



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA**



**ACTIVIDAD DE BUTIRILCOLINESTERASA Y MICRONÚCLEOS
EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA
COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA. EDO. LARA.**

**AUTOR: TIBISAY MATHEUS LOBO
TUTORES: PROF. ALBA BOLAÑOS
PROF. YALITZA AULAR**

Valencia, Mayo 2016



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA**



**ACTIVIDAD DE BUTIRILCOLINESTERASA Y MICRONÚCLEOS
EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA
COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA. EDO. LARA**

AUTOR: FCTICA. TIBISAY MATHEUS LOBO

Trabajo presentado ante la
Dirección de Postgrado de la
Facultad de Ciencias de la Salud.
Universidad de Carabobo.
Para optar el Título de Magíster
en Toxicología Analítica

Valencia, Mayo 2016

**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA**

**ACTIVIDAD DE BUTIRILCOLINESTERASA Y MICRONÚCLEOS
EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA
COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA. EDO. LARA**

Aprobada en el Área de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo por
Yolima Fernández, Profesora del Seminario de Investigación y Trabajo de Grado.


C.I. 13.382.234

Aprobada en el Área de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo por
Aura Palencia, Profesora del Seminario de Investigación y Trabajo de Grado.


C.I. 11.147.392

Valencia, Diciembre 2015.

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 ALBA BOLAÑOS titular de la cédula de identidad N° 4.423.603, en mi carácter de Tutor de la Tesis de Grado titulada: "ACTIVIDAD DE BUTIRILCOLINESTERASA Y MICRONÚCLEOS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA. EDO. LARA "presentado por el (la) ciudadano (a) TIBISAY COROMOTO MATHEUS LOBO Titular de la cédula de identidad N° 10.106.854, para optar al título de Magíster en: TOXICOLOGÍA ANALÍTICA, 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 Valencia a los 16 días del mes de Diciembre del año 2015

Nombre: ALBA BOLAÑOS

C.I.: 4423-603

Firma: 

Nota: Para la inscripción del citado trabajo, el alumno consignará la relación de las reuniones periódicas efectuadas durante el desarrollo del mismo, suscrita por ambas partes.

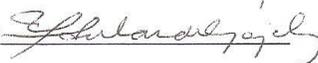
AVAL DEL TUTOR

Dando cumplimiento a lo establecido en el Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo en su Artículo 133, quien suscribe YALITZA AULAR titular de la cédula de identidad N° 4.310.690, en mi carácter de Tutor de la Tesis de Grado titulada: "ACTIVIDAD DE BUTIRILCOLINESTERASA Y MICRONÚCLEOS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA. EDO. LARA "presentado por el (la) ciudadano (a) TIBISAY COROMOTO MATHEUS LOBO Titular de la cédula de identidad N° 10.106.854, para optar al título de Magíster en: TOXICOLOGÍA ANALÍTICA, 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 Valencia a los 16 días del mes de Diciembre del año 2015

Nombre: Yalitza Aular

C.I.: 4.310.690

Firma: 

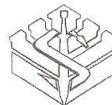
Nota: Para la inscripción del citado trabajo, el alumno consignará la relación de las reuniones periódicas efectuadas durante el desarrollo del mismo, suscrita por ambas partes.

Universidad de Carabobo



Valencia – Venezuela

Facultad de Ciencias de la Salud



Dirección de Postgrado

ACTA DE APROBACIÓN DEL PROYECTO TRABAJO DE GRADO

Los Miembros de la Comisión Coordinadora de la Maestría en: Toxicología Analítica hacen constar que han leído el Proyecto de Trabajo de Grado, presentado por la ciudadana: Tibisay Matheus, cédula de identidad N° 10.106.854, para optar al título de Magíster en: Toxicología Analítica, cuyo título es: “Actividad de butirilcolinesterasa y micronúcleos en trabajadores agrícolas expuestos a inhibidores de la colinesterasa en el Municipio Urdaneta – Edo. Lara” y que el mismo está **APROBADO** ya que reúne los requisitos de factibilidad, originalidad e interés que plantea la línea de investigación: “Biomarcadores y plaguicidas”, establecida por esta Maestría. Igualmente, el mencionado Proyecto está enmarcado dentro de la normativa para la elaboración y presentación de los trabajos de grado para esta Maestría.

La(s) profesora(s): Alba Bolaños y Yalitza Aular de González, C.I. N° 4.423.603 y 4.310.690, respectivamente, aceptaron la tutoría de éste Trabajo.

En Valencia, a los Quince días del mes de Febrero de Dos Mil Trece.

Comisión Coordinadora:

Prof. [Firma]
Coordinador(a)

Prof. [Firma]
Miembro de la Comisión



Prof. [Firma]
Miembro de la Comisión

Formato aprobado por el Consejo de Postgrado en su Sesión Ordinaria N° 4 de fecha 30 de abril de 2013.

Universidad de Carabobo



Valencia – Venezuela

Facultad de Ciencias de la Salud



Dirección de Asuntos Estudiantiles
Sede Carabobo

ACTA DE DISCUSIÓN DE TRABAJO DE GRADO

En atención a lo dispuesto en los Artículos 137, 138 y 139 del Reglamento de Estudios de Postgrado de la Universidad de Carabobo, quienes suscribimos como Jurado designado por el Consejo de Postgrado de la Facultad de Ciencias de la Salud, de acuerdo a lo previsto en el Artículo 135 del citado Reglamento, para estudiar el Trabajo de Grado titulado:

ACTIVIDAD DE BUTIRILCOLINESTERASA Y MICRONÚCLEOS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA - EDO. LARA

Presentado para optar al grado de **Magíster en Toxicología Analítica**, por el (la) aspirante:

MATHEUS L., TIBISAY C.
C.I. V- 10106854

Habiendo examinado el Trabajo presentado, decidimos que el mismo está **APROBADO**.

