

## *TNF-Alpha, proinflammatory state related with leukocyte apoptosis in lead exposed workers*

### *TNF-Alfa, estado pro-inflamatorio y su relación con la apoptosis de leucocitos de trabajadores expuestos a plomo*

Nadia Cristina López Vanegas<sup>1</sup>, Claudia Estefanía Ruiz Cascante<sup>1</sup>, María Maldonado Vega<sup>3</sup>,  
Gerardo Hernández García<sup>4</sup> y José Víctor Calderón Salinas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Bioquímica, CINVESTAV IPN;

<sup>2</sup> Posgrado de Ciencias de la Salud, UNAM;

<sup>3</sup> Hospital Regional de Alta Especialidad del Bajío;

<sup>4</sup> Sección de metodología de la Ciencia, CINVESTAV IPN

Correo electrónico de contacto: [nadia.lopez@cinvestav.mx](mailto:nadia.lopez@cinvestav.mx)

Fecha de envío: 01/06/2019

Fecha de aprobación: 22/06/2019

#### **Introducción**

El plomo es un metal pesado, persistente en el ambiente, se utiliza en muchas actividades industriales, por lo que constituye un riesgo ocupacional y ambiental en trabajadores de metalúrgicas, reciclaje de baterías, vidrioado y cerámicas, que tienen medidas de seguridad deficientes. La exposición a plomo causa efectos perjudiciales a nivel bioquímico y fisiológico. Los mecanismos de daño involucran estrés oxidativo, incremento de calcio intracelular libre y aumento de eriptosis. En el presente trabajo estudiamos otros factores de daño, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), es una citocina crucial en la defensa del hospedero, la inflamación y la inducción de apoptosis. El objetivo del trabajo es estudiar el estado clínico y molecular pro-inflamatorio, a partir de la producción y liberación de TNF- $\alpha$  por leucocitos en sangre de trabajadores expuestos a plomo y su relación con el proceso oxidativo y el apoptótico. Por tanto, se plantea la siguiente hipótesis: la intoxicación por plomo produce un estado clínico y molecular pro-inflamatorio, con un incremento en la producción y liberación de TNF- $\alpha$  por leucocitos de pacientes expuestos a plomo, que se encuentra asociado con daño oxidativo y apoptosis.

#### **Método**

Se realiza un estudio descriptivo, transversal y comparativo: un grupo de 24 trabajadores expuestos, de la industria de reciclado de baterías, y se comparó con un grupo de 17 trabajadores sin antecedentes de exposición al plomo. Se realizó una historia clínica toxicológica completa y diferentes pruebas moleculares: concentración de plomo en sangre por voltametría; actividad de la enzima  $\delta$ -ALAD por espectrofotometría, lipoperoxidación medida como TBARS mediante espectrofotometría; externalización de fosfatidilserina en eritrocitos y leucocitos por citometría de flujo; concentración de TNF- $\alpha$  en plasma y estimulación con lipopolisacárido (LPS) para la producción de TNF- $\alpha$  por ELISA. El proyecto está aprobado y registrado por el comité de Ética del IMSS (CNBCEI-11-CEI-004-20170731), los participantes aceptaron y firmaron el consentimiento informado. Para el análisis estadístico se usa el programa R.

#### **Resultados**

Los trabajadores expuestos a plomo presentan 25 veces mayor concentración de plomo en sangre, 5.3 veces menor actividad de la enzima  $\delta$ -ALAD y 29 % mayor daño oxidativo que los trabajadores no expuestos; lo que indica que hay intoxicación por plomo y daño oxidativo

**Resumen de congreso**

en los trabajadores expuestos (Tabla 1). La apoptosis de eritrocitos y leucocitos en los trabajadores expuestos es mayor que en los no expuestos en un 60 y 74 %, respectivamente (Gráfica 1 y Tabla 1).

|  | Relación de los valores de trabajadores expuestos comparados con los no expuestos |
|--|---|
| Plomo en sangre ( $\mu\text{g/dL}$ )                     | 25 veces mayor  |
| Actividad $\delta$ -ALAD (nmol PBG/h/mL GR)              | 5.3 veces menor   |
| Lipoperoxidación (nmol MDA/mL GR)                        | 0.29 veces mayor  |
| Externalización de FS en eritrocitos (% unión a Anexina) | 0.60 veces mayor  |
| Externalización de FS en leucocitos (% unión a Anexina)  | 0.74 veces mayor  |
| TNF- $\alpha$ en plasma (pg/mL)                          | 5.8 veces menor   |
| Tasa de producción de TNF- $\alpha$                      | 0.92 veces mayor  |

Se presenta el número de veces a partir de los valores de los trabajadores expuestos contra no expuestos. \* $p < 0.05$ , según Wilcoxon.

