

Exposición ocupacional a mezcla de benceno-tolueno-xileno.

Manifestaciones hematoinmunológicas

Luis Cuauhtémoc Haro-García,¹
César Raúl González-Bonilla,²
Rommel Chacón-Salinas,³
Carlos Pérez-Lucio,⁴
Cuauhtémoc Arturo Juárez-Pérez,⁵
Víctor Hugo Borja-Aburto⁶

RESUMEN

A pesar que se ha promovido el estudio de la exposición ocupacional al benceno y su mezcla con tolueno y xileno (BTX), la que parece determinar su toxicidad y producción de efectos aditivos, persisten mayor interés por reconocer de manera aislada sus efectos hematoinmunotóxicos pese a que las exposiciones a una única sustancia en el terreno laboral es infrecuente. Las aportaciones disponibles que analizan esas implicaciones son escasas, de resultados contradictorios y mayoritariamente se circunscriben a la fracción bencénica. Estudios epidemiológicos que han evaluado la exposición ocupacional a cualquiera de las fracciones de BTX se han fundamentado en el monitoreo personal, mientras que otros la caracterizan de manera heterogénea y con propuestas de menor dureza. La conformación de métodos específicos para estimar la exposición ocupacional a mezcla de BTX contribuiría a su homogeneización y permitiría una visión más integral en términos de determinar la exposición. Por otro lado, se cuestiona la aplicación de biomarcadores de exposición del BTX en estudios que consideran exposiciones crónicas relacionadas con los efectos biológicos específicos de referencia. El análisis de la exposición ocupacional a mezcla de BTX asociado a manifestaciones hematoinmunológicas se fundamenta en información aún poco clara, controversial o incluso especulativa.

SUMMARY

Despite, the idea promoted to study occupational exposure to benzene and its mixture with toluene and xylene (BTX) because it appears to determine its toxicity and probably the production of additive effects, it persists interest to recognizing its hematological and immunotoxic effects. The fact that exposure to a sole substance in the occupational field is infrequent. Available contributions that analyze these implications are scarce, with contradictory results, and in their majority are limited to the fraction of benzene. Epidemiologic studies that have evaluated occupational exposure to any of the BTX fractions have been based on personal monitoring, while others have characterized this heterogeneously and are accompanied by weaker proposals. The conformation of specific methods to stimulate occupational exposure to the BTX mixture would contribute to its homogenization and allow for a more integral view in terms of determining BTX exposure. On the other hand, the application of BTX exposure biomarkers has been questioned in studies contemplating the specific biological effects of reference-associated chronic exposure. Analysis of the hematological and immunologic manifestations associated BTX mixture is based on information that is unclear, controversial, or even speculative to date.

Recibido: 30 de agosto de 2007

Aceptado: 17 de enero de 2008

Introducción

Desde el siglo XIX se despertó el interés por comprender la toxicidad crónica que ejercen los compuestos aromáticos sobre la médula ósea debido a su poder leucemiogénico, y no obs-

tante que desde entonces en grupos de trabajadores se ha insistido reiteradamente sobre la asociación de las manifestaciones citopénicas, dismielopoyéticas, displásicas o inmunotóxicas con la presencia de mezcla de benceno, tolueno y xileno (BTX) en atmósferas laborales, el me-

¹Departamento de Salud Pública, Salud en el Trabajo, Facultad de Medicina, UNAM

²Unidad de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional La Raza, IMSS

³Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN

⁴Toxicología Laboral, Procuraduría para la Defensa del Trabajo, Secretaría del Trabajo y Previsión Social, Pachuca, Hidalgo,

⁵Unidad de Investigación en Salud en el Trabajo, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

⁶Coordinación de Salud en el Trabajo, IMSS

Comunicación con:
 Luis C. Haro-García,
 Tel: (55) 5627 6900,
 extensión: 21661.
 Correo electrónico:
 luisharo2@hotmail.com

