



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIA DE LA SALUD
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO PROFESIONAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



**EVALUACIÓN DE LA EXPOSICION OCUPACIONAL A
PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS EN
UNA COMUNIDAD AGRARIA DEL ESTADO CARABOBO:
ACTIVIDAD DE LA COLINESTERASA SERICA Y LA
ISOFORMA CYP3A4**

Autores
Luisana Graterol
Emely Herrera
Fernando Herrera
Tutora
Prof. Soraya González
Co-tutor
Prof. Sharim Marrero
Asesor(a)
Prof. Aura Palencia

Naguanagua, 2013

AVAL DEL TUTOR

Dando cumplimiento a lo establecido en el Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, en su artículo 133, quien suscribe, Profesora Soraya González, titular de la Cédula de Identidad N° V- 7.150.210, en mi carácter de Tutora del trabajo de Maestría titulado: **EVALUACIÓN DE LA EXPOSICION OCUPACIONAL A PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS EN UNA COMUNIDAD AGRARIA DEL ESTADO CARABOBO ACTIVIDAD DE LA COLINESTERASA SERICA Y LA ISOFORMA CYP3A4**. El mismo fue realizado por los bachilleres: Luisana Graterol, Emely Herrera y Fernando Herrera, hago constar que dicho trabajo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la presentación pública y evaluación por parte del Jurado examinador que se le designe.

En Naguanagua a los quince días del mes de diciembre del año dos mil trece.



Prof. Soraya Gonzalez

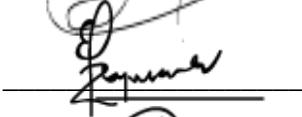
C.I. 7.150.210

Tutora

UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIA DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN Y
DESARROLLO PROFESIONAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

VEREDICTO

Nosotros, miembros del jurado designado para la revisión y aprobación del trabajo de grado titulado: **EVALUACIÓN DE LA EXPOSICION OCUPACIONAL A PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS EN UNA COMUNIDAD AGRARIA DEL ESTADO CARABOBO ACTIVIDAD DE LA COLINESTERASA SERICA Y LA ISOFORMA CYP3A4**, presentado por los bachilleres: Luisana Graterol, Emely Herrera y Fernando Herrera, para optar al grado de Licenciado en Bioanálisis, reunidos el día viernes 6 de diciembre de 2013, a las 8:00 a.m., en el Salón de Toxicología de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Escuela de Bioanálisis, previo estudio y análisis del trabajo en referencia, declaramos que cumple con los requisitos exigidos por el reglamento de trabajo de grado de la Escuela de Bioanálisis, nos permitimos aprobar el trabajo para los efectos que ha sido presentado

Nombres y Apellidos	Cédula de Identidad	Firma
Soraya Gonzalez	7.150.210	
Eogracia Guzman	4.862.329	
Maria Elena Cruces	12.931.349	

INDICE

	Pág.
CAPITULO I EL PROBLEMA	
1.1. Planteamiento del Problema	2
1.2 Objetivos	9
1.2.1 Objetivo General	9
1.2.2 Objetivos Específicos	9
1.4 Justificación	11
CAPITULO II FUNDAMENTOS TEORICOS	
2.1 Antecedentes	14
2.2 Bases Teóricas	20
2.3 Definición de Términos y Variables	48
CAPITULO III MARCO METODOLOGICO	
3.1 Nivel de Investigación	51
3.2 Tipo de Investigación	51
3.3 Diseño de la Investigación	51
3.4 Población y Muestra	51
3.5 Técnicas de Análisis Estadístico	62
CAPITULO IV RESULTADOS Y DISCUSION	
4.1 Resultados	64
4.2 Discusión.....	74
CAPITULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1 Conclusiones	86
5.2 Recomendaciones.....	89
BIBLIOGRAFÍA	90
ANEXOS	95

INDICE DE TABLAS

TABLA N°	Pág.
1. Clasificación de insecticidas según la especie a combatir.....	21
2. Clasificación de pesticidas según su peligrosidad. Organización Mundial de la Salud.....	23
3. Clasificación según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA).....	24
4. Criterios para determinación del grado y tipo de intoxicación.....	32
5. Definición de términos y variables.....	48
6. Estadística descriptiva de la muestra en estudio.....	64
7. Nivel de Instrucción de Trabajadores de la muestra en estudio.....	65
8. Actividad de la Colinesterasa y la Isoforma CYP3A4 en la muestra en estudio.....	66
9. Actividades agrícolas de la muestra en estudio.....	67
10. Parámetros hematimétricos y bioquímicos de la muestra en estudio...	70

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	Pág.
1. Curva de calibrado para la determinación de concentración de isoforma CYP3A4	61
2. Relación entre actividad de la isoforma CYP3A4 y la variable antigüedad	71
3. Relación entre las variables Niveles de Colinesterasa y de la Isoforma CYP3A4	72



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIÓN
Y DESARROLLO PROFESIONAL
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



**EVALUACIÓN DE LA EXPOSICION OCUPACIONAL A
PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS EN
UNA COMUNIDAD AGRARIA DEL ESTADO CARABOBO:
ACTIVIDAD DE LA COLINESTERASA SERICA Y LA
ISOFORMA CYP3A4**

AUTORES: Luisana Graterol
Emely Herrera
Fernando Herrera
TUTORA: Soraya González
Año: 2013

RESUMEN

En este estudio se planteo evaluar la exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos de uso agrícola, a través de la determinación de la actividad de la colinesterasa y la isoforma CYP3A4, en Guigue Edo. Carabobo. La muestra estuvo constituida por 21 trabajadores del sexo masculino expuestos con un promedio 52,9+/-13,99 años de edad y una antigüedad de 20+/-12,58 años, de 3 caseríos agrícolas, a los cuales se le aplico una entrevista y se les determino adicionalmente los parámetros bioquímicos y hematológicos; el grupo no expuesto estuvo conformado por 16 individuos con una edad promedio de 31,5+/-7,33 años, dedicados a actividades de índole administrativas. Se calcularon medidas de tendencia central, prueba de Kolmogorov-Smirnov, Coeficiente de correlación de Pearson, prueba exacta de Fisher y la t student. Los plaguicidas de mayor uso fueron 100% organofosforados y carbamatos. En el grupo expuesto 19,04% de los individuos son analfabetas y 81,95% culmino educación primaria. El grupo expuesto demostro escasos conocimientos sobre los efectos de los plaguicidas, no acatan medidas de higiene y seguridad en el empleo de los mismos, el 47,6% almacena los plaguicidas en el hogar y el 100% emplean el tanque de espalda. El síntoma temblor muscular fue estadísticamente significativo $p < 0,05$. El 90,38% de los expuestos carga y aplica plaguicidas. El 100% entierra o abandona los envases. Asociación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) para el biomarcador de efecto en estudio. La actividad de la isoforma CYP3A4 fue baja, no dependiente de la antigüedad laboral. El proceso de balance entre activación/destoxificación para metabolizar los xenobióticos dependen de la susceptibilidad de los individuos expuestos.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del Problema

Los plaguicidas son sustancias o mezclas de sustancias destinadas a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores de enfermedades humanas y de animales, así como las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal. La producción de estas sustancias surge a partir de la Segunda Guerra Mundial, donde los países industrializados inician la fabricación de plaguicidas con carácter comercial con el fin de aumentar la producción agrícola (Vaquerano, 2002).

Los plaguicidas incluyen una amplia variedad de productos dentro de los que se pueden mencionar insecticidas, herbicidas, nematocidas, fungicidas, reguladores del crecimiento de plantas e insectos, fumigantes y repelentes (Schosinsky y Quintana, 2004). Uno de los primeros y más común fue el DDT (p,p'-diclorodifenil tricloroetano), para combatir las plagas en la agricultura y los mosquitos transmisores de malaria (Vaquerano, 2002).

Los plaguicidas poseen efectos no deseados ampliamente conocidos, que incluyen daños a diversos organismos y contaminación ambiental por su persistencia. No se dispone de un plaguicida completamente seguro, además la mayor parte de las

preparaciones de plaguicidas incluyen sustancias aditivas, muchas de ellas solventes, que favorecen la absorción del mismo. Sin embargo, hay plaguicidas que pueden usarse con seguridad y que presentan un nivel de riesgo bajo para la salud de seres humanos, cuando se aplica con la atención apropiada. El inconveniente se presenta porque durante años se ha promovido la venta de plaguicidas sin informar adecuadamente el riesgo inherente a su uso, además, algunos de ellos son considerados Compuestos Orgánicos Persistentes (COPS), es por ello que en el Convenio de Estocolmo, los plaguicidas que hasta el momento aparecen como prohibidos son aldrín, dieldrín, endrín, clordano, DDT, heptacloro, mirex y toxafeno (Ministry of Health Belize, 2000).

Se ha afirmado que ningún otro grupo de productos conocidos por su toxicidad es utilizado tan ampliamente como los plaguicidas, los cuales se usan de forma indiscriminada, y cuya utilización regular ha traído consigo varios efectos secundarios indeseables, que impactan al final en la salud pública (Ministry of Health Belize, 2000); por otra parte cabe destacar, que la exposición mantenida a bajas dosis de plaguicidas se ha relacionado con una variedad de trastornos a medio y largo plazo, incluyendo diferentes tipos de cáncer, alteraciones de la reproducción y del sistema nervioso, entre otros problemas.

El consumo mundial de plaguicidas está en aumento y esta curva ascendente amenaza con no parar. En efecto, se espera una duplicación de las ventas para los

próximos diez años. Este crecimiento tiene su correlato económico. En el año 1970 la comercialización en el ámbito mundial de agroquímicos alcanzó la cifra de US\$ 2700 millones, en 1985 llegó a 15.900 millones, en 1996 ascendió a 30.560 millones de dólares, y se estima que continúa el incremento del mercado. América Latina tuvo, justamente en 1996 el mayor incremento de ventas, lo que representa el 11.9 por ciento del total mundial (Organización Internacional del Trabajo, 1999).

El crecimiento en el consumo de plaguicidas, conforme a lo aseverado por la Organización Mundial de la Salud (OMS) tiene su consecuencia en la salud humana, de esta forma se estima que el número de intoxicaciones no intencionales en 1972 era de medio millón, pasando a un millón en 1985 y a tres millones para 1990. De estas últimas, 20.000 serían intoxicaciones mortales. El sub-registro de estas intoxicaciones y, en general, la ausencia de buenos sistemas de vigilancia epidemiológica, hace que estos datos sean infravalorados y no reflejen la magnitud del problema. A propósito de esto, debe conocerse que hay estudios que muestran que la dimensión de las intoxicaciones es de alrededor de 25 millones de casos cada año en los países en vías de desarrollo, ya que en los sistemas de vigilancia epidemiológica se demuestra que el tres por ciento de los trabajadores agrícolas tiene un episodio de intoxicación y que la población de agricultores es de alrededor de 830 millones (OMS/PNUMA, 1990).

En México, se emplea el sesenta por ciento de los veintidós plaguicidas perjudiciales para la salud y el medio ambiente, de ellos, el cuarenta y dos por ciento

se fabrica en este país (Meneses, 2001). En Costa Rica, ya se han reportado problemas serios tanto en los humanos como en animales por el uso indiscriminado de estos productos. Lo lamentable es que ha existido poca información ante los usuarios para prevenir los problemas de salud que causan, si se manejan inadecuadamente (Vaquerano, 2002).

García (2002), señala que el uso irracional de los plaguicidas, el bajo nivel de educación sobre sus riesgos y efectos sobre la salud, las condiciones climáticas desfavorables para el uso de los medios de protección existente o medios de protección inadecuados para las características de la población nacional, la tradición en el uso de agroquímicos como el principal medio de incrementar la producción y el desarrollo incipiente de una legislación y reglamentación han hecho que Nicaragua tenga una de las tasas más altas de intoxicaciones agudas en el mundo (García, 2002).

En Bolivia, durante los últimos cincuenta años, la lucha contra las plagas se ha basado en gran medida en el uso intensivo de plaguicidas de reconocida toxicidad, hecho que se refleja en la sobredosis y sobre aplicación de los mismos en diversos cultivos agrícolas, como es el caso de los cultivos de flores donde el manejo de estos tóxicos se realiza sin ningún tipo de precaución y control (Uría, 2004).

Venezuela, por sus características tropicales y con producción agrícola durante todo el año, tiene elevado uso de plaguicidas, destacan poblaciones como

Calabozo en el Estado Guárico, zona donde se ha venido utilizando los plaguicidas organoclorados y organofosforados de una manera indiscriminada por más de 40 años. Quíbor en el Estado Lara y La Colonia Tovar en el Edo. Aragua, son zonas donde es resaltante indicar el alto registro de neonatos con malformaciones congénitas (Rojas y col, 1996).

Conviene también comentar que en los Valles de Quíbor Estado Lara, Ludewig (1999), estudió la prevalencia de intoxicaciones crónicas por insecticidas inhibidores de la colinesterasa, así como la presencia de diferentes plaguicidas organoclorados en el suero de los habitantes de esta zona. Dicho informe reveló que 6,38 por ciento de la población presenta intoxicación crónica por plaguicidas inhibidores de la colinesterasa organofosforados y carbamatos. De esto se concluye, que la población del Valle de Quíbor tiene un problema de exposición ambiental actual y acumulativa a estos productos, cuyo uso está prohibido en muchos países y restringido en Venezuela por los daños que ocasionan en la salud y el ambiente. Los aspectos que pudiesen explicar estos hallazgos, según los autores, es el incumplimiento de las normas de higiene y seguridad para el manejo de plaguicidas, lo cual se pudo determinar en dicha investigación, al igual que la falta de información básica en la población sobre las medidas de protección personal y del ambiente que se deben respetar (Ludewig 1999). Cabe destacar que las causas más comunes de intoxicación por plaguicidas en dicho Estado, según estadísticas recientes son los plaguicidas organofosforados y carbamatos (60%), herbicida Paracuat (16,5%) y

plaguicidas organoclorados (8,5%) (García, 2006).

Por lo antes descrito se llevan a cabo estudios de biomonitorización, que intentan establecer la relación entre factores ambientales y enfermedad, detectando alteraciones iniciales en fases todavía no malignas. Algunos estudios de biomonitorización de efecto se llevan a cabo a través de la medición de la actividad de la colinesterasa, sobre todo cuando la exposición ha sido a plaguicidas de tipo organofosforados o carbamatos cuya actividad no está relacionada con efectos tóxicos sino a la presencia del tóxico en el organismo, y es útil para revelar cambios bioquímicos tempranos que ocurren sobre todo en el Sistema Nervioso, antes que sea de significación clínica (Ding y Kaminsky, 2003).

Es oportuno también determinar la actividad de la citocromo P-450 que es el principal responsable del metabolismo oxidativo de los xenobióticos, específicamente la correspondiente a la subfamilia con interés fármaco-toxicológico CYP3A4, que incluye enzimas inducibles por hidrocarburos aromáticos (plaguicidas, herbicidas, solventes), que participan en la fase I del metabolismo de xenobióticos (Sungur, 2001). Estos últimos se incluyen dentro de los llamados biomarcadores de susceptibilidad, los cuales se basan en identificar aquellas diferencias interindividuales que hacen que un individuo sea más susceptible o responda de manera diferente, con un mayor riesgo para su salud, frente a diferentes exposiciones ambientales.

En este estudio se plantea evaluar la exposición a plaguicidas en una población que lleva a cabo una actividad ocupacional, la ejecución de una gran variedad de tareas, tales como operar maquinaria agrícola, preparar mezclas de plaguicidas, aplicarlas, reparar equipos de fumigación entre otras actividades, a través de un protocolo que incluye la determinación de los niveles de actividad de colinesterasa sérica y de la isoforma CYP3A4.

En consideración a lo anteriormente planteado, se exponen las siguientes interrogantes que sólo encontrarán respuestas en el desarrollo de la presente investigación:

¿Qué tipo de plaguicidas se emplean en la comunidad agraria a estudiar?

¿Qué resultados se obtendrán de la comparación de los niveles de actividad de colinesterasa y la citocromo P-450 (subfamilia CYP3A4) en el grupo expuesto y no expuesto ocupacionalmente?

¿Presenta la población signos y síntomas relacionados con la exposición a plaguicidas?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo General:

Evaluar la exposición ocupacional a plaguicidas organofosforados y carbamatos de uso agrícola, a través de la determinación de la actividad de la colinesterasa y la CYP3A4, en la Parroquia Guigue Municipio Carlos Arvelo Eje Sanitario “Sur del Lago” Edo. Carabobo.

1.2.2 Objetivos Específicos:

- Caracterizar a la población en estudio según datos personales y laborales: edad, antigüedad laboral, actividades relacionadas con el área laboral, tipo de fumigación, tipo de cultivos, hábitos psicosociales, antecedentes patológicos personales y familiares, exposición a pesticidas, signos y síntomas relacionados con la exposición, uso de equipos de protección personal, almacenamiento y disposición final de los desechos.
- Determinar los niveles de actividad de la Colinesterasa y de la Citocromo P-450 (subfamilia CYP3A4) en expuestos y no expuestos ocupacionalmente.

- Relacionar los niveles de actividad de Colinesterasa y de la Isoforma CYP3A4 con las características personales y laborales: edad, antigüedad, tipo de fumigación, hábitos psicosociales, presencia de signos y síntomas y uso de equipos de protección.
- Determinar parámetros hematimétricos y bioquímicos tales como: hematología completa, Creatinina, urea, Transaminasa Glutámico Oxaloacética (TGO) y Transaminasa Glutámico Piruvica (TGP) en expuestos y no expuestos ocupacionalmente.
- Relacionar los niveles de actividad de Colinesterasa y de la Isoforma CYP3A4 con parámetros hematimétricos y bioquímicos: hematología completa, Creatinina, urea, TGO y TGP.

1.3 Justificación

En las últimas décadas el uso de agroquímicos ha provocado un deterioro alarmante de la salud de los individuos y el medio ambiente; esto ha motivado que organismos internacionales y algunos gobiernos presten una mayor atención a esta problemática. El uso indiscriminado de una gran variedad de agroquímicos, ha permitido su persistencia y su diseminación causando serios problemas a los diversos ecosistemas, por lo que se hace necesario tomar medidas preventivas para reducir su efecto. Es relevante considerar que la existencia de miles de formulaciones químicas, ha provocado que las Naciones Unidas a través de sus programas a nivel regional y mundial, logre controlar en parte los riesgos de su comercialización, uso, manejo y disposición final de los desechos tóxicos y productos químicos utilizados en la agricultura (Meneses, 2001).