En Valencia, a los treinta y un días del mes de mayo del año dos mil dieciséis.


Prof. Alves Sarmiento (Pdte)

C.I. 7.058.750

Fecha: 31-05-2016


Prof. Mariluz Rodríguez

C.I. 4912487

Fecha: 31/05/2016


Prof. Junedy Marcano

C.I. 8503107

Fecha: 31-05-2016

TG: 128-15

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso, creador del cielo y tierra, quien me ha dado la fortaleza para poder culminar este proyecto y ser luz en cada día de mi vida.

A mis padres, Hugo y Ana quienes me educaron y enseñaron a que siempre hay que prepararse y que cada día de nuestra vida aprendemos algo nuevo.

A mis hijos, Victor, Angel y Gabriel, por quienes me esfuerzo cada día y son mi mayor inspiración. **LOS AMO.**

A Yubain, compañero de mi vida quien me ha apoyado incondicionalmente durante tantos años.

A Silmar, incondicional amiga que aunque hoy no estés físicamente siempre me animaste a seguir adelante, este logro también es tuyo. A María Eugenia y Sandra quienes han sido luces y compañeras en el camino de la vida.

A mi hermana, amigos, familiares, compañeros de la Maestría y mis estudiantes, el alcanzar esta meta es de ustedes también....

TIBISAY

AGRADECIMIENTOS

A Dios Todopoderoso, por darme tantas bendiciones en la vida y el lograr esta meta es una de ellas.

A la Universidad de Carabobo magna casa de estudio, por recibirme en sus aulas y permitirme crecer y desarrollarme como profesional.

A las profesoras Alba Bolaños y Yalitzia Aular (Tutores académicos) quienes con gran profesionalismo y sus invaluable conocimientos guiaron la realización del presente trabajo.

A la profesora Yolima Fernandez, por su apoyo y valiosa colaboración en los análisis estadísticos y a las profesoras Emilia Barrios y Merlin Villamizar por sus valiosos aportes.

Al personal del Centro de Biología Molecular de Parásitos (BioMolP) y al Centro de Investigaciones Médicas y Biotecnológicas de la Universidad de Carabobo (CIMBUC), por abrirme sus puertas y ofrecerme los recursos necesarios para la materialización de este trabajo.

A la Unidad de Investigación de Ciencias Morfopatológicas (UNIMPA).

A la Licda. Yalexis Piña y su Laboratorio Santa Lucía, quien me brindó su apoyo para la realización de los análisis químicos y hematológicos. Y a la Licda. Mai-Lyng Hung por su aporte en la determinación de la Butirilcolinesterasa.

A las personas que participaron en el estudio, quienes gentilmente aportaron sus muestras y permitieron la realización de esta investigación.

A mis compañeros de Departamento, quienes siempre me dieron ánimo y motivación cuando desmayaba en el camino. Y a quienes de una u otra forma siempre me dieron ánimo y apoyo para la culminación de este proyecto.

MIL GRACIAS...

ÍNDICE GENERAL

Título	ii
Portada	iii
Constancia de aceptación de los profesores de seminario	iv
Constancia de aceptación de los tutores	v
Acta de aprobación del proyecto	vii
Veredicto	viii
Dedicatoria	ix
Agradecimientos	x
Índice General	xii
Índice de tablas	xvi
Índice de figuras	xvii
Resumen	xviii
Abstract	xix

CAPÍTULO I. EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema	21
1.2. Objetivos de la investigación	27
1.2.1. Objetivo general	27
1.2.2. Objetivos específicos	27

1.3. Justificación de la Investigación	28
--	----

CAPÍTULO II. MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de la Investigación	32
--------------------------------------	----

2.2. Bases teóricas	36
---------------------	----

2.2.1 Los plaguicidas	36
-----------------------	----

2.2.1.1. Insecticidas organofosforados	38
--	----

2.2.1.2. Toxicocinética	38
-------------------------	----

2.2.1.3. Toxicodinamia	39
------------------------	----

2.2.1.4. Biosíntesis y degradación de la acetilcolina (ACh)	40
---	----

2.2.2. Carbamatos	41
-------------------	----

2.2.2.1. Toxicocinética y toxicodinamia	42
---	----

2.2.3. Toxicidad de los plaguicidas.	43
--------------------------------------	----

2.2.4. Efectos a la salud de los plaguicidas	46
--	----

2.3. Inhibición de la actividad colinesterásica como biomarcador de exposición a compuestos organofosforados y carbamatos.	50
--	----

2.4. Pruebas citogenéticas como biomarcadores de efecto.52

2.4.1. Prueba de micronúcleos (MN). 52

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Tipo de investigación 55

3.2 Diseño de la investigación 55

3.3. Población y muestra. 56

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de información 58

3.4.1. Toma y procesamiento de muestras 58

3.5 Procedimientos metodológicos 59

3.5.1. Determinación de Butirilcolinesterasa (BCh) 59

3.5.2. Transaminasa Aspartato aminotransferasa (AST) 61

3.5.3. Transaminasa Alanina Aminotransferasa (ALT). 62

3.5.4. Estudio Hematológico y contaje de Plaquetas 63

3.5.5. MN en células epiteliales de la mucosa bucal 63

3.6. Análisis de datos.	64
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	66
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	82
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
6.1. Conclusiones	92
6.2. Recomendaciones	94
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	96
ANEXOS	103

