

Efectos genotóxicos e inmunotóxicos de la exposición laboral al plomo

Julia García-Lestón^{a,b}, Blanca Laffon^{a,b}, Joana Roma-Torres^c,
João Paulo Teixeira^c, Silvia Monteiro^c, Eduardo Pásaro^a, João Prista^d,
Olga Mayan^c, Josefina Méndez^b

Recibido: 16 de noviembre de 2007

Aceptado: 9 de abril de 2008

RESUMEN

Objetivo. Evaluar los efectos genotóxicos e inmunotóxicos asociados a la exposición laboral al plomo.

Métodos. Se ha realizado el ensayo de mutación en el receptor de las células T (TCR) y se han determinado las variaciones en los porcentajes de diferentes subpoblaciones linfocitarias y en las concentraciones de ciertas citoquinas circulantes en plasma sanguíneo mediante citometría de flujo en 30 trabajadores expuestos procedentes de 2 empresas y en 30 trabajadores no expuestos como grupo control.

Resultados: Los individuos expuestos mostraron frecuencias de mutación significativamente mayores que los controles (media±error estándar: 20,88±3,58 vs. 12,98±2,88), independientemente de su empresa de procedencia, así como menor porcentaje de linfocitos CD8⁺ (%medio±error estándar: 31,97±1,70 vs. 36,70±1,30), descenso que sólo mantuvo significación en una de las empresas. Las concentraciones de las citoquinas analizadas fueron en general mayores en los expuestos que en los controles, siendo significativo el incremento para IL-2 (media±error estándar: 1,09±0,26 vs. 0,25±0,17 pg/ml) e IL-10 (media±error estándar: 2,88±1,14 vs. 0,58±0,23 pg/ml), con diferencias entre empresas. Los efectos de la exposición en cuanto a frecuencia de mutación y concentraciones de IL-2 e IL-10 fueron mayores en los individuos no fumadores, apuntando a una menor susceptibilidad de los fumadores posiblemente como consecuencia de la potenciación de los mecanismos de reparación por el contacto crónico con el humo del tabaco.

Conclusiones. Los resultados indican que la exposición laboral a plomo induce mutagenicidad y alteraciones en parámetros inmunológicos, sugiriendo la necesidad de aplicación de medidas para la eliminación o disminución de los niveles de plomo en los lugares de trabajo.

PALABRAS CLAVE: Plomo. Exposición ocupacional. Genotoxicidad. Ensayo de mutación en TCR. Inmunotoxicidad. Subpoblaciones linfocitarias. Citoquinas.

GENOTOXIC AND IMMUNOTOXIC EFFECTS OF OCCUPATIONAL EXPOSURE TO LEAD

ABSTRACT

Objective. To evaluate genotoxic and immunotoxic effects associated with occupational exposure to lead.

Methods. A T-cell receptor (TCR) mutation assay was performed, and variations in the percentages of different lymphocyte subpopulations and in the concentrations of certain plasma circulating cytokines determined by flow cytometry in 30 exposed individuals from 2 factories and 30 controls.

Results. Exposed individuals showed significantly higher levels of mutation frequency than controls (mean±standard error: 20.88±3.58 vs. 12.98±2.88), regardless of their factory; the percentage of CD8⁺ lymphocytes was also lower (mean%±standard

a Unidad de Toxicología, Departamento de Psicobiología, Universidade da Coruña. A Coruña, España

b Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidade da Coruña. A Coruña, España

c Centro de Saúde Ambiental e Ocupacional. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge. Porto, Portugal

d Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade Nova de Lisboa. Lisboa, Portugal

Correspondencia:

Blanca Laffon
Unidad de Toxicología. Universidade da Coruña
Edificio de Servicios Centrales de Investigación
Campus Elviña s/n
15071-A Coruña
Tel: 981167000; Fax: 981167172
Correo electrónico: blaffon@udc.es

error: 31.97 ± 1.70 vs. 36.70 ± 1.30), although statistical significance was observed in only one factory. Concentrations of analysed cytokines were generally higher among exposed individuals than controls. The increase was significant for IL-2 (mean \pm standard error: 1.09 ± 0.26 vs. 0.25 ± 0.17) and IL-10 (mean \pm standard error: 2.88 ± 1.14 vs. 0.58 ± 0.23), with differences between factories. Exposure effects regarding mutation frequency and IL-2 and IL-10 concentrations were greater among nonsmokers, suggesting a lower susceptibility of smokers as a consequence of strengthening of repair mechanisms through chronic contact with tobacco smoke.

Conclusions. Occupational exposure to lead induces mutagenicity and alterations in immunological parameters, suggesting the need to apply measures for the elimination or decrease of lead levels in workplaces.