Para el estudio planteado, resulta relevante indicar que la capacidad individual para metabolizar xenobióticos puede ser alterada, diversos estudios indican una gran variación en la expresión del citocromo P450 (sistemas enzimáticos con funciones detoxificantes) involucrada en el metabolismo de plaguicidas, lo que incide en una susceptibilidad diferencial a la intoxicación con estos compuestos. La posibilidad de identificar con técnicas analíticas los marcadores de susceptibilidad genética relacionados con alteraciones en la salud (citocromo P450 subfamilia CYP3A4) ante la exposición a plaguicidas, es de gran importancia para predecir el

riesgo y poder intervenir para eliminar, disminuir o retrasar el posible daño. Cabe destacar que la determinación de la isoforma CYP3A4 en suero de humanos, es una obra inédita, ya que hasta los momentos en los trabajos publicados se ha evaluado la determinación de dicha enzima en líneas celulares y animales experimentación.

En el estudio también se plantea dar a conocer los plaguicidas comúnmente utilizados, control en el uso, manejo y disposición final de estos productos, en las comunidades agrícolas de la Parroquia Guigue del Eje Sanitario “Sur del Lago”.

Adicionalmente, es importante acotar que posterior a visita en la zona ha evaluar se pudo constatar la existencia de registros deficientes sobre intoxicaciones agudas y crónicas por plaguicidas en el Hospital “Dr. Carlos Sanda” de Guigue en el Estado Carabobo, razón por la cual en el presente estudio se hace necesario conocer el estado de salud de la población ocupacionalmente expuesta; para ello, se llevara a cabo la evaluación de un biomarcador de efecto como lo es la colinesterasa, en los casos de exposición a organofosforados y carbamatos, entre otras pruebas de valoración de funcionalismo renal y hepático, además de la medición de la expresión de la referida isoenzima CYP3A4.

CAPÍTULO II

FUNDAMENTOS TEORICOS

2.1 Antecedentes

En el 2002, García y colaboradores, plantearon el diseño de una estrategia para la promoción con relación a las prácticas de utilización de plaguicidas en 89 trabajadores con edades entre 16 y 46 años. La mayoría de los entrevistados tenían niveles de estudios primarios o inferior, un 65% de los trabajadores no utilizaban ningún tipo de protección personal o la utilizaba incorrectamente, no se apreciaron diferencias en cuanto a la utilización de protección según la edad, ingresos familiares o nivel de estudios, sin embargo una gran mayoría de trabajadores (90%) declaró conocer los riesgos para la salud de los plaguicidas. Cabe destacar que el 61% uso equipos de aplicación manual y las fumigaciones se aplicaron durante todo el año en un 45% de los casos estudiados (García y col., 2002)

En el mismo año Milla y Palomino determinaron actividad de la colinesterasa a 109 agricultores que trabajan con pesticidas inhibidores de la colinesterasa, cuantificada por la técnica de Ellman modificada mediante espectrofotometría de luz ultravioleta. El valor promedio de la actividad de la colinesterasa fue de 1827,18 mU/ml +/- 269,99 (valor máximo: 2540,09 mU/ml; valor mínimo: 1294,54 mU/ml), encontrándose que el 55,05% de los agricultores que trabajan con los pesticidas presentaron valores por debajo de los niveles normales de actividad de la colinesterasa sérica (Milla y col., 2002)

Palacios-Nava y Moreno-Tetlacuilo (2004), llevaron a cabo un estudio para evidenciar diferencias en la salud de jornaleras y jornaleros agrícolas migrantes en Sinaloa Mexico, encontrando el promedio del nivel de colinesterasa dentro de límites de normalidad (4,22 U/ml +/- 0,77). Similares estudios fueron llevados a cabo en Mexico por Rendon y colaboradores (2004), quienes estudiaron los efectos de la exposición a pesticidas en la actividad de la acetilcolinesterasa, encontrando que los carbamatos y organofosforados están asociados con síntomas relacionados con disminución de la actividad de la enzima (Palacios-Nava y Moreno-Testlacuilo, 2004; Rendon y col., 2004)

Safi y col. (2005), evaluaron los niveles de colinesteasa en suero y síntomas entre 48 trabajadores que usaron principalmente plaguicidas orfanofosforados en la Franja de Gaza. Se evaluaron los niveles de acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa al principio y final de cada día de trabajo. Como grupo control tomaron a 20 empleados administrativos. Ciertos síntomas, como picadura, irritación de la piel y una sensación ardiente en ojos o cara fueron referidos por los trabajadores. El estudio confirmó que con la exposición a plaguicidas organofosforados pueden ocurrir reducciones triviales de la colinesterasa, además de disminución de índices hematimétricos y leucocitos en algunos casos (Safi y col., 2005).

Con el objetivo de caracterizar la exposición a plaguicidas y los efectos a la salud en 432 trabajadores agrícolas de Siquisique, se realizo una investigación descriptiva transversal. Los resultados fueron: trabajadores de sexo masculino en edades entre 16 y 55 años, expuesto a plaguicidas desde hace más de 10 años que

saben leer y escribir. En cuanto al uso y manejo de plaguicidas: 91,5% no se baña ni cambia la ropa en el lugar de trabajo, 50% no utiliza equipos de protección completos; la mayor parte de los trabajadores almacena los plaguicidas adecuadamente, utiliza tanque de espalda, prepara productos en la parcela e incinera los envases después de usarlos. Entre los efectos de salud más frecuentes: 65,9% refirió cefalea, afecciones oculares y dermatitis. La actividad de la colinesterasa sérica estuvo disminuida en el 10,8% de los casos estudiados (García, 2006).

Howard y col, (2007), realizaron un estudio en el cual indican que compararon los efectos de los insecticidas Organofosforados comunes, como clorpirifos (CPF) en función a los signos de toxicidad cardiaca, la colinesterasa (ChE) y la actividad del receptor muscarínico vinculante en ratas adultas y neonatos. Los resultados sugirieron que la actividad de ChE (principalmente BChE) en el corazón del neonato puede ser intrínsecamente más sensible a la inhibición por parte de algunos anticolinesterásicos y que son toxicológicamente significativos en la unión a los receptores muscarínicos, por lo cual puede ser posible la aparición de una intoxicación aguda por CPF (Howard y col., 2007).

En el mismo año, en el sur de Australia, Edwards y col., (2007), realizaron un estudio donde se evaluó la exposición a plaguicidas luego de la aplicación por parte de personas debidamente capacitadas, utilizando, ropa, botas, guantes, y un respirador adecuado. En cuanto al malation se encontró que tiene bajo potencial para ser absorbido a través del aire, sin embargo, los trabajadores presentaron un máximo de $0,315 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ de malati6n depositado en los antebrazos y más de 500 μg

depositado en los guantes y sombreros, respectivamente. En cuanto al fenitión los valores encontrados oscilaron entre 0,02 y 0,23 mg/cm³ en el aire, siendo poco probable el riesgo significativo para los residentes, ya que las exposiciones fueron de corta duración, (20 min). La concentración de este producto en los antebrazos de los trabajadores oscilo entre un 0,06 a más de 0,20 µg/cm², aunque poco se encontró en los guantes y sombreros, lo que sugiere que los trabajadores estaban capacitados para evitar la intoxicación por dichos compuestos. Es de importancia destacar que no hubo cambios observados en las actividades de la colinesterasa sérica (SCHE). Estos datos sugieren que la absorción de los insecticidas organofosforados por parte de los trabajadores es insignificante (Edwards y col., 2007).

Buratti y Testai (2007), estudiaron al Dimethoate (DIM) el cual es un organofosforado (OPT), pesticida usado por todo el mundo como un insecticida sistémico y acaricida; de modo similar a otros organofosforados, su modo de acción es por la inhibición de la acetilcolinesterasa (AChE), ejercido por sus metabolitos tóxicos dimethoate-oxon u omethoate (OME), que también son usados como pesticidas de acción directa. La bioactivación del (DIM) en el hígado humano a un metabolito tóxico OME ha sido caracterizado usando la actividad de los citocromos (CYPs) en microsomas del hígado humano (HLM) en la presencia de inhibidores químicos del CYP-específicos. Los resultados mostraron que, de modo similar al otro OPTs probados hasta ahora, a bajas concentraciones de DIM, la formación de OME es catalizada por CYP1A2, mientras que el papel de 3A4 es relevante en altos niveles DIM (Buratti y

Testai, 2007).

Contrario a esta afirmación, con otros OPTs, la reacción desulfuración del DIM mostró un perfil atípico cinético, probablemente debido a la autoactivación CYP3A4. La actividad aumentó en CYP3A4 en HLM y desapareció en presencia de un inhibidor químico de CYP3A4. Este comportamiento atípico cinético puede ser considerado una de las explicaciones posibles para pacientes hospitalizados intoxicados por OPTAs, la ingestión de DIM dio síntomas diferentes y envenenamiento más severo (23.1 % de casos fatales) que chlorpyrifos (8 % de muertes), que tiene un valor de LD50 inferior. Ya que los pacientes envenenados con DIM respondieron mal a pralidoxime, la posibilidad de usar inhibidores CYP3A4 podría ser considerada como un tratamiento complementario (Buratti y Testai, 2007).

En el 2008 Amaya y colaboradores, valoraron los factores de riesgo asociados a los hábitos de manejo y exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos mediante un cuestionario estructurado y midieron la actividad colinesterásica en trabajadores de la vereda de Bateas del Municipio Tibacuy, Cundinamarca, Colombia, y encontraron que los factores de riesgos relacionados más sobresalientes fueron el uso inadecuado de elementos de protección personal y la falta de evacuación previa a la fumigación. El 100% de la población participante en el estudio tuvo niveles bajos de actividad de colinesterasa (Amaya y col., 2008).

Muller y col., (2009) estudiaron una población de 290 agricultores que utilizaba en promedio 12 tipos diferentes de plaguicidas principalmente

glifosato y organofosforados. Emplean tractores para la aplicación de plaguicidas. Los trabajadores informaron de intoxicaciones por plaguicidas en los 12 meses anteriores a la encuesta y el 19% en algún momento de su vida. Entre los que habían usado organofosforados en los diez días previos al examen, el 2,9% de la población estudiada presentaron síntomas relacionados a la exposición a plaguicidas, así como una reducción del 20% de la colinesterasa (Muller y col., 2009).

Zamora y col., (2009) demostraron la asociación entre inhibición de la actividad colinesterásicas y la exposición a plaguicidas en 25 productores hortícolas de la población del asentamiento campesino Santa Teresa del Estado Falcón, Venezuela. Los resultados obtenidos evidenciaron la existencia de diferencia significativa entre los grupos evaluados, siendo el más afectado el grupo etario mayor de 40 años, sin embargo no se encontró diferencia significativa en función de la actividad agrícola que desempeñan (Zamora y col., 2009).

2.2 Bases Teóricas

Según la OMS, un pesticida o plaguicida es cualquier sustancia o mezclas de sustancias, de carácter orgánico o inorgánico, que está destinada a combatir insectos, ácaros, roedores y otras especies indeseables de plantas y animales que son perjudiciales para el hombre o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, producción de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, también aquellos que pueden administrarse a los animales para combatir insectos arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos (Tabla 1) (Bissetl, 2002).

Tabla 1. Clasificación de plaguicidas según la especie a combatir (Bissetl, 2002)

INSECTICIDAS	MINERALES	Compuestos arsenicales Compuestos fluorados Azufre Derivados del selenio
	ORGANICOS DE SÍNTESIS	Organofosforados Organoclorados Carbamatos
	A BASE DE ACEITES MINERALES	Aceites antracénicos Aceites de petróleo
	DE ORIGEN VEGETAL	Nicotina Piretrina Rotenona
HERBICIDAS	MINERALES	Sales de NH_4^+ , Ca^{++} , Cu^{++} , Fe^{+++} , Mg^{++} , K^+ , Na^+ , en forma de sulfatos, nitratos, cloruros, cloratos.
	ORGANICOS	Fitohormonas Derivados de la úrea Triazinas y Diazinas Derivados de los fenil sustituidos y las quinoxalinas Derivados de la oxiquinoleína Derivados de las tiadizinas y tiadiazoles
	OTROS	Parquat Diquat Piclorame
FUNGUICIDAS	MINERALES	Sales de cobre Compuestos arsenicales Aceites minerales
	ORGANOMETALICOS	Derivados órganomercuriales
	ORGANICOS	Carbamatos y ditiocarbamatos

		Derivados del benceno Amicidas Benzonitrilos
RODENTICIDAS	Derivados cumarínicos Inorgánicos	Warfarinas Sales de talio

El término plaguicida incluye también los siguientes tipos de sustancias: reguladores del crecimiento de las plantas, desfoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de la fruta, agentes para evitar la caída prematura de la fruta y sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha, para proteger el producto contra el deterioro, durante el almacenamiento y transporte. Desde el punto de vista de la toxicología, es importante señalar que las formulaciones de plaguicidas además del principio activo incluyen sustancias transportadoras, diluyentes como agua o solventes orgánicos, aditivos e impurezas, que pueden tener potencial tóxico por sí mismas (Bissetl, 2002).

El análisis de plaguicidas puede clasificarse en diversas áreas forense, diagnóstico-urgencia, control de poblaciones expuestas y no expuestas, contaminación ambiental. Si el plaguicida fue causa de muerte, estará en alta concentración, al igual que en una intoxicación aguda grave. En las dos últimas áreas se trabaja con muestras con niveles muy bajos de plaguicidas (menores de 0,1 ppm), se habla de “residuos” de plaguicidas. Particular atención se presta al estudio de los insecticidas organofosforados y carbamatos, por ser los más utilizados actualmente y producir efectos tóxicos muy característicos (Bissetl, 2002).

Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS):

La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha recomendado, sujeta a actualizaciones periódicas, una clasificación según su peligrosidad, entendiendo ésta como su capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se da una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto. Esta clasificación se basa en la dosis letal media (DL50) aguda, por vía oral o dérmica de las ratas (Tabla 2). Sin embargo, un producto con una dosis letal media (DL50) puede causar efectos crónicos por exposición prolongada (EPA, 2000).

Tabla 2. Clasificación de pesticidas según su peligrosidad. Organización Mundial de la Salud. International program of chemical safety. 1990.

Clase	Oral mg/Kg		Dérmica mg/Kg	
	Sólidos*	Líquidos*	Sólidos*	Líquidos*
Ia Extremadamente peligroso	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
Ib Altamente peligroso	5 – 50	20 – 200	10 – 100	40 – 400
II Moderadamente peligroso	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III Ligeramente peligroso	Más de 500	Más de 2000	Más de 1000	Más de 4000

*Estado físico del ingrediente o formulación que se clasifica

Además de estas categorías existen otros tres grupos de plaguicidas:

Grupo V: incluye a aquellos productos que no implican un riesgo agudo cuando se usan normalmente. Tienen un DL50 oral mayor o igual que 2000 mg/Kg en el caso de los sólidos, y mayor o igual a 3000 mg/Kg en el caso de líquidos. Grupo VI: aquellos productos a los que no se les asigna ninguna categoría por considerarlos obsoletos o

descontinuados. Grupo VII: fumigantes gaseosos o volátiles. La clasificación de la OMS no establece criterios para las concentraciones aéreas en las cuales pueda basarse. La mayoría de estos compuestos son de muy alta toxicidad y existen recomendaciones sobre límites de exposición ocupacional en muchos países (Environmental Protection Agency, 2000).

Toxicidad de los Plaguicidas por Grado de Inhalación

En casos especiales como las preparaciones de aerosoles o fumigantes gaseosos o volátiles (Bromuro de Metilo, fosfinas, acrilonitrilo), los valores de DL50 oral y dérmica no deben emplearse como base de clasificación, siendo necesario utilizar otros criterios tales como los niveles de concentración en el aire (Tabla 3) (Environmental Protection Agency, 2000).

Tabla 3. Clasificación según la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA). (U.S. Environmental Protection Agency)

Toxicidad	Concentración (mg/L aire)
Muy tóxico	Menor o igual a 0,5
Tóxico	0,5 – 2,0
Poco tóxico	2,0 – 20

Propiedades Físicoquímicas

Estas propiedades son las determinantes de su cinética ambiental. El aire, el

agua, el suelo y los alimentos retienen gran parte de los pesticidas y éstos llegarán a los seres vivos. Constituye un problema actual su persistencia en el medio ambiente, su concentración y transformación en organismos vivos. (U.S. Environmental Protection Agency, 2000; Ibarra, González y col., 2002)

Plaguicidas Organofosforados

Son sustancias biodegradables en la naturaleza, sin tendencia a acumularse en las grasas del organismo, pero con gran actividad neurotóxica que va a producir intoxicaciones agudas de gravedad. Son los insecticidas, junto con los carbamatos y piretroides, más ampliamente utilizados en la actualidad. (U.S. Environmental Protection Agency, 2000; Ibarra, González y col., 2002)

Sus estructuras químicas derivan de la sustitución por restos orgánicos en el fósforo pentavalente. Pueden clasificarse como:

a) Derivados de la molécula del ácido fosfórico. Si los dos primeros oxhidrilos se esterifican con radicales alquílicos se obtienen los alquil-fosfatos o alquil-pirofosfatos (ejemplo: dichlorvos). Si dichos oxhidrilos se sustituyen por amidas se obtienen las fosforamidas (ejemplos: metamidofós, acefato).

b) Derivados de la molécula del ácido fosforotiónico: De este ácido derivarán a su vez numerosos ésteres tiofosfóricos (ejemplo: paratión).

c) Derivados del ácido fosforotiolotiónico. (ejemplo: malatión).

d) Derivados del ácido fosforotiólico (ejemplos: malaoxón, demeton-S-metil.). (U.S. Environmental Protection Agency, 2000; Ibarra, González y col., 2002)

Mecanismo de acción

Los insecticidas organofosforados actúan combinándose con gran afinidad con cierto tipo de esterasas, con la consecuencia de su inactivación. Esta reacción, en el contexto de la fisiología de sus funciones, es irreversible. Los oxofosforados (enlaces P=O) son fuertemente inhibidores, mientras que los tiofosforados (P=S) no son fuertemente inhibidores y necesitarán de una biotransformación a la forma oxo para actuar como inhibidores (Hancock y col., 2007).

