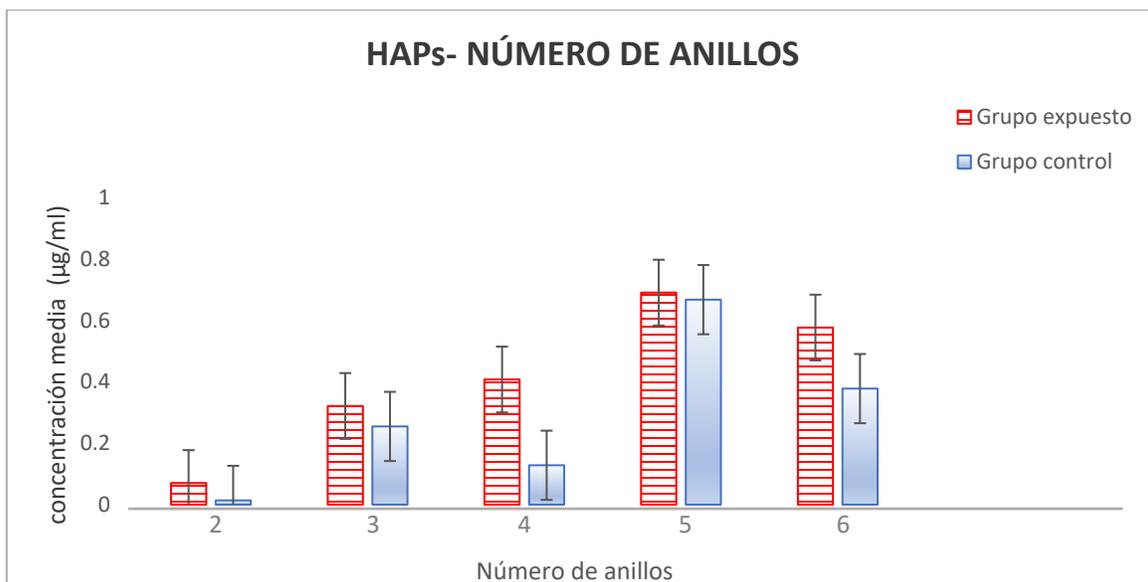


Figura 24. Concentración media de HAPs (µg/ml) con base al número de anillos, en muestras de plasma del grupo expuesto y grupo control.

Para identificar las diferentes fuentes de contaminación por HAPs en las muestras de plasma, se calcularon cuatro índices moleculares:  $FIA / (FIA + Py)$ ,  $Ant / (Ant + Phe)$ ,  $BaA / (Chry + BaA)$  y  $IP / (IP + Bghi)$  (Yunker et al. 2002; Guo et al. 2007; Wang et al. 2011; Peng-Hui et al. 2015).

Según el estudio de Yunker y colaboradores (2002), la relación  $FIA/(FIA+Py)$  inferior a 0.4 implica a las fuentes petrogénicas no quemadas y la relación superior a 0.5 indica la combustión de carbón y madera; mientras que, una relación entre 0.4 y 0.5 indica las fuentes de combustión de combustibles fósiles líquidos.

Para  $IP / (IP + Bghi)$ , la relación inferior a 0.2 sugiere fuentes petrogénicas no quemadas, la relación entre 0.2 y 0.4 indica fuentes de combustión de combustibles fósiles líquidos y la relación superior a 0.5 indica la contribución de la combustión de biomasa vegetal (Guo et al. 2007).

Para el índice  $Ant / (Ant + Phe)$ , una relación inferior a 0.1 indica las fuentes petrogénicas no quemadas y una relación superior a 0.1 indica fuentes de combustión de biomasa vegetal (Yunker et al. 2002).

Finalmente, la relación de  $BaA / (Chry + BaA)$  superior a 0.35 indica contribuciones de fuentes por combustión de biomasa vegetal, mientras que la relación inferior a 0.2 indica fuentes petrogénicas no quemadas (Yunker et al. 2002).

Con base en los resultados del análisis de los índices moleculares se observa que los HAPs detectados en las 41 muestras de plasma del grupo expuesto provienen

de la combustión de la biomasa vegetal, al mismo tiempo 9 casos de este mismo grupo provienen de la combustión de petróleo y 1 caso proviene de una fuente petrogénica no quemada. En el caso del grupo control, se observa que el 100 % de los HAPs en las muestras de plasma provienen de la combustión de la biomasa vegetal (figura 24 y 25).

Cabe recordar que en la mayoría de los ejidos del río Hondo, las principales fuentes pirogénicas provienen de la quema de vegetación que prepara los suelos para la siembra y cosecha, así como la quema de la caña durante la producción de azúcar en el ingenio cañero San Rafael de Pucté. Adicionalmente ocurre la combustión de diésel y gasolina de vehículos que circulan en la zona, como lo son vehículos particulares, camiones cañeros u otros vehículos motorizados. A su vez, las fuentes petrogénicas podrían provenir de derivados del petróleo que estarían entrando al ambiente en fase gaseosa (por evaporación) y particulada (deposición), y en fase líquida por derrames de crudo de las diversas actividades de los asentamientos humanos de ambas riberas del río Hondo e incluso por aportaciones de la ciudad de Chetumal (Álvarez-Legorreta 2014).

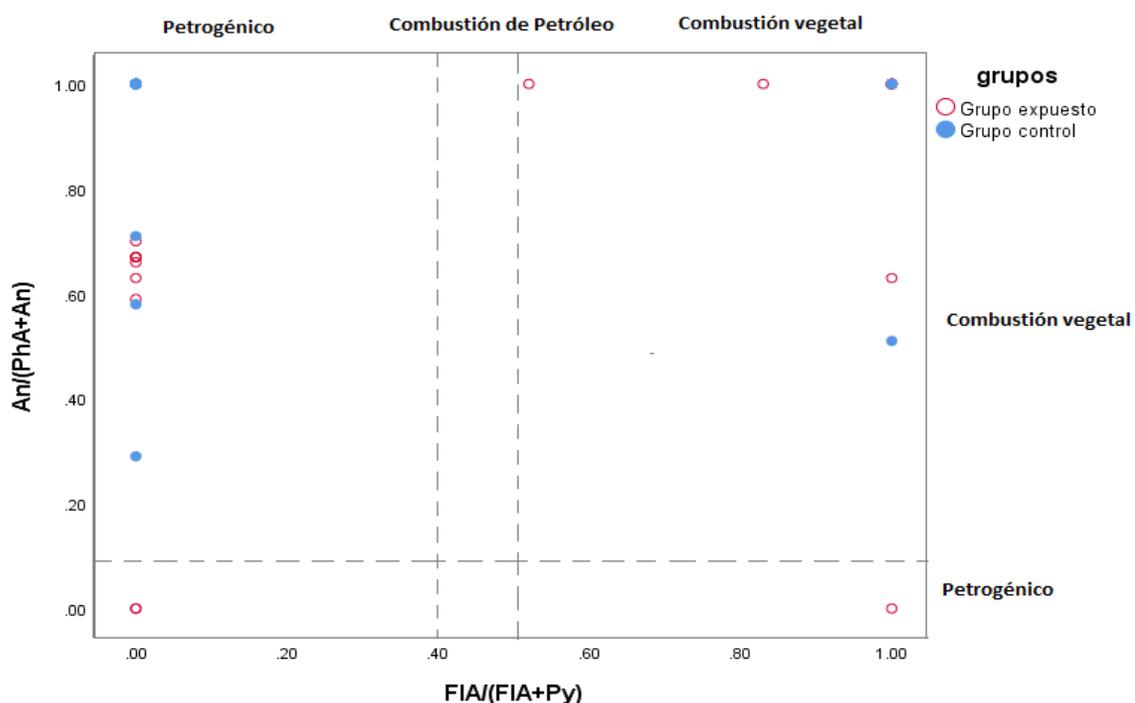


Figura 25. Origen de los HAPs en plasma de humanos del río Hondo, con base a los índices moleculares An/(PhA+An) y FIA/(FIA+Py).

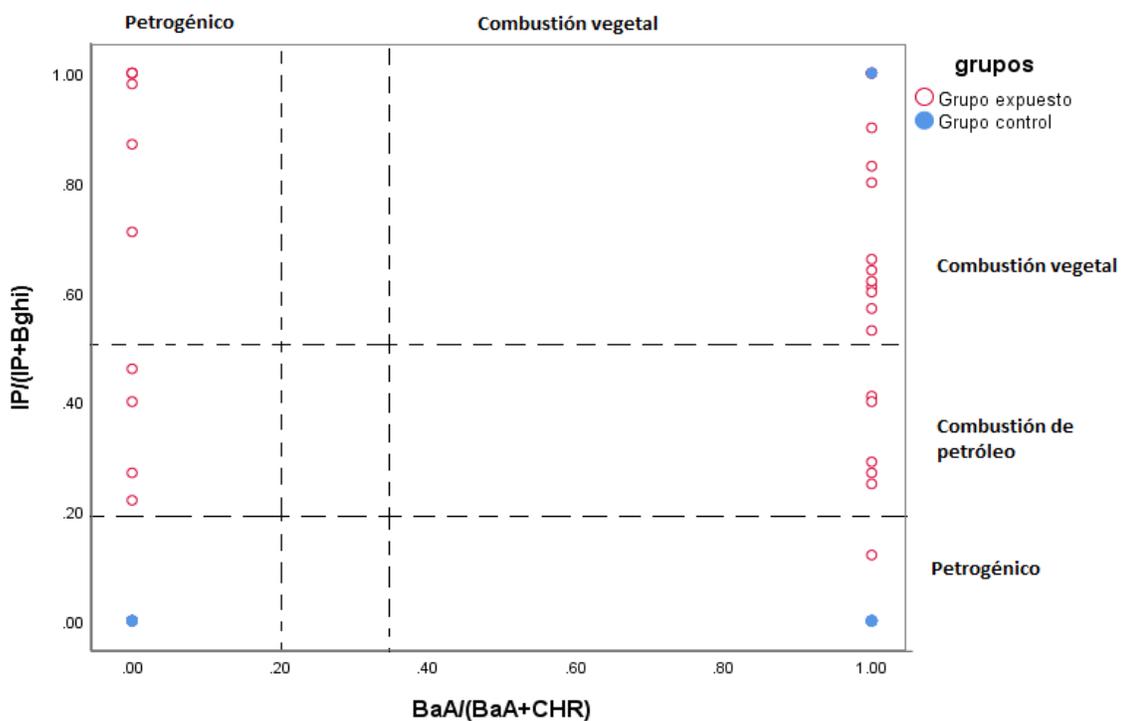


Figura 26. Origen de los HAPs en plasma de humanos del río Hondo, con base a los índices moleculares IP/(IP+Bghi) y BaA/(BaA+CHR).

## 8. CONCLUSIONES

- La actividad de GST plasmática indica que existe mayor estrés oxidativo en los cortadores de caña con respecto al grupo control, del ejido Álvaro Obregón, Quintana Roo, asociado a la exposición a los HAPs por quema vegetal.
- Los HAPs de alto peso molecular predominaron en el grupo expuesto, por lo que posiblemente influyan fuentes como la quema de biomasa de la caña de azúcar y la emisión de vehículos como camiones de carga de caña.
- La correlación entre GST plasmática con acenafteno, benzo(a)antraceno y benzo(a)pireno, podría asociarse al estrés oxidativo del grupo expuesto.
- El análisis de índices moleculares sugiere que los HAPs detectados en las muestras de plasma del grupo expuesto provienen sobre todo de la combustión de la biomasa vegetal potencialmente asociada a la quema de caña de azúcar, mientras que los HAPs de las muestras del grupo control son emitidos por la combustión de la biomasa vegetal potencialmente de índole residencial.