KEY WORDS: Lead, occupational exposure, genotoxicity, TCR mutation assay, immunotoxicity, cytokines, lymphocyte subpopulations.

INTRODUCCIÓN

El plomo es un metal tóxico, acumulativo y no biodegradable que ejerce su acción nociva en prácticamente todos los órganos y sistemas del organismo incluyendo el sistema nervioso, la función renal, el sistema vascular, el sistema hematopoyético y el aparato reproductor. El plomo se utiliza desde hace siglos con fines muy diversos¹. En la actualidad, a pesar de que muchos de sus usos han desaparecido, la exposición a plomo sigue estando presente en muchas actividades industriales. Además, el plomo es un contaminante presente en el agua de bebida o en el humo del tabaco^{2,3}.

Se conoce una gran cantidad de efectos nocivos del plomo sobre los diferentes sistemas del organismo aunque, hasta la fecha, los estudios publicados sobre efectos genotóxicos e inmunotóxicos en poblaciones humanas expuestas a plomo presentan resultados contradictorios⁴⁻⁸. Por ello, sigue siendo necesaria la investigación sobre estos efectos en humanos, tratando de incorporar nuevos parámetros que evalúen de forma más completa los diferentes tipos posibles de toxicidad. En este estudio se analizan los efectos genotóxicos e inmunotóxicos en individuos expuestos laboralmente al plomo mediante un ensayo de mutagenicidad, evaluación de los porcentajes de diferentes subpoblaciones linfocitarias y evaluación de determinadas citoquinas circulantes en el plasma sanguíneo.

MÉTODOS

Individuos participantes en el estudio

En el estudio han participado 30 trabajadores varones procedentes de dos empresas (1 y 2) que utilizan plomo y/o sus compuestos derivados en sus actividades. En la empresa 1 se producen sustancias químicas, plásticos y fritas de vidrio que serán utilizadas por otras empresas, mientras que en la empresa 2 se fabrica baterías ácidas de plomo. Los trabajadores de la empresa 1 utilizan habitualmente equipos de protección individual consistentes en mascarilla, gafas, mono y botas, mientras que los de la empresa 2 no utilizan ningún tipo de protección. El grupo control lo constituyeron 30 individuos varones sanos que realizan funciones administrativas y comerciales en una empresa de instalaciones eléctricas, sin relación alguna con las actividades laborales descritas para los expuestos. Se intentó que la composición

del grupo control fuese lo más parecida posible al grupo expuesto en cuanto a edad y consumo de tabaco.

Muestras biológicas y datos personales

La recogida de muestras biológicas se realizó entre julio de 2006 y marzo de 2007. De cada uno de los individuos se obtuvieron por venipunción dos muestras de sangre periférica en tubos Venoject[®] con EDTA y BD Vacutainer[®] CPT[™] con heparina. Todas las muestras fueron codificadas en el momento de su recogida, asegurando así la realización de un estudio "ciego". Previamente, los individuos participantes firmaron un consentimiento informado y completaron un cuestionario acerca de sus características fisiológicas, estilo de vida e historia clínica. En particular, el cuestionario recogía datos acerca del consumo de tabaco, especificando la cantidad de cigarrillos consumida al día y la duración del hábito (expresada en años). Se consideró criterio de exclusión el consumo de medicamentos o la exposición a pruebas radiológicas durante los tres meses anteriores a la obtención de las muestras. Este estudio fue aprobado por el Comité de Ética y Ensayos Clínicos de la Universidad de Coruña.

Ensayo de mutación en el receptor de células T (TCR)

Para la realización de este ensayo se aislaron los leucocitos mononucleares de la muestra recogida en los tubos BD Vacutainer[®] CPT[™], siguiendo las instrucciones del fabricante. El fundamento y la metodología del ensayo de mutación en TCR han sido descritos previamente⁹. Tanto el manejo del citómetro de flujo FACSCalibur como el análisis de los datos obtenidos se realizaron con el programa *Cell Quest Pro* (Becton Dickinson).

Determinación de subpoblaciones linfocitarias

Aproximadamente 10^6 células procedentes de los tubos Venoject[®] con EDTA se tiñeron con los siguientes anticuerpos según recomienda el fabricante (Becton Dickinson): antiCD3 conjugados con isotiocianato de fluoresceína (FITC) (para la determinación de linfocitos T), antiCD4 conjugados con ficoeritrina (PE) (para la determinación de linfocitos T colaboradores, Th), antiCD8 conjugados con ficoeritrina-cianina 5 (PECy5) (para la determinación de linfocitos T citotóxicos, Tc), antiCD19 conjugados con PECy5 (para

la determinación de linfocitos B), antiCD16 y antiCD56 conjugados con PE (para la determinación de células NK). Después de situar la ventana para los linfocitos según tamaño y complejidad, se obtuvieron los datos de fluorescencia de FL1 (FITC), FL2 (PE) y FL3 (PECy5) mediante un citómetro de flujo FACSCalibur, manejado con el programa *Cell Quest Pro* (Becton Dickinson). Se adquirieron un mínimo de 1×10^4 eventos de la ventana de linfocitos.