En particular, la inhibición de las colinesterasas es la que va a derivar en los síntomas y signos de la intoxicación aguda. El papel fisiológico de la colinesterasa consiste en la hidrólisis de la acetilcolina, mediador químico en la transmisión del impulso nervioso. Se acumulan así grandes cantidades de acetilcolina en las sinapsis (Hancock y col., 2007).

Existen dos tipos de colinesterasas: la colinesterasa verdadera, presente en eritrocitos y tejido nervioso y la pseudocolinesterasa presente en suero o plasma. Ambas enzimas son inhibidas por los compuestos organofosforados, pero la eritrocitaria es la que mejor refleja el estado de inhibición de la colinesterasa del sistema nervioso, por lo que se utiliza para evaluar el estado de intoxicación aguda de un paciente. Por otro lado, la colinesterasa plasmática o pseudocolinesterasa es la que más tarda en regenerarse, por lo que se utiliza en la evaluación de la exposición crónica a organofosforados (Hancock y col., 2007).

Absorción

Los ésteres fosforados se absorben fácilmente a través de la piel y más

rápidamente por vía digestiva. La absorción respiratoria es casi instantánea (Hancock y col., 2007).

Farmacocinética

Su liposolubilidad y elevada tensión de vapor a temperaturas ordinarias permiten su penetración rápida por todas las vías: digestiva, cutánea y respiratoria. Se distribuyen preferentemente a los tejidos ricos en lípidos, pero no se acumulan en la grasas de organismo debido a la eficacia de los procesos de biotransformación (Ferrer, 2003; Córdoba, 2006).

Farmacodinamia

Su mecanismo tóxico más importante es la inhibición de la acetilcolinesterasa que da lugar a acumulación de acetilcolina en los tejidos (Ferrer, 2003).

La acetilcolina es el mediador químico responsable de la transmisión fisiológica del impulso nervioso de las neuronas pre-ganglionares a las post-ganglionares en los sistemas parasimpáticos y simpáticos; también de las fibras post-ganglionares parasimpáticas a los órganos efectores y de las fibras post-ganglionares simpáticas a las glándulas sudoríparas, de los nervios motores al músculo esquelético y finalmente de algunas terminaciones nerviosas en el SNC (Ferrer, 2003).

Esta enzima es liberada en las terminaciones de las fibras colinérgicas, y en respuesta a la conducción de un potencial de acción contacta con los receptores colinérgicos en la superficie de la célula diana materializando la transmisión del impulso. Existen dos tipos de receptores para este neurotransmisor: el receptor

muscarínico, de tipo receptor vinculado a proteínas G, y el receptor nicotínico que contiene un canal de Na. Inmediatamente, tras ser liberada del receptor, es hidrolizada por la colinesterasa lo que produce la brevedad y unidad de cada impulso propagado (Ferrer, 2003)

Los organofosforados fosforilan otras enzimas: fosfatasa ácida, aliesterasas, lipasas, tripsina, quemotripsina, succinoxidasa, oxidasa-ácido ascórbico, deshidrogenasas, enzimas sulfidrilo. Esto se produce a una velocidad más lenta y sin aparentes consecuencias clínicas (Ferrer, 2003).

Algunos de ellos presentan una neurotoxicidad tardía producida a través de la inhibición de la actividad de una proteína de la célula nerviosa a la que se ha dado el nombre de esterasa neurotóxica o esterasa diana de neurotoxicidad (NET). Los organofosforados neurotóxicos son aquellos que provocan una inhibición de la actividad esterásica de esta proteína superior al 80%. La NET presenta una amplia distribución en el organismo encontrándose en cerebro, médula, sistema nervioso periférico, corazón, bazo y linfocitos. La medida de su actividad linfocitaria se ha propuesto como test de neurotoxicidad en el hombre expuesto (Ferrer, 2003).

Se ha demostrado que los organofosforados neurotóxicos ejercen una inhibición del transporte axonal rápido de las proteínas que se ha sugerido podría deberse a una perturbación del funcionamiento de los microtúbulos. La neurotoxicidad se plasma en una polineuropatía muy estudiada en los pollos. Entre los organofosforados que han producido este tipo de neurotoxicidad humana están el merfox, triclorfón y mipafox. También se ha referido la aparición de un síndrome

intermedio neuromuscular que aparece 24 a 46 horas tras la clínica colinérgica aguda y se manifiesta con una debilidad con parálisis de los músculos proximales de las extremidades y del tórax con un compromiso de la función respiratoria (Ferrer, 2003).

En los últimos años se han descrito cuadros neuropsicológicos crónicos no bien definidos, incluyendo el Síndrome de fatiga crónica, relacionados, en unos casos, con efectos a largo plazo de intoxicaciones agudas y, en otros, con exposiciones acumulativas subclínicas (Ferrer, 2003).

Carbamatos

Forman parte de una gran familia de plaguicidas entre los que se hallan herbicidas, fungicidas e insecticidas. Todos ellos derivan del ácido carbámico.

Se los divide en tres grupos: N-metil carbamatos, en el que uno de los hidrógenos del grupo amino es reemplazado por un grupo metilo (ejemplos: Aldicarb, Carbaryl, Carbofuran); N,N, dimetil Carbamato, donde ambos hidrógenos del grupo amino son reemplazados por grupos metilos (ejemplos: Isolan, Pirolan), y N-fenil Carbamatos, en los que un grupo fenilo sustituye a uno de los hidrógenos del grupo amino (U.S. Environmental Protection Agency, 2000; Ibarra, González y col.,

2002). Farmacocinética

Se absorbe por todas las vías, pero es buena por vía oral aunque el grado de absorción cutánea varía considerablemente de un producto a otro. Pasan rápidamente a sangre y se distribuyen a todos los tejidos. No se acumulan, y pasan por distintas reacciones de degradación: N-demetilación, hidroxilación, O-dealquilación, sulfoxidación. Varios estudios han establecido que la hidroxilación alifática de

las cadenas alquilo representa su ruta predominante de biotransformación oxidativa. Algunas de estas reacciones fracasan en separar la unión éster dando lugar a inhibidores de las colinesterasas a veces más potentes que el producto primitivo. Los metabolitos finales entre los que se cuenta el CO₂ pueden integrarse en los tejidos o eliminarse por la respiración, leche y orina (Ferrer, 2003; Córdoba, 2006).

Farmacodinamia

Los carbamatos que actúan como inhibidores de las colinesterasas lo hacen por un mecanismo similar a los organofosforados produciendo acetilcolinesterasa carbamylada que aparece más rápidamente pero es más inestable que su equivalente fosforilado, debido a que su enlace es electrovalente en lugar de covalente. Para los carbamatos herbicidas no se han encontrado efectos tóxicos característicos o distintivos ni se ha descrito su modo de acción en los mamíferos (Ferrer, 2003. Córdoba, 2006)

Los ditiocarbamatos empleados como fungicidas tienen como metabolito común el disulfuro de carbono y sus subproductos lo que determina, más que las características individuales, su similar acción en cuanto a la intoxicación aguda, su interacción con el alcohol y los efectos clínicos en la exposición repetida. Su efecto más conocido es la producción de intolerancia al alcohol, ya que tienen fórmula química parecida a la del antabuse o disulfiram y pueden ocasionar fenómeno “antabuse” cuando se consume alcohol (Ferrer, 2003; Córdoba, 2006).

Inhibición de Colinesterasa como recurso de identificación de la intoxicación con plaguicidas organofosforados y carbamatos.

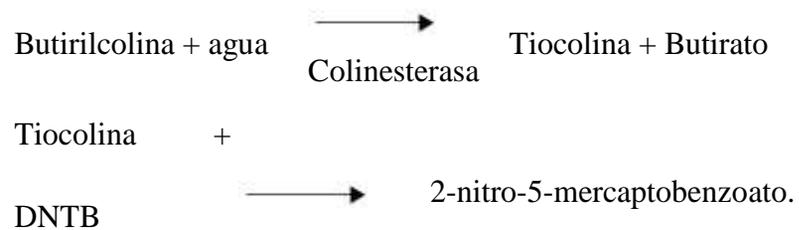
La colinesterasa es un biomarcador de efecto, porque mide el daño una vez que ya ha sido procesado por el organismo. Estas lesiones pueden convertirse en cambios permanentes. Dichos efectos reflejan daños correspondientes a exposiciones pasadas, por lo que son útiles para detectar el daño acumulativo. Tradicionalmente, los biomarcadores de efectos, han sido los más utilizados en los estudios de biomonitorización humana, estos se pueden dividir en: Informativos (no específicos) y en relevantes, para algunas enfermedades, es decir, aquellos biomarcadores que determinan cambios cromosómicos o geonómicos en lugares críticos relacionados con el desarrollo de una enfermedad (Pastor, 2002; Carmona-Fonseca, 2007).

Debido a que resulta difícil encontrar algún plaguicida organofosforado en o sus metabolitos en orina, se recurre a determinaciones en suero, plasma o sangre entera que son muy rápidas y pueden dar indicio de la gravedad de la intoxicación (Pastor, 2002).

Para la identificación rápida de colinesterasa, existen técnicas de ejecución simple, basadas algunas de ellas, en el empleo de papeles reactivos. El denominado Merckotest, se recomienda para determinar la actividad de la enzima en suero o plasma, no sólo es útil en casos de exposición o de intoxicación con inhibidores de colinesterasa, sino también en diversos estados patológicos (lesiones hepáticas) o para evaluar la acción de ciertos medicamentos sobre el sistema enzimático (U.S. Environmental Protection Agency, 2000; Ibarra, González y col., 2002).

Procedimiento para la determinación de colinesterasa plasmática

La Colinesterasa sérica o plasmática (Pseudocolinesterasa o Butirilcolina esterasa) cataliza la reacción de hidrólisis de los ésteres de la colina, tal como la S-butirilcolina, con máxima actividad a pH 7,7. La tiocolina liberada reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2- nitrobenzoico (DTNB) produciendo un compuesto amarillo de acuerdo al siguiente esquema de reacción (U.S. Environmental Protection Agency, 2000).



La velocidad de aparición de color es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 405 nm (U.S. Environmental Protection Agency, 2000).

Se han establecido criterios para determinar el grado y tipo de intoxicación (Tabla 4).

Tabla 4. Criterios para determinación del grado y tipo de intoxicación. (Rendon y otros, 2004)

Colinesterasa Sérica	Colinesterasa Eritrocitaria	Indica
Normal o poco descendida	>0.75 ΔpH/h normal o poco descendida (0.75-	-No intoxicación. -Leve intox.

	0.60)	-Intoxicación a carbamatos.
Discretamente descendida	(0.60-0.50)	-Intoxicación moderada o a dosis repetidas
Muy descendida	(0.50-0.25)	-Intoxicación grave (aguda).

La forma usual de entrada es por contacto directo con la piel, pero también pueden entrar por los ojos, boca (especialmente los niños) y pulmones (Rendon y otros, 2004).

Algunos plaguicidas son persistentes y pueden permanecer en el ambiente largos periodos antes de desintegrarse, acumulándose en los tejidos de la mayoría de los organismos vivos, que los absorben al respirar, ingerir alimentos o beber agua. Algunos no se descomponen por los usuales mecanismos naturales de desintoxicación. No siempre permanecen donde fueron aplicados y pueden rápidamente viajar largas distancias, incluso a zonas remotas del planeta. Pueden bioconcentrarse alcanzando niveles de hasta 70,000 veces superiores a los del entorno, a medida que pasan a través de las cadenas alimentarias (Rendon y otros, 2004).

La exposición crónica a bajos niveles puede causar la bioacumulación de los plaguicidas en los tejidos grasos. Son venenosos para los seres humanos, las plantas, los animales y las especies silvestres (Rendon y otros, 2004).

Tabla 5. Signos y Síntomas de Exposición a Plaguicidas.

	Signos	Síntomas
NERVIOSO CENTRAL Y AUTONOMICO	Decaimiento, debilidad, parálisis, dolor agudo de cabeza, náusea, vómitos, pupilas pequeñas, visión borrosa, temblores, fiebre, dolores en manos, piernas, etc., sudor excesivo, salivación.	Incoordinación, movimientos desordenados del cuerpo, ataques parecidos a los de epilepsia. entumecimiento, inestabilidad, depresión aguda, dolores de manos, piernas, hormigueo.
OJOS, OIDOS NARIZ Y GARGANTA	Ardor, irritación y acuosidad de las membranas mucosas de los ojos, oídos, nariz y garganta.	Conjuntivitis, rinitis, dolor de garganta y daño ocular.
CORAZON Y CARDIOVASCULAR	Pulso lento, arritmias, bloqueo cardiaco.	Dolores de pecho, problemas circulatorios, daño al músculo del corazón.
PULMONES	Aliento corto, espasmos bronqueales, secreciones excesivas, cianosis, dificultad respiratoria por broncoconstricción.	Asma, ardor e irritación, daño pulmonar.
URINARIO Y REPRODUCTIVO	Orina frecuente, dolor y dificultad para orinar, incontinencia incontrolable. Aborto espontáneo.	Daño al riñón, esterilidad, malformaciones del feto.
MUSCULO-ESQUELETICO	Calambres musculares, estremecimientos, parálisis,	Sensibilidad muscular, baja fuerza muscular, calambres musculares.

	contracción muscular.	
PIEL	Ardor, picazón.	Dermatitis persistente, especialmente de manos, eczemas, granitos.
GASTRO-INTESTINAL	Sed excesiva, náusea, vómitos, calambres y dolores abdominales, diarrea, pérdida del control de esfínter.	Sabor extraño en la boca, pérdida de peso, sangramientos internos.
HIGADO	Necrosis, malfunciones hepáticas.	Disrupción del sistema enzimático, baja tolerancia a los químicos y alcohol, hepatitis química, ictericia.
ENDOCRINO		Hipertiroidismo, hiperglicemia, suspensión de la función endocrina.
PSIQUIATRICOS	Irritabilidad, pérdida de memoria y concentración, ansiedad, angustia.	Fatiga crónica, cambios de personalidad, problemas emocionales, lasitud, depresión, falta de manejo, torpeza, insomnio.
HEMATOLOGICOS E INMUNE	Depresión del sistema inmunológico (poca capacidad de defensa del organismo frente a enfermedades).	Anemias, problemas de coagulación, depresión de glóbulos blancos.

El efecto del plaguicida, a menudo, es confundido con una gripe, resfriado persistente o alguna alergia. Los síntomas, indicados la tabla 5, se asocian a la presencia de plaguicidas, y si se advierte la aparición de uno o más de éstos, el envenenamiento por plaguicidas puede ser una causa posible (Bhatnagar y

col., 2002; Schmucker, 2002).

Si la ropa o el cuerpo pudieron haber sido contaminados con estos venenos, se recomienda ducharse y, si es posible, cambiarse de ropa y guardarla en una bolsa plástica para un análisis posterior. Se recomienda lavar la piel y el cabello, y cortar una muestra de pelo para analizarla. Se deben registrar también, así mismo, las condiciones atmosféricas del momento- por ejemplo, la velocidad y dirección del viento- si el accidente ocurrió a la intemperie (Bhatnagar y col. 2002; Schmucker, 2002).

Símbolos de Toxicidad de los Plaguicidas

Todos los plaguicidas son tóxicos para el hombre y los animales, pueden no sólo causar intoxicaciones agudas y la muerte, sino también daños crónicos y efectos a largo plazo como cáncer, esterilidad, defectos de nacimiento, aberraciones en el sistema inmunológico y alteraciones a nivel de órganos vitales como el hígado, los riñones y el sistema nervioso. (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002).

El grado de toxicidad aguda se refiere a la capacidad del plaguicida para producir intoxicación durante o poco después de una única exposición. Sin embargo el grado de toxicidad aguda de los plaguicidas es indicado en la etiqueta del mismo por una banda de color intenso y algunas advertencias (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002)

Transporte de Plaguicidas

Los plaguicidas nunca se deben transportar junto con alimentos, juguetes, ropa o medicamentos ya que se corre el riesgo de causar intoxicaciones graves. Los

plaguicidas deben ser transportados bien amarrados, protegidos de la lluvia y en un compartimiento separado del chofer y de los pasajeros (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002).

En caso de que haya necesidad de transportar un plaguicida a pie, en bicicleta o a caballo, es aconsejable envolver debidamente los envases en material impermeable y asegurarlos bien para disminuir los riesgos de derrame. Durante la carga o descarga de los plaguicidas, es necesario usar siempre guantes y luego de colocarlos en el sitio de almacenaje, lavar bien el vehículo y las manos (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002).

Almacenamiento de Plaguicidas

Los plaguicidas se deben almacenar en un lugar alejado de las actividades familiares, al cual se le deben colocar rótulos de advertencia que indiquen el peligro que corren las personas o animales que se acerquen a este sitio. Lo ideal es una bodega con llave, que tenga buena ventilación, piso de cemento y techo en buen estado. Esta bodega debe ser limpiada frecuentemente y los utensilios utilizados en su limpieza no deben ser usados en ningún otro lugar. En caso de almacenar cantidades pequeñas de plaguicidas, se pueden colocar en una caja de madera con candado, en un lugar fuera de la casa y fuera del alcance de los niños y de los animales (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002).

Los plaguicidas deben ser colocados en estantes o tarimas para protegerlos del contacto con el agua en caso de inundaciones o lluvia y según su acción biocida: herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, entre otras (Bhatnagar y col., 2002;

Schmucker, 2002).

Ropa y Equipo de Protección

Con el fin de disminuir el riesgo de intoxicación, el trabajador agrícola debe utilizar equipo protector durante la preparación de la mezcla, la aplicación de la solución cuando labora cerca del lugar de aplicación y al ingresar a un campo recién asperjado. Sin embargo, es una realidad que el uso de equipo de protección está aún poco difundido en nuestro país (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002).

En los casos de intoxicaciones con plaguicida la vía principal de entrada es la dérmica; sin embargo, las intoxicaciones que ocurren durante el desempeño del trabajo, también pueden ocurrir por la inhalación de gases y partículas, por vía oral y a través de los ojos. Por esta razón, el equipo de protección deba abarcar la piel, la nariz, la boca y los ojos. El equipo básico comprende: camisa de manga larga y pantalones largos por fuera de las botas, guantes de hule sin forro, botas de hule sin forro, sombrero de ala ancha, delantal impermeable (para la mezcla del plaguicida), anteojos o escudo protector para la cara y una mascarilla con filtro (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002).