## 9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar más estudios que comprendan la temporada antes de la cosecha y durante la cosecha para determinar si el estrés oxidativo por exposición a los HAPs es aguda o crónica.
- Se sugiere incorporar un análisis de componentes principales para fortalecer las correlaciones entre biomarcadores y HAPs.
- Se recomienda estudiar de manera conjunta otros compuestos contaminantes, tales como los agroquímicos (fertilizantes y plaguicidas), los cuales según estudios también presentan una relación con el desencadenamiento del estrés oxidativo.

## 10. LITERATURA CITADA

- Adler V, Yin Z, Fuchs S, Benezra M, Rosario L, Tew K, Pincus M, Sardana M, Henderson C, Wolf C, *et al.* 1999. Regulation of JNK signaling by GSTp. The EMBO Journal. 18 (5): 1321–1334.
- Aebi H. 1984. Catalase in Vitro. Methods in Enzymology. 105: 121-126.
- Agudo A. 2010. Los Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP): Acercamiento a su problemática como riesgo laboral. Madrid: Metal, Construcción y Afines de UGT (MCA-UGT), Federación de Industria.
- Ahmad I, Pacheco M, Santos M. (2004). Enzymatic and nonenzymatic antioxidants as an adaptation to phagocyte-induced damage in *Anguilla anguilla* L. following in situ harbor water exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety. 57: 290–302.
- Alhamdow A, Lindh C, Albin M, Gustavsson P, Tinnerberg H, Broberg K. 2017. Early markers of cardiovascular disease are associated with occupational exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons. Scientific reports. 7 (1): 1 - 11.
- Álvarez-Legorreta T. 2014. Presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) en sedimentos del río Hondo, Quintana Roo, México. Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental. 425-436. En: A.V. Botello, J. Rendón von Osten, J. A. Benítez y G. Gold-Bouchot (eds.). Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. UAC-ICMYL, CINVESTAV-Unidad Mérida.
- Alvariza S, Betancur C, Eiraldi R, Fagiolino P. 2010. Guía de farmacocinética. Uruguay: Universidad de la República.
- Arango S. 2012. Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. Rev Fac Nac Salud Pública. 30 (1): 75 - 82.

- Arias A, Marcovecchio J, Freije R, Ponce-Velez G, Vázquez-Botello A. 2010. Análisis de fuentes y toxicidad equivalente de sedimentos contaminados con PAHs en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Hidrobiológica*. 20 (1): 41-56.
- Armendáriz R, Álvarez R, Hardisson A. 2006. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) en productos de la pesca: revisión. *Revista de Toxicología*. 23 (1): 1 - 6.
- ATSDR. 1995. Resumen de Salud Pública. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Estados Unidos: Departamento de salud y servicios humanos de los EE.UU.
- Barreira L, Mudge S, Bebianno M. 2007. Oxidative Stress in the Clam *Ruditapes decussatus* (Linnaeus, 1758) in Relation to Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Body Burden. *Environmental Toxicology*. 22(2): 203 - 221.
- Barreto L.P. 2006. Glutathion Transferasas de clase Omega en *Saccharomyces cerevisiae*: Estudio Bioquímico Funcional. Universitat de Lleida.
- Benner B, Bryner N, Wise S, Mulholland G. 1990. Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Emissions from the Combustion Crude Oil on Water. *Environ. Sci. Technol.* 24 (9): 1418 - 1427.
- Bocedi A, Noce A, Marrone G, Noce G, Cattani G, Gambardella G, Di Lauro M, Di Daniele N, Ricci G. 2019. Glutathione Transferase P1-1 an Enzyme Useful in Biomedicine and as Biomarker in Clinical Practice and in Environmental Pollution. *Nutrients*. 11 (8): 1 - 34.
- Bocedi A, Fabrini R, Lai O, Alfieri L, Roncoroni C, Noce A, Pedersen JZ, Ricci G. 2016. Erythrocyte glutathione transferase: a general probe for chemical contaminations in mammals. *Cell Death Discovery*. 2(1): 1-5.
- Boopathy R, Asrabadi B, Ferguson T. 2002. Sugar Cane (*Saccharum officinarum* L) Burning and Asthma in Southeast Louisiana, USA. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 68: 173–179.

- Buenfil A. 2014. Biomarcadores de efecto y exposición a metales pesados en *Crocodylus moreletii*, en el río Hondo. Chetumal, Quintana Roo: El Colegio de la Frontera Sur.
- Burchiel S, y Luster M. 2001. Signaling by Environmental Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Human Lymphocytes. *Clinical Immunology*. 98 (1) 2-10.
- Cançado J, Saldiva P, Pereira L, Lara L, Artaxo P, Martinelli L, Arbex MA, Zanobetti A, Braga A. 2006. The Impact of Sugar Cane–Burning Emissions on the Respiratory System of Children and the Elderly. *Environmental Health Perspectives*. 114 (5): 725-730.
- Carvajal C. 2019. Especies reactivas del oxígeno: formación, función y estrés oxidativo. *Revista Medicina Legal de Costa Rica*. 36 (1): 91-100.
- Castillo E. 2005. Regulación por estrés oxidativo de la actividad del factor de transcripción Pap1 de *Schizosaccharomyces pombe*. Barcelona: Universitat Pompeu Fabra.
- Ceriello A. 2006. Controlling oxidative stress as a novel molecular approach to protecting the vascular wall in diabetes. *Lipidology*. 17 (5): 510–518.
- Céspedes E, Hernández, I, Llópiz N. 1996. Enzimas que participan como barreras fisiológicas para eliminar los radicales libres: II. Catalasa. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 15 (2).
- Chirino Y, Benzo Z, Fernández R. 2015. Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en Partículas Atmosféricas Sedimentadas. Un estudio comparativo en diversas áreas en la ciudad de Caracas-Venezuela. *Revista de Investigación*. 84 (39): 157 - 180.
- CONADESUCA. 2019. 6to. Informe estadístico del sector agroindustrial de la caña de azúcar en México, zafras 2009-2010 / 2018-2019. México: Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar.

- Consejo Nacional de Población. 2000. Indices de desarrollo social en las etapas del curso de vida. México. CONAPO.
- Corrales L y Muñoz M. 2012. Estés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. 10 (18): 135 - 250.
- Costa-Amaral I, Carvalho V, Vinicius M, Valente D, Pereira A, Figueiredo V, Mendonça de Souza J, Castro VS, Trancoso MF, Fonseca AS, *et al.* 2019. Environmental assessment and evaluation of oxidative stress and genotoxicity biomarkers related to chronic occupational exposure to benzene. Environmental research and public health. 16 (22): 1-32.
- Coz J y Villavicenio J. 2013. Indicadores de estrés oxidativo en eritrocitos de una población de Huaraz. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Csonka C, Pataki T, Kovacs P, Müller S, Schroeter M, Tosaki A, Blasig I. 2000. Effects of oxidative stress on the expression of antioxidative defense enzymes in spontaneously hypertensive rat hearts. Free Radical Biology & Medicine. 29 (7): 612–619.
- Czuczejko J, Mila-Kierzenkowska C, Szewczyk-Golec K. 2019. Plasma  $\alpha$ -Glutathione S-Transferase Evaluation in Patients with Acute and Chronic Liver Injury. Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology. 1 - 7.
- Daly G, Lei Y, Castillo L, Muir D, Wania F. 2007. Polycyclic aromatic hydrocarbons in Costa Rican air and soil: A tropical/temperate comparison. Atmospheric Environment. 41 (34): 7339–7350.
- Dasari S, Ganjaji M, Yellanurkonda P, Basha S, Meriga B. 2018. Role of glutathione S-transferases in detoxification of a polycyclic aromatic hydrocarbon, methylcholanthrene. Chemico-Biological Interactions. 294: 81 -90.

- De Andrade JS, Cristale J, Soares F, Guilherme S, Zocolo J, Marchi MR. 2010. Contribution of sugar-cane harvesting season to atmospheric contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in Araraquara city, Southeast Brazil. *Atmospheric Environment*. 44 (24): 2913-2919.
- Delfino R, Staimer N, Vaziri N. 2011. Air pollution and circulating biomarkers of oxidative stress. *Air Qual Atmos Health*. 4 (1): 37-52.
- Díaz A. 2003. La estructura de las catalasas. *REB* 22 (2) Departamento de Bioquímica, Instituto de Fisiología Celular, UNAM. 76-84.
- Dor F, Dab W, Empereur-Bissonnet P, Zmirou D. 1999. Validity of Biomarkers in Environmental Health Studies: The Case of PAHs and Benzene. *Critical Reviews in Toxicology*. 29 (2): 129–168.
- Elejalde J. 2000. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*. 18 (6): 326-335.
- Environmental Protection Agency. 1996. Quality Criteria for Particulate Matter, vol. III of EPA/600/P-95/001CF. USA: National Center for Environmental Assessment, Research Triangle Park.
- Fernández A, Yarto M, Castro J. 2004. Las sustancias tóxicas persistentes en México. México: INE-SEMARNAT.
- Franco Y, Ramírez C. 2013. El benzo(a)pireno en los alimentos y su relación con el cáncer. *Perspectivas en nutrición humana*. 15 (1): 99-112.
- García-García J, Reding-Bernal A, López-Alvarenga J. 2013. Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Inv Ed Med*. 2(8): 217-224.
- García-Ortega M. 2016. Conectividad laboral y migratoria en la agroindustria azucarera en la frontera sur de México. Chetumal, Quintana Roo. Observatorio Iberoamericano sobre Movilidad Humana, Migraciones y Desarrollo. OBIMID.

- Ghio A, Carraway M, Madden M. 2012. Composition of Air Pollution Particles and Oxidative Stress in Cells, Tissues, and Living Systems. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*. 15 (1): 1–21.
- González T. 2015. Determinación de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros sanguíneos en tortugas Caguama (*Caretta caretta*; Linnaeus, 1758) de Quintana Roo, México. Chetumal, Quintana Roo: El Colegio de la Frontera Sur.
- Gowland BT, McIntosh AD, Davies IM, Moffat CF, Webster L. 2002. Implications from a field study regarding the relationship between polycyclic aromatic hydrocarbons and glutathione S-transferase activity in mussels. *Marine Environmental Research*. 54: 231–235.
- Guo Z, Lin T, Zhang G, Zheng M, Zhang Z, Has Y, Fang M. 2007. The sedimentary fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Yangtze River Estuary coastal sea for the past century. *Science of the Total Environment*. 386: 33-41.
- Gutiérrez-Salinas J, García-Ortíz L, Chima-Galán MC, Suástegui-Domínguez S, Rivera-Badillo ME, Cruz-Tovar L. 2009. Determinación de la concentración de malondialdehído y la actividad de enzimas antioxidantes en eritrocitos contenidos en bolsas para transfusión sanguínea. *Rev Mex Patol Clin*. 56 (4): 223-234.
- Haarmann-Stemmann T, Abel J, Fritsche E, Krutmann J. 2012. The AhR–Nrf2 Pathway in Keratinocytes: On the Road to Chemoprevention? *Journal of Investigative Dermatology*. 132 (1): 7–9.
- Habig W, Pabst M, Jakoby W. 1974. Glutathione S-Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*. 249 (22): 7130-71339.