Determinación de citoquinas circulantes

Se utilizó el kit comercial BD™ Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2 Cytokine Kit II, siguiendo las instrucciones facilitadas por el fabricante (Becton Dickinson), para la determinación de las siguientes citoquinas circulantes en el plasma sanguíneo: interleuquina-2 (IL-2), interleuquina-4 (IL-4), interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-10 (IL-10), interferón- γ (IFN- γ) y factor de necrosis tumoral- α (TNF- α). La cuantificación se realizó con el software *BD CBA Analysis Software*.

Tabla 1. Características de los trabajadores expuestos al plomo y de los trabajadores no expuestos (grupo control) incluidos en el estudio.

	Controles	Expuestos	p
Nº total de individuos	30	30	
<i>Empresa 1</i>		15	
<i>Empresa 2</i>		15	
Tiempo de exposición al plomo (años) ^a		5,3±1,5	
Edad (años) ^a	35,8±7,2	45,0±6,0	0,001 ^b
Consumo de tabaco (n)			0,754 ^c
<i>No fumadores</i>	24	23	
<i>Fumadores</i>	6	7	

a Media±desviación estándar

b Valor de p para el test ANOVA

c Valor de p para el test chi cuadrado

Tabla 2. Exposición al plomo, consumo de tabaco y frecuencia de mutación en TCR (media±error estándar).

	n	TCR-Mf x 10 ⁻⁴	p ^a	p ^b
Controles				
No fumadores	24	11,49±3,06		
Fumadores	6	18,95±7,74	0,309	
Expuestos				
No fumadores	23	23,14±4,48		0,036
Fumadores	7	13,46±3,42	0,260	0,508

a Valor de p para la comparación entre fumadores y no fumadores en cada categoría de exposición (test ANOVA)

b Valor de p para la comparación entre expuestos y no expuestos en cada categoría de consumo de tabaco (test ANOVA)

Análisis estadístico

Todos los análisis estadísticos se realizaron con el paquete estadístico SPSS para Windows, versión 15.0. Dado que el tamaño muestral es suficientemente grande como para asumir el teorema central del límite se consideraron los test paramétricos como apropiados para el análisis de los datos: análisis de la varianza (ANOVA), seguida por el test de Tuckey para comparaciones múltiples entre grupos. Debido a que el número de fumadores incluido en este estudio es muy bajo, para el análisis de la influencia del hábito tabáquico sobre las variables respuesta consideradas únicamente se categorizó a las poblaciones según consumo de tabaco (Sí/No), sin considerar intensidad o duración del consumo. El nivel de significación se estableció en 0,05.

RESULTADOS

La Tabla 1 presenta las características generales de la muestra estudiada. En la evaluación de los efectos mutagénicos inducidos por la exposición ocupacional al plomo (Figura 1), la población expuesta muestra un incremento significativo de la frecuencia de mutación en TCR-Mf respecto a los controles (Figura 1a), pero no se aprecian diferencias entre los trabajadores procedentes de las dos empresas analizadas (Figura 1b). Entre los individuos del grupo control, el valor medio de la TCR-Mf es mayor en fumadores que en no fumadores, aunque no se llega a alcanzar la significación estadística, no ocurriendo lo mismo en el grupo expuesto (Tabla 2). Por otra parte, segmentando la muestra total según el consumo de tabaco, la exposición al plomo se relaciona con un incremento significativo en la TCR-Mf únicamente en los individuos no fumadores.

Los resultados obtenidos en la determinación de las diferentes subpoblaciones linfocitarias se presentan en la Figura 2. La exposición ocupacional a plomo únicamente se relaciona con una disminución significativa en el porcentaje de linfocitos CD8⁺ (Figura 2a). No existen diferencias entre las dos empresas estudiadas para ninguna de las subpoblaciones analizadas (Figura 2b), así como tampoco entre ninguna de las empresas y el grupo control, excepto en el porcentaje de linfocitos CD8⁺, siendo significativamente inferior en los individuos de la empresa 1 que en el grupo control. El consumo de tabaco no afectó a ninguna de las variables analizadas, excepto al por-

Tabla 3. Exposición al plomo, consumo de tabaco y porcentajes de las subpoblaciones linfocitarias (%medio±error estándar).

	n	%CD3 ⁺	%CD4 ⁺	%CD8 ⁺	%CD19 ⁺	%CD16 ⁺ /56 ⁺	
Controles	no fumadores	24	66,94±1,64	34,45±1,57	37,58±1,43	9,55±0,76	21,60±1,39
	fumadores	6	71,36±4,21	38,97±5,26	33,17±2,84	10,17±2,12	17,87±3,31
Expuestos	no fumadores	23	65,39±1,79	36,33±1,75	33,03±2,06	9,79±0,80	20,30±1,55
	fumadores	7	60,01±4,24	37,91±2,41	28,49±2,43	13,35±1,61 ^a	15,18±2,21

a p<0,05 (respecto a no fumadores en el mismo grupo de exposición). Test ANOVA.