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°	PÁGINA
1. Clasificación de los plaguicidas según la OMS	43
2. Clasificación según la SGA	45
3. Características sociodemográficas de los grupos en estudio.	67
4. Hábito tabáquico y alcohólico de los grupos en estudio.	67
5. Distribución del grupo expuesto según el tiempo de exposición.	68
6. Distribución del grupo expuesto según la actividad que realiza, equipo utilizado para la fumigación, frecuencia de aplicación y forma de descarte de los envases de plaguicidas.	69
7. Uso de equipos de protección personal del grupo expuesto	70
8. Distribución de la muestra en estudio según antecedentes patológicos y familiares.	71
9. Plaguicidas utilizados por el grupo expuesto.	74
10. Clasificación de los plaguicidas utilizados de acuerdo a la OMS, SGA. IARC.	75
11. Valores de butirilcolinesterasa, transaminasas y perfil hematológico en los grupos de estudio.	76
12. Frecuencia de micronúcleos en los grupos de estudio	77
13. Relación del tiempo de exposición, BCh, AST, ALT, HGB, GB, HTC, PQT y MN del grupo expuesto.	79
14. Valores de BCh, AST y ALT de acuerdo a la cantidad de equipos de protección utilizados por el grupo expuesto	80

15. Valores de Butirilcolinesterasa de acuerdo al antecedente familiar: abortos en la pareja	81
16. Frecuencia de micronúcleos de acuerdo al antecedente familiar: hijos con malformaciones.	82

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Etapas de la división celular.	51
2. Formación de Micronúcleos en el curso de la división celular.	52
3. Tipos de célula	77

ACTIVIDAD DE BUTIRILCOLINESTERASA Y MICRÓNÚCLEOS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA. EDO. LARA.

Autor: Tibisay Matheus Lobo
Tutores: Prof. Alba Bolaños
Prof. Yalitz Aular
Año: 2016

RESUMEN

Los plaguicidas son xenobióticos de gran utilidad para el control de las plagas y su uso es una realidad para obtener un mayor rendimiento en los cultivos. Sin embargo, tienen el riesgo de producir toxicidad por lo que es necesario el monitoreo biológico de los trabajadores expuestos a estas sustancias. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad de la butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos en trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en el municipio Urdaneta del Estado Lara. La investigación fue de tipo descriptiva, correlacional, diseño no experimental y corte transversal. Participaron 82 individuos de sexo masculino, representado por 41 expuestos (GE) y 41 no expuestos (GNE). La determinación de la butirilcolinesterasa (BCh), perfil hematológico y hepático se realizó en muestra de sangre, y para la determinación de micronúcleos (MN) se utilizaron muestras epiteliales de la mucosa bucal. Los resultados fueron presentados como estadísticos descriptivos, frecuencias absolutas y porcentajes, utilizando el paquete libre PAST v.2.04. En los valores de BCh hubo diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) mostrando mayor inhibición de la enzima en el GE ($3528,75 \pm 1162,45U/L$) en relación al GNE ($5764,41 \pm 1641,43U/L$). Las transaminasas Aspartato y Alaninotransferasa (AST, ALT) y hematocrito (HTC) evidenciaron un mayor promedio en el GE con una relación estadísticamente significativa ($p < 0,001$) y la hemoglobina (HGB) presentó mayor promedio del GE en relación GNE con una diferencia significativa de ($p < 0,05$) aunque se encontraron dentro de los rangos normales. La frecuencia de MN presentó mayor promedio en el GE respecto al GNE (3,09/ 0,73) con una diferencia significativa ($p < 0,001$). Al asociar el tiempo de exposición hubo una correlación negativa con la BCh y una correlación positiva con MN, AST, ALT, HGB estadísticamente significativa $p < 0,001$ y $p < 0,05$. Los hallazgos obtenidos reflejan modificaciones en los valores de butirilcolinesterasa, perfil hepático, perfil hematológico y la frecuencia de micronúcleos en individuos expuestos a plaguicidas.

Palabras clave: plaguicidas, butirilcolinesterasa, micronúcleos

BUTYRYLCHOLINESTERASE ACTIVITY AND MICRONUCLEUS IN AGRICULTURAL WORKERS EXPOSED TO CHOLINESTERASE INHIBITORS IN THE URDANETA MUNICIPALITY. STATE. LARA.

Author: Tibisay Matheus Lobo

Tutors: Prof. Alba Bolaños

Prof. Yalitza Aular

Year: 2016

ABSTRACT

The pesticides are xenobiotics useful in controlling pests and their use is a reality for greater crop yields. However, they have the risk of causing toxicity so the biological monitoring of workers exposed to these substances is necessary. The aim of this study was to evaluate the cholinesterase activity and the presence of micronuclei in workers exposed to cholinesterase inhibitors in the municipality Urdaneta Lara State. The research was descriptive, correlational, not experimental and cross-sectional design. 82 individuals participated 41 exposed (EG) and 41 unexposed (UEG) all male. The determination of butyrylcholinesterase (BCh), haematological profile and liver was performed on blood sample, and for determining micronuclei (MN) epithelial samples of oral mucosa were used. The results were presented as descriptive statistics, absolute frequencies and percentages, using the free package PAST v.2.04. In BCh values it was statistically significant ($p < 0.001$), showing greater inhibition of the enzyme in the EG (3528,75+ 1162.45 U/L) in relation to the UEG (5764.41 +1641,43 U/L). The aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase (ALS, ALT), and hematocrit (HTC) showed a higher average in the GE with a statistically significant ($p < 0.001$), and hemoglobin (HGB)) showed a higher average in the GE with a statistically significant ($p < 0.05$) although they were within normal ranges. The frequency of MN presented average higher in GE compared to the UEG (3.09 / 0.73) with a significant difference ($p < 0.001$). By associating the exposure time there was a negative correlation with the BCh and a positive correlation with Mn, AST, ALT and HGB statistically significant. The findings reflect changes in the values of butyrylcholinesterase, liver function, haematological profile and frequency of micronuclei in individuals exposed to pesticides.