- Halliwell B. 2012. Free radicals and antioxidants: updating a personal view. *Nutrition Reviews*®. 70 (5): 257–265.
- Harrad S y Porter L. 2007. Concentrations of polybrominated diphenyl ethers in blood serum from New Zealand. *Chemosphere*. 66 (10): 2019–2023.
- Hecht S. 1999. Tobacco smoke carcinogens and lung cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 91 (14): 1994 - 1210.
- IARC. 2010. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 92. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic. Lyon (France): International Agency.
- Ibrahim S y Kumar P. 2007. Alterations in Antioxidant Enzymes During Aging in Humans. *Mol Biotechnol*. 37 (1): 58–61.
- Instituto Nacional de Estadística, Geografía e informática. 2005. Los adultos mayores en México. Perfil Sociodemográfico al inicio del siglo XXI. Aguascalientes, México. INEGI.
- Jiménez-Mora JP, Rodríguez-Romero W. 2018. Actividad de enzimas antioxidantes en una muestra de adultos jóvenes y mayores del Valle Central, Costa Rica. *Rev. Biomédica*. 29 (1): 13-24.
- Kamal A, Qamar K, Gulfraz M, Anwar MA, Malik R. 2015. PAH exposure and oxidative stress indicators of human cohorts exposed to traffic pollution in Lahore city (Pakistan). *Chemosphere*. 120: 59-67.
- Kiruthiga P, Beema R, Karutha S, Arun S, Govindu S, Pandima K. 2007. Protective effect of silymarin on erythrocyte haemolysate against benzo(a)pyrene and exogenous reactive oxygen species (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) induced oxidative stress. *Chemosphere*. 68 (8): 1511–1518.

- Kosenko E, Aliev G, Tikhonova L, Li Y, Poghosyan A, Kaminsky Y. 2012. Antioxidant Status and Energy State of Erythrocytes in Alzheimer Dementia: Probing for Markers . *CNS & Neurological Disorders - Drug Targets*. 11 (7): 1 - 8.
- Kumar P, Ibrahim S. 2010. Age-Dependent Changes in Glutathione-S-Transferase: Correlation with Total Plasma Antioxidant Potential and Red Cell Intracellular Glutathione. *Ind J Clin Biochem*. 25(4): 398–400.
- Kumar P, Kumar P, Chandra P. 2015. Biomarkers of oxidative stress in erythrocytes as a function of human age. *World J Methodol*. 5(4): 216–222.
- Kumawat M, Kumar T, Singh I, Singh N, Kumar S, Singh V, Shankar V, Kumar, S. 2012. Decrease in antioxidant status of plasma and erythrocytes from geriatric population. *Disease Markers*. 33 (6): 303–308 .
- Leite M, Trevisan D, Antonangelo L, Junqueira L, Ramos D, Almeida E, Santos P. 2018. Burnt sugarcane harvesting work: effects on pulmonary and systemic inflammatory markers. *Inhalation Toxicology*. 30 (6): 1 - 8.
- Liu Y, Chen L, Huang QH, Li WY, Tang YJ, Zhao JF. 2009. Source apportionment of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in surface sediments of the Huangpu River, Shanghai, China. *SCIENCE OF THE TOTAL ENVIRONMENT*. 407 , 2931 – 2938.
- Lodovici M y Bigagli E. 2011. Oxidative Stress and Air Pollution Exposure. *Journal of Toxicology*. 1-9.
- Loguercio C, De Girolamo V, Cuomo A, Argenzio F, Iannotta C, Disalvo D, Grella A, Del Vecchio C. 1998. Determination of plasma a-glutathione-s transferases in chronic alcohol abusers: relationship with alcohol intake and liver involvement. *Alcohol & Alcoholism*. 33 (4): 366-372.
- Loutfy N, Malhat F y Ahmed M. 2017. Polycyclic aromatic hydrocarbons residues in blood serum and human milk, an Egyptian pilot study. *Human and Ecological Risk Assessment: An International*. 23 (7): 1573–1584.

- Lu H, Zhu L y Chen S. 2008. Pollution level, phase distribution and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in indoor air at public places of Hangzhou, China. *Environmental Pollution*. 152 (3): 569 - 575.
- Lushchak V. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*. 101 (1): 13–30.
- Lushchak V. 2014. Classification of oxidative stress based on its intensity. *EXCLI Journal*. 13: 922-937.
- Maliszewska-Kordybach B, Smreczak B y Klimkowicz-Pawlas K. 2009. Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of the Total Environment*. 407 (12): 3746–3753.
- Martínez-Salinas R, Leal E, Batres-Esquivel L, Domínguez-Cortinas G, Calderón J, Díaz-Barriga F, Pérez-Maldonado I. 2010. Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. *Int Arch Occup Environ Health*. 83 (6): 617–623.
- Martínez-Valenzuela C, Rodríguez-Quintana A, Meza E, Waliszewski S, Amador-Muñoz O, Mora-Romero A, Calderón-Segura ME, Félix-Gastélum R, Rodríguez-Romero I, Caba M. 2015. Cytogenetic biomonitoring of occupationally exposed workers to ashes from burning of sugar cane in Ahome, Sinaloa, México. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 40 (2): 397–401.
- Mastandrea C, Chichizola C, Ludueña, B, Sánchez H, Álvarez H, Gutiérrez A. 2005. Hidrocarburos aromáticos policíclicos. Riesgos para la salud y marcadores biológicos. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. 39(1): 27-36.
- Mayor-Oxilia R. 2010. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Rev. Inst. Med. Trop*. 5 (2) : 23-29.

- Meléndez I, Quijano M y Quijano A. 2016. Actividad mutagénica inducida por hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de PM2.5 en un sector residencial de villa del Rosario-norte de Santander, Colombia. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 32 (4): 435-444.
- Meléndez R. 2018. Evaluación de HAPs y GST como biomarcador de estrés oxidativo en la medusa *Cassiopea* spp. en dos sistemas Lagunares de Quintana Roo, México. Chetumal: ECOSUR.
- Mohanty J, Nagababu E y Rifkind J. 2014. Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Frontiers in Physiology.* 5 (84): 1 - 6.
- Moon H, Lee D, Lee Y, Kannan K. 2012. Occurrence and accumulation patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons and synthetic musk compounds in adipose tissues of Korean females. *Chemosphere.* 86 (5): 485–490.
- Mora E, Soto A, Muñoz V, Sánchez R, Carrera S, Pérez E, Landeros-Olvera E. 2015. Características de la prueba piloto: Revisión de artículos publicados en enfermería. *Revista de enfermería neurológica.* 14 (3): 169 - 175.
- Moro A, Charão M, Brucker N, Durgante J, Baierle M, Bubols G, Goethel G, Fracasso R, Nascimento S, Bulcão R, *et al.* 2013. Genotoxicity and oxidative stress in gasoline station attendants. *Mutation Research:* 754 (1-2): 63-70.
- Mugica-Alvarez V, Santiago N, Figueroa-Lara J, Flores-Rodríguez J, Torres M, Magaña M. 2015. Emissions of PAHs derived from sugarcane burning and processing in Chiapas and Morelos México. *Science of the Total Environment.* 527-528 (5): 474–482.
- Muñoz B y Albores A. 2011. DNA Damage Caused by Polycyclic Aromatic Hydrocarbons: Mechanisms and Markers. *Selected Topics in DNA Repair.* InTech. 125 - 145

- Naufal Z, Zhiwen L, Zhu L, Zhou GD, McDonald T, He LY, Mitchell L, Ren A, Zhu H, Finnell R, *et al.* 2010. Biomarkers of exposure to combustion by-products in human population in Shanxi, China. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*. 20 (4): 310-319.
- OIT, O. I. 2000. Seguridad y salud en la agricultura. SafeWork.
- Oliva, M., González, M., Gravato, C., Guilhermino, L., & Perales, J. (2010). Biochemical effects and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in senegal sole (*Solea senegalensis*) from a Huelva estuary (SW Spain). *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 73 (8): 1842-1851.
- Oluremi O, Idowu A, Adedoyin K, Anthony A, Oluwole A. 2019. Dermination of polycyclic aromatic hydrocarbons in blood plasma of neurology patients. *J. Toxicol. Environ. Health Sci*. 11 (1): 1 - 8.
- Ortiz-Salinas R, Cram S y Sommer I. 2012. Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) en suelos de la llanura aluvial baja del Estado de Tabasco, México. *Universidad y Ciencia. Trópico húmedo*. 28(2): 131-144.
- Peng-hui L, Yan W, Yu-hua L, Hong-li L, Xianliang Y. 2015. Origin and Distribution of PAHs in Ambient Particulate Samples at High Mountain Region in Southern China. *Hindawi*. 1- 8.
- Pérez P y Pérez J. 2000. Métodos para medir el daño oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 29: 192-198.
- Pippenger C, Browne R, Armstrong D. 1998. Regulatory antioxidant enzymes. En D. Armstrong, *Methods in molecular biology*. Totowa, NJ: Humana Press Inc. 299-313.
- Pleil J, Stiegel M, Sobus J, Tabucchi S, Ghio A, Madden M. 2010. Cumulative exposure assessment for trace-level polycyclic aromatic hydrocarbons

- (PAHs) using human blood and plasma analysis. *Journal of Chromatography*. 878 (21): 1753–1760.
- Prado G, Zanetta D, Arbex M, Braga A, Pereira L, De Marchi M, Melo AP, Marcourakis T, Sugauara LE, Fígaro G. 2012. Burnt sugarcane harvesting: particulate matter exposure and the effects on lung function, oxidative stress, and urinary 1-hydroxypyrene. *Science of the Total Environment*. 437: 200–208.
- Prashar S, Singh S, Gupta A, Nath R. 1993. Antioxidant enzymes in RBCs as a biological index of age related macular degeneration. *Acta Ophthalmologica*. 71 (2): 214 - 218.
- Pushparajah D, Umachandran M, Nazir T, Plant K, Plant N, Lewis D, Ioannides C. 2008. Up-regulation of CYP1A/B in rat lung and liver, and human liver precision-cut slices by a series of polycyclic aromatic hydrocarbons; association with the Ah locus and importance of molecular size. *Toxicology in Vitro*. 22 (1): 128–145.
- Pushparajah D, Umachandran M, Plant K, Plant N, Ioannides C. (2008). Up-regulation of the glutathione S-transferase system in human liver by polycyclic aromatic hydrocarbons; comparison with rat liver and lung. *Mutagenesis*. 23(4): 299-308.
- Qin Y, Leung C, Lin C, Leung A, Wang H, Giesy J, Wong M. 2011. Halogenated POPs and PAHs in Blood Plasma of Hong Kong Residents. *Environ. Sci. Technol*. 45 (4): 1630–1637.
- Quijano A y Meléndez I. 2014. Identificación de hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPS) en el aire de Cúcuta-Colombia: Efecto gen tóxico. *Revista Escuela de Ingeniería de Antioquia*. 11 (21): 79-87.