La ropa y el equipo de protección deben estar limpios y en perfecto estado; los filtros de la mascarilla deben cambiarse inmediatamente al detectar olor a plaguicidas y los anteojos y las mascarillas se deben ajustar bien a la cara. El equipo de protección no se debe almacenar junto con los plaguicidas, principalmente porque el filtro de la mascarilla sigue absorbiendo partículas de plaguicida, al igual que las demás partes del equipo, lo cual aumenta los riesgos de sufrir una intoxicación aguda

o sus efectos crónicos. Si no es posible guardarlos separados, deben ser introducidos en una envoltura plástica, herméticamente cerrada. (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002)

Es recomendable llevar al campo una muda adicional de ropa. En caso de derrame, la parte contaminada debe lavarse bien con agua y jabón y cambiar la ropa inmediatamente (Bhatnagar y col., 2002; Schmucker, 2002).

Citocromo P-450

El citocromo P-450 (P-450) es el principal responsable del metabolismo oxidativo de los xenobióticos. No se trata de una única enzima, sino que en realidad es una familia de hemoproteínas presentes en numerosas especies, desde bacterias a mamíferos, y de las que ya se han identificado más de 2000 isoformas diferentes. Todos los P-450s conocidos se nombran siguiendo un criterio común y se agrupan en familias y subfamilias en función de la similitud en la secuencia del ADN que los codifica. Las familias 1, 2 y 3 están constituidas por enzimas encargadas de la biotransformación de xenobióticos, mientras que el resto de familias incluyen P-450s que intervienen en la biosíntesis y el metabolismo de compuestos endógenos (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Una de las características más significativas de los P-450 que metabolizan xenobióticos es su baja especificidad, lo que permite que sean capaces de metabolizar un número casi ilimitado de sustratos, principalmente a través de reacciones de oxidación, pero también de reducción e hidrólisis. Las oxidaciones catalizadas por el

P-450 son reacciones de monooxigenación dependientes de NADPH y para las que utiliza oxígeno molecular. Como consecuencia de estas reacciones el P-450 acelera la eliminación del organismo de gran número de fármacos y compuestos tóxicos, pero también es el responsable de la activación de toxinas o precarcinógenos. En el hombre, los P-450s están ampliamente distribuidos por todo el organismo, si bien el hígado es el órgano con mayor expresión de estas enzimas. Su expresión está regulada por factores genéticos (algunos presentan polimorfismos genéticos), fisiopatológicos (regulación hormonal, enfermedades) o ambientales (factores nutricionales, inducción, inhibición). Por esta causa, sus niveles hepáticos varían extraordinariamente entre diferentes individuos, lo que justifica las notables diferencias que, en ocasiones, se observan en el metabolismo de fármacos y xenobióticos y, en última instancia, la variabilidad en la respuesta farmacológica o la diferente susceptibilidad a la acción de tóxicos o carcinógenos (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Los xenobióticos no son utilizados como nutrientes, por lo que no se incorporan a las rutas bioquímicas del metabolismo intermediario y no son degradados a través de estas vías metabólicas. Se trata, en general, de compuestos de naturaleza lipofílica por lo que pueden atravesar con relativa facilidad las membranas biológicas, acceder al interior de las células y unirse a estructuras celulares de carácter lipofílico. Al mismo tiempo, su eliminación del organismo es dificultosa, dado que la excreción de compuestos no volátiles se realiza a través de fluidos de naturaleza acuosa, principalmente orina. Ante esta situación, los organismos vivos

han desarrollado sistemas metabólicos alternativos para acelerar la eliminación de estos compuestos (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Se trata de una serie de enzimas no integradas en las vías del metabolismo energético o intermediario del organismo y cuyos substratos son los xenobióticos. Su función es la de convertir los xenobióticos en moléculas más polares, más hidrosolubles y, por tanto, más fácilmente excretables. El papel de estas enzimas es clave para la supervivencia celular. De no existir tales vías metabólicas, una vez en el interior del organismo los xenobióticos tenderían a acumularse alterando el equilibrio celular y provocando alteraciones funcionales e incluso la muerte celular (Capdevila y col.,; Williams y col., 2000).

Al conjunto de procesos enzimáticos a los que se ven sometidos los xenobióticos en el organismo tendentes, en general, a su neutralización y eliminación se les conoce como reacciones de biotransformación o de metabolización de xenobióticos (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Tradicionalmente estos procesos se han agrupado en dos fases o etapas. En la fase 1 los xenobióticos son modificados mediante reacciones de oxidación, reducción o hidrólisis y convertidos en productos más hidrosolubles gracias a la aparición de nuevos grupos funcionales de carácter polar (hidroxilo, amino, carboxilo). En la fase 2 los xenobióticos, o los metabolitos generados por las reacciones de la fase 1, se combinan con moléculas endógenas de carácter polar para formar productos de conjugación que son rápidamente excretados. En general, los enzimas de fase 1 son capaces de transformar múltiples substratos y catalizar

reacciones diferentes. Se trata de proteínas catalíticas de naturaleza muy diversa entre los que se incluyen enzimas con actividad monooxigenasa, como el citocromo P-450 o la flavin monooxigenasa, diversas oxidasas (alcohol deshidrogenasa, aldehído deshidrogenasa, amino oxidasas, aromatasas), la epóxido hidrolasa o esterasas y amidasas hepáticas y plasmáticas. El citocromo P-450 es sin duda el miembro más destacado de este grupo de enzimas y el que ha sido más ampliamente estudiado (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Los P-450s son hemoproteínas catalíticas en las cuales un grupo tiol del aminoácido cisteína sirve como quinto ligando al átomo de hierro del grupo hemo y el sexto ligando es una molécula de agua. En general los P-450s de eucariotas tienen un peso molecular que oscila entre 50 y 60 kD. La similitud en la secuencia de aminoácidos entre los diferentes P-450s es relativamente baja, llegando a ser menor del 20% en algunos casos. El extremo C-terminal de la molécula presenta una conservación de las secuencias de aminoácidos entre los distintos P-450s mayor que la región N-terminal. El menor grado de conservación corresponde a las secuencias intermedias. Un 30% de identidad de la secuencia en la zona intermedia puede considerarse como significativa, mientras que un 50% de homología en la región C-terminal podría considerarse como baja. A pesar de ello, los estudios de cristalización de proteínas han permitido comprobar que existe una elevada conservación en la topografía y estructura tridimensional de los P-450s (Omura, 2003).

De forma general, la molécula de la enzima está constituida por una

combinación de regiones α -hélice y de hojas fundamentalmente en la región de la proteína que rodea al grupo hemo, mientras que las regiones más variables son las que constituyen los lugares de anclaje a la membrana o de unión y reconocimiento de sustratos. La alta conservación de la región del hemo, que se corresponde con el centro catalítico de la enzima, refleja un mecanismo común de transferencia de electrones y de protones y de activación de oxígeno. La enzima permanece anclado a la membrana a través de una hélice hidrofóbica cercana al extremo N-terminal, por lo que la mayor parte de la proteína se sitúa en la cara citosólica de la membrana. Esta hélice transmembrana está seguida, por regla general, por una serie de aminoácidos básicos cuyos residuos interaccionan con las cargas negativas de los lípidos de la membrana (Omura, 2003).

El monóxido de carbono puede unirse al hierro ferroso (forma reducida de la hemoproteína) del P-450 para formar un complejo $\text{Fe}^{2+}\text{-CO}$, produciendo un cambio en el máximo de absorbancia del grupo hemo (pico de Soret) a 450 nm. Esta propiedad es precisamente la que dio origen a que estas enzimas pasaran a denominarse como citocromo P-450 (P es por pigmento), a pesar de que, como se comprobó posteriormente, estas hemoproteínas no son citocromos, en el sentido estricto de la palabra. Este máximo de absorbancia característico del P-450 es utilizado para su cuantificación espectrofotométrica. El grupo tiol de la cisteína ligado al átomo de hierro es el responsable de este pico de Soret. En el resto de hemoproteínas, en las que la histidina actúa como ligando, el máximo de absorción aparece a 420 nm. El CO se une con gran

afinidad e impide la unión y la activación del oxígeno molecular y, de este modo, inhibe de forma reversible la actividad enzimática del P-450. Otros ligandos (substratos e inhibidores) también pueden inducir cambios de absorbancia en el pico de Soret, lo que permite el análisis por espectrofotometría de la unión de tales compuestos (Yerena y col., 2005).

En los organismos eucariotas los P-450s de clase I se encuentran asociados a la membrana interna de la mitocondria. El origen filogenético de las formas de P-450 mitocondrial identificadas en diferentes especies animales (estas enzimas no han sido descritos en plantas) parece no estar relacionado con los P-450s de clase I de los procariotas, a pesar de sus analogías en la cadena de transporte electrónico (Yerena y col., 2005). En los mamíferos estos P-450s catalizan diversos pasos de la biosíntesis de hormonas esteroideas y vitamina D₃ (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Las enzimas de clase II son las más abundantes en eucariotas. Las P-450s y las NADPH-citocromo P-450 reductasas no están asociadas y ambas están ancladas de forma independiente en la cara externa de la membrana del retículo endoplásmico mediante la región hidrofóbica del extremo amino-terminal. La actividad de algunas P-450s se ve favorecida por la presencia de citocromo b₅ que facilita la transferencia de electrones desde el NAD(P)H. Estas enzimas participan en múltiples funciones biosintéticas. A modo de ejemplo, en los hongos se encargan de la síntesis de esteroides de membrana y micotoxinas, y en los vegetales intervienen en los procesos de síntesis y catabolismo de hormonas, la oxidación de ácidos grasos, las rutas

metabólicas que conducen a la lignificación y la síntesis de pigmentos y compuestos de defensa (antioxidantes, fitoestrógenos, aromas). En los animales, entre sus funciones fisiológicas se incluyen la biosíntesis y el catabolismo de moléculas señalizadoras, hormonas esteroideas y ácido retinoico. Además de sus funciones biosintéticas, los P-450s de clase I y de clase II participan en los procesos de metabolización de xenobióticos tanto en plantas como en animales (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Se trata de enzimas de gran trascendencia desde el punto de vista farmacológico y toxicológico. Son los responsables del metabolismo de fármacos y de los procesos de detoxificación. No obstante, en ocasiones participan en procesos de activación contribuyendo a la aparición de fenómenos tóxicos o de carcinogénesis. Los P-450s de clase III participan en la síntesis de prostaglandinas en mamíferos, mientras que el P-450 de clase IV sólo se ha identificado en hongos. Ambas clases de enzimas se podrían considerar como las formas más ancestrales de P-450s que participan en la detoxificación de especies activadas de oxígeno (Capdevila y col., 2003; Williams y col., 2000).

Enzimas P-450 Metabolizantes de Xenobióticos

Las enzimas P450 que intervienen en el metabolismo de compuestos extraños y fármacos aparecen casi siempre en las familias *CYP1*, *CYP2*, *CYP3* y *CYP4*. Estas enzimas P450 catalizan muchas reacciones metabólicas distintas, y es frecuente que una sola de ellas sea capaz de metabolizar numerosos compuestos diferentes. Además, muchas enzimas P450 pueden metabolizar un

mismo compuesto en diferentes lugares. Asimismo, un compuesto puede ser metabolizado en el mismo y único lugar por varias enzimas P450, aunque a velocidades distintas (OIT, 1999).

Una propiedad muy importante de las enzimas P450 metabolizantes de fármacos es que muchos de estos genes son inducibles por las mismas sustancias que les sirven de sustrato. En cambio, otros genes P450 son inducidos por no sustratos. Este fenómeno de inducción enzimática es la base de muchas interacciones entre fármacos que son importantes desde el punto de vista terapéutico (OIT, 1999).

Aunque están presentes en muchos tejidos, en concreto, estas enzimas P450 se encuentran con niveles relativamente altos en el hígado, que es donde más se metabolizan los fármacos. Algunas de las enzimas P450 metabolizantes de xenobióticos muestran actividad hacia determinados sustratos endógenos (por ejemplo, el ácido araquidónico). No obstante, está extendida la idea de que, en su mayoría, esas enzimas P450 metabolizantes de xenobióticos no desempeñan funciones fisiológicas de importancia, aunque hasta el momento no se ha establecido experimentalmente. Es probable que la disrupción homocigótica selectiva, o “knock-out”, de determinados genes P450 metabolizantes de xenobióticos con métodos de “targeting” de genes (mutaciones dirigidas) en ratones ofrezca pronto información inequívoca sobre las funciones fisiológicas de los P450 metabolizantes de xenobióticos (OIT, 1999).

En contraste con las familias que codifican enzimas P450 que participan

básicamente en procesos fisiológicos, las que codifican enzimas P450 metabolizantes de xenobióticos presentan una notable especificidad de especie y suelen contener muchos genes activos por subfamilia (OIT, 1999).

Dada la aparente ausencia de sustratos fisiológicos, es posible que las enzimas P450 de las familias CYP1, CYP2, CYP3 y CYP4 que han aparecido a lo largo de los últimos cientos de millones de años se hayan desarrollado como un medio de detoxificar sustancias químicas extrañas presentes en el medio ambiente y en la dieta. La evolución de las P450 metabolizantes de xenobióticos se habría producido claramente a lo largo de un período de tiempo muy anterior al de la síntesis de la mayoría de las sustancias químicas sintéticas a las que los seres humanos se hallan expuestos en la actualidad (OIT, 1999).

Es posible que los genes de esas cuatro familias se desarrollaran y diferenciaron en los animales debido a su exposición a metabolitos vegetales durante los últimos 1.200 millones de años en el proceso que gráficamente se ha denominado “la guerra entre los animales y las plantas” En esa guerra las plantas desarrollaron nuevas sustancias químicas (fitoalexinas) como mecanismo de defensa para impedir su ingestión por animales, y éstos a su vez respondieron desarrollando nuevos genes P450 para adaptarse a esa diversificación de los sustratos (OIT, 1999).

2.3 Definición de Términos y Variables:

Tabla 5. Definición de términos y variables

Definición	Definición	Definición Operacional	
Nominal	Conceptual	Indicadores	Sub-indicadores
Colinesterasa	Enzima sintetizada en el hígado. Uso clínico: Detectar intoxicaciones con organo-fosforados. (fumigantes)	U/L	4970-13977 U/L
Análisis de laboratorio	Índices hematológicos y Pruebas de funcionalismo hepático y renal.	*Hematología completa *Urea *Creatinina *TGO/ TGI	*Hemoglobina 11-16 g/dL *Hematocrito 37-50 % *Leucocitos 5,0-10,0 x10 ³ /uL *Plaquetas 150-450x10 ³ /uL *Urea 15-40 mg/dL *Creatinina 0,8 a 1,4 mg/dL * TGO: 4-36 U/mL * TGP: 4-32 U/mL
Citocromo P-450	Grupo de proteínas mediadores primarios de las células del metabolismo oxidativo	-	-
Datos Personales	Información suministrada por el sujeto en estudio.	*Nombre *Edad, Sexo * Estado Civil *Número hijos *Embarazada, Amamantando.	-
Historia Ocupacional	Historia laboral del individuo y la relación de su salud con la existencia de riesgos derivados del ambiente laboral y	* Actividad a su cargo * Tipo de cultivo * Tiempo en el cargo * Horas laborales y	-

	salubridad de los puestos de trabajo.	tipo de fumigación *Uso Equipos de Protección * Normas de Higiene *Limpieza del área	
Factores de Riesgo Inherentes al Individuo	Hábitos y demás aspectos personales del trabajador y su entorno social, que puedan generar cargas que afecten la salud, el rendimiento en el trabajo y la producción laboral.	* Hábitos de fumar * N° de cigarrillos * Tiempo fumando * Exposición pasiva *Fumar durante la jornada de trabajo *Hábitos alcohólicos y frecuencia. *Tipo de Alcohol	-
Antecedentes de salud del trabajador	Información trascendental para el conocimiento veraz y actualizado del estado de salud del trabajador, para garantizar su asistencia adecuada.	*Síntomas presentados. *Medicamentos sin prescripción *Antecedentes malformaciones congénitas. *Enfermedades de importancia clínica * Tratamiento médico	-

CAPITULO III

MARCO METODOLOGICO

3.1 Nivel de Investigación

La presente investigación se enmarca en el nivel descriptivo, que busca especificar aspectos importantes de personas, grupos, comunidades o cualquier otro fenómeno que sea sometido a análisis. Mide o evalúa diversos aspectos, dimensiones o componentes del fenómeno o fenómenos a investigar. Desde el punto de vista científico, describir es medir (Díaz y Heler, 2000).

3.2 Tipos de Investigación

Exploratoria, ya que no existen datos previos acerca del objeto de estudio que nos permita alcanzar el objetivo. La exploración permitirá obtener nuevos datos y elementos que pueden conducir a formular con mayor precisión las preguntas de investigación. (Arias, 2006)

3.3 Diseño de la Investigación

No experimental de campo, la exposición a los factores causales no está bajo el control del investigador. El presente estudio es de tipo transversal, porque miden en una población determinada en un tiempo determinado, la prevalencia del fenómeno y las causas o factores que la produjeron. (Rojas y Querales, 2006)

3.4 Población y Muestra

La muestra estuvo constituida por 21 trabajadores agrícolas de 3 caseríos agrícolas, Altamira, Santa Efigenia y Copetón localizados en la Parroquia Guigue del Municipio Carlos Arvelo Edo. Carabobo, en cada caserío los trabajadores

participaron voluntariamente en cada momento y situación, cabe destacar que no existen datos nacionales ni regionales con relación a la población expuesta a plaguicidas en la zona seleccionada y por razones tales como distancia, disponibilidad de vehículos rústicos para el traslado y por seguridad personal del investigador, se decidió seleccionar una muestra no probabilística.

El grupo control, estuvo conformado por 16 individuos del sexo masculino, sin antecedentes de exposición a plaguicidas, que desarrollan actividades administrativas en una institución de educación superior.

3.5 Recolección de la Información

Para llevar a cabo la investigación se revisó la bibliografía existente a fin de fundamentar los aspectos teóricos del estudio. La investigación se efectuó de acuerdo a los siguientes pasos:

Se elaboró un instrumento para la recolección de la información (Anexo N° 2) y un consentimiento informado (Anexo N° 1) que debería cada individuo firmar y plasmar su huella dactilar.