Keywords: pesticides, butyrylcholinesterase, micronucleus

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

Se considera como plaguicida a cualquier sustancia o mezcla de ellas destinada a ser aplicada en el medio ambiente, personas, animales o plantas, con el objeto de prevenir, controlar o combatir organismos capaces de producir daños a personas, animales, plantas, semillas u objetos inanimados (Gutiérrez, Brau & Vallebuona, 2012).

En la actualidad, el uso de plaguicidas a nivel mundial permite el control efectivo de plagas y aumenta la productividad agrícola, forestal y ganadera (Muñoz, 2011). Aunque el uso de estas sustancias es múltiple y variado la agricultura es la actividad que más emplea este tipo de compuestos, consumiendo hasta el 85 % de la producción mundial con el fin de mantener un control sobre las plagas que afectan los cultivos (del Puerto, Suarez, & Palacio, 2014).

Además, un 10 % de la producción total de los plaguicidas se emplea en salud pública para el control de las enfermedades transmitidas por vectores, como la malaria, dengue, enfermedad de Chagas, control de roedores, entre otras. También se emplean en la ganadería y en el cuidado de animales de cría y domésticos e incluso en el hogar (del Puerto y col, 2014).

Los plaguicidas pueden clasificarse según su constitución química, su polaridad, su principio activo y/o blanco de acción, entre otros aspectos. Según su blanco de acción, son usualmente categorizados como herbicidas, insecticidas, fungicidas, acaricidas y raticidas (Coalova, Mencacci & Fassiano, 2013). Sin embargo, una de las codificaciones encontradas con frecuencia en la literatura internacional es según el grupo o familia química de estas sustancias, clasificándose en organoclorados, organofosforados, carbamatos, tiocarbamatos, piretroides, derivados bupiridilos, derivados del ácido fenoxiacético, derivados cloronitrofenólicos, derivados de las triazinas, compuestos orgánicos del estaño, compuestos inorgánicos y los compuestos de origen botánico. (del Puerto y col, 2014).

Cabe destacar, que los organofosforados son los insecticidas más utilizados en los cultivos tanto en Venezuela como a nivel internacional, y junto con los carbamatos, son los más involucrados en intoxicaciones en todo el mundo (Gómez & Cáceres, 2010). Ambos, son agentes inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, lo

cual da origen a la acumulación de acetilcolina, siendo este mecanismo el responsable de la toxicidad aguda de estos insecticidas (Gómez & Cáceres 2010).

En este orden de ideas, la inhibición de la acetilcolinesterasa tiene una gran importancia fisiológica, por cuanto ocasiona acumulación de acetilcolina, su sustrato fisiológico y óptimo, que actúa como un neurotransmisor en el sistema nervioso autonómico y en las terminaciones motoras, trayendo como consecuencia los respectivos efectos negativos en el organismo, los cuales varían desde síntomas característicos de estimulación parasimpática, hasta una crisis colinérgica vegetativa, motora y nerviosa central. En la actualidad la determinación de la actividad de la colinesterasa constituye un biomarcador por excelencia de exposición ambiental a compuestos organofosforados, sulfatos y sulfonatos orgánicos y carbamatos. Sin embargo, su determinación analítica reviste características particulares según el tipo de colinesterasa que se trate. (Ibarra & Linares, 2012).

En el organismo existen dos tipos de colinesterasas, la acetilcolinesterasa, colinesterasa verdadera, o colinesterasa específica de tipo E (AChE) y la colinesterasa plasmática, pseudocolinesterasa, butirilcolinesterasa o colinesterasa de tipo S (BCh), La colinesterasa plasmática es inhibida más rápidamente que la eritrocítica y sus niveles normales se restablecen dentro de los 60 días posteriores a la exposición, siendo un indicador de intoxicación aguda por organofosforados (Ibarra & Linares, 2012).

Es fundamental evaluar los riesgos para la salud en los seres humanos que están expuestos profesional o ambientalmente a estos agroquímicos. Se hace difícil identificar los efectos de cada uno de ellos en forma individual ya que frecuentemente los individuos utilizan diferentes mezclas, ya sea simultáneamente o en serie, ocasionando daños que se han asociado a la exposición crónica, los cuales incluyen neurotoxicidad, efectos inmunológicos, alteraciones en la reproducción y el desarrollo, además de efectos carcinogénicos (Simoniello, Kleinsorge & Carballo, 2010).

Los riesgos cancerígenos para trabajadores agrícolas, incluyen cáncer de piel y labio, sistema linfohematopoyético, cerebro, próstata, estómago, cáncer de ovario, (Alavanja & Bonner, 2012) además de una asociación con el cáncer de mama (Weichental, Moase & Chan, 2012). También ha sido reportado entre los agricultores anomalías cromosómicas comunes con el linfoma no-Hodgkin. (Mostafalou & Abdollahi 2013; Alavanja & Bonner, 2012).