- Quijano A, Quijano M, Meléndez I. 2015. Cuantificación de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) en el material particulado PM2.5 de una zona residencial de Pamplona, Colombia. *Luna Azul*. 40: 85 - 101.
- Ramos-Valencia J. 2012. Análisis de las determinantes sociales de la salud en la frontera del río Hondo. Chetumal, Quintana Roo: Universidad de Quintana Roo.
- Rendón J. 2005. Uso de Biomarcadores en Ecosistemas Acuáticos. En A. Botello, J. Rendón Von Osten, G. Gold-Bouchot, & C. Agraz-Hernández, Golfo de México. Contaminación e Impacto Ambiental: Diagnóstico y Tendencias (págs. 121-140). Campeche: Centro EPOMEX. Universidad Autónoma de Campeche.
- Rengarajan T, Rajendran P, Nandakumar N, Lokeshkumar B, Rajendran P, Nishigaki P. 2015. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. *Asian Pac J Trop Biomed*. 5(3): 182-189.
- Röhrdanz E, Schmuck G, Ohler S, Tran-Thi Q, Kahl R. 2001. Changes in antioxidant enzyme expression in response to hydrogen peroxide in rat astroglial cells. *Arch Toxicol*. 75 (3): 150 - 158.
- Romero-Calderon A, Moreno-Macías H, Manrique-Moreno D, Riojas-Rodríguez H, Torres-Ramos Y, Montoya-Estrada A, Hicks-Gómez JJ, Linares-Segovia B, Cárdenas-González B, Bárcenas C, Barraza-Villarreal A. 2017. Estrés oxidativo, función pulmonar y exposición a contaminantes atmosféricos en escolares mexicanos con y sin asma. *salud pública de méxico*. 59 (6): 630-638.
- Romieu I, Castro-Giner F, Kunzli N, Sunyer J. 2008. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review. *European Respiratory Journal*. 31 (1): 179-196.

- Sagara Y, Dargusch R, Chambers D, Davis J, Schubert D, Maher P. 1998. Cellular mechanisms of resistance to chronic oxidative stress. *Free Radical Biology & Medicine*. 24 (9): 1375–1389.
- SAGARPA. 2017. Planificación agrícola nacional. México: Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación.
- Sánchez-Palencia Y, Ortiz J, Torres T, Carro C. 2015. Origen y distribución de los hidrocarburos policíclicos aromáticos en sedimentos actuales de la Laguna de El Hito (España central). *GEOGACETA*. 57: 127 - 130.
- Screenivasulu D, Muni G, Prabhakar Y, Screenivasulo B, Balaji M. 2018. Role of glutathione S-transferases in detoxification of a polycyclic aromatic hydrocarbon, methylcholanthrene. *Chemico-Biological Interactions*. 294: 81-90.
- Sies H. 1985. Oxidative stress: introductory remarks. En H. Sies, *Oxidative stress* London: Academic Press. (págs. 1 - 8).
- Silbergeld E, Holmberg B, Högberg J, Johanson G, Djuric D, Jakubowski M., . . . McKinnon, A. (1998). Toxicología: Principios Generales de la Toxicología. En OIT, *Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo*. Ginebra: Organización Internacional del Trabajo. 33.3 - 33.7
- Singh V, Patel D, Ram J, Mathur N, Siddiqui M. 2008. Blood levels of polycyclic aromatic hydrocarbons in children and their association with oxidative stress indices: An Indian perspective. *Clinical Biochemistry*. 41 (3): 152–161.
- Singh V, Patel D, Ram S, Mathur N, Siddiqui M, Behari J. 2008. Blood Levels of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Children of Lucknow, India. *Arch Environ Contam Toxicol*. 54 (2): 348-354.
- Sívori J. 1993. Regulación de la Glutación-S-Transferasa (GST) de *Triatoma infestans* y su importancia en el proceso de intoxicación por insecticidas

organofosforados. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

Skupinska K, Misiewicz I, Kasprzycka-Guttman T. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons: physicochemical properties, environmental appearance and impact on living organisms. *Acta Poloniae - Drug Research*. 6 (3): 233-240.

Terrado S, Barthelemy A, Valls M, Armand O. 2003. Radicales Libres y Defensas Antioxidantes. 37 (1).

Tur-Marí J. 2012. Interacciones dieta-xenobióticos en las etapas de la vida y situaciones fisiológicas. Madrid: Instituto Tomás Pascual.

Valavanidis A, Fiotakis K, Vlachogianni T. 2011. The Role of Stable Free Radicals, Metals and PAHs of Airborne Particulate Matter in Mechanisms of Oxidative Stress and Carcinogenicity. En Zereini F, Wiseman C. (eds) *Urban Airborne Particulate Matter. Environmental Science and Engineering (Environmental Engineering)*. Springer, Berlin, Heidelberg. 411-426.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin M, Mazur M, Telser J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 39 (1): 44-84.

Vázquez-Gómez G, Rubio-Lightbourn J, Espinosa-Aguirre J. 2016. Mecanismos de acción del receptor de hidrocarburos de arilos en el metabolismo del benzo[a]pireno y el desarrollo de tumores. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 19(1): 54-67.

Villa-Cruz V. 2009. Efecto del brócoli y sulforafano en dieta de tilapia (*Oreochromis niloticus*) sobre el estrés oxidativo provocado por hidrocarburos aromáticos policíclicos. Ensenada, Baja California, México: CICESE.

Villanueva C, Sevilla M, Kross D. 2013. La bioética medioambiental y el estrés oxidativo. *Cuicuilco*. 20 (58) 91-108.

- Wang C, Wang W, He S, Du J, Sun Z. 2011. Sources and distribution of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in Yellow River Delta Nature Reserve, China. *Applied Geochemistry*. 26 (8): 1330–1336.
- Whalen R y Boyer T. 1998. Human Glutathione S-Transferases. *Seminars in liver disease*. 18 (4): 345- 358.
- WHO. 2003. Polynuclear aromatic hydrocarbons in drinking-water. . World Health Organization. Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality.
- WWF. 2005. Generation X. Results of WWF's European family biomonitoring. Belgium: WWF
- Yang W y Omaye S. 2009. Air pollutants, oxidative stress and human health. *Mutation Research*. 674 (1-2): 45–54.
- Yunker M, Macdonald R, Vingarzan R, Mitchell R, Goyette D, Sylvestre S. 2002. PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*: 33 (4): 489–515.
- Zambrano M, Casanova R, Prada J, Arencibia G, Vidal A, Capetillo N. 2012. Bioacumulación de hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) (Arcoida: Arcidae). *Gayana*. 76 (1): 1 - 9.
- Zepeda-Arce R, Benitez-Trinidad A, Hernández-Ochoa I, Rojas-García, A, Herrera-Moreno J, Barrón-Vivanco B, Bernal-Hernández Y. 2017. Oxidative stress and genetic damage among workers exposed primarily to organophosphate and pyrethroid pesticides. *Environmental Toxicology*. 32 (6): 1754-1764.
- Zhou Y, Levy J. 2007. Factors influencing the spatial extent of mobile source air pollution impacts: a meta-analysis. *BMC Public Health*. 7 (89): 1 - 11.

Zuki B. 2012. Evaluación de la exposición a benceno e hidrocarburos aromáticos policíclicos en población infantil de San Luis Potosí. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

## 11. ANEXOS

### Anexo 1. Encuesta para el grupo expuesto

1. Nombre	
2. Lugar de origen	
3. Edad	
4. Peso	
5. ¿Hace cuánto tiempo que trabaja en el corte de caña?	a) menos de 1 año    b) de 1 a 5 años    c) más de 5 años
6. ¿Qué actividades agrícolas realizas antes de la zafra?	
7. ¿Cuántas horas trabaja en el corte de caña?	a) 4 horas    b) 8 horas    c) más de 8 horas
8. ¿Cuándo trabaja en el campo acostumbra comer ahí o cerca de él?	a) Si                      b) No
9. ¿Utiliza equipo de protección para el corte de caña?	a) Siempre    b) Algunas veces    c) Nunca
10. ¿Que equipo utiliza para protegerse?	a) Guantes    b) Traje especial    c) Mascarilla d) Pantalón    e) Camisa de manga larga f) Lentes o gafas    g) Botas    h) Gorro especial i) Sombrero    j) Otros _____
11. ¿Fuma?	a) Si, que tiempo lleva fumando _____    b) No
12. ¿Durante sus jornadas laborales presenta síntomas como irritación en la piel o de carácter respiratorio?	a) piel b) respiratorio c) Otros _____ d) No
13. Especifique los síntomas	
14. ¿Cuenta con alguna enfermedad diagnosticada?	a) Si, mencione cual _____ b) No

Anexo 2. Encuesta para el grupo control

1. Nombre	
2. Lugar de origen	
3. Edad	
4. Peso	
5. ¿Hace cuánto tiempo que reside en el ejido Álvaro Obregón?	
6. ¿Cuál es su oficio u ocupación?	
7. ¿Fuma?	a) Si, que tiempo lleva fumando _____ b) No
8. ¿Al cocinar utilizan fogón en su casa?	a) Si b) No
9. ¿Durante la temporada de zafra presenta síntomas como irritación en la piel o de carácter respiratorio?	a) piel b) respiratorio c) Otros _____ d) No
10. Especifique los síntomas	
11. ¿Cuenta con alguna enfermedad diagnosticada?	a) Si, mencione cual _____ b) No

## 12. ARTICULO

### **Biomarkers of oxidative stress and exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons in cane cutters of the Ribera del Río Hondo, Quintana Roo, Mexico**

Citlali G. Carrillo-García<sup>1</sup>, Teresa Álvarez-Legorreta<sup>1\*</sup>, María C. Ortiz-Hernández<sup>1</sup>, Jaime Rendon Von Osten<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Environmental Biotechnology. Department of Sustainability Sciences. The College of the Southern Border (ECOSUR). Av. Centenario km 5.5, 77014 Chetumal, Quintana Roo, Mexico.

<sup>2</sup> EPOMEX Institute, Autonomous University of Campeche

\* [teral@ecosur.mx](mailto:teral@ecosur.mx)

#### **Abstract**

**Objective.** The nonmechanized harvesting of sugarcane, preceded by burning, exposes workers and inhabitants of the ejido to high concentrations of pollutants such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). This study aimed to evaluate oxidative stress markers in sugarcane workers and in the inhabitants of Álvaro Obregón, an agricultural ejido of Quintana Roo, Mexico, during the harvest period and to evaluate the exposure of the population to PAHs. Sugarcane workers and healthy volunteers were evaluated through an informative questionnaire and through the measurement of two biomarkers of oxidative stress: catalase (CAT) and glutathione S-transferase (GST) in plasma and erythrocytes.

**Methodology.** A total of 66 volunteers participated in the study. For the analysis of oxidative stress biomarkers, detection by spectrophotometry was used, and gas chromatography with flame detection was used for the analysis of PAHs.

**Results.** The erythrocyte and plasma CAT and erythrocyte GST enzymes were not significantly different between the exposed group and the control group. Plasma GST was significantly different in the exposed group vs. the control group ( $2.40 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm$   $0.71 \times 10^{-3}$  vs.  $1.95 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm$   $0.92 \times 10^{-3}$ ), confirming greater oxidative stress in the exposed group. Likewise, significant correlations were seen between the plasma GST activity of the exposed group and the levels of acenaphthene, benzo [a] anthracene, and benzo [a] pyrene. The erythrocyte GST of the exposed group showed a negative correlation with pyrene, and the erythrocyte GST of the control group showed a negative correlation with anthracene. The analysis of molecular indices suggested that the PAHs detected in all 41 plasma samples of the exposed group came from the combustion of plant biomass; eight of them also had PAHs in their plasma that came from the combustion of liquid fossils; and one from

an unburned petrogenic source. In the control group, 100% of the PAHs seemed to come from the combustion of plant biomass.

Conclusion. As shown by the activity of GST, there is greater oxidative stress in cane cutters than in a control group of the Álvaro Obregón ejido, Quintana Roo, associated with exposure to PAHs from plant burning.