Tabla 4. Exposición al plomo, consumo de tabaco y concentraciones de citoquinas evaluadas (pg/ml, media±error estándar).

	n	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	TNF-α	IFN-γ	
Controles	no fumadores	24	0,14±0,14	0,52±0,23	1,98±0,22	0,67±0,28	0,76±0,21	0,57±0,33
	fumadores	6	0,67±0,67	0,00±0,00	2,42±0,16	0,23±0,23	0,65±0,41	0,65±0,65
Expuestos	no fumadores	23	1,22±0,31 ^a	0,94±0,39	2,50±0,50	3,64±1,46 ^a	1,42±0,32	1,09±0,39
	fumadores	7	0,67±0,43	0,54±0,54	1,59±0,75	0,37±0,37	0,81±0,39	0,83±0,55

a p<0,05 (respecto a controles no fumadores). Test ANOVA.

centaje de linfocitos CD19⁺ en el grupo expuesto, que presenta un incremento significativo en los fumadores (Tabla 3).

Como complemento a la determinación de las subpoblaciones linfocitarias, en el análisis de la inmunotoxicidad inducida por exposición al plomo se evaluaron también las concentraciones de varias citoquinas circulantes en plasma (Figura 3). Los individuos expuestos presentan en general mayores valores para todas las citoquinas que los controles, siendo esta diferencia estadísticamente significativa para IL-2 e IL-10 (Figura 3a). Valorando este resultado se-

gún empresa de procedencia (Figura 3b), la concentración de IL-2 resultó significativamente mayor en los trabajadores de la empresa 2 con respecto al grupo control. El análisis de la relación entre el consumo de tabaco y los niveles de citoquinas se muestra en la Tabla 4. No se observa asociación ni en el grupo control ni en el grupo expuesto. Por otra parte, entre los individuos no fumadores los valores medios de las concentraciones de IL-2 e IL-10 de los expuestos fueron significativamente más elevados que los de los controles.

Figura 1. (A) Exposición a plomo y frecuencia de mutación en TCR (test ANOVA). **(B)** Empresa de procedencia de los individuos expuestos y frecuencia de mutación en TCR (las barras representan el error estándar de la media) (test de Tuckey).

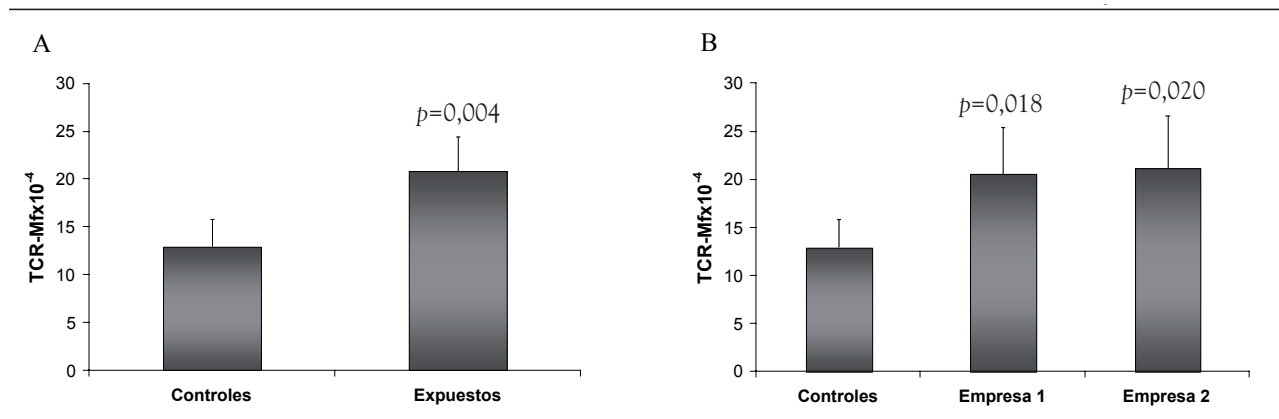
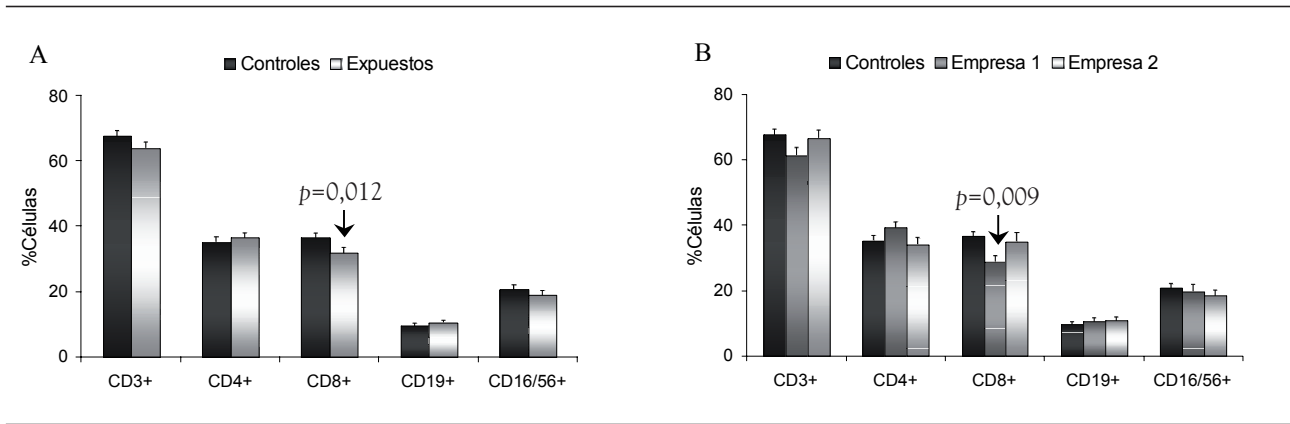