Así mismo, el uso indiscriminado de plaguicidas puede originar potenciales complicaciones hematológicas incluyendo hematotoxicidad moderada a severa y aumentando el riesgo de enfermedades medulares degenerativas, especialmente hipoplasia medular en humanos. Adicionalmente, la exposición excesiva a estos xenobióticos produce cambios en biomarcadores hepáticos y renales, siendo estos de

gran utilidad para el monitoreo de los efectos adversos de plaguicidas en la salud de los trabajadores (López, Pinedo & Zambrano, 2015)

Adicionalmente, estos xenobióticos se han relacionado con daño a nivel del genoma humano como las mutaciones puntuales y cromosómicas, que pueden propiciar la transformación celular, por lo que resulta relevante la biomonitorización del material genético, el cual consiste en la identificación de biomarcadores de genotoxicidad que puedan definir un estado de prepatogénesis y dar las pautas para la prevención de enfermedades producidas por estas transformaciones, entre estos marcadores se pueden mencionar: el ensayo cometa, intercambio de cromátidas hermanas, la determinación de aberraciones cromosómicas y la prueba de micronúcleos (MN) (Larrea, Tirado & Azcarruns, 2010).

Los MN son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que quedan rezagados en anafase, por lo tanto no son incluidos en el núcleo de las células hijas durante la división nuclear (Ruíz y col 2013). Diversos estudios han demostrado que son indicadores de inestabilidad cromosómica, por lo que pueden ser utilizados como una herramienta para la predicción del riesgo, detección, diagnóstico, pronóstico y como indicador de tratamientos y respuestas en procesos cancerígenos (Bhatia & Kumar, 2013).

En las primeras etapas de la carcinogénesis, se han descrito reordenamientos cromosómicos y formación de puentes-anafase que conducen a ciclos de rompimiento-fusión-puente y la generación de micronúcleos; a pesar que la relación no es estrictamente lineal, elevados niveles de micronúcleos son indicativos de defectos en la reparación del ADN y en los cromosomas segregados, lo cual daría por producto células hijas con alteración en la dosificación de genes o con desregulación de la expresión génica, lo que podría llevar a la evolución del fenotipo cromosómico inestable observado comúnmente en el cáncer (Bonassi et al, 2007; Matheus & Bolaños 2014).

Sobre la base de los planteamientos anteriores y siendo Venezuela un país con una actividad agrícola importante, surgen preguntas de investigación tales como: ¿Presentarán inhibición de la enzima butirilcolinesterasa los agricultores del Municipio Urdaneta del Edo. Lara? ¿Habrá diferencia en la frecuencia de micronúcleos entre los agricultores y el grupo no expuesto a estos xenobióticos? ¿Existe relación entre la actividad enzimática de la butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos? Desde la perspectiva de la Toxicología Analítica, ¿Con cuales parámetros estará asociada la actividad enzimática de la butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos?

En la búsqueda de respuestas a las preguntas anteriores, se plantea el presente trabajo de investigación con el propósito de evaluar la actividad de butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos en trabajadores expuestos a inhibidores de la colinesterasa en el municipio Urdaneta del Estado Lara.

1.2. Objetivos de la investigación.

1.2.1. Objetivo general.

Evaluar la actividad de butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos en trabajadores agrícolas expuestos a inhibidores de la colinesterasa en el municipio Urdaneta del Estado Lara.

1.2.2. Objetivos específicos

1. Caracterizar la muestra en estudio de acuerdo a factores sociodemográficos, clínicos, epidemiológicos y laborales.
2. Agrupar los insecticidas utilizados por la población expuesta.
3. Determinar niveles de butirilcolinesterasa en la muestra en estudio.
4. Determinar perfil hepático a través de los niveles de transaminasas Alanino aminotransferasa (AST) y Aspartato Aminotransferasa (ALT) en la muestra de estudio.

5. Determinar perfil hematológico a través de niveles de hemoglobina, conteo de glóbulos blancos, hematocrito y plaquetas en la muestra de estudio.
6. Determinar el efecto genotóxico a partir de la presencia de micronúcleos en la muestra estudiada.
7. Asociar los factores sociodemográficos, clínicos, epidemiológicos, laborales y uso de medidas de protección, con la actividad enzimática de la butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos.
8. Relacionar el tipo de plaguicidas utilizado con la actividad de la butirilcolinesterasa
9. Asociar la actividad de la butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos de la muestra en estudio.

1.3. Justificación de la investigación.

La exposición a plaguicidas, ya sea durante su formulación, producción o utilización puede tener efectos adversos en la salud y el medio ambiente. Las consecuencias no siempre están relacionadas con lesiones inmediatas y aparentes, sino que pueden tardar incluso años en manifestarse. Aunque la población en general está expuesta a este tipo de compuestos, los trabajadores de la industria agroquímica y los agricultores constituyen un grupo de alto riesgo y por lo tanto requieren de

estudios de biomonitorización, para evaluar las enfermedades agudas y crónicas ocasionadas por la exposición a plaguicidas (Larrea y col, 2010) .

Entre los efectos crónicos asociados al uso de plaguicidas se pueden señalar efectos neurológicos, en la reproducción y cáncer (Muñoz, 2011). Ya se ha mencionado el hecho de que los plaguicidas se encuentren involucrados con procesos de carcinogénesis, algunos de ellos han sido clasificados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) en el Grupo 2B (posiblemente carcinogénico), en el Grupo 3 (datos inadecuados) y en el Grupo 1 (causa cáncer en humanos) lo que permite determinar los factores de riesgo y tomar medidas preventivas (PAN UK, 2009).

En este sentido, la salud de los trabajadores agrícolas ha sido una preocupación creciente en muchos países u organizaciones internacionales, recientemente la United States Environmental Protection Agency (EPA) emitió un comunicado donde actualiza los estándares para mejorar la seguridad y proteger la salud de los trabajadores agrícolas en Estados Unidos, donde otorgan a los agricultores protección de salud conforme a la ley similares a los otorgados a trabajadores en otras industrias, promoviendo así la seguridad laboral (EPA, 2015).