Key words: Oxidative stress, PAHs, Biomarkers, Plasma, Erythrocytes.

## Introduction

In Mexico, sugarcane is cultivated in 22 states in both the southeast and northeast, exceeding 800 thousand hectares of land. The state of Quintana Roo, located to the south of the Mexican Peninsula, belongs to one of the sugar agroindustrial regions of the southeast of the country along with Campeche, Tabasco, and Chiapas. Currently, sugarcane is still harvested manually. Approximately 1,134 cane cutters work to harvest it each year for the San Rafael de Pucté sugar mill, located in the municipality of Othón P. Blanco, Quintana Roo (García-Ortega 2016; SAGARPA 2017; CONADESUCA 2019). This nonmechanized harvesting process is usually preceded by a preparation stage that consists of burning the sugar cane one day before its harvest to remove the leaves from the stems and facilitate the cutting process. However, this method of plant burning is responsible for the emission of polluting compounds such as polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) (Prado et

al. 2012; Zhou and Levy 2007). These compounds are associated with several negative effects on the health of exposed populations, either by inhalation, dermal exposure, or even ingestion. PAHs can induce toxicity in the body by interfering with the functions of cellular components and lead to the overproduction of reactive oxygen species and the subsequent induction of oxidative stress associated with multiple diseases (Elejalde 2001; Meléndez et al. 2016).

A tool to evaluate the oxidative stress caused by PAHs is biological markers (Cançado et al. 2006; Prado et al. 2012). The activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and glutathione S-transferase (GST) have been implemented as biomarkers of oxidative stress in a wide variety of studies and organisms for monitoring and ecotoxicological evaluation. Therefore, in this study, oxidative stress and its possible influence associated with exposure to PAHs generated by the burning of sugarcane in the harvest season were evaluated by measuring the activity of the CAT and GST enzymes in erythrocytes and plasma of sugarcane cutters and a control group, all inhabitants of the Álvaro Obregón ejido, Quintana Roo.

## Methodology

### Study area

The study was carried out in the Álvaro Obregón sugarcane ejido, Quintana Roo, a town of 2,841 inhabitants located on the banks of the Hondo River (INEGI 2020)

(Figure 1). This ejido is considered one of the primary sugarcane production sites in the municipality of Othón P. Blanco. It is located at around 18° 17' north latitude and 88° 39' west longitude, 58 km from the capital of the state of Quintana Roo. In 2020, the harvest season in the San Rafael de Pucté mill was estimated to go from January 2 to May 30 (CONADESUCA, 2020).

### Population study

In the ejido of Álvaro Obregón, like other ejidos on the banks of the Hondo River, work is done annually in the sugarcane fields during the harvest season. This study included sugarcane workers and a control group from the ejido. The participants were males from 13 to 76 years old, and all were invited to participate in the study by prior presentations to the ejido authorities, leaders, and sugarcane groups. The first group included exposed individuals, 41 volunteers in all, who were residents of the ejido and sugarcane workers who participated in the full cycle work of sugarcane farming, which included planting, fumigation, and harvesting activities. In the control group, 25 volunteers participated, also residents of the ejido, who worked as welders, drivers, nurses, butchers, merchants, mechanics, farmers, and students.

### Sample collection

A total of 66 samples were collected from the volunteers. The sampling of the group of cane cutters was performed on two days. The first sampling was done at the work site, which corresponded to one of

the cane fields referred to as “La Ceiba”. The second sample was taken a week later, a few meters from the site of the cut. Both measurements were taken at the end of the workday with the help of medical personnel. For the control group, the volunteers were summoned to the health center of the ejido, and other samples were taken in the homes of the volunteers. These samples were taken on a single day, one week after the collection of samples from the exposed group. Approximately 6 ml of blood was taken by venipuncture with the Vacutainer system in tubes with EDTA. Once the blood was obtained, it was carefully mixed by inversion, labeled according to a marking code, transferred to the laboratory, where it was stored at -20°C.

### Laboratory tests

Once in the laboratory, the blood samples were centrifuged at 3000 RPM for 15 min. A 0.1-ml sample was taken from the cell packet and transferred to a 2-ml Eppendorf tube. These samples were stored at -20°C until their respective analyses. The plasma was separated into two aliquots: 0.1 ml for the analysis of biomarkers by spectrophotometry and 1.5 ml for the analysis of PAHs by gas chromatography. Aliquots were stored at -20°C until analysis. All materials were previously washed with acidic solutions (5% HNO<sub>3</sub> and 1 N HCl), phosphate-free detergent (neutral EXTRAN) in a 1:1 solution, and ultrapure water. HPLC-grade solvents were used for the entire analytical process. All the material was allowed to dry for at least 24 hours and was stored until the respective analysis.

## CAT & GST analysis in erythrocytes and plasma

For the analysis of plasma GST, the spectrophotometric method of Habig et al. (1974) was used. After the samples were thawed at room temperature, 50  $\mu$ l of plasma and 450  $\mu$ l of buffer solution (potassium phosphate pH = 6.5, 1 M) (dilution factor 1:10) were added to an Eppendorf tube and homogenized. The reaction solution consisted of buffer, GSH enzyme (L-glutathione reduced Sigma-Aldrich®) and the reactant 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB). For reading, polyacrylate microplates received 100  $\mu$ l of plasma and 200  $\mu$ l of reaction solution. The activity of the biomarker was read in a Genesys 10  $\mu$ V Thermo® spectrophotometer at an absorbance of 340 nm. Its activity was expressed in nmol/min/ml.

For the analysis of biomarkers in erythrocytes, once the plasma was removed from the Vacutainer tube, a sample of 0.1 ml was taken from the cell packet and transferred to a 2-ml Eppendorf tube. These samples were stored at -20°C until analysis. After thawing the samples at room temperature, 1 ml of ultrapure water was added, and each tube was centrifuged. At this point, two phases were obtained: hemolyzed erythrocytes and hemolyzed erythrocyte membranes known as “ghosts”. The ghosts were separated from the hemolyzed erythrocytes. For the CAT analysis, the method of Aebi (1984) was used. Four microliters of hemolyzed erythrocytes were taken and placed in an Eppendorf tube along with 996  $\mu$ l of buffer (dilution factor 250). For the reading of the

biomarker, 200  $\mu$ l of hemolyzed erythrocytes and 100  $\mu$ l of reaction solution were added to acrylic microplates. For GST, the method of Habig et al. (1974) was followed. Ten microliters of hemolyzed erythrocytes were added to an Eppendorf tube together with 990  $\mu$ l of buffer (dilution factor 100). To read the biomarker, 100  $\mu$ l of the hemolyzed erythrocyte aliquot and 200  $\mu$ l of reaction solution were added to polyacrylate microplates.

## Analysis of PAHs in blood and plasma

PAHs were extracted, identified, and quantified in the Environmental Biotechnology Laboratory of El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR), Chetumal Unit. A total of 16 PAHs were analyzed because they have considerable toxicity with negative impacts on health and have also been evaluated more frequently in pollutant surveillance programs (González 2015). For the extraction of PAHs, the method of Pleil et al. (2010) was used with some modifications. Basically, the technique consisted of preparing an extraction medium with hexane/dichloromethane (80/20), placing 10 ml of the medium in 10 ml tubes and adding 1 to 1.5 ml of plasma, followed by vortexing for 20 seconds. The samples were agitated for 40 min on a rocker platform and centrifuged at 3000 rpm for 5 min at -20°C. The samples were transferred to 12 ml tubes and finally evaporated to dryness with a stream of ultrapure nitrogen gas.

For the identification of the analytes, the samples were reconstituted with hexane, and then 1 µl of sample extract was injected into an Agilent model 7890A gas chromatograph with a flame ionization detector and an HP-5 capillary column (30-m length × 0.320-mm i.d. × 0.25-µm film thickness). The temperature program was as follows: initial temperature 90°C (2 min), heating to 180°C at a rate of 10°C/min, and heating to 300°C at a rate of 6°C/min for 15 min.

For the identification of PAHs, a standard (SUPELCO EPA-610) with a mixture of 16 compounds was used (Álvarez-Legorreta, 2014). The detection limit was 0.08 to 0.125 µg/ml. Blanks were run with each series of processed samples. All solvents used were HPLC grade. The results are presented in µg/ml of plasma. Of the analyzed samples, no replicas were made because there was not enough sample volume.

#### Statistical analysis

Statistical analyses were performed with the IBM SPSS Statistics program version 25. Initially, the Kolmogorov-Smirnov test was used to verify the distribution of the data. Comparative analyses of CAT and GST in erythrocytes were performed with parametric tests, while the analysis of plasma GST was performed with nonparametric tests. Likewise, for the PAHs, the nonparametric Mann-Whitney U and Kruskal-Wallis tests were used. All statistical tests used were interpreted with a confidence level of 95% ( $p \leq 0.05$ ).

## Results and Discussion

### Biomarkers of oxidative stress

The plasma GST activity of the cane cutters was significantly higher than that of the control group ( $2.40 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm$   $0.71 \times 10^{-3}$  and  $1.95 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm$   $0.92 \times 10^{-3}$ , respectively) (Figure 2). This difference indicated that the exposed group suffered greater oxidative stress, possibly because they were constantly and directly exposed to pollutants in their work activities. In the study by Costa-Amaral et al. (2019), a similar trend was observed in the group exposed mainly to benzene, who presented higher plasma GST activity than the control group (0.020 U/ml  $\pm$  0.017 and 0.013 U/ml  $\pm$  0.004, respectively). This similar trend in the increase in plasma GST in the exposed group may be because once PAHs are biotransformed, GST neutralizes the metabolites, conjugating glutathione (GSH) to electrophilic compounds, thus increasing their activity, and functioning as a transporter protein in blood plasma, thus preventing the diffusion of metabolites to other tissues and cells, ultimately favoring the excretion of metabolites (Mohanty et al 2014; Sívori 1993). GST is not synthesized in plasma but is released in large quantities from the liver, lung, and/or kidney in response to the presence of xenobiotics (Czuczejko 2019).

On the other hand, erythrocyte and plasma CAT and erythrocyte GST were not significantly different between the groups. However, CAT and GST activity were greater in erythrocytes than in plasma. A lower trend was observed in the exposed group with respect to the control group in the activity of erythrocyte CAT (2.378 U/ml  $\pm$  521.44 and 2.465 U/ml  $\pm$  538.83) and erythrocyte GST ( $25.6 \times 10^{-3}$  U/ml  $\pm$

14×10<sup>-3</sup> and 31.6×10<sup>-3</sup> U/ml ± 17.5×10<sup>-3</sup>, respectively). This trend of lower CAT and erythrocyte GST activity in the exposed group could indicate an alteration in these antioxidants due to an increase in reactive species, which can cause the oxidation of sulfhydryl groups of proteins in the erythrocyte membrane and the peroxidation of lipids of the erythrocyte membrane, as well as the oxidization of sulfhydryl groups of the erythrocyte hemoglobin, causing it to precipitate and form so-called Heinz bodies. In this way, erythrocytes can suffer damage and decrease their antioxidant capacity, causing their eventual hemolysis and releasing enzymes to the plasma (Terrado et al. 2003; Gutiérrez-Salinas et al. 2009; Kumar et al. 2015; Czuczejko et al. 2019). Likewise, CAT and GST seem to be inducible, that is, the expression of these enzymes in erythrocytes is modulated by the levels of circulating toxins. Therefore, the enzymatic activity represents a defense response against the toxicity of pollutants but also implies a “wear” or a decrease in its antioxidant capacity, since erythrocytes do not have a nucleus and cannot synthesize enzymes, so in any case, the activity of CAT and GST as a defense mechanism can decrease in erythrocytes in the face of significant oxidative stress (Bocedi et al. 2019). Therefore, we postulate that a lower activity of plasma and erythrocyte CAT and erythrocyte GST in the exposed group may be associated with greater oxidative stress in erythrocytes, while a trend of greater activity of CAT and GST observed in the control group would indicate greater

integrity of erythrocytes and therefore lower oxidative stress (Kumar et al. 2015).