**Tabla 1. Parámetros biológicos de intoxicación por plomo, oxidación, apoptosis de eritrocitos y leucocitos, TNF- $\alpha$  en plasma y tasa de producción de TNF- $\alpha$  en trabajadores no expuestos y expuestos a plomo**

Fuente: Autoría propia

la marca de la línea horizontal, indica el punto de corte para poder cuantificar las células positivas a anexina-V-FITC.

Fuente: Autoría propia

La concentración de TNF- $\alpha$  en plasma en los trabajadores expuestos es menor (85%) con respecto a los no expuestos. Sin embargo, la tasa de producción de la concentración con estimulación y la concentración basal en plasma, se observa 92% de mayor producción de TNF- $\alpha$  en los trabajadores expuestos a plomo en comparación con los no expuestos.

**Discusión de resultados y conclusiones:**

Los trabajadores presentan intoxicación por plomo y presentan mayor eritrosis y apoptosis de leucocitos lo cual podría estar asociado a respuestas pro-inflamatorias asociadas por el daño oxidativo. Al encontrar bajas concentraciones de TNF- $\alpha$  en plasma, conociendo que es una citocina pro-inflamatoria, podríamos sugerir que en la intoxicación por plomo es una respuesta mediadora de daño, en cambio al enfrentar a los leucocitos con un estimulador y obtener la tasa de producción de TNF- $\alpha$ , es mayor en los expuestos, lo cual podría sugerir que las células están más sensibilizadas a producir dicha citocina sea por el daño oxidativo o bien por el mismo plomo.

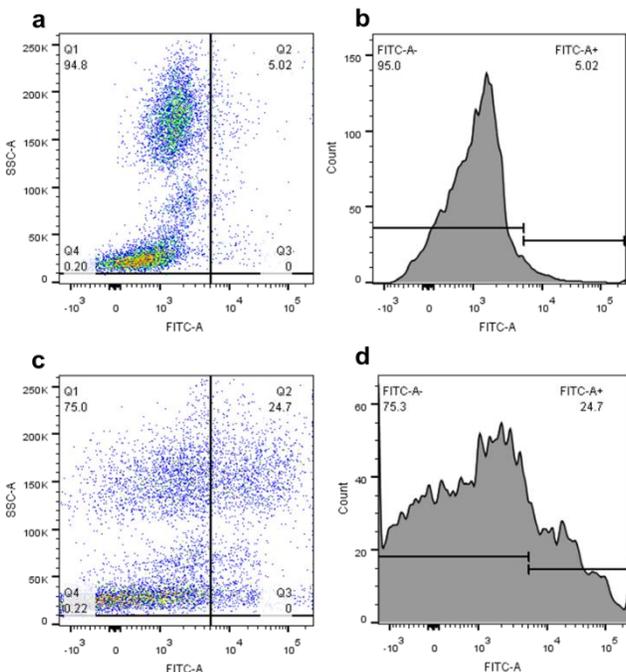
**Referencias**

Aguilar-Dorado, I.C. et al., (2014) Eryptosis in lead-exposed workers. *Toxicology and applied pharmacology* 281: 195-202.

Calderón, J. Y Maldonado, M. (2008) *Contaminación e intoxicación por plomo*. Trillas. México.

Hernández, G. et al., (2016) Participation of phospholipase-a2 and sphingomyelinase in the molecular pathways to eryptosis induced by oxidative stress in lead-exposed workers. *toxicology and applied pharmacology* 371: 12-19.

**Obra protegida con una licencia Creative Commons**



**Gráfica 1** Externalización de fosfatidilserina en leucocitos por citometría de flujo. En la parte superior derecha de cada figura se indica el % de células positivas a anexina-V-FITC. En (a) y (c) se representan las gráficas de "dot plot" que muestran la población de leucocitos y en (b) y (d) el histograma de frecuencias de la población leucocitaria. (a) y (b) corresponden a un trabajador no expuesto; (c) y (d) a un trabajador expuesto a plomo. En (b) y (d)