Venezuela es un país agrícola y el Municipio Urdaneta del Edo. Lara es uno de los principales productores de cebolla, pimentón, melón y tomates, por lo que

resulta de interés estudiar sus agricultores y así evaluar si presentan inhibición de la butirilcolinesterasa por la exposición a los plaguicidas y el posible daño genético a través de la prueba de micronúcleos.

De igual manera, es importante evaluar el perfil hematológico y así conocer el estado general del paciente, además, se ha determinado que en personas con anemia disminuyen los valores de BCh (Adum, 2015). En cuanto al perfil hepático, el cual permite descartar hepatopatías, se ha demostrado que es una condición clínica que produce disminución de la BCh (Ibarra & Linares, 2012) por lo que se consideró la realización de las mismas y así descartar que una posible inhibición de la BCh se presentara por alguna patología hematológica o hepática y no por exposición a los plaguicidas.

Todas estas pruebas podrían constituir una herramienta de diagnóstico precoz de los trabajadores expuestos a plaguicidas y contribuir con nuevos datos dentro de la línea genética y ocupacional de la Maestría en Toxicología Analítica.

Con esta investigación se aporta información para un mayor conocimiento de los plaguicidas y el riesgo a su exposición, adicionalmente, en la revisión bibliográfica realizada no se encontró referencias nacionales que asocien las variables en estudio, lo cual sería un aporte preliminar de datos para nuestro país.

Por otro lado, esta investigación sirve como antecedente y referencia bibliográfica a otros proyectos relacionados con el tema. Por todo lo expuesto se justifica la realización de la presente investigación, la cual se planteó evaluar la actividad de butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en el municipio Urdaneta del Estado Lara.

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes de la investigación.

Se han realizado una gran cantidad de trabajos que estudian la actividad colinesterásica y la presencia de micronúcleos en poblaciones expuestas a plaguicidas y que han sido motivo de investigaciones a nivel mundial. Además de los estudios epidemiológicos en la especie humana se han hecho estudios *in vivo* en otras especies, estos permiten evaluar de forma controlada una respuesta sistémica al agente en estudio, así como también discernir efectos provocados según la vía de ingreso al organismo y aportan resultados en concordancia con la exposición real en el humano (Coalova y col, 2013).

En este sentido Cavas (2011), realizó un estudio que tuvo como objetivo evaluar los efectos genotóxicos del herbicida atrazina en el pez *Carassius auratus L.* utilizando la prueba de MN y el ensayo cometa en eritrocitos de sangre periférica, encontrando un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos y un mayor índice de daño al ADN tras la exposición a la atrazina, demostrando así el potencial genotóxico de este plaguicida en los peces.

En cuanto a poblaciones humanas, Larrea y col, (2010) realizaron un estudio sobre el daño genotóxico ocasionado por exposición a plaguicidas en agricultores del Municipio Luribay (Bolivia), a través del ensayo del cometa y micronúcleos en la mucosa bucal. La población estudiada fue de (116 hombres y 82 mujeres), de los cuales 118 fueron agricultores expuestos y 80 no expuestos. Los resultados encontrados para ambas pruebas indicaron que existe un incremento significativo ($p < 0.05$) del daño genotóxico en los agricultores expuestos a plaguicidas, en relación a los no expuestos. En cuanto a la variable tiempo de exposición fue estadísticamente significativa, mientras que el sexo, consumo de tabaco y alcohol, exposición a rayos X y antecedentes de familiares con cáncer, no mostraron diferencias significativas.

Otro estudio realizado por Borges et al, (2013) en 41 trabajadores agrícolas de Brasil expuestos a plaguicidas y 32 no expuestos, con el objetivo de evaluar los daños del ADN a través del ensayo de MN en células bucales y el ensayo cometa. Los resultados mostraron un aumento significativo de 8 veces más en la frecuencia de MN respecto al grupo control (0,008/0,001), en el ensayo cometa también fue demostrado elevados niveles de daño genético.

Carbajal, Gómez, Villalobos, Calderón & Martínez, (2015) realizaron un estudio en Guerrero, México cuyo objetivo fue evaluar el efecto genotóxico de los plaguicidas en agricultores mediante el ensayo cometa y la prueba de micronúcleos en células bucales. La muestra estuvo conformada por 111 trabajadores agrícolas y 60

no expuestos. Los resultados del estudio revelaron que la frecuencia de MN aumentó significativamente en el grupo expuesto ($2,33 \pm 0,39$) en relación al grupo no expuesto ($0,88 \pm 0,56$), no hubo correlación entre el tiempo de exposición, edad, consumo de alcohol y tabaquismo con la frecuencia de MN.

Diversos autores, como Benedetti et al., (2013), han incluido medir exposición a plaguicidas mediante la determinación de butirilcolinesterasa (BCh), además de evaluar el daño genético a través del ensayo cometa y micronúcleos en células bucales en trabajadores de cultivos de soya en Brasil, la muestra estuvo formada por 81 agricultores expuestos a plaguicidas y 46 no expuestos. Los resultados del ensayo cometa y los MN mostraron diferencias significativas entre el grupo expuesto y el grupo control ($3,4 \pm 3,5 / 1,5 \pm 1,7$). En cuanto a la actividad de la BCh no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudios y no encontraron asociación entre el uso de equipos de protección, sexo y forma de aplicación de los plaguicidas.

En contraste con la investigación anterior, Lamadrid, Romero, González & Mandina, (2011), realizaron el biomonitoreo de los trabajadores de la planta formuladora de plaguicidas de Managua con el objetivo de conocer si la manipulación de plaguicidas, había causado efecto genotóxico a través del ensayo cometa, aberraciones cromosómicas y micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal, además de la acetilcolinesterasa en sangre como biomarcador de exposición. No hubo diferencias significativas en la frecuencia de aberraciones

cromosómicas y de células con micronúcleos del grupo expuesto respecto al grupo no expuesto y los valores de la actividad colinesterásica sanguínea se encontraron dentro de los valores de referencia.