#### Polycyclic aromatic hydrocarbons

The PAHs found at significant levels (Table 1) in the plasma of the two groups were benzo [a] pyrene (considered carcinogenic to humans); benzo [a] anthracene (possibly carcinogenic to humans); and anthracene, fluorene, fluoranthene, and phenanthrene (currently there is no evidence they cause cancer in humans). While some nonmetabolized PAHs may not have toxic effects, one of the main concerns is the ability of their reactive metabolites, such as epoxides and dihydrodiols, to bind to cellular proteins and DNA and cause biochemical alterations that damage the cell (IARC 2010; Quijano et al. 2015; Rengarajan et al. 2015).

In particular, in the plasma samples, an average concentration of total PAHs of 1.089 µg/ml (± 0.872) was reported in the cane cutter group, and an average of 0.760 µg/ml (± 0.599) was reported in the control group. (Table 1). The study on the presence of PAHs in plasma by Naufal et al. (2010) reported mean concentrations of 0.217 µg/ml (± 0.027) and 0.159 µg/ml (± 0.023) in an exposed group and a control group, all males who lived in Shanxi, a rural community in China exposed to PAHs. The concentration of pollutants was higher in the groups studied in the present work. These differences might be due to the type of source to which each studied group was exposed or to the place of exposure. On the one hand, the groups studied in Shanxi were mainly exposed to indoor combustion of coal in the home,

which seems to be the main source of their exposure to PAHs. The cane cutters in our study, due to physical labor and a high ventilation rate, were exposed to a potentially greater amount of inhaled particles, in addition to the deposition of the particles on the skin while cutting sugarcane (Prado et al. 2012). For the control group, although this group was not in direct contact with the burned plantations, it is possible that they are subjected to environmental pollution from sources such as the incomplete combustion of fossil fuels (gas, oil, etc.) and/or other organic materials (wood, coal, etc.), as well as emissions from vehicles such as sugarcane trucks that circulate throughout the ejido (Martínez-Salinas et al. 2010; Zuki 2012; Prado et al. 2012; Sánchez-Palencia et al. 2015).

#### Correlation between oxidative stress biomarkers and PAHs

The correlation coefficients indicated an association between the plasma GST activity and some PAHs in the samples of the exposed group. A significant correlation was found between the activity of plasma GST and acenaphthene ( $r = 0.833$   $p = 0.010$ ; Figure 3), benzo [a] anthracene ( $r = 0.444$   $p = 0.038$ ; Figure 4), and benzo [a] pyrene ( $r = 0.427$   $p = 0.053$ ; Figure 5). The correlation between plasma GST and total PAHs was not significant ( $p = 0.234$ ). The erythrocyte GST activity of the exposed group showed a negative correlation with pyrene ( $r = -0.829$ ,  $p = 0.042$ ; Figure 6).

According to some studies, the presence of PAHs can induce an increase in the expression of GST in an organism. We

postulate that PAHs (especially of high molecular weight) may show greater selectivity toward GST. In a study by Pushparajah et al. (2008), the relationship between GST and six PAHs (of low and high molecular weight) was studied. They found that benzo [b] fluoranthene, benzo [a] pyrene, and dibenzo [a] anthracene (high-molecular-weight PAHs) induced an increase in the gene expression of GST, since high-molecular-weight PAHs are the best ligands for the aryl hydrocarbon receptor (Ah) and the more potent inducers CYP450 and GST, which raises the possibility that molecular size is an important factor in the regulation of these enzymes (Pushparajah et al. 2008; Vázquez-Gómez et al. 2016).

This finding could explain the significant correlation between the plasma GST of the exposed group and some high-molecular-weight PAHs, such as benzo [a] pyrene and benzo [a] anthracene. In the case of acenaphthene (low-molecular-weight PAH), its abundance may be mediated by its physicochemical characteristics, particularly its greater solubility (due to its low molecular weight), compared to those of other PAHs, which could translate into its high level in the blood (Singh et al. 2008).

Regarding the negative correlation between the erythrocyte GST of the exposed group and pyrene, it is possible that the type of matrix influences it, since the erythrocytes contain a number of “finite” enzymes, which are modulated by the levels of circulating toxins, so their activity represents a defense response against systemic toxicity (Bocedi et al.

2019). In addition, oxidative stress can decrease the antioxidant capacity, and since erythrocytes do not have a nucleus and cannot synthesize proteins, the activity of the CAT and GST enzymes can decrease in this matrix in the face of greater oxidative stress (Kumar et al. 2015; Czuczejko et al. 2019).

As in our study, Oliva et al. (2010) observed negative correlations between GST and pyrene activity. According to them, GSH serves as a substrate for conjugation with electrophilic intermediates under the catalytic action of GST, and they postulate that the variation in the level of GSH can produce a variation in the level of GST. In addition, if the oxidative stress is severe, it can suppress the levels of GSH and lead to the oxidation of GSH to GSSG, with the consequent decrease in the level of GST (Ahmad, Pacheco and Santos 2004). These are phenomena that could arise in the erythrocytes of the group exposed to the toxicity of some PAHs, such as pyrene.

In the control group, erythrocyte GST showed a negative correlation with anthracene ( $r = -0.425$ ,  $p = 0.049$ ; Figure 7), although its activity was not significantly different from that in the exposed group, which may indicate a low level of oxidative stress caused by exposure to PAHs (Kamal et al. 2015).

#### Potential sources of PAHs

PAHs may have a petrogenic origin when they are derived from petroleum; pyrogenic when they result from the incomplete burning of organic matter and fossil fuels; or even biogenic when they

come from natural sources (Yunker et al. 2002; Wang et al. 2011). Generally, the pyrogenic source triggers high percentages of PAHs of four or more rings, while the petrogenic origin is characterized by the presence of PAHs with three or fewer rings (Benner et al. 1990; Sánchez-Palencia et al. 2015).

In this study, according to the analysis of individual PAHs, a greater tendency in the concentration of indene(123cd)pyrene, benzo [b] fluoranthene and benzo [ghi] perylene was observed in the exposed group. In the samples of the control group, a greater tendency was also observed for benzo [ghi] perylene and benzo [b] fluoranthene (Figure 6). This suggests a greater presence of PAHs of five and six rings in both groups. The predominance of PAHs with more than four rings is associated with their properties of greater lipophilic affinity, toxicity, and persistence, which are higher the greater the number of rings in the molecule. The lower contribution of PAHs of three rings or less is consistent with their high volatility and greater solubility in the medium (Maliszewska-Kordybach et al. 2009; Zambrano et al. 2012).

On the other hand, to identify the different sources of PAH contamination in the plasma samples, four molecular indices that have been used by several authors were determined and evaluated (Table 2). In this study, the FIA/(FIA+Py) ratio was 0.95 in the exposed group samples vs. the 1.0 in the control group samples, which indicates that the combustion of plant biomass was the main source of PAHs in these groups.

The values of  $PI/(PI + B[ghi])$  in the plasma samples of the exposed group were 0.65 and 1.0 in the control group, which indicated contributions from sources of plant biomass combustion. In the case of the  $Ant/(Ant + Phe)$  index, the value obtained in the plasma samples of the exposed group was 0.93 and for the control group was 0.93, which indicates that their source was combustion of plant biomass. Finally, the  $BaA/(Chry + BaA)$  ratio was 1.0 for the plasma samples of the exposed group and 1.0 for the control group, which indicates the contribution of plant biomass combustion. Based on these relationships of the molecular indices, the PAHs detected in all 41 plasma samples of the exposed group came from the combustion of plant biomass; the PAHs in eight others came from the combustion of liquid fossils; and in one case they came from an unburned petrogenic source. In the control group, 100% of the PAHs in the plasma samples came from the combustion of plant biomass (Figures 7 and 8).

In most of the ejidos of the Hondo River, the main pyrogenic sources come from the burning of vegetation, which allows workers to prepare the soils for the planting and harvesting of cane, and the burning of the cane during the production of sugar in the San Rafael de Pucté sugar mill. Additionally, diesel and gasoline are combusted from vehicles that circulate in the area, such as private vehicles, sugarcane trucks, or other motorized vehicles. In turn, petrogenic sources could be petroleum derivatives that would enter the environment in the gaseous phase by evaporation, the particulate phase by deposition, and the liquid phase by oil

spills from the various activities of the human settlements of both shores of the Hondo River, and even from the city of Chetumal (Arias et al. 2010; Álvarez-Legorreta 2014).

## Conclusions

According to the results, there was greater oxidative stress in the cane cutters than in the control group of the Álvaro Obregón ejido, Quintana Roo, Mexico, associated with exposure to PAHs from plant burning. Higher CAT and GST activity were also seen in erythrocytes than in plasma, the control group presenting greater activity of these enzymes than the exposed group, though the difference was not statistically significant. Plasma GST, despite having low concentrations, had significant differences in activity between groups, the exposed group showed the highest GST activity.

Regarding the correlations between biomarkers and PAHs, the plasma GST activity of the exposed group showed a significant relationship with acenaphthene, benzo [a] anthracene and benzo [a] pyrene. This could be associated with increased antioxidant activity. Likewise, it was evident that the correlations between the plasma GST activity of the control group and the concentrations of individual and total PAHs were not significant, which may indicate a low level of oxidative stress due to their relatively low exposure to PAHs. Finally, the analysis of the molecular indices of the PAHs suggests that the PAHs detected in all 41 plasma samples of the exposed group came from the combustion of plant biomass; eight of

them also had PAHs from the combustion of liquid fossils; and one from an unburned petrogenic source. In the control group, 100% of the PAHs in the plasma samples came from the combustion of plant biomass.

### Recommendations

It is recommended to carry out more exhaustive studies that take into account the season before harvest and during harvest to determine if the oxidative stress induced by exposure to PAHs is acute or chronic. It is also recommended to study other polluting compounds as well, such as agrochemicals (fertilizers and pesticides), which could also contribute to the triggering of oxidative stress.