Palabras clave

- ✓ benceno
- ✓ tolueno
- ✓ xileno
- ✓ exposición ocupacional

Key words

- ✓ benzene
- ✓ toluene
- ✓ xylene
- ✓ occupational exposure

canismo por medio del cual se producen no ha sido bien dilucidado.¹⁻⁴

Ampliamente es conocido que la exposición crónica al benceno causa depresión de la médula ósea en apariencia por un efecto citotóxico directo sobre las líneas celulares progenitoras de la hematopoyesis, aunque también existe evidencia de daño sobre las células del estroma de la misma médula, lo que ha llevado a considerarla como una hematotoxina;⁴ la importancia de destacar su mezcla con tolueno y xileno es debido a que existe evidencia para suponer que éstas sustancias interactúan y determinan la hematoinmunotoxicidad del benceno, ya que comparten el mecanismo toxicocinético del citocromo P450 CYP2E1 y de otras isoenzimas de este sistema, sin embargo, la acción conjunta de tolueno-xileno al parecer en forma independiente produce algunos efectos aditivos sobre la cuenta de linfocitos, de glóbulos rojos y de monocitos. Por ello, el estudio de los efectos tóxicos sobre médula ósea por acción del benceno, debiera ir acompañado del que se produce por su mezcla —prácticamente ineludible en el terreno laboral— con tolueno y xileno.^{5,6} Pese a ello, la información sobre las implicaciones toxicológicas de la mezcla de benceno, tolueno y xileno es escasa.^{4,6}

Es sabido que la fracción bencénica de esta mezcla es introducida al organismo principalmente por vía inhalatoria y una vez que penetra al torrente circulatorio pasa rápidamente a los tejidos; las concentraciones que alcanzan en tejidos como la médula ósea son casi 20 veces mayores que a nivel sanguíneo.^{4,6}

Respecto al tolueno, su fácil penetración por vía inhalatoria aumenta solo cuando existe aumento de la carga física y con ello de ventilación pulmonar.⁷ El tolueno pasa al torrente circulatorio y es distribuido a tejidos ricos en contenido graso, de ahí que se destaque a la médula ósea como órgano donde el tolueno se asienta con facilidad.^{6,7}

En estudios con xileno se han incluido sus isómeros *o*-xileno, *m*-xileno y *p*-xileno, lo que hace más complejo analizar su participación aditiva al mezclarse con benceno y tolueno. Esta mezcla de xilenos es fácilmente absorbida por ruta inhalatoria y, al igual que el tolueno, ejercer carga física, con el consiguiente aumento de la ventilación pulmonar, incrementa el xileno

retenido, mismo que subsecuentemente se absorbe y distribuye de manera primaria en tejido adiposo. De los xilenos señalados, el *m*-xileno sin metabolizar parece presentar cierta predilección por médula ósea.⁸

En cuanto a la biotransformación, en el benceno una fase intermedia promueve la constitución de un epóxido a través de oxidasas dependientes principalmente del CYP2E1.^{4,6} La fase terminal puede ser a través de la hidrolización del epóxido de benceno transformándose en fenol, catecol, hidroquinona y 1,2,4-trihidrobenceno, los cuales inhiben la hematopoyesis a través de diferentes mecanismos de toxicidad.^{4,6,9-15}

En contraste, el tolueno absorbido por ruta inhalatoria ha mostrado de manera independiente manifestaciones hematoinmunológicas poco contundentes, sin embargo, se ha insistido en observar esta situación debido a algunos resultados que han asociado la exposición a tolueno con disminución de la cuenta de leucocitos, eritrocitos y de plaquetas (ATSDR, 2000). El tolueno es biotransformado entre otros por CYP2E1, el cual comparte con el benceno, y que lo oxidan a ácido benzoico, y una vez conjugado con glicina forma ácido hipúrico, uno de sus principales metabolitos finales, mismo que no tiene adjudicados, al menos a la fecha, efectos tóxicos conocidos sobre médula ósea.^{6,7}

Por su parte, existen profundas dudas si el xileno tiene efectos hematoinmunotóxicos propios cuando se absorbe por vía inhalatoria, o éstos aparecen por la acción del benceno —si está presente— o por su acción aditiva con el tolueno. Los tres isómeros del xileno son mayoritariamente biotransformados en ácido metilhipúrico.^{6,8}

Los mecanismos toxicológicos del benceno, tolueno y xileno analizados de forma independiente y que se han identificado como responsables de efectos sobre componentes de la médula ósea podrían hacer suponer que el resultado sería un simple fenómeno aditivo, sin embargo, tampoco se cuentan con los elementos necesarios para que de manera tácita esta idea adopte ese significado, más tomando en cuenta las posibles interferencias debido a la presencia de otros disolventes aromáticos, así como los de tipo alifático, cetonas o alcoholes y de otras covariables fuera del ámbito ocupacional, como el consumo de alcohol o el tabaquismo.^{6,16-20}