En el (2010), Simoniello y col, evaluaron enzimas colinesterásicas, modificaciones en el equilibrio oxidativo y daño genotóxico en trabajadores frutihortícolas en la provincia de Santa Fe, Argentina, categorizados por: exposición directa (n=45), exposición indirecta (n=50) y no expuestos (n=50), divididos en 2 grupos. Los resultados en el grupo A indicaron que hubo una disminución significativa ($p < 0.001$) para la colinesterasa eritrocitaria en expuestos directos e indirectos (33% y del 23%) y para la butirilcolinesterasa 9.8 % y 4% en expuestos directos e indirectos ($p = 0.003$ y $p = 0.08$). En el grupo B, se observó una inhibición de la colinesterasa eritrocitaria del 34% en los directos y de 22% en los expuestos indirectos ($p < 0.001$) y una disminución significativa del 8.5% para la BCh ($p = 0.03$) sólo en el grupo de expuestos indirectos, por lo que los autores concluyen que los trabajadores directa e indirectamente expuestos a plaguicidas tienen alteraciones de las enzimas colinesterásicas, asimismo se reflejaron modificaciones en el balance oxidativo en los indirectos a través de la medición del ácido tiobarbitúrico, y un aumento del índice de daño por el ensayo cometa y del índice de reparación de ADN.

Satyender et al. (2011) en la India, evaluaron el daño al ADN, la actividad de la colinesterasa eritrocitaria (AChE) y la toxicidad hepática y renal en 70 trabajadores agrícolas. El ensayo cometa en linfocitos de los trabajadores expuestos

mostró valores significativamente más alto en comparación con los no expuestos. La actividad de la AChE en eritrocitos se encontró disminuida (3,45 KAU / L vs 9,55 KAU/ L) en relación a los controles, así como también en los niveles de enzimas de las funciones hepática y renal hubo diferencias estadísticamente significativas. Estos resultados sugieren que la exposición a la mezcla de organofosforados puede inducir daño en el ADN, disminución de la actividad de la AChE, hepatotoxicidad, así como nefrotoxicidad.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 Los plaguicidas:

Los plaguicidas se definen como «cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y productos de madera o alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída

prematura de la fruta, y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra la deterioración durante el almacenamiento y transporte». (FAO, 1990).

Pueden ser de naturaleza química y biológica. Entre los primeros existen alrededor de 1000 principios activos con los cuales se producen 30.000 formulados. Presentan múltiples clasificaciones en función de algunas de sus características principales, como su toxicidad aguda, la vida media, su estructura química y su uso (del Puerto y col, 2014).

Tomando en cuenta el efecto que producen sobre las plagas se clasifican en insecticidas (plaguicidas que controlan y destruyen artrópodos), herbicidas (plaguicidas que destruyen las hierbas), fungicidas (plaguicidas que matan hongos) y rodenticidas (plaguicidas que matan roedores) (Córdova 2001).

Cada una de estas categorías comprende una amplia diversidad de productos químicos con diferentes propiedades, efectos y clases químicas (organofosforados, organoclorados, tiazinas, etc). (Coalova y col, 2013). Entre los más utilizados se encuentran los inhibidores de la colinesterasa, a este grupo pertenecen los organofosforados y los carbamatos (Gómez & Cáceres, 2010).

2.2.1.1 Insecticidas organofosforados

Químicamente son ésteres del ácido fosfórico y sus homólogos (fosfónico, tiofosfórico, ditiofosfórico), que se hidrolizan en mayor o menor proporción, biodegradándose y desapareciendo rápidamente del ecosistema, la porción fosfato, tio o ditiofosfato de la molécula imparte algo de polaridad, por lo tanto, tendrán diferentes grados de liposolubilidad y no serán bioacumulables. Se pueden presentar como líquidos o sólidos, en forma de polvos, a partir de los cuales se expenden emulsiones, polvos mojables o adheridos a cebos o cintas repelentes por lo que su volatilidad es muy variable, están relacionados con efectos a largo plazo presentando una toxicidad variada (Vallejo, 2000).

2.2.1.2 Toxicocinética

Los insecticidas organofosforados se absorben bien por todas las vías; pueden penetrar al organismo por inhalación, ingestión y a través de la piel intacta, debido a su alta liposolubilidad, característica que hace que pasen las barreras biológicas más fácil, y por su volatilidad facilitando su inhalación. (Fernández, Mancipe & Fernández, 2010). La circulación transplacentaria y la lactancia materna se consideran mecanismos de traspaso más que de absorción, pues muchos plaguicidas o sus metabolitos pasan directamente al nuevo ser a través de la barrera hematoplacentaria y/o durante el proceso de lactancia materna (Ramírez & Lacasaña, 2001).

Se distribuyen en el organismo a través del torrente sanguíneo. Los compuestos liposolubles se unen a las lipoproteínas, mientras que las moléculas hidrosolubles lo hacen a las proteínas plasmáticas o permanecen disueltas en la sangre. Según su afinidad, el plaguicida se fijará en órganos o tejidos específicos, como el hígado o los riñones, y aquellos que son lipofílicos se acumularán en tejidos como el adiposo y el nervioso (Ramirez & Lacasaña, 2001).