Figura 2. (A) Exposición a plomo y porcentajes de las diferentes subpoblaciones linfocitarias (test ANOVA). (B) Empresa de procedencia de los individuos expuestos y porcentajes de las subpoblaciones linfocitarias (las barras representan el error estándar de la media) (test de Tuckey).



DISCUSIÓN

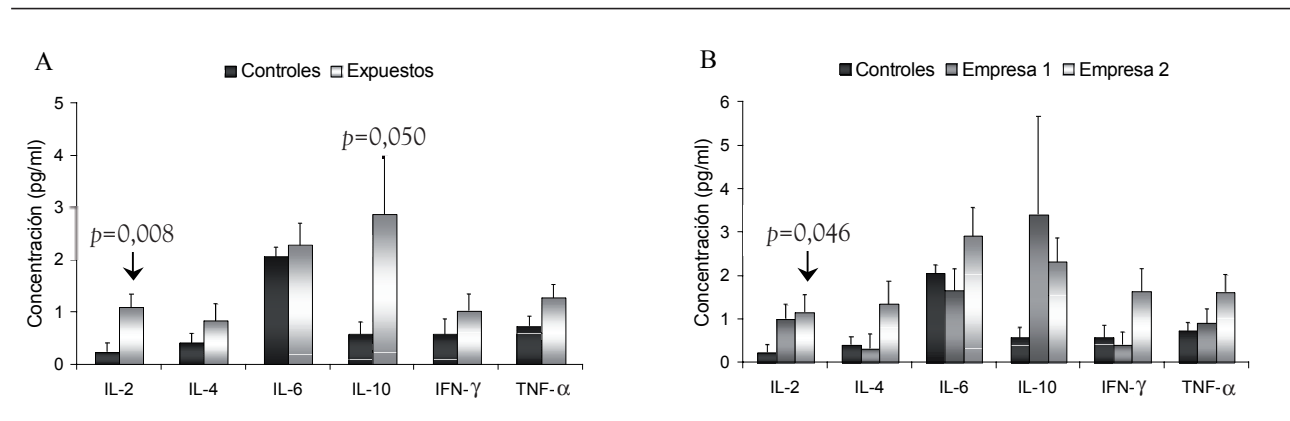
Los resultados del ensayo de mutación en TCR muestran un incremento significativo en la TCR-Mf en los individuos expuestos a plomo respecto al grupo control. El único trabajo publicado hasta la fecha que utiliza este mismo ensayo para evaluar los efectos genotóxicos en trabajadores expuestos a plomo⁵ no apoya estos resultados al no encontrar diferencias significativas entre el grupo control y el grupo expuesto. Sin embargo, en el citado estudio el tamaño poblacional es menor (25 expuestos vs. 25 controles). Además, dado que en dicho estudio la composición de ambas poblaciones era estadísticamente similar en cuanto a sexo y consumo de tabaco, los autores no evaluaron los efectos de estos factores sobre los resultados obtenidos centrándose únicamente en el estudio de las diferencias entre individuos expuestos y controles. En nuestro caso sí existen diferencias en cuanto al consumo de tabaco, aunque no en cuanto al sexo ya que sólo contamos con varones en ambas poblaciones, por

lo que la diferencia en los resultados podría también relacionarse con este hecho.