Hematoinmunotoxicidad por benceno, tolueno y xileno

Los medios que comúnmente se han señalado para evaluar integralmente el riesgo hematoinmunotóxico en trabajadores expuestos de manera crónica a benceno, tolueno y xileno son la cuenta eritrocitaria, la diferencial de leucocitos y otros valores hematológicos o marcadores inmunológicos.^{4,7,8}

Pese a las importantes consideraciones relacionadas con los límites permisibles de los componentes de la mezcla de referencia en el atmósfera laboral y la necesidad de modificar el estudio de sus efectos hematoinmunotóxicos, los promovidos para explorar cambios en la fórmula roja de los trabajadores expuestos a benceno, tolueno y xileno son escasos.²⁰⁻³¹ Existe información que puntualiza sobre la disminución sutil del número de eritrocitos acompañada de decremento en la hemoglobina corpuscular media, de la concentración media de hemoglobina corpuscular y de macrocitosis, sin embargo, otra no señala cambio alguno. Los efectos sobre el número de reticulocitos y el resto de indicadores hematológicos de la fórmula roja no parecen ser relevantes.^{3,4,6,24-29} En la misma situación se encuentran los efectos sobre el número de las plaquetas.^{30,31}

En cuanto a la fórmula blanca, se menciona que alrededor de los primeros cuatro meses de exposición, al menos a la fracción bencénica, los leucocitos declinan en aproximadamente 1000 células/mm³ y a la linfocitopenia acompañante se le debería considerar el dato más precoz de hematotoxicidad,^{4,6} y de prolongarse la exposición por más de 55 meses, se presenta depresión cuantitativa sostenida de linfocitos *T* sin que se haya asociado aún con deficiencias clínicamente demostrables sobre trabajadores expuestos, lo que indica que los linfocitos *T*, aunque disminuidos en número, son quizás plenamente funcionales. Por otro lado, ambientes laborales con benceno detectable han mostrado depresión del nivel circulante de linfocitos *B*.^{4,6,24-26}

Como puede observarse en el cuadro I, el interés principal parecen ser los efectos sobre subpoblaciones de linfocitos *T* y *B*, diferentes inmunoglobulinas y otros componentes solubles de la respuesta inmune, y la relación con diversos marcadores de exposición en diferen-

tes muestras biológicas.³²⁻³⁶ Los resultados son contradictorios en cuanto a los efectos cuantitativos que se identificaron, sin determinarse en definitiva la integridad funcional de estos componentes, o la necesidad de analizar otros.³⁶⁻³⁹

Caracterización de la exposición a benceno, tolueno y xileno

Como puede observarse en el cuadro II, la caracterización de exposición ocupacional en estudios epidemiológicos que se han llevado a cabo en la última década y mayoritariamente con fines de estudiar la acción aislada del benceno, del tolueno o del xileno sobre la respuesta inmune de trabajadores expuestos, se ha reducido al monitoreo personal expresado en promedio ponderado en tiempo (TWA, *time-weighted average*) por lo general en ocho horas, lapso convencional de una jornada de trabajo.⁴⁰⁻⁴² Aunque el cuadro I fue estructurado con otro propósito, algunos de los estudios incluidos también se suman a esta forma de caracterización, mientras que otros, los menos, se la plantean de manera heterogénea y con propuestas de menor solidez.^{32,36}

La caracterización de la exposición ocupacional debería extenderse idealmente al análisis retrospectivo de los distintos procesos de trabajo, la evolución que hayan sufrido éstos, la variabilidad de tareas requeridas en los diferentes puestos de trabajo —pasados y actuales— que ha desempeñado el trabajador, las fluctuaciones temporales y espaciales que suelen acompañarlos al ejercerlo, la pluralidad de industrias que presentan esta mezcla de disolventes aun a concentraciones muy bajas, y la posible heterogeneidad en la aplicación de las normas regulatorias en materia de límites de permisibilidad de concentración a benceno, tolueno y xileno en los diversos ambientes de trabajo.^{23,43-45} Esto debería alentar el desarrollo de métodos para estimar la exposición ambiental u ocupacional en los estudios epidemiológicos en término de dosis, ya que desde esta perspectiva, la estimación sería a través de la aplicación de modelos que utilizan índices con variables ponderadas y otros parámetros, y con ello trascender los errores que emergen con otras formas de definir la exposición por los amplios rangos de incertidumbre que le son implícitos.⁴⁶