### References

- Aebi H (1984) Catalase in Vitro. *Methods in Enzymology*. 105: 121-126.
- Ahmad I, Pacheco M, Santos M. (2004). Enzymatic and nonenzymatic antioxidants as an adaptation to phagocyte-induced damage in *Anguilla anguilla* L. following in situ harbor water exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 57: 290–302.
- Álvarez-Legorreta T (2014) Presencia de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) en sedimentos del río Hondo, Quintana Roo, México. Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental. 425-436. En: A.V. Botello, J. Rendón von Osten, J. A. Benítez y G. Gold-Bouchot (eds.). Golfo de México. Contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias. UAC-ICMYL, CINVESTAV-Unidad Mérida.
- Angerer J, Ewers U, Wilhem M (2007) Human biomonitoring: State of the art. *Int. J. Hyg. Environ.-Health*. 210: 201– 228.
- Arias A, Marcovecchio J, Freije R, Ponce-Velez G, Vázquez-Botello A (2010) Análisis de fuentes y toxicidad equivalente de sedimentos contaminados con PAHs en el estuario de Bahía Blanca, Argentina. *Hidrobiológica*. 20 (1): 41-56.
- Benner B, Bryner N, Wise S, Mulholland G (1990) Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Emissions from the Combustion Crude Oil on Water. *Environ. Sci. Technol*. 24 (9): 1418 - 1427.
- Bocedi A, Noce A, Marrone G, Noce G, Cattani G, Gambardella G, Di Lauro M, Di Daniele N, Ricci G (2019) Glutathione Transferase P1-1 an Enzyme Useful in Biomedicine and as Biomarker in Clinical Practice and in Environmental Pollution. *Nutrients*. 11 (8): 1 - 34.
- Cançado J, Saldiva P, Pereira L, Lara L, Artaxo P, Martinelli L, Arbex MA, Zanobetti A, Braga A (2006) The Impact of Sugar Cane–Burning Emissions on the Respiratory System of Children and the Elderly. *Environmental Health Perspectives*. 114 (5): 725-730.
- CONADESUCA (2019) 6to. Informe estadístico del sector agroindustrial de la caña de azúcar en México, zafra 2009-2010 / 2018-2019. México: Comité Nacional para el Desarrollo Sustentable de la Caña de Azúcar.
- Costa-Amaral I, Carvalho V, Vinicius M, Valente D, Pereira A, Figueiredo V, Mendonça de Souza J, Castro VS, Trancoso MF, Fonseca AS, et al. (2019) Environmental assessment and evaluation of oxidative stress and genotoxicity biomarkers related to chronic occupational exposure to benzene. *Environmental research and public health*. 16 (22): 1-32.
- Czuczajko J, Mila-Kierzenkowska C, Szewczyk-Golec K (2019) Plasma  $\alpha$ -Glutathione S-

- Transferase Evaluation in Patients with Acute and Chronic Liver Injury. *Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 1 - 7.
- Elejalde J (2000) Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*. 18 (6): 326-335.
- García-Ortega M (2016) Conectividad laboral y migratoria en la agroindustria azucarera en la frontera sur de México. Chetumal, Quintana Roo.: Observatorio Iberoamericano sobre Movilidad Humana, Migraciones y Desarrollo. OBIMID.
- González T (2015) Determinación de plaguicidas organoclorados y su relación con parámetros sanguíneos en tortugas Caguama (*Caretta caretta* (Linnaeus, 1758)) de Quintana Roo, México. Chetumal, Quintana Roo: El Colegio de la Frontera Sur.
- Guo Z, Lin T, Zhang G, Zheng M, Zhang Z, Has Y, Fang M. 2007. The sedimentary fluxes of polycyclic aromatic hydrocarbons in the Yangtze River Estuary coastal sea for the past century. *Science of the Total Environment*. 386: 33-41.
- Gutiérrez-Salinas J, García-Ortíz L, Chima-Galán MC, Suástegui-Domínguez S, Rivera-Badillo ME, Cruz-Tovar L. 2009. Determinación de la concentración de malondialdehído y la actividad de enzimas antioxidantes en eritrocitos contenidos en bolsas para transfusión sanguínea. *Rev Mex Patol Clin*. 56 (4): 223-234.
- Habig W, Pabst M, Jakoby W (1974) Glutathine S-Transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *The Journal of Biological Chemistry*. 249 (22): 7130-71339.
- IARC (2010) Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Volume 92. Some Non-heterocyclic Polycyclic Aromatic. Lyon (France): International Agency.
- INEGI (2020) Censo de Población y Vivienda 2020.
- Jiménez-Mora JP, Rodríguez-Romero W (2018) Actividad de enzimas antioxidantes en una muestra de adultos jóvenes y mayores del Valle Central, Costa Rica. *Rev. Biomédica*. 29 (1): 13-24.
- Kamal, A., Qamar, K., Gulfraz, M., Asad Anwar, M., & Naseem Malik, R. (2015). PAH exposure and oxidative stress indicators of human cohorts exposed to traffic pollution in Lahore city (Pakistan). *Chemosphere*; 120, 59-67.
- Kumar, P., Kumar, P., & Chandra, P. (2015). Biomarkers of oxidative stress in erythrocytes as a function of human age. *World J Methodol*: 5(4), 216–222.
- Maliszewska-Kordybach, B., Smreczak, B., & Klimkowicz-Pawlas, K. (2009). Concentrations, sources, and spatial distribution of individual polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soils in the Eastern part of the EU: Poland as a case study. *Science of the Total Environment*: 407 , 3746–3753.
- Meléndez, I., Quijano, M., & Quijano, A. (2016). Actividad mutagénica inducida por hidrocarburos aromáticos policíclicos en muestras de PM2.5 en un sector residencial de villa del Rosario-norte de Santander, Colombia. *Rev. Int. Contam. Ambie*; 32 (4), 435-444.
- Martínez-Salinas R, Leal E, Batres-Esquivel L, Domínguez-Cortinas G, Calderón J, Díaz-Barriga F, Pérez-Maldonado I. 2010. Exposure of children to polycyclic aromatic hydrocarbons in Mexico: assessment of multiple sources. *Int Arch Occup Environ Health*. 83 (6): 617–623.
- Mohanty J, Nagababu E y Rifkind J. 2014. Red blood cell oxidative stress impairs oxygen delivery and induces red blood cell aging. *Frontiers in Physiology*. 5 (84): 1 - 6.

- Naufal, Z., Zhiwen, L., Zhu, L., O-Dong Zhou, G., McDonald, T., Yu He, L., . . . Donnelly, K. (2010). Biomarkers of exposure to combustion by-products in human population in Shanxi, China. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*: 20, 310-319.
- Pleil, J., Stiegel, M., Sobus, J., Tabucchi, S., Ghio, A., & Madden, M. (2010). Cumulative exposure assessment for trace-level polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) using human blood and plasma analysis. *Journal of Chromatography B*. 878: 1753–1760.
- Prado G, Zanetta D, Arbex M, Braga A, Pereira L, De Marchi M, Melo AP, Marcourakis T, Sugauara LE, Fíguro G. (2012). Burnt sugarcane harvesting: particulate matter exposure and the effects on lung function, oxidative stress, and urinary 1-hydroxypyrene. *Science of the Total Environment*. 437: 200–208.
- Pushparajah D, Umachandran M, Plant K, Plant N, Ioannides C. (2008). Up-regulation of the glutathione S-transferase system in human liver by polycyclic aromatic hydrocarbons; comparison with rat liver and lung. *Mutagenesis*. 23(4): 299-308.
- Quijano A, Quijano M, Meléndez I (2015) Cuantificación de los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAP) en el material particulado PM2.5 de una zona residencial de Pamplona, Colombia. *Luna Azul*. 40: 85 - 101.
- Rengarajan T, Rajendran P, Nandakumar N, Lokeshkumar B, Rajendran P, Nishigaki P. 2015. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. *Asian Pac J Trop Biomed*. 5(3): 182-189.
- SAGARPA (2017) Planificación agrícola nacional. México: Secretaría de agricultura, ganadería, desarrollo rural, pesca y alimentación.
- Sánchez-Palencia Y, Ortiz J, Torres T, Carro C (2015) Origen y distribución de los hidrocarburos policíclicos aromáticos en sedimentos actuales de la Laguna de El Hito (España central). *GEOGACETA*. 57: 127 – 130.
- Sívori J. 1993. Regulación de la Glutati6n-S-Transferasa (GST) de *Triatoma infestans* y su importancia en el proceso de intoxicaci6n por insecticidas organofosforados. Buenos Aires: Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.
- Terrado S, Barthelemy A, Valls M, Armand O. 2003. Radicales Libres y Defensas Antioxidantes. 37 (1).
- Vázquez-Gómez G, Rubio-Lightbourn J, Espinosa-Aguirre J. 2016. Mecanismos de acci6n del receptor de hidrocarburos de arilos en el metabolismo del benzo[a]pireno y el desarrollo de tumores. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 19(1): 54-67.
- Wang C, Wang W, He S, Du J, Sun Z (2011) Sources and distribution of aliphatic and polycyclic aromatic hydrocarbons in Yellow River Delta Nature Reserve, China. *Applied Geochemistry*. 26 (8): 1330–1336.
- Yunker M, Macdonald R, Vingarzan R, Mitchell R, Goyette D, Sylvestre S (2002) PAHs in the Fraser River basin: a critical appraisal of PAH ratios as indicators of PAH source and composition. *Organic Geochemistry*: 33 (4): 489–515.
- Zambrano M, Casanova R, Prada J, Arencibia G, Vidal A, Capetillo N (2012) Bioacumulaci6n de hidrocarburos aromáticos policíclicos en *Anadara tuberculosa* (Sowerby, 1833) (Arcoida: Arcidae). *Gayana*. 76 (1): 1 - 9.
- Zhou Y, Levy J (2007) Factors influencing the spatial extent of mobile source air pollution impacts: a meta-analysis. *BMC Public Health*. 7 (89): 1 – 11.

Zuki B. 2012. Evaluación de la exposición a benceno e hidrocarburos aromáticos policíclicos en población infantil de San

Luis Potosí. San Luis Potosí: Universidad Autónoma de San Luis Potosí.

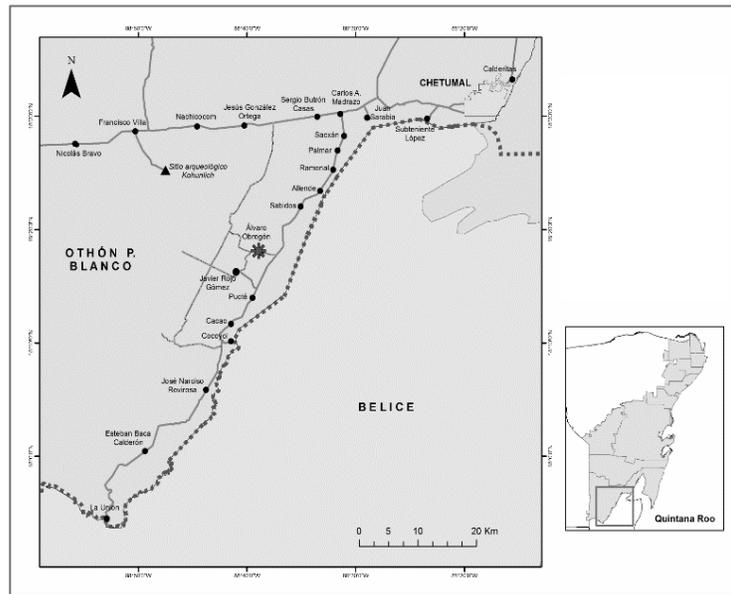


Figure 1. Location of the town Álvaro Obregón, Quintana Roo, Mexico.

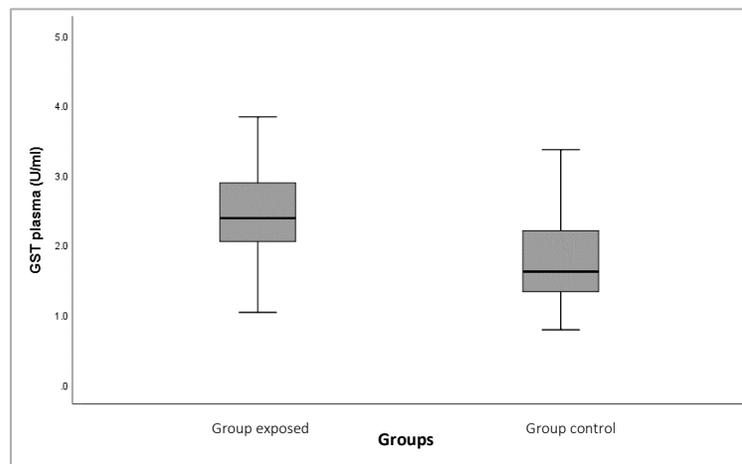


Figure 2. Comparative analysis of plasma GST activity between the exposed and control groups. Significant difference in the exposed group  $p=0.043$ .