Por otra parte, los resultados de los trabajos previos encaminados a evaluar los efectos genotóxicos asociados a la exposición a plomo, generalmente en ambientes ocupacionales, mediante la utilización de diversos ensayos como los intercambios entre cromátidas hermanas, las aberraciones cromosómicas, el test de micronúcleos (MN) o el ensayo del cometa^{4,10-12}, coinciden con los resultados obtenidos en nuestro estudio.

La comparación de la TCR-Mf según la empresa de procedencia de los expuestos sugiere que el tipo de trabajo realizado en cada una de ellas conlleva los mismos efectos genotóxicos. En el estudio de Martino-Roth *et al.*¹³, en el que se evalúan los efectos genotóxicos de la exposición a plomo mediante el test de MN y el ensayo del cometa en trabajadores de dos tipos de empresas diferentes (reparación de acumuladores y pintura de coches), y cuyos resultados muestran un incremento significativo tanto de la frecuen-

Figura 3. (A) Exposición a plomo y niveles de citoquinas evaluadas (test ANOVA). (B) Empresa de procedencia de los individuos expuestos y concentraciones de las citoquinas evaluadas (las barras representan el error estándar de la media) (test de Tuckey).



cia de MN como del índice de daño en el ADN en ambos grupos de trabajadores respecto al grupo control, tampoco se observan diferencias significativas entre los trabajadores de ambas empresas.

El ensayo de mutación en TCR no reveló diferencias significativas en la frecuencia de mutación según el consumo de tabaco en la población control ni en la expuesta. Sin embargo, analizando los efectos de la exposición a plomo según el consumo de tabaco se encontraron diferencias significativas dentro del grupo de no fumadores entre controles y expuestos (mayor TCR-Mf en los individuos del grupo expuesto a plomo), no ocurriendo lo mismo entre los fumadores. El valor estadístico de esta comparación debe tomarse con precaución debido al pequeño tamaño muestral de individuos fumadores, tanto en el grupo control como en el expuesto, pero apoya la hipótesis propuesta por Garaj-Vrhovac y Kopjar¹⁴, que apuntaron la posibilidad de que una respuesta adaptativa y la potenciación de los mecanismos de reparación en fumadores puede ser la razón por la cual el efecto de una exposición ocupacional adicional sea más pronunciado en no fumadores.

Los resultados obtenidos en la determinación de las variaciones de los porcentajes de las distintas subpoblaciones linfocitarias muestran un descenso significativo del porcentaje de linfocitos T citotóxicos CD8⁺ en el grupo expuesto respecto al control, mientras que el resto de subpoblaciones no experimentaron ninguna alteración significativa. En dos estudios previos sobre individuos expuestos ocupacionalmente a plomo^{6,15} se encontró, al igual que en nuestro caso, un descenso en la población de linfocitos CD8⁺, además de en la población de linfocitos CD4⁺, en los individuos expuestos respecto a los controles, aunque en esos trabajos la diferencia no era estadísticamente significativa. Sin embargo, otros estudios contradicen estos resultados al encontrar un aumento significativo en la población de linfocitos CD8⁺ en el grupo expuesto a plomo con respecto al grupo control^{7,16}.

Mishra *et al.*¹⁷ realizaron un estudio de los efectos inmunotóxicos de la exposición ocupacional a plomo en tres grupos de individuos expuestos establecidos según las actividades realizadas en el lugar de trabajo (conductores de vehículos de tres ruedas, trabajadores de fabricación de baterías y joyeros que utilizan plata). Observaron que los individuos con más riesgo de sufrir inmunotoxicidad por plomo eran los trabajadores de fabricación de baterías, que a su vez presentaban unos niveles de plomo en sangre mucho más elevados que los individuos de los otros dos grupos. A pesar de que en el citado trabajo no se evaluaron los porcentajes de las diferentes subpoblaciones linfocitarias, es indicativo de que el tipo de actividades desarrolladas por los trabajadores de las diferentes empresas implica diferencias en la exposición global experimentada y por tanto en los efectos inmunotóxicos inducidos. En nuestro estudio los trabajadores de fabricación de baterías (empresa 2) no mostraron diferencias significativas respecto a los controles, aunque sí los de la empresa 1, dedicados a la producción de sustancias químicas, plásticos y fritas de vidrio (actividades no contempladas en el mencionado trabajo) a pesar de la utilización de equipos de protección individual por parte de estos trabajadores.