La entrevista a los trabajadores se hizo en su domicilio para el caso de los expuestos ocupacionalmente y en el lugar de trabajo para el grupo control, los días sábado de 10:00 a 12:00., en el período comprendido entre Agosto y Septiembre del 2008; con la finalidad de obtener un buen conocimiento de las características, tanto del colectivo expuesto a plaguicidas (masculino y femenino) como del control, actividad laboral que desempeñan y antecedentes personales. La I Parte de la entrevista estuvo referida a las características generales y datos de identificación,

utilizando variables demográficas, como edad, sexo, grado de instrucción, antigüedad laboral, tiempo de exposición a los plaguicidas y el tipo de actividad que realizan los trabajadores. La II Parte constituida por características relacionadas con el uso y manejo de plaguicidas con respuestas múltiples y afirmaciones o juicios ante los cuales se le pide la reacción de los sujetos afirmativa o negativa, esa parte responde a una escala con dos opciones: SI o NO, respectivamente. La III Parte constituida por las alteraciones a la salud ocasionadas por los plaguicidas referidos por los trabajadores y preguntas relacionadas a su historial médico (enfermedades, anomalías congénitas, medicación, antecedentes familiares,...), con la ocupación previa y actual, actividades de ocio, hábitos de consumo (alcohol, tabaco), y cualquier otro factor que pudiera interaccionar con la exposición. Además los expuestos ocupacionalmente deben responder a una serie de preguntas relacionadas con su actividad laboral: medidas de protección, productos utilizados, frecuencia de aplicación de plaguicidas, años de trabajo, accidentes de intoxicación, almacenamiento y preparación de los productos.

3.6 Toma de Muestra Sanguínea

Se procedió a llevar a cabo la toma de muestra sanguínea, para la determinación de parámetros hematológicos (recuento leucocitario, valores de hemoglobina, y otros índices sanguíneos), valoración renal (creatinina y urea), enzimas hepáticas (TGO, TGP) y la determinación de la Colinesterasa sérica y la actividad de la isoenzima CYP3A de la citocromo P450.

Técnica: Previo lavado y asepsia del antebrazo se punzo, tomando una muestra de

6 cc de sangre de la vena antecubital del pliegue del codo; se alicuotaron 2,5 cc de sangre con anticoagulante EDTA para la realización del perfil hematológico, y los restantes 3,5 cc fueron colocados en tubos de polietileno nuevos, libres de elementos trazas, para llevar a cabo la determinación de Urea, TGO, TGP, Colinesterasa Sérica y la determinación de la actividad de la isoenzima CYP3A4 de la citocromo P450.

3.7 Reactivos y Soluciones

- Agua destilada
- Agua libre de Luciferin.
- Reactivo de detección de Luciferin.
- Sustrato Luciferin-BE.
- Acido 5,5'-ditiobis-2- nitrobenzoico (DTNB)
- Placa de 96 pozos blancas y opacas sin preparación.
- Estándares para las pruebas de urea, creatinina.
- Enzimas liofilizadas: TGO, TGP, Colinesterasa.

3.8 Materiales y Equipos

- Analizador Hematológico MINDRAY BC-2300
- Analizador Parámetros Bioquímicos RAYTO 9200
- Luminometro FLUOROSKAN ASCENT (Luminometro y Fluorometro)

3.9 Recurso Institucional

Todas las muestras biológicas fueron analizadas en la Unidad de Toxicología Molecular de la Universidad de Carabobo (UTM) y en el Centro de Biología Molecular de Parásitos (BIOMOLP) de la Universidad de Carabobo.

4.0 Procesamiento de las muestras

* Fundamentos Técnicas:

Contaje de células hematológicas

Fundamento: Se basa en la propiedad de las células sanguíneas de no conducir la electricidad. La sangre total es diluida en una solución de conductividad estable, las células sanguíneas así diluidas se hacen pasar por un orificio de apertura con un área prefijada. Por dentro y fuera del orificio se disponen electrodos que establecen una diferencia de potencial. Cuando una célula pasa a través del orificio, se genera una resistencia entre ambos electrodos que se registra como un impulso. El número de impulsos se corresponde directamente con el recuento celular y como la amplitud del impulso es directamente proporcional al tamaño de la célula, es posible determinar también el volumen celular (Vives y col., 2002).

Hemoglobina y Hematocrito

Fundamento: Este método tiene como fundamento la transformación previa de la hemoglobina en cianmetahemoglobina (HiCN), que es muy estable y posee un color característico cuya absorbancia a 540 nm puede ser cuantificada comparándola con la de varias soluciones de concentraciones conocidas de hemoglobina preparadas a partir del patrón de referencia (curva de calibración). Los distintos compuestos de hemoglobina, excepto la sulfohemoglobina que casi nunca es significativa, se transforman en HiCN.

El hematocrito (Hto) es la relación existente entre el volumen de eritrocitos y el volumen total de sangre, expresado como porcentaje (Vives y col., 2002).

Creatinina.

Fundamento: Basado en la reacción de Jaffe, en el cual la creatinina reacciona con el ácido pícrico en solución alcalina, para formar un tautometro de Picricato de

Creatinina. Las sustancias interferentes son minimizadas con la formulación del buffer de reactivo alcalino. La intensidad de la reacción de creatinina en las muestras, es medida espectrofotométricamente en o cerca de 510nm (Tietz, 1986).

Valores de Referencia

De 0,8 a 1,4 mg/dL

Urea

Fundamento: La urea es desdoblada por la acción específica de una enzima: la ureasa, en CO₂ y NH₃. En una segunda etapa el NH₃ reacciona con fenol e hipoclorito en medio alcalino para producir un compuesto de color azul, que se determina colorimétricamente.

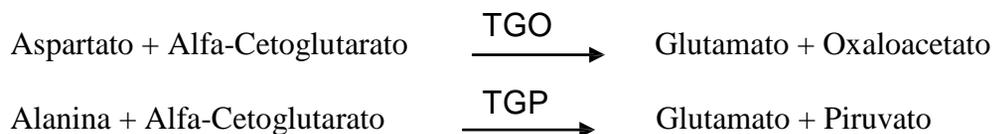
La concentración de Urea en Sangre se mide a una longitud de onda de 540 nm. (Talke y col., 1965)

Valores de Referencia

Normal en sangre: 15-40 mg/dl

TGO/TGP

Fundamento: la Transaminasa Glutámico Oxaloacética (TGO) y Glutámico Piruvica (TGP) catalizan las siguientes reacciones:



Los Cetoácidos formados, en presencia de 2,4 dinitrofenildiazina (DNPH)

forman en un medio alcalino, las respectivas hidrozonas coloreadas, cuya intensidad refleja la actividad de la transaminasas correspondiente. Se mide a 505nm. (Trinder, 1969)

Valores de Referencia

TGO: 4-36 U/ml

TGP: 4-32 U/ml

Determinación de Colinesterasa plasmática

La Colinesterasa sérica o plasmática (Pseudocolinesterasa o Butirilcolina esterasa) cataliza la reacción de hidrólisis de los ésteres de la colina, tal como la S-butirilcolina, con máxima actividad a pH 7,7. La tiocolina liberada reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2- nitrobenzoico (DTNB) produciendo un compuesto amarillo de acuerdo al siguiente esquema de reacción.



La velocidad de aparición de color es directamente proporcional a la actividad enzimática y se mide a 405 nm. (Okabe y col., 1977)

Valores de Referencia

Entre 4.970 y 13.977 (U/mL).

Protocolo para la Prueba del CYP3A4

El Sistema P450-Glo™ proporciona un juego completo de reactivo para

realizar ensayos de actividad de citocromo luminiscente. Los sistemas incluyen una preparación de la membrana que contiene enzima citocromo P450 humano recombinante, un sustrato luminogeno para citocromo P450, apropiado para la enzima, un sistema de regeneración NADPH, el buffer de reacción, el reactivo Luciferin de detección y agua libre de Luciferin. Las membranas están preparadas de células de insecto infectado con baculovirus y contienen enzima para citocromo humano P450 y P450 citocromo reductasa (y citocromo b5 para CYP2C9, 2C19 y 3A4). Una fracción de la membrana desprovista de la actividad de citocromo P450 también es incluida como un control negativo (Stresser y Momas, 2000).

La reacción del citocromo P450 es realizada incubando un sustrato luminógeno para citocromo P450 con una enzima citocromo P450 y el sistema de regeneración NADPH. Los sustratos luminogenos P450-Glo™ son los derivados de escarabajo luciferin [(4S)-4,5-dihidro-2-(6-hydroxybenzothiazolyl) - el ácido 4-thiazolecarboxilico o la D-luciferin], un sustrato de luciérnaga luciferase. El sustrato P450-Glo™ (Luciferin-ME, la Luciferin-H, Luciferin-BE, Luciferin-ME EGE, Luciferin-H EGE y Luciferin-PPXE) no reacciona con luciferasa, pero es convertido por la enzima citocromo P450 a un producto luciferin que reacciona con un Reactivo de Detección Luciferin para producir una luz, la cual es proporcional a la concentración de la D-luciferin producida después de la reacción con la citocromo P450 (Stresser y Momas, 2000).

El protocolo y los reactivos han sido probados para un óptimo rendimiento y menor tiempo para análisis. El formato luminoso disminuye tiempos de

reacción y otorga un alto rendimiento por el uso de placas con pocillos múltiples. No hay interferencia de fluorescencia, gracias al uso de luminiscencia. En los ensayos luminosos, no hay preocupación por la posible superposición entre la excitación fluorescente y longitudes de onda de emisión de los analitos (Cali y col, 2006).

El uso de una propiedad de la luciferasa de luciérnaga estabilizado (Ultra-Glo[™] luciferasa) y una formulación patentada del ensayo de luciferasa, minimiza la incidencia de falsos positivos debido a la inhibición de la luciferasa. La luminiscencia proporciona una señal estable con una vida media superior a 2 horas (Cali y col, 2006).

Cabe destacar que la isoforma CYP3A4, es una molécula que esta presente en condiciones basales en el organismo en condiciones fisiológicas, lo que hace que el abordaje metodológico para su determinación debe contemplar la determinación de ese nivel basal o fisiológico (por eso se empleo el grupo no expuesto) y analizar los datos en función del aumento en la expresión de la actividad de la enzima en los sujetos expuestos.

Realización del ensayo CYP3A4 P450-Glo[™]

Este protocolo es descrito para los 96 – pozos por placa:

- 1.- A cada pozo se le agrego 12,5 ul de muestra, previa dilución con agua libre de Luciferin.
- 2.- Se añadió 0,5 µl de D-Luciferin en cada pozo. Se mezcló brevemente.
- 3.- Se incubaron los ensayos a temperatura ambiente por un período no mayor a 30

minutos en un lugar libre de luz.

4.- Se agrego a cada pozo en estudio 50 ul del Reactivo de Detección de Luciferin. Se mezcló brevemente.

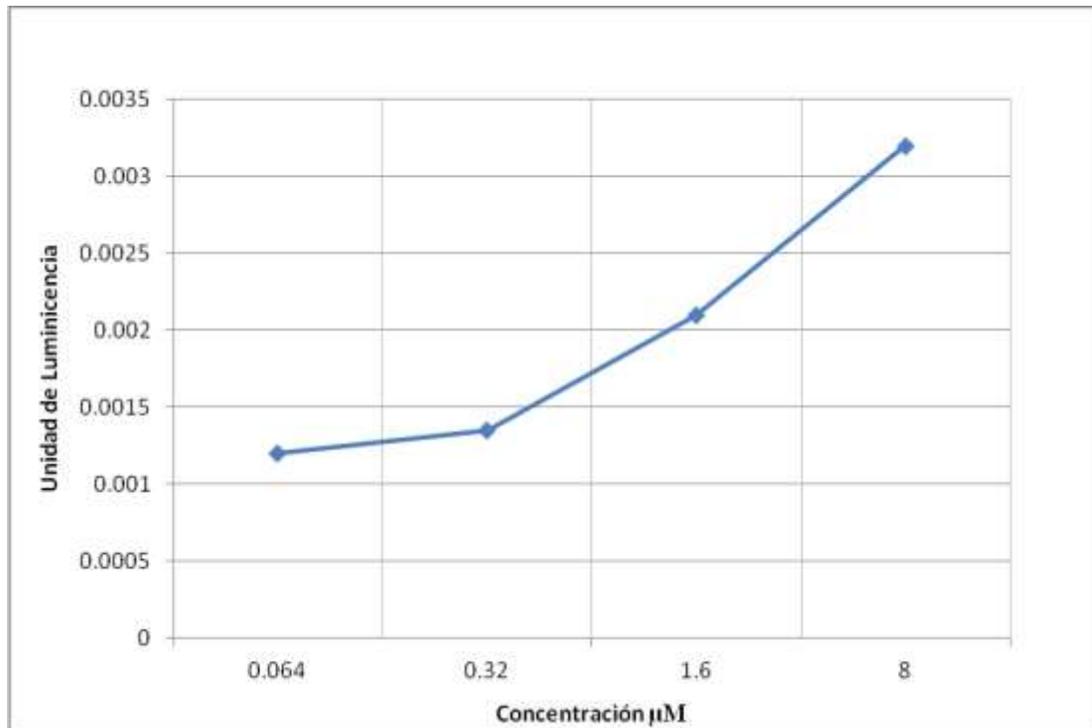
5.- Se incubaron los ensayos a temperatura ambiente durante 15 minutos para estabilizar la señal luminiscente.

Nota: Las incubaciones de temperatura ambiente son preferibles para la linealidad prolongada con el tiempo.

6.- La lectura se realizó en Equipo para luminiscencia (Cali y col, 2006).

Paralelo a la lectura de la actividad de la isoforma CYP3A4 según técnica descrita anteriormente, se realizo una curva de calibración exponencial, a partir de una solución de trabajo Luciferin-BE de concentración 80uM y se prepararon patrones 4X D-Luciferin de 8uM, 1,6uM, 0,32uM y 0,064 uM. La curva se muestra en el Figura N° 1.

Figura 1. Curva de calibrado para la determinación de concentración de isoforma CYP3A4



4.1 Técnicas de Análisis Estadístico

Los datos obtenidos serán analizados con el paquete estadístico SPSS versión 12.0. Se elaboraron cuadros de distribuciones de frecuencia y de asociación de datos. Se calcularon porcentajes, medidas de tendencia central como la media aritmética; medidas de dispersión como la desviación estándar. Se corroboró el ajuste de las variables numéricas a la distribución normal, con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se realizaron medidas de asociación como el coeficiente de correlación de Pearson, la prueba exacta de Fisher, en vista de no estar cubiertos los requerimientos estadísticos para la aplicación de la prueba χ^2 , y la t de student para comparar medias. Las diferencias entre las variables establecidas serán consideradas significativas para un nivel $p < 0,05$.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

En el presente estudio, fueron evaluados 37 individuos adultos, de sexo masculino, aparentemente sanos, conformando dos grupos uno expuesto y uno control, el expuesto se ubicó entre los caseríos Altamira, Santa Efigenia y Copetón pertenecientes a la Parroquia Guigue, Municipio Carlos Arvelo del Estado Carabobo y el grupo control conformado por 16 trabajadores, personal administrativo de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, sin antecedentes de exposición a plaguicidas.

Tabla 6

ESTADÍSTICAS DESCRIPTIVAS					PERCENTILES		
VARIABLES	N	X	+/-DS	MAX Y MIN	25%	50%	75%
EDAD (AÑOS)							
Grupo Expuesto	21	52,9	13,99	(27 - 88)	42,5	53	62,5
Grupo No Expuesto	16	31,5	7,33	(19 - 41)	24,5	33,5	38
ANTIGÜEDAD (AÑOS)							
Grupo Expuesto	21	20	12,58	(01 - 46)	9	20	27
Grupo No Expuesto	16	4,4	2,16	(01 - 08)	3	5	6

El grupo de expuestos estuvo conformado por 21 trabajadores dedicados a las actividades agrícolas, con una edad promedio de 52,9 +/- 13,99 años de edad (27 y 88 años) y un grupo no expuesto ocupacionalmente (grupo control), conformado por 16 trabajadores, personal administrativo de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, de sexo masculino, con edad promedio 31,5 +/- 7,33 años, rango de edad 19 a 44 años y sin antecedentes de exposición a plaguicidas. La

antigüedad en años de trabajo, en términos de promedio respecto al número total de trabajadores expuestos ocupacionalmente fue de 20 años con una desviación estándar

NIVEL DE INSTRUCCIÓN EN TRABAJADORES EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS				
GRADO DE INSTRUCCIÓN	Expuestos (n= 21)		No expuestos (n=16)	
		%		%
Analfabeta	4	19	0	0
Primaria	17	81	3	18,75
Secundaria	0	0	11	68,75
Técnico Superior	0	0	2	12,50
TOTAL	21	100	16	100

de 12,58 años, por el contrario para el grupo no expuesto fue de 4,4 +/-2,16 años.

Tabla 7

En cuanto al nivel de instrucción de la muestra en estudio en el grupo expuesto ocupacionalmente 4 individuos son analfabetas lo que corresponde al 19,04% y el restante 81,95 % culminó la primaria, por el contrario en el grupo no expuesto 11 individuos (68,75%) culminaron la secundaria, 3 (18,75%) la primaria y solo 2 (12,50%) informaron tener un nivel de Técnico Superior.

ACTIVIDAD DE LA COLINESTERAS Y LA ISOFORMA CYP3A4 EN EL GRUPO EXPUESTO Y NO EXPUESTO OCUPACIONALMENTE A PLAGUICIDAS.

VARIABLES	N	X	+/-DS	T	p
COLINESTERASA (U/l)					
Grupo Expuesto	21	6247,3	1811,26	3,14	0,003
Grupo No Expuesto	16	8088,8	1697,47		
CITOCROMO CYP3A4 (uM)					
Grupo Expuesto	21	1,64	2,89	1,13	0,26
Grupo No Expuesto	16	0,68	2		

Tabla 8

En la Tabla 8, se presentan los promedios y desviación estándar de la actividad de la colinesterasa y la isoforma CYP3A4 de los grupos evaluados. Para el grupo expuesto se observó un valor promedio de la actividad de la colinesterasa de 6247,3+/-1811,26 U/l y para el grupo control un valor promedio de colinesterasa sérica de 8088,8+/-1697,4 U/l Para la actividad de la isoforma CYP3A4 en el grupo expuesto es de 1,64+/-2,8 uM y el grupo control de 0,68+/-2 uM. Como se aprecia la actividad de la colinesterasa sérica se encuentra dentro de los parámetros considerados normales (4.970-13.977U/l) para ambos grupos según la técnica aplicada. Cabe destacar la existencia de una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) para el biomarcador de efecto en estudio, indica que la exposición a los

plaguicidas afecta considerablemente los niveles de colinesterasa sérica en los agricultores expuestos a los plaguicidas.