Luis Cuauhtémoc Haro-García et al.
Manifestaciones hematoinmunológicas a benceno, tolueno y xileno

Con propósitos de evaluación, la estimación de la dosis debe expresarse de manera que pueda compararse con datos disponibles de dosis-respuesta.⁴⁶ Frecuentemente, la relación dosis-respuesta se asocia con la dosis potencial que en realidad es indicativa de la dosis interna, y la cual habla de la captación del agente y la respuesta biológica del órgano blanco. Debido precisamente a que la administración y captación de un agente puede variar, la dosis promedio no es necesariamente constante, y por añadidura, solo es por un periodo determinado; por ello debe considerarse solo como una expresión cuantitativa útil de mayor certeza para estimar el riesgo, sin ser la definitiva.⁴⁶⁻⁴⁹

Biomarcadores de exposición a benceno, tolueno y xileno

En general, los biomarcadores de exposición son indicadores de la dosis interna;⁵⁰⁻⁵⁷ sin embargo, su utilidad se ve limitada a exposición reciente o actual, aunada a la baja vida media que poseen estos biomarcadores y que bajo ciertas circunstancias puede ser incluso menor a una hora, y a la disponibilidad y el costo de las pruebas de laboratorio especializado si existiera la intención de hacer seguimiento y vigilancia a poblaciones de trabajadores desde el preempleo, ya que son poco factibles para aplicarlas de manera rutinaria en la medición de metabolitos de benceno en muestras biológicas de trabajadores expuestos,

Cuadro I
Trabajadores expuestos a benceno, tolueno y xileno y respuesta inmune

Autor y año de publicación	<i>n</i>	Caracterización de exposición	Medición del efecto	Efecto observado	Covariables exploradas
Collins ³² (1997)	1151	Registros de monitoreo personal (TWA 8 $\approx$ 0.55 ppm de benceno)	Cuenta linfocitaria por impedancia electrónica < 1000 linfocitos/mm ³	Sin evidencias de linfocitopenia	Tabaquismo, edad, sexo
Tanigawa ³³ (2001)	16	Tolueno en sangre; referencia de uso de disolventes orgánicos	Cuenta leucocitaria, inmunofluorescencia y uso de anticuerpos monoclonales	Disminución significativa de subpoblaciones de linfocitos <i>T</i> y de células NK; aumento de linfocitos <i>B</i>	No se consideraron
Bogadi-Sare ³⁴ (2000)	49	Benceno en ambiente de trabajo: 1.9-14.8 ppm; mediana: 5.9; benceno en sangre; fenol en orina	Prueba de inmunodifusión; pruebas estándar para poblaciones de linfocitos	Disminución de linfocitos <i>B</i> ; cuenta de linfocitos <i>T</i> no afectada; sin efectos en niveles de IgA, IgM, IgG	Tabaquismo, edad, años de exposición, consumo de alcohol
Hotz ³⁵ (1998)	120	Puesto de trabajo y mediana de antigüedad en el puesto de trabajo; benceno en ambiente de trabajo: TWA 8 < 1.14 ppm; fenol, ácido mucónico, catecol, hidroquinona y ácido S-fenilmercaptúrico	Cuantificación de IL1 α , fenol, ácido mucónico, catecol, hidroquinona y ácido S-fenilmercaptúrico	No se asoció IL1 α con las concentraciones de benceno en ambiente de trabajo; no existió correlación con fenol, ácido mucónico, catecol, hidroquinona y ácido S-fenilmercaptúrico	Tabaquismo, consumo de alcohol; índice de masa corporal
Rhodes ³⁹ (2003)	141	Exposición categorizada por consenso: exposición alta y exposición baja/no expuestos; monitoreo ambiental y biológico: Aire exhalado pre y posexposición	Citometría de flujo para determinar cuenta absoluta de linfocitos y subpoblaciones (linfocitos <i>T</i> , linfocitos Th, células supresoras de células <i>T</i> , células NK y linfocitos <i>B</i>)	Sin diferencias en la cuenta absoluta y diferencia de linfocitos, células NK y de células supresoras de células <i>T</i> entre las categorías de exposición	Tabaquismo, consumo de alcohol, raza, sexo, edad, meses de desempeñar puesto de trabajo, índice de masa corporal