Entre los individuos expuestos se ha observado una disminución significativa en el porcentaje de linfocitos CD19⁺

en los fumadores con respecto a los no fumadores. Sin embargo, coincidiendo con nuestros resultados en todas las otras subpoblaciones analizadas, Schaberg *et al.*¹⁸ y Tanigawa *et al.*¹⁹ no encontraron diferencias en las subpoblaciones linfocitarias entre fumadores y no fumadores, y por el contrario Apibal *et al.*²⁰ describieron una asociación significativa entre el consumo de tabaco y el incremento en el número total de linfocitos CD19⁺, aunque no analizan los porcentajes.

Los datos de este estudio acerca de la determinación de las concentraciones de las diferentes citoquinas muestran un aumento de IL-2, IL-10 e IFN- γ en el grupo expuesto respecto al control, significativo en los dos primeros casos. La IL-2 induce la producción de IFN- γ que, a su vez, promueve las respuestas inmunes de tipo Th2 que incluyen un aumento en la producción de IL-10 liberada por estas células²¹. Tanto la IL-2 como la IL-10 están implicadas en la respuesta inmune de tipo específico. Esto sugiere que el plomo podría activar este tipo de respuesta inmune en los individuos expuestos. Mishra *et al.*¹⁷ también describen niveles significativamente elevados de IFN- γ producidos por linfocitos estimulados con fitohemaglutinina procedentes de individuos expuestos a plomo. Estos resultados no se corresponden con los de estudios de laboratorio realizados en ratones en los que se ha descrito que elevados niveles de plomo en la dieta incrementan la producción de citoquinas derivadas de los linfocitos Th2 (IL-4) e inhiben la producción de las derivadas de los linfocitos Th1 (IL-2 e IFN- γ)^{8,22,23}.

Los trabajadores de la empresa 2 presentaron niveles significativamente mayores de IL-2 que los individuos control. Tulinska *et al.*²⁴ realizaron un estudio en el que evaluaron, además de otros parámetros, la variación en los niveles de las citoquinas proinflamatorias IL-6 e IL-8 en trabajadores de diferentes empresas relacionadas con la fabricación de fibras minerales. Observaron que el nivel de IL-8 aumentaba significativamente en los individuos que trabajaban con los tres tipos de fibras (asbesto, fibra de vidrio y lana de roca), pero la IL-6 sólo se incrementaba significativamente en los individuos que trabajaban con asbesto. La existencia de estas diferencias y de las encontradas en nuestro trabajo pone de nuevo de manifiesto la importancia de la actividad desarrollada sobre los efectos a nivel inmunotóxico.

No se ha obtenido influencia del consumo de tabaco sobre las concentraciones de citoquinas analizadas en ninguna de los dos grupos de individuos. Coincidiendo con nuestros resultados, Oh *et al.*²⁵ no encontraron efecto del tabaco sobre los niveles de IL-4 e INF- γ en trabajadores de incineradoras. Por otra parte, al segmentar la población según su consumo de tabaco se observaron dentro del grupo de no fumadores mayores concentraciones de IL-2 e IL-10 en los individuos expuestos respecto a los controles, no siendo así entre los fumadores. Estos resultados, coincidentes con los del ensayo de mutación en TCR, sugieren una menor susceptibilidad de los fumadores a los efectos inmunotóxicos de la exposición a plomo.

En general, los resultados de este trabajo indican que la exposición ocupacional a plomo induce incrementos en la frecuencia de mutación y alteraciones en los porcentajes de determinadas subpoblaciones linfocitarias y en las concentraciones de ciertas citoquinas circulantes en el plasma sanguíneo. Sin embargo, resulta complicado evaluar su relevan-

cia toxicológica, aunque apoyan la hipótesis de que tanto el ADN como el sistema inmune pueden ser dianas para la toxicidad del plomo, y que la aplicación de medidas para la eliminación o disminución de los niveles de plomo en los ambientes de trabajo es necesaria. Actualmente se está llevando a cabo una ampliación de este estudio, aumentando el número de individuos incluidos, que servirá para confirmar con mayor poder estadístico los actuales resultados obtenidos y ayudará a establecer la conveniencia de aplicar en el futuro parámetros genotóxicos e inmunotóxicos que impliquen metodologías novedosas, rápidas y sencillas, para evaluar y biomonitorizar individuos expuestos a plomo en los lugares de trabajo.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por la Xunta de Galicia (PGIDT04PXIB10602PR) y el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (04-12752-UCO-4).