Tabla 9

ACTIVIDADES AGRÍCOLAS EN TRABAJADORES EXPUESTOS				
Variables	N	%	Caserío Agrícola (n)	Plaguicidas Empleado
FUMIGA	2	9,5	Copeton (1) Santa Efigenia (1)	Altamente tóxico
FUMIGA Y SIEMBRA	3	14,4	Altamira (3)	Ligeramente toxico Moderadamente toxico Altamente tóxico
FUMIGA Y MEZCLA	2	9,5	Copeton (2)	Altamente toxico Moderadamente Toxico
FUMIGA Y MEZCLA	4	19	Santa Efigenia (4)	Altamente toxico Ligeramente tóxico
FUMIGA Y MEZCLA	8	38	Altamira (8)	Altamente toxico Ligeramente tóxico Moderadamente Toxico
EXPENDE Y TRANSPORTA PLAGUICIDAS	1	4,8	Altamira (1)	Altamente Toxico
TRANSPORTA PLAGUICIDAS	1	4,8	Altamira (1)	Altamente Toxico
TOTAL	21	100	-	-

Con relación a las actividades que ejecutan los individuos que conforman el grupo expuesto (Tabla 9), el 66,5 % de ellos mezclan y aplican los plaguicidas y el 14,4 % de los individuos de ese mismo grupo siembran y fumigan sus plantaciones.

Cabe destacar que los 21 trabajadores expuestos manipulan directamente los plaguicidas, laboran aproximadamente 6 horas diarias por día.

La frecuencia de uso de los plaguicidas por los trabajadores agrícolas estudiados fue: organofosforados amidor y difos 100% de los casos, herbicidas tales como glifoxan (fosfonico) 36,4% y gramoxone (paraquat) 34,1 %, fungicidas como Manzate (ditiocarbamato), Cobrethane (ditiocarbamato cúprico) y Cobrex (cúprico) 4,5% en cada caso, Dithane como ditiocarbamato fungicida, Captan como carboxamida fungicida, Bravo 500 fungicida ftalonitrilo, Flex herbicida perteneciente al grupo químico difenileter y por último Hache uno 2000 herbicida del grupo químico fenoxipropionato con una frecuencia de uso del 2,3 % en el grupo expuesto.

Los trabajadores expuestos del caserío Altamira refieren en un 92.3 % utilizar plaguicidas altamente tóxicos (Gramoxone y Amidor), 3.7% ligeramente toxico (Glifoxan, Manzate, Cobrethane, Cobrex, Dithane, Captan, Bravo 500 y Hache uno 2000) y 4.0% moderadamente toxico (Difos). En el caserío Santa Efigenia el 60% de los trabajadores refiere uso de plaguicidas ligeramente tóxicos y el 40% altamente toxico. En Copetón el 66,6% informa uso de agroquímicos altamente (Amidor) y el 33.4% moderadamente toxico (tales como Flex y Difos). Es importante resaltar que el 100% de los trabajadores de la zona de Copetón presento niveles de colinesterasa significativamente por debajo de los valores de referencia.

Según información suministrada por el grupo estudiado el 80% de los trabajadores desconoce información de las etiquetas de los productos que aplican, el 90,5% prepararan las mezclas alejados de las viviendas, fuentes de agua y depósitos

de alimentos, y el 52,4 % conoce sobre los efectos negativos sobre la salud de los mismos, pero a pesar de ello el 90,5% de los encuestados emplean los mismos plaguicidas que utilizan en las siembras en el hogar para el control de la plaga y el 47,6 almacena estos productos en el hogar en un anexo techado.

El total de los trabajadores agrícolas estudiados manifiestan aplicar los plaguicidas a favor del viento y lo hacen de 2 a 3 veces/semana.

Asimismo, el 95,2% de los trabajadores encuestados, refieren no bañarse ni lavar la ropa después de la jornada laboral pero, si se cambian la ropa antes de irse a su hogar en un 52,4% de los encuestados. El 81 % se asean parcialmente luego de finalizada su labor. Es importante resaltar que el 100% de los trabajadores no utilizan equipos de protección personal, por otra parte el mismo porcentaje de trabajadores emplean el tanque de espalda para aplicar los plaguicidas y lo guardan en el área externa de la vivienda .

En el grupo en estudio se observa que el 100% de los trabajadores toman agua durante la jornada laboral, evita consumir alimentos y el 52,4 % no fuma, y el mismo porcentaje consume bebidas alcohólicas. El grupo control acoto no fumar ni consumir bebidas alcohólicas.

Con relación a la forma de eliminación de los envases de plaguicidas, el 100% de los trabajadores los entierran y abandonan donde laboran .

En cuanto a los tipos de cultivos agrícolas hacen referencia a : cambur y yuca en el 82,9% y en menor proporción se trabaja con caraotas y tomates. Es de destacar

que el 100% de los productos provenientes de las cosechas no recibe ningún tratamiento previo antes de venderse.

En cuanto a las manifestaciones clínicas, los síntomas referidos por los trabajadores fueron: 23,8% mareos, debilidad, fatiga y dificultad para concentrarse, el 42,9% visión borrosa, cefaleas y tos seca, 28,6% tos con expectoración e irritabilidad y fotofobia en el 19% de los casos, en un 14% cólicos abdominales, confusión mental, temblor muscular, sabor amargo y lagrimeo excesivo y en un 9,5 % alergias, dificultad para caminar. Los síntomas referidos por los trabajadores expuestos están asociados a manifestaciones clínicas debido a la exposición a organofosforados. Por el contrario el grupo control no refirió ninguno de los síntomas antes mencionados. Se realizó la prueba exacta de Fisher para cada uno de los síntomas tanto en el grupo expuesto como en el control evidenciándose que el síntoma temblor muscular (neurológico) es estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

Cabe destacar que la población expuesta al igual que la control no refirieron antecedentes patológicos personales .

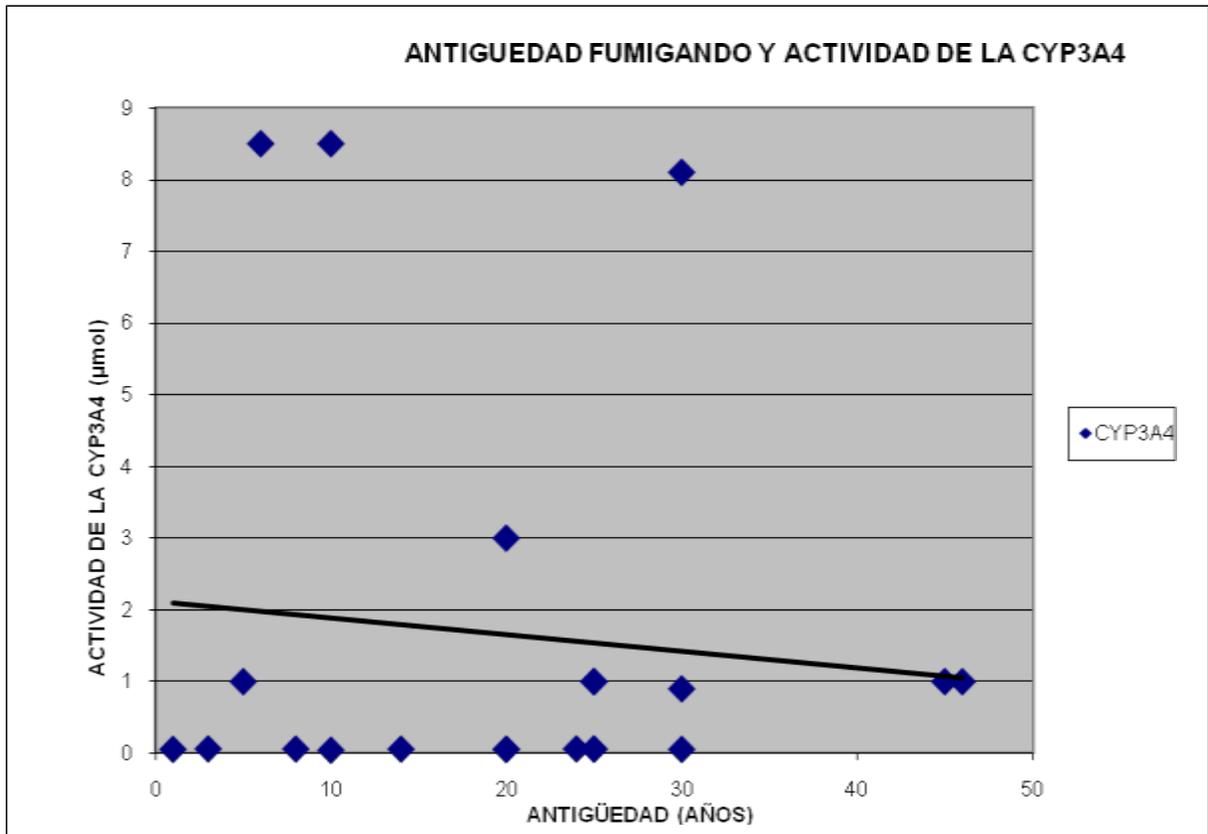
Tabla 10

PARÁMETROS HEMATIMÉTRICOS Y BIOQUÍMICOS DE LABORATORIO PARA AMBOS GRUPOS EN ESTUDIO						
PARÁMETROS	Expuestos (n=21)		No expuestos (n=16)		p	Valores de referencia
	X	+/-DS	X	+/-DS		
Hemoglobina	14,47	1,12	14,62	1,44	0,735	11,00 - 15,00 g/dl
Plaquetas	253,85	47,86	283,43	64,59	0,138	150 - 450.103/uL
Glóbulos Blancos	7610	1628,33	7462,5	2199,35	0,825	5000 - 10000 cel/uL
Transaminasa					0,008	

Oxaloacetica (TGO)	21,27	5,38	12,25	11,37		hasta 40 U/ml
Transaminasa Piruvica (TGP)	22,68	4,45	12	12,17	0,004	hasta 38 U/ml
Creatinina	0,86	0,12	0,79	0,18	0,207	0,5 - 1,4 mg/dl
Urea	18,68	3,55	20,01	2,75	0,208	15 - 45 mg/dl

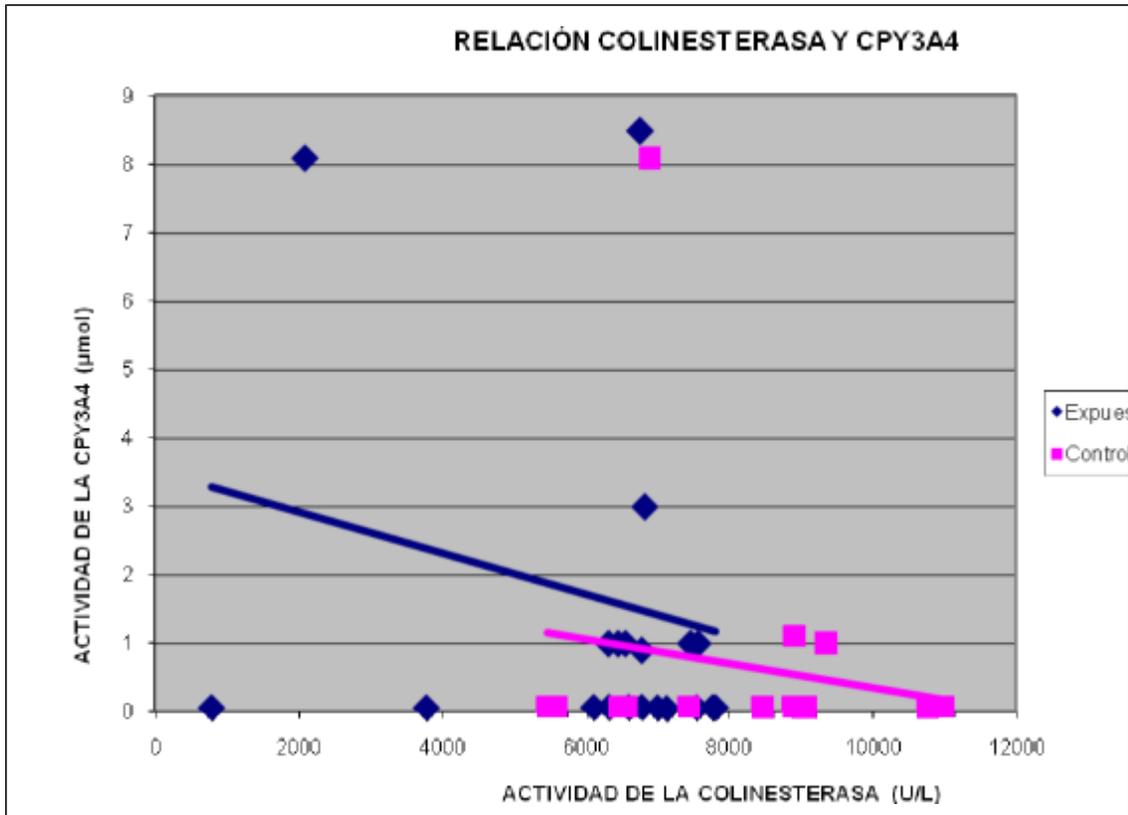
En la Tabla 10, se observan los promedios y desviación estándar de los valores del perfil hematológico, hepático y renal que se realizó a los grupos evaluados. Todos los parámetros que se presentan en la tabla se encuentran dentro de los valores normales, detectando diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para los valores de TGP, TGO ($p < 0,05$).

Figura 2. Correlación entre actividad de la isoforma CYP3A4 y la variable antigüedad.



En la figura N°2 se relaciona la antigüedad ejerciendo labores agrícolas y la actividad de la CYP3A4, se observa que la actividad de la isoforma CYP3A4 esta disminuida en la mayoría de los casos independientemente de la antigüedad laboral, sin embargo en cuatro trabajadores evaluados, los niveles de la isoforma determinada se observan altos independientemente de la antigüedad en años de exposición a los plaguicidas, lo que permite hacer referencia que los diferentes niveles de expresión de la CYP3A4 como potencial generador del metabolito toxico (oxon) de plaguicidas, es decir el proceso de balance entre activación / detoxificación para metabolizar xenobióticos, dependen de la susceptibilidad de los individuos expuestos. Sin embargo, dos de los pacientes con menor antigüedad laboral presentaron elevada actividad de la isoforma con respecto a los que tienen mayor antigüedad de exposición. ($r^2=0,101$; $p>0,05$)

Figura 3. Correlación entre las variables Niveles de Colinesterasa y de la Isoforma CYP3A4



En la población estudiada, según la información mostrada en la Figura 3, a menor actividad de la colinesterasa sérica, inhibida por la exposición a organofosforados y carbamatos, mayor la activación de la isoforma CYP3A4 para la metabolización de xenobioticos; en el grupo control aunque los valores de

colinesterasa se encuentran entre los límites normales se presenta la misma tendencia pero en menor proporción. Se obtuvo una correlación negativa y no estadísticamente significativa entre la actividad de la isoforma CYP3A4 y la colinesterasa (Expuestos $r^2=0,101$; $p>0,05$ y No Expuesto $r^2= 0,149$; $p>0,05$).

Estos resultados indican mayor actividad de la CYP3A4 a niveles bajos de la colinesterasa, sin duda, debido a la participación protagónica del CYP3A4 en los procesos oxidativos de biotransformación de los plaguicidas organofosforados en el hígado humano. Prueba en apoyo de esta aserción pueden ser el hecho de la diferencia significativa encontrada en los niveles de colinesterasa entre el grupo expuesto y el control.

DISCUSIÓN

La muestra estudiada estuvo constituida por 37 individuos adultos, de sexo masculino, aparentemente sanos. El grupo de expuestos estuvo conformado por 21 trabajadores dedicados a las actividades agrícolas, con una edad promedio de 52,9 +/- 13,99 años (27 y 88 años). La antigüedad en años de trabajo, en términos de promedio respecto al número total de trabajadores expuestos ocupacionalmente fue de 20 años con una desviación estándar de 12,58 años, situación similar a la presentada por Milla y colaboradores (2002) ya que parte de la población estudiada era mayor a 51 años de edad y un tiempo de dedicación a la actividad agrícola entre 11 y 20 años. Similares características presentaba la población estudiada por Muller y colaboradores (2009).

En cuanto al nivel de instrucción de la muestra en estudio en el grupo expuesto ocupacionalmente 4 individuos son analfabetos lo que corresponde al 19,04% y el restante 81,95 % culminó la primaria; en las investigaciones de Palacios el 34,6% de la población estudiada no sabe leer ni escribir y el 28,9% culminó la primaria. En el estudio de García en el 2006 el 90,3% sabe leer y escribir. En cambio en el estudio realizado por Muller y colaboradores, el 20,2 % de la población estudiada completó la primaria y el 12,9 % culminó la secundaria. (García, 2006, Muller, 2009; Palacios 2009).

Se pudo constatar que el 80% de los trabajadores desconoce información de las etiquetas de los productos que aplican contrariamente a los resultados reportados por García (2006) y el 90,5% prepararan las mezclas alejados de las viviendas, fuentes de agua y depósitos de alimentos, similares descripciones en los estudios de Milla y colaboradores (2002). En el estudio de Muller y colaboradores, el 53,3 % de los trabajadores agrícolas recibe orientación técnica para el uso adecuado de los agroquímicos directamente del vendedor en un 53,3% de los casos, seguido de un 19,7% que recibe orientación de técnicos especialistas (Milla, 2002; García, 2006; Muller, 2009). Sería importante que este tipo de programas se desarrollaran en nuestro país, ya que un nivel básico de educación no garantiza el manejo adecuado de la información suministrada en el envase de los agroquímicos, según lo refleja el presente estudio.

Es importante destacar que los trabajadores en un 100% desconocen la toxicidad de los plaguicidas, sin embargo, en el estudio de Milla y colaboradores en el 2002, el 35,78% de los casos tienen un conocimiento adecuado de los efectos tóxicos. Estas estadísticas son alarmantes, por tal razón, el trabajador se debe capacitar sobre el manejo de los plaguicidas, así como la conveniencia de su uso (Milla 2002).