TWA = time weighted average

además de haber la posibilidad de interferencias por reacción cruzada con otros metabolitos.⁵⁸⁻⁶⁰

Discusión

La revisión realizada deja en evidencia el todavía particular y mayor interés por reconocer aisladamente los efectos hematoinmunotóxicos del benceno, en proporción menor los del tolueno, mientras que los del xileno son prácticamente inexistentes, aun cuando desde 1996, el *National Occupational Research Agenda* (NORA) —promovido

por el *National Institute of Occupational Safety and Health* (NIOSH) de Estados Unidos y que está dirigido, entre otros aspectos, a indagar sobre exposiciones múltiples a mezclas de sustancias—, señala puntualmente la necesidad de estudiar la exposición ocupacional a mezcla de benceno, tolueno y xileno, aunque ésta se haya dado de manera secuencial.²³

Una debilidad que complica el estudio de la exposición ocupacional a mezcla de BTX o a sus componentes de manera individual es precisamente la heterogeneidad con que se ha medido, y aunque parecería ser un consenso que

Luis Cuauhtémoc Haro-García et al.
Manifestaciones hematoinmunológicas a benceno, tolueno y xileno

Cuadro II
Caracterización de exposición ocupacional a benceno (C_6H_6)

Autor y año de publicación	Población sujeta a estudio	<i>n</i>	Cuantificación [C_6H_6] (LOD)	Biomarcador (LOD)	Covariables	Resultados principales
Crebelli ⁴⁰ (2001)	Policías de tránsito (intramuros y extramuros)	202	Muestreo personal TWA × jornada de trabajo (0.7 µg/m ³)	En orina: ASFMP (0.5 µg/L), AttM (3 µg/L); C_6H_6 en sangre: (50 µg/L) (6.8 µg/m ³ vs. 3.5 µg/m ³), pero sin diferencias en biomarcadores	Tabaquismo	Los policías de tránsito extramuros están más expuestos a C_6H_6
Chakroun ⁴¹ (2002)	Trabajadores de gasolineras (llenadores de tanques y despachadores de petróleo)	30	Monitoreo personal TLV/TWA × jornada de trabajo × una semana (0.002 ppm)	AttM (0.05 µg/L)	Tabaquismo, consumo de alcohol	Sin diferencias de TLV/TWA de C_6H_6 entre grupos de estudio (0.20 ppm vs. 0.16 ppm); <i>R</i> = 0.76 de [C_6H_6] y AttM corregido por mg/g de creatinina; sin corregir, <i>R</i> = 0.47
Vermeulen ⁴² (2004)	Trabajadores de la industria del calzado (todos los puestos de trabajo en el proceso de producción de dos empresas)	213	Monitoreo personal de vapores orgánicos (OVM) en puesto de trabajo y en el hogar; [C_6H_6] en muestra de insumo (pegamentos) (0.20 ppm)	No considerado	Cantidad (kg/día) de insumo utilizado (pegamento); distancia a la fuente de exposición y ventilación	0.6-34 % del insumo posee C_6H_6 ; rango de C_6H_6 de ambas empresas: 0.45 -24.18 ppm; Empresa A: 21.86 ppm, Empresa B: 3.46 ppm; 78 % de la exposición a fuente de benceno disminuye por uso de ventilación; no se identificaron niveles detectables de C_6H_6 en el hogar

LOD = limit of detection, ASFMP = ácido *S*-fenilmercaptúrico, AttM = ácido trans-transmucónico
TWA = time-weighted average

el *time-weighted average* en jornadas laborales de ocho horas es una forma aceptable para asociarla con efectos hematoinmunotóxicos o de otra índole, ésta no expresa en sí misma el amplio contexto que una evaluación de exposición debe contener, por lo que deben explorarse otras formas de llevarla a cabo y, por añadidura, homogeneizar este aspecto, en el entendido que el efecto biológico a explorar debe ser compartido, como el que parece provocar la exposición a mezcla de benceno, tolueno y xileno.^{21,32,35,40,41,52-54,56}

La contribución de la identificación de biomarcadores, a pesar de su comprobada sensibilidad en cualquiera de los tres componentes (benceno, tolueno y xileno) e independientemente de lo impráctico de su análisis, resulta limitada debido a que evalúa exposición reciente; su uso parece restringirse a ratificar si existió o no biotransformación al momento del estudio en trabajadores crónicamente expuestos a benceno, tolueno y xileno, o bien, a estudios epidemiológicos donde adicionalmente deberá tomarse en cuenta las diferencias interindividuales en la farmacocinética y metabolismo de los diferentes constituyentes de la mezcla y del problema de salud sujeto a estudio.⁶¹⁻⁶³