Table 1. Comparative analysis of the mean concentration of PAHs in plasma of the exposed group and control group.

PAHs ( $\mu\text{g/ml}$ )	Group exposed <sup>a</sup>	Group control <sup>a</sup>	<i>p</i> value <sup>b</sup>
Fluorene	0.130 ( $\pm$ 0.021)	0.072 ( $\pm$ 0.036)	< 0.001
Phenanthrene	0.033 ( $\pm$ 0.002)	0.050 ( $\pm$ 0.012)	0.017
Anthracene	0.047 ( $\pm$ 0.038)	0.050 ( $\pm$ 0.014)	0.016
Fluoranthene	0.083 ( $\pm$ 0.048)	0.012 ( $\pm$ 0.015)	0.009
Benzo(a)pyrene	0.099 ( $\pm$ 0.081)	0.063 ( $\pm$ 0.044)	0.05
Total PAHs	1.089 ( $\pm$ 0.872)	0.760 ( $\pm$ 0.599)	0.011

<sup>a</sup> Mean concentration ( $\pm$ std.dev)

<sup>b</sup> Significance probability

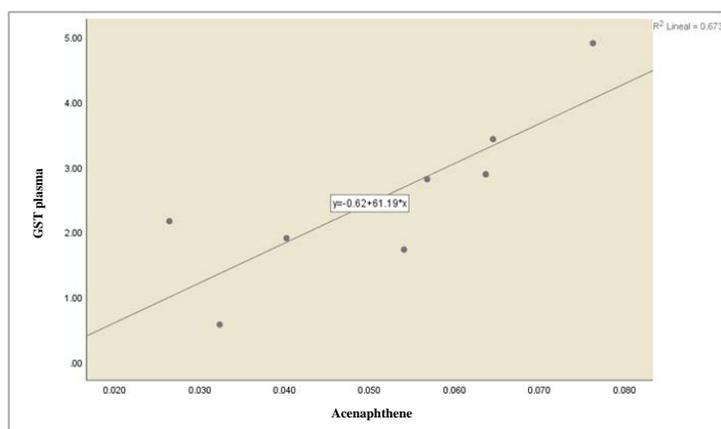


Figure 3. Correlation between plasma GST in the exposed group and acenaphthene concentration. n=8, r=0.833, p=0.010

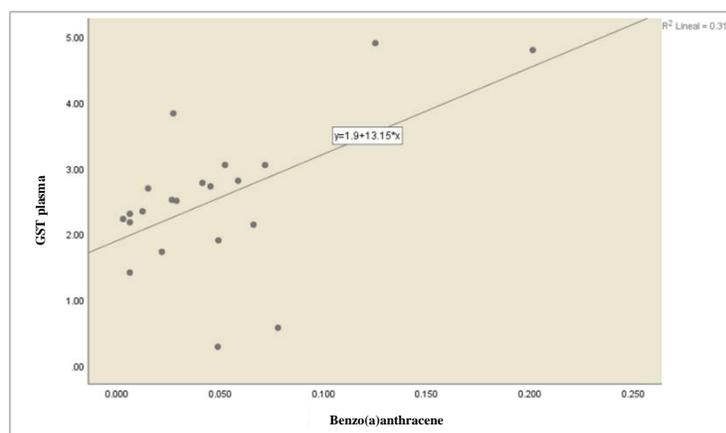


Figure 4. Correlation between plasma GST in the exposed group and benzo(a)anthracene concentration. n=22, r=0.444, p=0.038

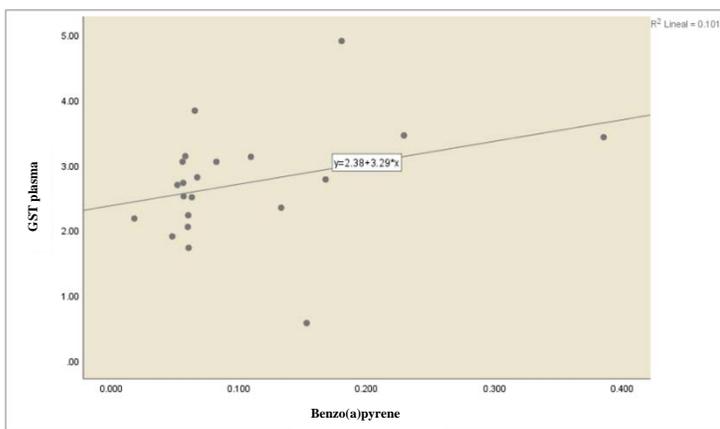


Figure 5. Correlation between plasma GST in the exposed group and benzo(a)pyrene concentration. n=21, r=0.427, p=0.05

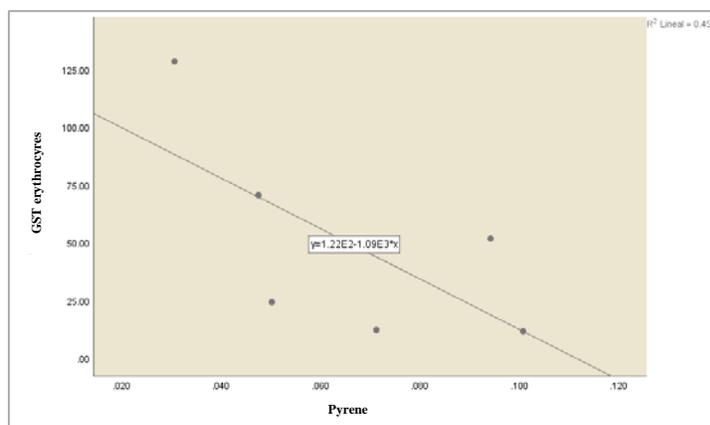


Figure 6. Correlation between GST in erythrocytes of the exposed group and pyrene concentration. n=6, r=-0.829, p=0.042

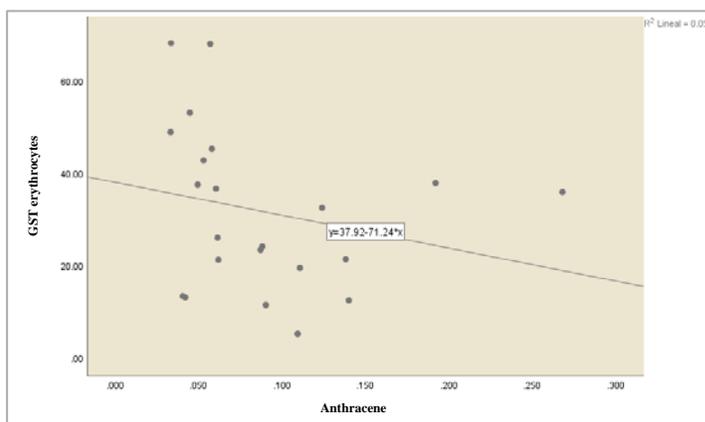


Figure 7. Correlation between GST in erythrocytes of the control group and anthracene concentration. n=22, r=0.425, p=0.049.

Table 2. Molecular indexes

	Petrogenic	Oil combustion	combustion of plant biomass	
FIA/(FIA+Py)	<0.4	>0.4<0.5	>0.5	Yunker et al., 2002
Ant/(Ant+Phe)	<0.1		>0.1	Yunker et al., 2002
BaA/(Chry+BaA)	<0.2		>0.35	Yunker et al., 2002
IP/(IP+Bghi)	<0.2	>0.2<0.5	>0.5	Guo et al. 2007

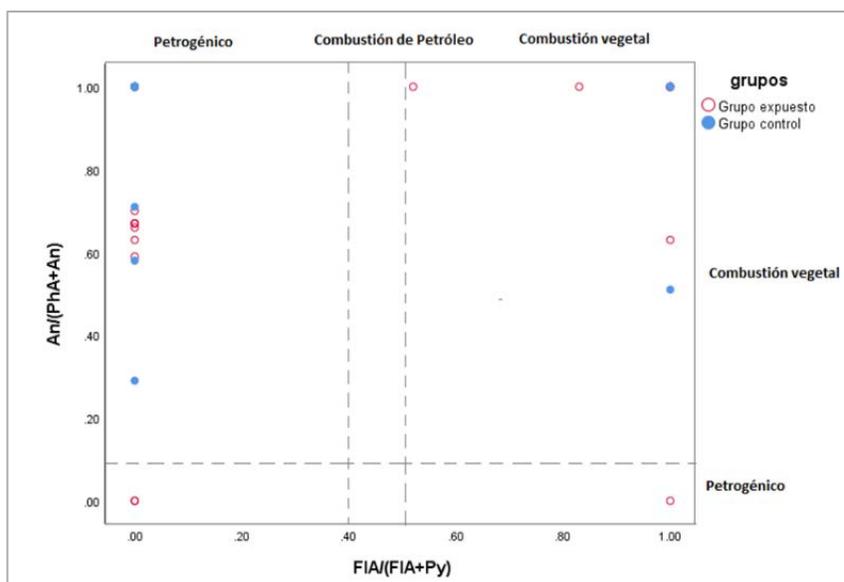


Figure 8. Origin of PAHs in human plasma from the Río Hondo, based on  $An/(PhA+An)$  and  $FIA/(FIA+Py)$  molecular indexes.

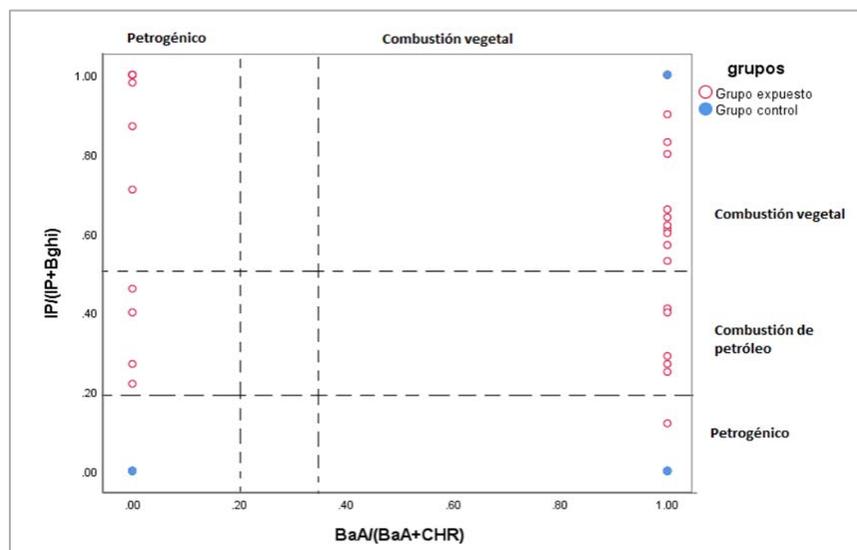


Figure 9 Origin of PAHs in human plasma from the Hondo River, based on  $IP/(IP+Bghi)$  and  $BaA/(BaA+CHR)$  molecular indexes.