La exposición de los trabajadores agrícolas a plaguicidas en este estudio se relaciona en un 90,38% con las siguientes actividades carga de las mezclas en los

equipos, aplicación y limpieza de los mismos. Un 66,6% del total de los trabajadores expuestos, además de las actividades referidas anteriormente, también realizan las mezclas de los plaguicidas. Se ha señalado que en general, mezclar y cargar los equipos implica una mayor exposición, ya que el plaguicida se encuentra todavía sin diluir, similares actividades desarrolla el 85% de los individuos del grupo expuesto en el estudio de García y Zamora. Para Muller y colaboradores, más del 90% de los trabajadores agrícolas estudiados mezcla y aplica el plaguicida y ese mismo porcentaje aproximadamente limpia los equipos de fumigación luego de cada jornada laboral. Cabe destacar que la aplicación de plaguicidas en el estudio de Muller se lleva a cabo empleando un tractor a diferencia del presente estudio en el que utilizan el tanque de espalda (García 2006; Muller 2009; Zamora 2009).

En esta investigación y en bibliografía consultada, el uso de diferentes tipos de agroquímicos es frecuente, en tal sentido cabe destacar que los agricultores consultados refirieron utilizar los plaguicidas organofosforados en el 100% de los casos, herbicidas del tipo glifoxan en el 36,4% y gramoxone (paraquat) en el 34,1%, seguidos por fungicidas ditiocarbamatos (4,5%). Estos datos ponen de manifiesto la complejidad de la exposición a plaguicidas altamente, moderadamente y ligeramente tóxicos en este colectivo de trabajadores. Al comparar el presente estudio con el de García (2006), se constató que los organofosforados también empleados en dicha investigación, fueron los más usados, seguidos por los herbicidas (glifoxan y paraquat) al igual que el estudio de Zamora y las investigaciones de Muller, los cuales

reportaron un 98% de uso de Glifosato (herbicida), un 97,4% de insecticidas organofosforados y un 88,8% de fungicidas (García, 2006; Muller, 2009; Zamora 2009).

El 90,5% de los encuestados emplean plaguicidas en el hogar y el 47,6% almacena estos productos en el hogar en un anexo techado, incluyendo los que utiliza en el lugar de trabajo, mientras que el 72,48% de los agricultores estudiados por Milla y colaboradores (2002), almacena plaguicidas dentro de la casa y un porcentaje de ellos los almacena en un deposito fuera de la casa; en los reportes de Amaya el 50,9% almacena plaguicidas en un cuarto aislado, 36,4% en campo abierto y el 12,7% dentro de la casa, estos datos resultan alarmantes, pues evidencian el poco conocimiento de los agricultores sobre los efectos nocivos de los plaguicidas en el organismo. Por el contrario la población expuesta estudiada de Siquisique en el Estado Lara-Venezuela, el 87,8% almacena los plaguicidas correctamente y según la Norma Covenin y el 92,7% prepara los productos en la parcela donde fumiga (Milla 202; Garcia 2006; Amaya 2008).

El total de los trabajadores agrícolas estudiados manifiestan aplicar los plaguicidas a favor del viento y lo hacen de 2 a 3 veces/semana. En el grupo en estudio, se observa que el 100% de los trabajadores toman agua durante la jornada laboral, evitan consumir alimentos y el 52,4 % no fuma y el mismo porcentaje consume bebidas alcohólicas. En el estudio de Milla y colaboradores, el 82,57% de

los agricultores también refiere consumir agua durante la jornada de fumigación, por el contrario en la investigación de García (2006) el grupo expuesto evita fumar, comer y beber durante la aplicación de los plaguicidas (Garcia, 2006; Milla, 2002).

El 95,2% de los trabajadores declara no bañarse ni lavar la ropa después de la jornada laboral, se cambian la ropa antes de retirarse de su puesto de trabajo, en un 52,4% de los encuestados, y el 81 % se asean parcialmente luego de finalizada su labor. Porcentajes similares fueron reportados por García (2006) y Amaya (2008) y la razón es la misma, ya que los agricultores no cuentan con las condiciones necesarias en su sitio de trabajo, aunque lo recomendable según la normativa legal es bañarse y cambiarse en el sitio de trabajo (Norma Covenin 1996; Garcia 2006; Amaya 2008).

En cuanto al uso de equipos de protección personal tanto en los estudios de García (2006) y Milla y col. (2002), más de la mitad de la población estudiada emplea equipos de protección personal y les realizan mantenimiento luego de finalizada la jornada laboral. En el estudio de Muller y colaboradores más del 95% de los trabajadores agrícolas emplea equipos de protección personal, en cambio es importante resaltar que el 100% de los trabajadores estudiados en los caseríos agrícolas de Guigue no utilizan equipos de protección, lo que explicaría los bajos niveles de colinesterasa sérica en algunos de los trabajadores evaluados, al igual que en el análisis de riesgo mostrado por Amaya y Zamora (Milla, 2002; García, 2006; Amaya 2008; Muller 2009; Zamora 2009).

Los resultados de este estudio sugieren que los trabajadores agrícolas que manipulan plaguicidas desconocen los riesgos derivados de la exposición a estos productos y utilizan muy deficientemente las medidas de protección personal, contrario a lo expuesto en la Norma Covenin Venezolana 2268:1996 (Norma Covenin 1996). Ello pone de manifiesto la necesidad de desarrollar programas dirigidos a la formación, en cuanto a las medidas de protección necesarias para resguardar la integridad del trabajador expuesto a este producto. Por otra parte, el desarrollo de vigilancia epidemiológica nos permite establecer un monitoreo biológico ante la exposición a plaguicidas, relacionados con biomarcadores de exposición y de efectos sobre la salud de los trabajadores expuestos, descritos en esta investigación.

En tal sentido y con la finalidad de disminuir la exposición a sustancias tóxicas, el Instituto Nacional de Prevención, Salud y Seguridad laboral (INPSASEL), a través de sus Direcciones Estadales de Salud de los Trabajadores (DIRESAT), está desarrollando un Plan Nacional para el Sector Agrícola, con el cual se busca disminuir los riesgos que producen accidentes y enfermedades ocupacionales en los trabajadores y trabajadoras de este sector. Uno de los componentes de este Plan Nacional lo constituye la elección de los delegados y delegadas de prevención, tal como lo establece la Ley Orgánica de Prevención, Condiciones y Medio Ambiente de Trabajo (LOPCYMAT), en su artículo 41. También se hace necesario que el Estado a través de las Direcciones Estadales de Salud, promueva el uso de plaguicidas y

fertilizantes de origen biológico, además de instruir a los trabajadores en la aplicación de plaguicidas a ciertas horas para que la evaporación no afecte a los mismos (Ministerio de Salud y Desarrollo Social, 2005).

Según la forma de eliminación de los envases de plaguicidas, el 100% de los trabajadores los entierran y abandonan en los espacios en que laboran, igual procedimiento aplican los agricultores estudiados por Milla y colaboradores (2002), todo esto trae como consecuencia un problema de origen ambiental y laboral que repercute directamente sobre la forma de vida y salud de los mismos agricultores y sus familias, ya que los envases deben ser tratados por una empresa autorizada para retirar residuos tóxicos y peligrosos. Lo expuesto anteriormente, es contrario a la forma de eliminación por incineración de predominio en los trabajadores de García (2006). En las investigaciones de Muller y colaboradores, la forma de eliminación es el almacenaje selectivo de los envases en un 86,3%, para ser posteriormente retirados por entes gubernamentales del Estado (Milla, 2002; García, 2006; Muller, 2009).

En cuanto a los síntomas el 23,8% de los trabajadores refiere mareos, debilidad, fatiga y dificultad para concentrarse, el 42,9% visión borrosa, cefaleas, 28,6% tos seca, 19% de los casos tos con expectoración, irritabilidad y fotofobia, 14% cólicos abdominales, confusión mental, temblor muscular, sabor amargo y lagrimeo excesivo, 9,5 % alergias y dificultad para caminar. El cortejo sintomático referido por los trabajadores juega un papel importante en el diagnóstico de una

intoxicación aguda o crónica, resaltando que el mayor porcentaje se ubica en la esfera neurológica. Para Muller y colaboradores la irritación ocular fue el síntoma que refirió la población estudiada en mayor porcentaje, seguido por el lagrimeo excesivo y el dolor de cabeza (Muller y colaboradores 2009). En el estudio de Safi y colaboradores los síntomas más comunes en individuos expuestos fueron dolor de cabeza, lagrimeo excesivo y dolor abdominal. También ardor, picazón o irritación y erupción de la piel, dolor del pecho y vértigo (Safi 2005). Similares resultados se describen en el estudio de García donde el 65,9% de la población expuesta refirió cefaleas, 76,8% afecciones oculares, 73,2% dermatitis, 26,8% polineuropatías y 17,2% depresión y disminución de la concentración, similares observaciones presenta el estudio de Amaya. Al igual que el presente estudio, los autores consultados refirieron en general síntomas relacionados con exposición a plaguicidas, predominando los de la esfera neurológica. (García 2006; Amaya 2008).

Los parámetros bioquímicos evaluados en el presente estudio, se encuentran dentro de los valores de referencia, detectando diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos para los valores de TGP, TGO ($p < 0,05$), esto podría estar relacionado al hecho de que los plaguicidas tienen metabolización hepática, sin embargo es importante resaltar que los datos aportados por la encuesta el 52,4 % de los trabajadores informo consumir bebidas alcohólicas. El consumo de bebidas alcohólicas en los trabajadores agrícolas esta descrito en el estudio de

Cardenas, Amaya y Muller, como complicación en los casos de intoxicación por plaguicidas debido a la sobrecarga del hígado y la neurotoxicidad resultante de la acción de ambas sustancias (Cardenas 2005; Amaya 2008; Muller 2009).

Con relación a los parámetros hematológicos Safi y colaboradores detectaron disminución en el contenido de hemoglobina y hematocrito en los trabajadores, en el presente estudio los dichos valores hematológicos se ubicaron dentro del rango de referencia normal, tanto para el grupo expuesto como control. Safi y colaboradores hallaron aumento del conteo de leucocitos después de la administración de plaguicidas, resultados similares se obtuvieron en los trabajadores agrícolas de la Parroquia de Guigue participantes del estudio (Safi y col. 2006).

Para el grupo expuesto se observó un valor promedio de la actividad de la colinesterasa de 6247,3+/-1811,26 U/L y para el grupo control un valor promedio de colinesterasa sérica de 8088,8+/-1697,4 U/L. Cabe destacar la existencia de una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,05$) para el biomarcador de efecto en estudio, lo cual indica que la exposición a los plaguicidas afecta considerablemente los niveles de colinesterasa sérica en los agricultores expuestos a los plaguicidas organofosforados, que no emplean equipos de protección, laboran en malas condiciones de trabajo, poseen poco conocimiento sobre el uso de los plaguicidas nocivos para la salud y almacenan en la mayoría de los casos los plaguicidas en

depósitos fuera de sus viviendas. Resultados comparables se encontraron en el estudio de Amaya y colaboradores. Por el contrario en la investigación de Safi, no se reportaron diferencias estadísticamente significativa para la colinesterasa (Safi, 2006; Amaya 2008).

Al relacionar el tiempo de exposición a plaguicidas y la actividad de la colinesterasa, solo 3 de los pacientes expuestos a plaguicidas con antigüedad mayor a 20 años pero menor a 30 años de exposición a los xenobióticos en estudio, presentaron valores de actividad de la colinesterasa inferiores a la media de la población en estudio, cabe señalar que estos tres agricultores son del mismo caserío agrícola (Copetón), se dedican a las actividades de fumigación y mezcla de plaguicidas y emplean al igual que los otros agricultores plaguicidas altamente, moderadamente y ligeramente tóxicos. Sin embargo, Milla y colaboradores, encontraron que a mayor antigüedad menor son los niveles de actividad de la colinesterasa sérica (Milla, 2002).

Para la actividad de la isoforma CYP3A4 la media en el grupo expuesto es de $1,64 \pm 2,8$ uM y el grupo control de $0,68 \pm 2$ uM. Al relacionar la antigüedad ejerciendo labores agrícolas y la actividad de la CYP3A4, se observa que la actividad de la isoforma CYP3A4 es baja y no es dependiente de la antigüedad laboral al xenobiotico, sin embargo en cuatro pacientes evaluados, los niveles de la isoforma determinada están alterados a pesar de la antigüedad, en comparación con el resto del

grupo en estudio, lo que permite inferir que los diferentes niveles de expresión de la CYP3A4 como potencial generador del metabolito tóxico (oxon), es decir el proceso de balance entre activación/detoxificación para metabolizar xenobióticos, depende de la susceptibilidad de los individuos expuestos.

Por otra parte, se observa la actividad de la colinesterasa sérica inhibida por la exposición a organofosforados y carbamatos con la activación de la isoforma CYP3A4 para la metabolización de dichos xenobióticos en el grupo expuesto, mientras que en el grupo control aunque los valores de colinesterasa se encuentran entre los límites normales se presenta la misma tendencia pero en menor proporción.

Es importante resaltar que los miembros individuales de las superfamilias de enzimas CYP biotransforman un sinnúmero de sustratos que han sido extensamente estudiados en animales de experimentación, principalmente por su rol en el metabolismo hepático de diversos xenobióticos. Sin embargo, existen escasos estudios en humanos, y su expresión y actividad puede estar alteradas en varias patologías, además, de que la expresión y actividad de CYP es modulada por una serie de factores como sexo, dieta, edad, estado hormonal y tratamiento con medicamentos.

En el futuro, sería importante avanzar en el conocimiento de los factores fisiológicos, celulares, moleculares y sanguíneos responsables en la regulación del

CYP y su importancia en el diagnóstico, desarrollo de nuevos tratamientos y enfoques terapéuticos, este último señalado en los estudios de Buratti y colaboradores, con relación a las posibles diferencias interindividuales en susceptibilidad en algunos individuos, debido a los diferentes niveles de expresión de CYP3A4 o de exposición a heteroactivadores y el comportamiento cinético atípico de esta isoenzima, que no ha sido dilucidado, y más allá de la investigación se hace necesario explorar la ocurrencia de este fenómeno in vivo y la posibilidad de usar inhibidores específicos de CYP3A4 como tratamiento complementario en pacientes intoxicados con organofosforados, para evitar la formación de oxones, esto es debido a que la CYP3A4 no es completamente saturada por encima de concentraciones de 100uM de plaguicidas organofosforados; también se puede presentar por alto contenido hepático de esta isoenzima que puede resultar relevante en episodios de intoxicación, cuando los individuos son expuestos a altas dosis de organofosforados y carbamatos (Buratti, 2007).

En este sentido, a mediano o largo plazo puede implementarse el uso de estos biomarcadores como rutina, debido a que permitirían detectar alteraciones bioquímicas precoces antes de que terminen presentándose manifestaciones clínicas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

Finalizado el estudio se pueden presentar las siguientes reflexiones:

El estudio se realizó en trabajadores del sexo masculino expuestos a plaguicidas, con una edad promedio de 52,9 a (27 y 88 años), con una antigüedad promedio de 20 +/- 12,58 años.

Los plaguicidas de mayor uso por los trabajadores agrícolas estudiados fue: el 100% organofosforados y carbamatos y los herbicidas 36,4%, los cuales fueron clasificados según la DL50 como altamente, moderadamente y ligeramente tóxicos.

Del grupo expuesto ocupacionalmente 4 individuos (19,04%) son analfabetas y el 81,95 % culminaron estudios de educación primaria.

Los trabajadores expuestos demostraron escasos conocimientos sobre los efectos de los plaguicidas en la salud, no acatan las medidas de higiene y seguridad en el empleo de los mismos según lo establecido en la Norma Técnica Covenin 2268:1996 y el 47,6% de los agricultores almacenan los plaguicidas en el hogar en un anexo techado, contrario a los procedimientos establecidos en la normativa legal vigente, por otra parte el 100% de los trabajadores emplean el tanque de espalda para aplicar los plaguicidas.

El grupo estudio refirió manifestaciones clínicas sugestivas de efectos por exposición a Organofosforados y Carbamatos, cabe destacar que el síntoma temblor muscular (neurológico) fue estadísticamente significativo ($p < 0,05$).

Con relación a las actividades que ejecutan los individuos, el 90,38% carga de las mezclas en los equipos, aplicación y limpieza de los mismos. Un 66,6% del total de los trabajadores expuestos, además de las actividades referidas anteriormente, también realizan las mezclas de los plaguicidas.

Según la forma de eliminación de los envases de plaguicidas, el 100% de los trabajadores los entierran y abandonan en los terrenos donde laboran.

El 82,9% de los cultivos agrícolas son el cambur y yuca y en menor proporción caraotas y tomates.

La existencia de una asociación estadísticamente significativa ($p < 0,05$) para el biomarcador de efecto en estudio, indica que la exposición a los plaguicidas afecta considerablemente los niveles de colinesterasa sérica en los agricultores expuestos a los organofosforados y carbamatos. Es importante destacar que solo 3 de los pacientes expuestos a organofosforados y carbamatos con antigüedad mayor a 20 años pero menor a 30 años de exposición a los xenobióticos en estudio, presentaron valores de actividad de la colinesterasa menor a la media de la población en estudio, cabe señalar que estos tres agricultores son del mismo caserío agrícola (Copetón).

La actividad de la isoforma CYP3A4 es baja en el presente estudio y no es dependiente de la antigüedad laboral al xenobiotico; sin embargo, en cuatro trabajadores evaluados, los niveles de la isoforma determinada están alterados a pesar del tiempo de exposición en comparación con el resto del grupo en estudio, lo que permite hacer referencia a que los diferentes niveles de expresión de la CYP3A4 como potencial generador del metabolito toxico (oxon) de plaguicidas organofosforados y carbamatos, es producto de un proceso de balance entre activación/destoxificación para metabolizar los xenobióticos y dependen de la susceptibilidad de los individuos expuestos.

RECOMENDACIONES

1.- La capacitación de los agricultores de las zonas estudiadas por parte de las autoridades pertinentes, en relación a usos, beneficios y riesgos de los plaguicidas, medidas de protección, almacenamiento y desecho adecuado, entre otros aspectos.

2.- Se recomienda realizar controles periódicos de los niveles de Colinesterasa sérica a las personas expuestas a plaguicidas.

3.- La frecuencia de las aplicaciones y el uso de mezclas, son factores que incrementan la contaminación ambiental y el riesgo de intoxicación no solamente en sus familias sino también en el resto de la población.