Finalmente, debe señalarse que la industria maneja y consume grandes volúmenes de benceno, tolueno y xileno, y la magnitud de la población en contacto ocupacional crónico con esta mezcla es considerable y se incrementa cada año,⁶⁴ lo que advierte la necesidad de fortalecer programas eficientes de vigilancia epidemiológica en el trabajo y evaluar la seguridad de exposición crónica a los niveles observados en la industria de un país o región, independientemente que las concentraciones de los componentes de esta mezcla cumplan con la normatividad correspondiente, a fin de promover la prevención de daños irreversibles sobre el sistema hematoinmunológico de los trabajadores.^{22,23,64}

Referencias

1. Kikuchi, Shigeaki A. History of the structural theory of benzene. The aromatic sextet rule and Hückel's rule. J Chem Educ 1997;74(2):194-201.
2. Greenburg L. Benzol poisoning as an industrial hazard. Public Health Rep 1926;41:1357-1375.
3. Ruiz MA, Vassallo J, de Souza CA. Hematologic changes in patients chronically exposed to benzene Rev Saude Publica 1993;27(2):145-151.

4. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for benzene. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; 1993.
5. Baarson KA, Snyder CA. Evidence for the disruption of the bone marrow microenvironment by combined exposures to inhaled benzene and ingested ethanol. Arch Toxicol 1991;65(5):414-420.
6. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Interaction profile for benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes (BTEX). Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; 2004. p. 5, 13, 24, 31, 59.
7. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for toluene. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; 1993.
8. Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for xylene. Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services; 1993.
9. Toxicological Review of Benzene (Noncancer effects) (CAS No. 71-43-2) In: Support of Summary Information on the Integrated Risk Information System (IRIS). Washington, DC: US Environmental Protection Agency; 2002. p. 19-22.
10. Schlosser PM. Needs for research on benzene metabolism and dosimetry J Toxicol Environ Health 2000;61:373-376.
11. Human Health Effects. Benzene. Priority existing chemical assessment. Report No. 21, National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme; 2001. p. 72, 133.
12. Sherwood RJ. Pharmacokinetics of benzene in a human after exposure at about the occupational limit. Ann NY Acad Sci 1988;534:635-647.
13. Kalf GF Recent advances in the metabolism and toxicity of benzene. Crit Rev Toxicol 1987;18:141-159.
14. Snyder R, Chepiga T, Yang CS, Thomas H, Platt K, Oesche F. Benzene metabolism by reconstituted cytochrome b5, microsomal epoxide hydrolase and glutathione transferases: evidence for an important role of microsomal epoxide hydrolase in the formation of hydroquinone. Toxicol Appl Pharmacol 1993;122:172-181.
15. Smith MT, Yager JW, Steinmetz KL, Eastmond DA. Peroxidase-dependant metabolism of benzene's phenolic metabolites and its potential role in benzene toxicity and carcinogenicity Environ Health Persp 1989;82:23-29.
16. Hancock DG, Moffitt AE Jr, Hay EB. Hematological findings among workers exposed to benzene at a coke oven by-product recovery facility. Arch Environ Health 1984;39(6):414-418.