BIBLIOGRAFÍA

- Papanikolaou NC, Hatzidaki EG, Belivanis S, Tzanakakis GN, Tsatsakis AM. Lead toxicity update. A brief review. *Med Sci Monit*. 2005; 11: RA329-336.
- Patrick L. Lead toxicity, a review of the literature. Part I: exposure, evaluation, and treatment. *Altern Med Rev*. 2006; 11: 2-22.
- Spivei A. The weight of lead. Effects add up in adults. *Environ Health Perspect*. 2007; 115: A31-A36.
- Minozzo R, Deimling LI, Gigante LP, Santos-Mello R. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes of workers exposed to lead. *Mutat Res*. 2004; 565: 53-60.
- Zhijian C, Jianlin L, Shijie C, Wei Z, Wei W, Lifan J, et al. Evaluating the genotoxic effects of workers exposed to lead using micronucleus assay, comet assay and TCR gene mutation test. *Toxicology*. 2006; 223: 219-226.
- Basaran N, Ündeger Ü. Effects of lead on immune parameters in occupationally exposed workers. *Am J Ind Med*. 2000; 38: 349-354.
- Sata F, Araki S, Tanigawa T, Morita Y, Sakurai S, Nakata A, et al. Changes in T cell subpopulations in lead workers. *Environ Res*. 1998; 76: 61-64.
- Heo Y, Parsons PJ, Lawrence DA. Lead differentially modifies cytokine production in vitro and in vivo. *Toxicol Appl Pharmacol*. 1996; 138: 149-157.
- Akiyama M, Kyoizumi S, Hirai Y, Kusunoki Y, Iwamoto KS, Nakamura N. Mutation frequency in human blood cells increases with age. *Mutat Res*. 1995; 338: 141-149.
- Danadevi K, Rozati R, Banu BS, Rao PH, Grover P. DNA damage in workers exposed to lead using comet assay. *Toxicology*. 2003; 187: 183-193.
- Palus J, Rydzynski K, Dziubaltowska E, Wyszynska K, Natarajan AT, Nilsson R. Genotoxic effects of occupational exposure to lead and cadmium. *Mutat Res*. 2003; 540: 19-28.
- Shaik AP, Sankar S, Reddy SC, Das PG, Jamil K. Lead-induced genotoxicity in lymphocytes from peripheral blood samples of humans: *in vitro* studies. *Drug Chem Toxicol*. 2006; 1: 111-124.
- Martino-Roth MG, Viégas J, Roth DM. Occupational genotoxicity risk evaluation through the comet assay and the micronucleus test. *Genet Mol Res*. 2003; 2: 410-417.
- Garaj-Vrhovac V, Kopjar N. Investigation into possible DNA damaging effects of ultrasound in occupationally exposed medical personnel--the alkaline comet assay study. *J Appl Toxicol*. 2005; 25: 184-192.
- Ündeger Ü, Basaran N, Canpinar H, Kansu E. Immune alterations in lead-exposed workers. *Toxicology*. 1996; 109: 167-172.
- Sata F, Araki S, Tanigawa T, Morita Y, Sakurai S, Katsuno N. Changes in natural killer cell subpopulations in lead workers. *Int Arch Occup Environ Health*. 1997; 69: 306-310.
- Mishra KP, Singh VK, Rani R, Yadav VS, Chandran V, Srivastava SP, et al. Effect of lead exposure on the immune response of some occupationally exposed individuals. *Toxicology*. 2003; 188: 251-259.
- Schaberg T, Theilacker C, Nitschke OT, Lode H. Lymphocyte subsets in peripheral blood and smoking habits. *Lung*. 1997; 175: 387-394.
- Tanigawa T, Araki S, Nakata A, Sakurai S. Increase in the helper inducer (CD4+CD29+) T lymphocytes in smokers. *Ind Health*. 1998; 36: 78-81.
- Apibal S, Srisurapanon S, Kisukapan P, Worapongpaiboon S, Ueanong S, Kupatawintu P, et al. The effects of cigarette smoking on peripheral blood leukocytes and lymphocyte subpopulations: an urban population-based study in Thailand. *J Med Assoc Thai*. 2000; 83 Suppl 1: S109-113.
- Descotes J. Importance of immunotoxicity in safety assessment: a medical toxicologist's perspective. *Toxicol Lett*. 2004; 149: 103-108.
- Heo Y, Lee WT, Lawrence DA. In vivo the environmental pollutants lead and mercury induce oligoclonal T cell responses skewed toward type-2 reactivities. *Cell Immunol*. 1997; 179: 185-195.
- Iavicoli I, Carelli G, Stanek III EJ, Castellino N, Calabrese EJ. Below background levels of blood lead impact cytokine levels in male and female mice. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2006; 210: 94-99.
- Tulinska J, Jahnova E, Dusinska M, Kuricova M, Liskova A, Ilavska S, et al. Immunomodulatory effects of mineral fibres in occupationally exposed workers. *Mutat Res*. 2004; 553: 111-124.
- Oh E, Lee E, Im H, Kang H-S, Jung W-W, Won NH, et al. Evaluation of immuno- and reproductive toxicities and association between immunotoxicological and genotoxicological parameters in waste incineration workers. *Toxicology*. 2005; 210: 65-80.