BIBLIOGRAFIA

- Arias, F. (2006). El proyecto de investigación. Introducción a la metodología científica. Quinta edición. Editorial Episteme. Caracas, Venezuela.
- Amaya, E. Roa, A. Camacho, J. y Meneses S. (2008) Valoración de factores de riesgo asociados a los hábitos de manejo y exposición a organofosforados y carbamatos en habitantes y trabajadores de la vereda de Bateas del municipio de Tibacuy, Cundinamarca, Colombia. *Publicación Científica en Ciencias Biomédicas*, 6(10):147-155.
- Belize. Ministry of Health. Manual for de Epidemiological Surveillance of Acute Pesticide Intoxication in Belize. Belize, 2000, pp-20.
- Bhatnagar, V. Karnik, A. Sutra, A. & Dewey, R. (2002). Biological indices in formulators exposed to a combination of pesticides. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 68:22-28.
- Bissetl, J. (2002). Uso correcto de insecticidas: control de la resistencia. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 54(3):100-110.
- Buratti F, Leoni C, Testai E. (2006). Foetal and adult human CYP3A4 isoforms in the bioactivation of organophosphorothionate insecticides. *Toxicology Letters* 167: 245-255.
- Buratti, FM y Testai, E. (2007). Evidences for CYP3A4 autoactivation in the desulfuration of dimethoate by human liver. *Toxicology*. 241(1-2):33-46
- Cali, J., Rivas, A., Carreño, J. & Olea-Serrano, F. (2006). Luminogenic cytochrome P450 assays. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology* 1.2,629-45.
- Capdevila, J. Faick, J. & Harris, R. (2003). Cytochrome P-450 and arachidonic acid bioactivation. Molecular and functional properties of the arachidonate monooxygenase. *Journal of Lipid Research*. 41, 163-181.
- Cardenas, O. Silva, E. Morales, L. y Ortiz, J. (2005). Estudio epidemiológico de exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos en siete departamentos colombianos, 1998-2001. *Biomédica*. 25:170-80.
- Carmona-Fonseca, J. (2007). Correlación y conversión entre los valores de actividad de la conlinesterasa plasmática medida por tres técnicas diferentes. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 22 (1).

- Córdoba, D. (2006). Toxicología. 5ta. Edición. Editorial El Manual Moderno. Colombia.
- Díaz, E. y Heler, M. (2000). El conocimiento científico. Tomo I: Cap. 1. Tomo II: Cap. 5, Punto 2. EUDEBA, Buenos Aires.
- Ding, X. & Kaminsky, L. (2003). Human extrahepatic cytochromes P-450: Function in xenobiotic metabolism and tissue-selective chemical toxicity in the respiratory and gastrointestinal tracts. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*. 43:149-173.
- Edwards, J. Lee, S. Heath, L. & Pisaniello, D. (2007). Worker exposure and a risk assessment of Malation and Fenthion used in the control of Mediterranean fruit fly in South Australia. *Environmental Research*. 103,38-45.
- Environmental Protection Agency. Pesticides and Food. Why Children May be Especially Sensitive to Pesticides. Extraído de <http://www.epa.gov/pesticides/food/pest.htm> , el 27 de enero del 2005.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* (v.26) supl. 1 Pamplona. Colombia.
- García, A., Ramírez, A. y Lacasaña, M. (2002). Prácticas de utilización de plaguicidas en agricultores. *Gaceta Sanitaria*, 16(3)23-28.
- García, Y. (2006). Exposición a plaguicidas y efectos a la salud en trabajadores agrícolas de Siquisique. Municipio Urdaneta. Estado Lara. Trabajo de grado no publicado, disponible en http://www.bibmed.ucla.edu.ve/Edocs_bmucla/textocompleto/TWA24OG372006.pdf
- Hancock, S. Eric, M. Hinckley, J. Pung, T. & Jortner, B. (2007). The effect of stress on the acute neurotoxicity of the organophosphate insecticide chlorpyrifos. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 219,136-141.
- Howard, M. Mirajkar, N. Subramanya, K. & Carey, P. (2007). Comparative effects of oral chlorpyrifos exposure on cholinesterase activity and muscarinic receptor binding in neonatal and adult rat heart. *Toxicology*. 238,157-165.
- Ibarra, E. González, A. Díaz, H. y Hinckley, J. (2002). Exposición a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en fumigadores de la campaña anti Aedes Aegypti en la ciudad de La Habana de Enero a Marzo. *Revista Cubana de Salud para el Trabajo*. 3(1-2).
- Ludewig, C. (1999). Evaluación y vigilancia del impacto del uso de plaguicidas en la agricultura sobre la salud de la población del Valle de Quibor. *Informe final*.

Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado (UCLA). Decanato de Medicina. Barquisimeto.

- Meneses, M. (2001). Contaminación de Suelos por el uso de plaguicidas. *Trabajo de grado no publicado*. Facultad de Estudios Superiores. Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Milla O, Palomino, W. (2002). Niveles de colinesterasa sérica en agricultores de la localidad de Carapongo (Perú) y determinación de residuos de plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa en frutas y hortalizas cultivadas. *Tesis no publicada para obtener el grado de Químico-Farmacéutico*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Departamento Académico de Farmacología, Bromatología y Toxicología. Lima Perú.
- Ministerio de Salud y Desarrollo Social.(2005). Boletín Epidemiológico. Semana Epidemiológica N° 52.
- Muller N, Rodriguez J, Facchini L.(2009). Poisoning by pesticides among family fruit farmers, Bento Gonçalves, Southern Brazil.Rev. Saúde Pública; 43(2): 335-44.
- Norma Venezolana Covenin 2268:1996. Plaguicidas. Transporte, Almacenamiento, Manipulación y uso de medidas de salud ocupacional. Primera Revisión.
- Okabe, H., Sagesaka, K., Nakajima, N. & Noma, A. (1977). New enzymatic assay of cholinesterase activity. *Clinica Chimica Acta*. 80, 80-87.
- Omura, T. (2003). Forty years of cytochrome P-450. *Biochemical and Biophysical Research Communication*. 266;690-698.
- Organización Internacional del Trabajo (OIT). (2001). Informe VI (1) Seguridad y Salud en la Agricultura. Junio.
- Organización Mundial de la Salud. Programa de Naciones Unidas para el medio ambiente (OMS/PNUMA) (1990). *The public health impact of pesticides used in agriculture*. Ginebra.
- Palacios, M. García, G. y Paz, M. (2009). Determinación de niveles basales de colinesterasa en jornaleros agrícolas. *Rev Fac Med UNAM*, 52(2):63-68.
- Palacios-Nava, M. y Moreno-Tetlacuilo, L. (2004). Diferencias en la salud de jornaleras y jornaleros agrícolas migrantes en Sinaloa, Mexico. *Salud Pública de México*, 46 (4), 286-293.
- Pastor, S. (2002). Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de micronúcleos. *Tesis*

Doctoral no publicada. Universidad Autónoma de Barcelona. Barcelona, España.

- Rendon, J. Tinoco-Ojanguren, R. Soares, A. y Guilhermino, L. (2004). Effect of pesticide exposure on acetylcholinesterase activity in subsistence farmers from Campeche, Mexico. *Archives of Environmental Health*, 59(8).
- Rojas, J. y Querales, D. (2006). Que fácil es realizar un Proyecto de Investigación. Primera edición. Universidad de Carabobo.
- Rojas, M. Rivero, E. y De Sousa, L. (1996). Estudio de los efectos tóxicos de los insecticidas organofosforados en pilotos agrícolas y mezcladores. *Gaceta Médica de Caracas*, 104(1):56-62.
- Safi, J. Abu Mourad, T. Yassin, M. (2005). Hematological Biomarkers in Farm Workers Exposed to Organophosphorus Pesticides in the Gaza Strip. *Archives of Environmental & Occupational Health*, Vol 60 N° 5.
- Schmucker, D. (2002). Liver function and phase I drug metabolism in the elderly: a paradox. *Drugs and Aging journal*.18, 837-851.
- Schosinsky, K. y Quintana, E. (2004). Detección de plaguicidas en vegetales de Costa Rica mediante la inhibición de colinesterasa humanas. *Archivos Latinoamericanos de nutrición* ,54(4)18-21.
- Stresser, D.M. & Momas I. (2000). Substrate-dependent modulation of CYP3A4 catalytic activity: Análisis of 27 test compounds with fluorometric substrates. *Drug Metabolism and Disposition*. 28, 1440-8.
- Sungur, G. (2001). Intensive care management of organophosphate insecticide poisoning. *Critical Care*. 5(2), 211-215.
- Talke, H. & Schubert, G. (1965). Enzymatische harnstoffbestimmung in blut und serum im optischen test nach Warbur. *Klinische Wochenschrift*, 43, 174-175.
- Tietz, N. (1986). Textbook of Clinical Chemistry. W.B. Saunders pág.1278.
- Trinder, P. (1969). Annals of clinical biochemistry. 6,24-26.
- Uría, HS. (2004). Guía Práctica de Toxicología. Cochabamba. Universidad del Valle. Cali. Colombia.
- Vaquerano, B. Arguedas, H. Carrillo, W. (2002). Intoxicaciones por plaguicidas en Costa Rica. Informe epidemiológico. San José: Organización Panamericana de la Salud. 20 pags. Disponible en http://www.evb.ch/cm_data/intoxicaciones_in_Costa_Rica

Vives, J y Aguilar J LL. Manual de Técnicas de Laboratorio en Hematología. 2 edición. Editorial Masson S.A. Barcelona, 2002.

Williams, P. Colt, J. Hartge, P. & Tobias, G. (2000). Mamalian microsomal cytochrome P-450 monooxygenase: structural adaptations for membrana binding and functional diversity. *Molecular Cell*. 5,121-131.

Zamora, F R. Torres, D. Rodríguez, N. y Zamora, F J. (2009). Impacto del uso de plaguicidas sobre los niveles de colinesterasa en sangre en productores agrícolas del asentamiento campesino en Santa Teresa, Municipio Miranda del Estado Falcón, Venezuela. *Rev. Fac. Agron.(UCV)* 35(2): 56-61.

Yerena, C. Hernández, C. Ramirez, J. Riaño, M. Lopez, M. Fernández, A y Ortega A. (2005). Influencia del Polimorfismo del CYP2E1 sobre el riesgo de intoxicación aguda por exposición a plaguicidas. *Bioquimia Vol 30 N° 3* 68-75.

ANEXOS



ANEXO N° 1

CONSENTIMIENTO INFORMADO

La Unidad de Investigación en Toxicología Molecular (UTM) Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad de Carabobo, tiene dispuesto realizar un proyecto titulado: ACTIVIDAD DE LA COLINESTERASA SERICA Y LA ISOFORMA CYP3A: IMPACTO DE LA EXPOSICION OCUPACIONAL A PLAGUICIDA EN UNA COMUNIDAD AGRARIA DEL ESTADO CARABOBO.

Para el desarrollo del mismo necesitamos la recolección de datos mediante una encuesta estructurada con preguntas sencillas para conocer edad, sexo, actividades a su cargo, historia ocupacional, tipo de plaguicidas empleados, tiempo de fumigación, tipo de cultivos, antecedentes familiares y personales, hábitos psicosociales, entre otros.

Se requerirá poco tiempo, parte de ese tiempo para explicar el objetivo del estudio y si acepta participar en el mismo, debe firmar el presente consentimiento. Posteriormente se aplicará la encuesta y se procederá a realizarle la toma de muestra para conocer perfil hepático, perfil renal, actividad de la colinesterasa y de la isoforma CYP3A.

Debemos además informarle que los resultados obtenidos serán de carácter confidencial, ya que los mismos serán conocidos únicamente por los investigadores responsables del estudio y en el caso de divulgarse los resultados en algún medio

científico, se hará estrictamente sin identificación de los participantes y de las instituciones que participaron en el proyecto.

Yo, _____, cédula de identidad
Nº _____,

Después de tener conocimiento de las características de la investigación, acepto participar en la misma.

Valencia, _____ de _____ de 2012.

Responsables del Proyecto.

Prof. _____

Prof. _____

Participante. _____

ANEXO N° 2
EVALUACIÓN SOBRE EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS

ENCUESTA

N° _____ Fecha _____ Entrevistador _____

Nombre _____ Edad _____ Sexo _____ C.I _____

Dirección habitación _____

Parroquia _____ Caserío _____

Telf. _____ Ocupación _____ Grado _____ de

Instrucción _____

Estado civil _____ (soltero, casado, pareja, viudo, divorciado, separado, no contesta)

Embarazada _____ Amamantando _____

Grupo familiar: N° de hijos _____ Edad _____

Sexo _____

Actividades de su cargo

Actividad de su cargo	Tiempo realizando esta actividad	
	Años	Meses
Fumigador		
Mezclador		
Expendedor		
Transportista		
Otros. especifique		

HISTORIA OCUPACIONAL.

Empresa	Cargo	Desde	Hasta

Tiempo de fumigación

Horas diarias: _____ Meses: _____ Años: _____

- | | | |
|-------------|------------------------------------|---------------|
| 1. 2 | 1. 2 | 1. 2 |
| 2. 4 | 2. 4 | 2. Hasta 5 |
| 3. Hasta 6 | 3. Hasta 6 | 3. Hasta 6 |
| 4. 6 | 4. 6 | 4. Hasta 15 |
| 5. Más de 6 | 5.- Más de 6 | 5.- Más de 15 |
| | 6.- Cuantos días a la semana _____ | |

En orden decreciente, escriba el tipo de plaguicida que más usa:

Nombre comercial	Principio activo	Formulación				
		Polvo humectable	Concentrado emulsionado	Gránulos	Aerosol	otro

Principio activo.

- A.- Órganofosforado B.- Organoclorado C.- Carbamato D.- Bipidriilo
- E.- Fenoxiacético F.- Piretrinas G.- Sales metálicas

CUPROSAN								
DITHANE CARB								
ZINEB CARB								
CAPTAN								
PODAN CARB								
KASUMIN ANTB								
COBRETHA NE								

Otros especifique: _____

Tipos de cultivo

Cultivo	Si	Veces/años	Cultivo	Si	Veces/años
Acelga			Garbanzos		
Ajos			Lechuga		
Ajo porro			Lenteja		
Ajíes			Maíz		
Albahaca			Ñame		
Arvejas			Ocumo		
Auyama			Papas		
Batata			Perejil		
Berenjena			Pimentón		
Café			Remolacha		
Calabacín			Repollo		
Caraotas			Tomate		
Cebolla			Yuca		
Cebollin			Zanahoria		
Cilantro			Otros		

Antecedentes familiares

	No	Si	nombre
Enfermedades neurológicas			
Enfermedades psiquiátricas			
Diabetes mellitus			
Enfermedades crónicas			

Antecedentes personales

Patología	Antes de Ocupación	Después de Ocupación
Asma		
Respiratorias/otras patologías		
Dermatitis		
Cardiovascular		
Neuropatía		
Diabetes mellitus		
Gastrointestinal		
Renal		
Psiquiátricas		
Otros		

Conocimiento sobre plaguicidas:

Conoce los efectos nocivos para la salud que producen los plaguicidas que usa? Si ___

No ___

Recibió instrucciones para su manejo? Si ___ No ___

Quien se lo suministro?

Agro-técnico ___ Expendedor ___ Vecino ___ Compañero de labores ___

lectura ___ otro ___

Cree Ud., que el plaguicida produce efectos adversos al organismo. Si ___

No ___

Describa algunos _____

Conoce el significado de los colores del rotulo? Si ___ No ___

Si los conoce, descríbalos:

Rojo_____ Azul_____

Amarillo_____

Verde_____ Otros_____

Usa plaguicidas en su hogar? Si_____ No_____

En caso positivo, describa: tipo de plaguicida_____

Frecuencia de uso_____

Signos y Síntomas

Tipo	Cuando		Intensidad		
	Antes	Actualmente	Poco	Mucho	Ocasional
Mareos					
Nauseas					
Vómitos					
Falla visual o Visión Borrosa					
Sudoración					
Salivación					
Secreción Bronquial					
Alergias					
Picazón					
Dificultad para caminar					
Debilidad					
Miosis					
Convulsiones					
Temblores musculares					
Confusión mental					
Cefalea					
Tos					
Presión arterial alta					
Presión arterial baja					
Cólicos abdominales					
Dificultad Respiratoria					
Incontinencia urinaria					

Ansiedad/Agitación					
Fatiga					
Dificultad para concentrarse					
Irritabilidad					
Lagrimo Excesivo					
Sabor amargo					
Fotofobia					
Dificultad para dormir					

Le han practicado algún análisis toxicológico relacionado a su trabajo? Si____
no____

En caso afirmativo

Tipo de análisis	Resultado	Lugar	fecha

Tipo de fumigación

Aérea____ Terrestre _____ Carrotanque____ Bomba de espalda____

Aerosol de invernadero____ Aspersor de mano para cosecha____ Distribución

(Tabletas, Polvos y Gránulos)____ Otro - Especifique_____

Usted:

Mezcla el producto si____ no____

Lo coloca en el equipo si____ no____

Lo hace:

En su casa si____ no____

En el propio cultivo si____ no____

Otro especifique _____.

Conque frecuencia limpia/ lava

	Diario	Semanal	Mensual	Otro
Equipo para fumigar				
Equipos de protección				

Ha sufrido:

Accidentes laborales		Intoxicación laboral		incapacitación			
Si	No	Si	No	Posible causa	Ninguna	Temporal	Permanente

Al ejecutar su trabajo, emplea medidas de protección personal? Si ___ No ___

Algunas veces _____

En caso positivo emplea:

Guantes _____ lentes _____ casco _____ sombrero _____

Traje protector o delantal _____ botas de goma _____

Otro. Especifique _____

Posterior a la fumigación, se baña: Inmediatamente _____ Después de algunas horas _____

Se lava las manos inmediatamente de después de la jornada _____

Se lava las manos tardíamente después de la jornada _____

Se cambia la ropa después de la fumigación _____

Usa el uniforme lavado, después de la fumigación anterior _____

Usa el uniforme sin lavar después da la fumigación anterior _____

Lava la ropa de trabajo aparte de la otra ropa _____

Lava los equipos de protección después de la fumigación _____

Cambia los equipos de protección cuando están dañados _____

Mezcla y coloca plaguicidas en el equipo _____

Ingiere alimentos en la zona de fumigación _____

Se lava las manos antes comer _____

Toma agua durante la jornada _____

Otro.

Especifique _____