17. Moszczynski P, Lisiewicz J. Hematological indicators of peripheral blood in workers occupationally exposed to benzene, toluene and xylene. *Folia Med Cracov* 1984;25(3-4):405-419.
18. van Raalte HG, Grasso P. Hematological, myelotoxic, clastogenic, carcinogenic, and leukemogenic effects of benzene. *Regul Toxicol Pharmacol* 1982;2(2):153-176.
19. d'Azevedo PA, Tannhauser M, Tannhauser SL, Barros HM. Hematological alterations in rats from xylene and benzene. *Vet Hum Toxicol* 1996;38(5):340-344.
20. van Wijngaarden E, Stewart PA. Critical literature review of determinants and levels of occupational benzene exposure for United States community-based case-control studies. *Appl Occup Environ Hyg* 2003;18(9):678-693.
21. Sherwood RJ, Carter FWG. The measurement of occupational exposure to benzene vapour. *Ann Occup Hyg* 1970;13:125-146.
22. Goldstein BD. Biological and ambient monitoring of benzene in the workplace. *J Occup Med* 1986;28(10):1051-1054.
23. NORA Mixed Exposures Team. Mixed Exposure Research Agenda. US: Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Institute for Occupational Safety and Health; 2004. p. 4.
24. Qu Q, Shore R, Li G, Jin X, Chen LC, Cohen B, et al. Hematological changes among Chinese workers with a broad range of benzene exposures. *Am J Ind Med* 2002;42(4):275-285.
25. Saita G. Hematological damage of occupational origin in industry. *Med Lav* 1978;(3 Suppl):350-355.
26. Khristeva V, Mikhailova A, Kasurov M, Popov T. The hematological and biochemical changes in workers exposed to benzol. *Probl Khig* 1992;17:130-137.
27. Khristeva M, Traikova E. Deviations in the hematological indices of women exposed to aromatic hydrocarbons. *Probl Khig* 1997;22:86-91.
28. Garavini C, Seren P. Hematologic and hemopoietic alterations following experimental benzene exposure in newts (*Triturus cristatus*). *Biochem Exp Biol* 1978;14(3):247-255.
29. Tsai SP. A hematology surveillance study of petrochemical workers exposed to benzene. *Regul Toxicol Pharmacol* 2004;40(1):67-73.
30. Wiwanitkit V, Suwansakri J, Soogarun S. The urine trans, trans muconic acid biomarker and platelet count in a sample of subjects with benzene exposure. *Clin Appl Thromb Hemost* 2004;10(1):73-76.
31. Kyvik KR, Brattebo G, Tysnes OB, Oyen N, Sandberg S, Riise T, et al. Activation of blood platelets in workers exposed to organic solvents. *J Occup Med* 1992;34(7):687-692.
32. Collins JJ, Ireland BK, Easterday PA, Nair RS, Braun J. Evaluation of lymphopenia among workers with low-level benzene exposure and the utility of routine data collection. *J Occup Environ Med* 1997;39(3):232-237.
33. Tanigawa T, Araki S, Nakata A, Yokoyama K. Decreases of natural killer cells and T-lymphocyte subpopulations and increase of B lymphocytes following a 5-day occupational exposure to mixed organic solvents. *Arch Environ Health* 2001;56(51):443-448.
34. Bogadi-Sare A, Zavalic M, Trosic I, Turk R, Kontosic I, Jelcic I. Study of some immunological parameters in workers occupationally exposed to benzene. *Int Arch Occup Environ Health* 2000;73(6):397-400.
35. Hotz P, Carbonnelle P, Scheiff JM, Tschopp A, Lauwerys R. Interleukin 1 alpha hematological examination in mechanics exposed to low benzene concentrations. *Int Arch Occup Environ Health* 1998;71(1):19-28.
36. The immune system in health and disease. Host defense against infection. En: Janeway CA, Travers P, Walport M, Capra JD, editors. *Immunobiology: The immune system in health and disease*. Fourth edition. US: Current Biology Publications; 1999. p. 378-380.
37. Bases de la Inmunología: I. Inmunidad Innata. En: Riott IM, editor. *Inmunología. Fundamentos*. Séptima edición. México: Panamericana; 1991. p. 13-26.
38. Uthaisangsook S, Noorbibi K, Bahna SL, Good RA, Haraguchi S. Innate immunity and its role against infections. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2002;88:253-265.
39. Rhodes AG, LeMasters GK, Lockey JE, Smith JW, Yiin JH, Egeghy P, Gibson R. The effects of jet fuel on immune cells of fuel system maintenance workers. *J Occup Environ Med* 2003;45(1):79-86.
40. Crebelli R. Exposure to benzene in urban workers: environmental and biological monitoring of traffic police in Rome. *Occup Environ Med* 2001;58(3):165-171.
41. Chakroun R, Kaabachi N, Hedhili A, Feki M, Nouaigui H, Ben Laiba M, Mebazaa A. Benzene exposure monitoring of Tunisian workers. *J Occup Environ Med* 2002;44(12):1173-1178.
42. Vermeulen R, Li G, Lan Q, Dosemeci M, Rappaport SM, Bohong X, et al. Detailed exposure as-

- assessment for a molecular epidemiology study of benzene in two shoe factories in China. *Ann Occup Hyg* 2004;48(2):105-116.
43. Guidelines for exposure assessment. Risk Assessment Forum. Washington DC: US Environmental Protection Agency; 1992. p. 12,13.
44. Glass DC, Adams GG, Manuell RW, Bisby JA. Retrospective exposure assessment for benzene in the Australian petroleum industry. *Ann Occup Hyg* 2000;44(4):301-320.
45. Lewis SJ, Bell GM, Cordingley N, Pearlman ED, Rushton L. Retrospective estimation of exposure to benzene in a leukemia case-control study of petroleum marketing and distribution workers in the United Kingdom. *Occup Environ Med* 1997; 54:167-175.
46. Smith TJ. Los conceptos de dosis en la evaluación de la exposición ocupacional. *Salud Trabaj* 1999;7 (1):1-9.
47. Environmental Protection Agency. Estimating exposures and risks for dioxin and related compounds. Washington DC: National Center for Environmental Assessment Office of Research and Development; 2000. p. 2.2-2.3.
48. Environmental Protection Agency. Exposure Factors Handbook. Vol I. General factors. US: EPA; 1997. p. 5.
49. Daugherty J. Assessment of chemical exposures. Calculation methods for environmental professionals. US: Lewis Publishers; 1998. p. 19-31.
50. Thrall KD, Kenny DV. Technologies for measuring recent exposures: volatile chemicals and the E2R monitor. En: Mendelsohn ML, Mohr LC, Peeters JP, editors. Biomarkers medical and workplace applications. Washington, DC: Joseph Henry Press; 1998. p. 87-95.
51. Needham LL, Bond J, Tannenbaum S. Exposure biomarkers. En: Congress of The United States. Screening and testing chemicals in commerce. US: Office the Technology Assessment; 1994. p. 85-95.
52. Waidyanatha S. Urinary benzene as a biomarker of exposure among occupationally exposed and unexposed subjects. *Carcinogenesis* 2001;22(2): 279-286.
53. Rothman N. Urinary excretion of phenol, catechol, hydroquinone, and muconic acid by workers occupationally exposed to benzene. *Occup Environ Med* 1998;55:705-711.
54. Inoue O, Kanno E, Kakizaki M, Watanabe T, Higashikawa, Ikeda M. Urinary phenylmercapturic acid as a marker of occupational exposure to benzene. *Ind Health* 2000;38(2):195-204.
55. Wiwanitkit V, Suwansaksri JJ, Nasuan P. Urine Trans-trans-muconic acid as a biomarker for benzene exposure in gas station attendants in Bangkok, Thailand. *Ann Clin Lab Sci* 2001; 31(4): 399-401.
56. Jacobson JA, McLean S. Biological monitoring of low level occupational xylene exposure and the role of recent exposure. *Ann Occup Hyg* 2003;47(4): 331-336.
57. Schäper M, Demes P, Zupanic M, Blaszkewicz M, Seeber A. Occupational toluene exposure and auditory function: results from a follow-up study. *Ann Occup Hyg* 2003;47(6):493-502.
58. Qingshau Q. Validation of biomarkers in humans exposed to benzene: Urine metabolites. *Am J Ind Med* 2000;37:522-531.
59. Dor F, Dab W, Empereur-Bissonnet P, Zmirou D. Validity of biomarkers in environmental health studies: the case of PAHs and Benzene. *Crit Rev Toxicol* 1999;29(2):129-168.
60. Aston JP, Ball RL, Pople JE, Jones K, Cocker J. Development and validation of a competitive immunoassay for urinary S-phenylmercapturic acid and its application in benzene biological monitoring. *Biomarkers* 2002;7(2):103-112.
61. Bogadi-Sare A, Zavalic M, Turk R. Utility of a routine medical surveillance program with benzene exposed workers. *Am J Ind Med* 2003;44(5):467-473.
62. Hulka SB, Wilcosky T. Biological markers in epidemiologic research. *Arch Environ Health* 1988;43(2):83-89.
63. Hulka SB, Margolin HB. Methodological issues in epidemiologic studies using biological markers. *Am J Epidemiol* 1992;135:200-209.
64. Secretaría de Salud. Norma oficial mexicana NOM-047-SSA1-1993, que establece los límites biológicos máximos permisibles de disolventes orgánicos en el personal ocupacionalmente expuesto. México: Diario Oficial de la Federación 23 de septiembre de 1996. **tm**