Una vez absorbidos y distribuidos en el organismo son metabolizados de acuerdo con la familia a la que pertenezca el compuesto, principalmente en el hígado. Poseen una vida media corta en el plasma y un elevado volumen de distribución en los tejidos. Son metabolizados por una serie de enzimas (esterasas, enzimas microsomales, transferasas) fundamentalmente en el hígado, sufriendo una serie de transformaciones químicas. Estas transformaciones tienden a aumentar la hidrosolubilidad del plaguicida y por consiguiente facilitan su excreción, la cual se da a nivel renal (Fernández y col, 2010)

2.2.1.3 Toxicodinamia

Los organofosforados desarrollan su toxicidad a través de la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas, reaccionan con la zona esterásica de la enzima colinesterasa formando una unión estable que si no se rompe mediante el tratamiento, se hace irreversible, quedando la enzima inhabilitada para su

función normal. La pérdida de la función enzimática permite la acumulación de acetilcolina en las uniones colinérgicas neuroefectoras (efectos muscarínicos), en las uniones mioneurales del esqueleto y los ganglios autónomos (efectos nicotínicos) y en el sistema nervioso central (SNC) (Fernández y col, 2010).

2.2.1.4 Biosíntesis y degradación de la acetilcolina (ACh)

La acetilcolina es un neurotransmisor constituido por la unión de la colina y el acetato. Es un compuesto de amonio cuaternario unido a un grupo éster por un etilo de la colina. La síntesis de esta se realiza en fibras colinérgicas a partir de la colina que es capturada por la presinapsis, a través de un mecanismo de transporte activo, en el interior del botón terminal, se conjuga con el acetato, proveniente de la acetil coenzima A, que sirve como donador de acetilos, el proceso de síntesis está catalizado por la enzima colinaacetiltransferasa o colinaacetilasa. El catabolismo de la acetilcolina ocurre en la hendidura sináptica, en este sitio se localiza la acetilcolinesterasa que hidroliza en fracciones de segundo a la acetilcolina en colina y acetato. La colina es recapturada nuevamente por la presinapsis para iniciar un nuevo ciclo de síntesis del neurotransmisor (Campos, 2008).

Los organofosforados, son altamente tóxicos, porque al inhibir a la acetilcolinesterasa provocan la acumulación de ACh en las sinapsis colinérgicas. Este exceso de ACh despolariza la célula post-sináptica y la mantiene en un estado

refractario causando la parálisis neuromuscular típica de los compuestos organofosforados (Velasco & De la Fuente, 2008).

La estructura química de cada organofosforado tiene importancia en su efecto sobre la enzima, al aumentar o disminuir la competencia con el sustrato, es decir, influye sobre su toxicidad. Cuando la acetilcolinesterasa es inhibida en forma irreversible por un organofosforado, la restauración de la actividad enzimática dependerá exclusivamente de la síntesis de nuevas moléculas de enzima. (Velasco & De la Fuente, 2008).

2.2.2.1 Carbamatos

Son otro grupo de inhibidores de la colinesterasa entre los que se encuentran herbicidas, fungicidas e insecticidas. Todos ellos derivan del ácido carbámico, se caracterizan por ser biodegradables, se hidrolizan fácilmente, aunque la fotodegradación por medio de los rayos solares es el principal mecanismo para desaparecer del ecosistema, no bioacumulables, ya que algunos tienen radicales aromáticos como grupo sustituyente en la molécula por lo que tienen coeficientes de partición altos, y por lo tanto, son liposolubles, generalmente son de mediana a baja toxicidad, con excepción del aldicarb y carbofurán que son de toxicidad alta (Vallejo, 2000).

2.2.2.2 Toxicocinética y toxicodinamia.

Los carbamatos son poco penetrables por la piel, sin embargo sus vapores son rápidamente absorbidos por las mucosas del aparato respiratorio. Sus efectos son más rápidamente reversibles y de corta duración; actúan en forma similar a los organofosforados (Karam, Ramirez, Bustamente & Galván, 2004). Todos ellos son relativamente inestables, se les atribuye un tiempo corto de persistencia ambiental. Su degradación se realiza por oxidación y sus metabolitos finales son hidrosolubles pudiendo excretarse por la orina y las heces fecales (Ramirez & Lacasaña, 2001).

Su mecanismo de acción, es similar al de los organofosforados, depende de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa en las terminaciones nerviosas, que resulta en un exceso del neurotransmisor acetilcolina y un bloqueo de la transmisión neuronal. Sus efectos son más rápidamente reversibles y de corta duración y la enzima se regenera más rápidamente. (Karam y col, 2004)

2.2.3. Toxicidad de los plaguicidas.

Ya se ha mencionado que existen diferentes clasificaciones de los plaguicidas. En 1978, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estableció una clasificación basada en su peligrosidad o grado de toxicidad aguda (Tabla 1), definida como la capacidad del plaguicida de producir un daño agudo a la salud a través de una o múltiples exposiciones, en un período de tiempo relativamente corto (del Puerto y col, 2014).

Tabla 1. Clasificación de los plaguicidas según la OMS

Clase	DL50 para la rata (mg/kg peso corporal)			
	Sólidos (Oral)	Líquidos (Oral)	Sólidos (Dérmica)	Líquidos (Dérmica)
<i>Ia Extremadamente peligroso</i>	5 o menos	20 o menos	10 o menos	40 o menos
<i>Ib Altamente peligroso</i>	5- 50	20-200	10-100	40-400
<i>II Moderadamente peligroso</i>	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
<i>III Levemente peligroso</i>	500-2000	2000-3000	1000-4000	4000-6000
<i>U</i>	Más de 2000	Más de 3000	Más de 4000	Más de 6000
<i>O</i>	Ingredientes activos considerados obsoletos o descontinuados como plaguicidas			
<i>Los términos 'sólidos' y 'líquidos' se refieren al estado físico del ingrediente activo. El valor DL₅₀ es una estimación estadística del número de mg de tóxico por kg de peso corporal que se requiere para matar al 50% de una población grande de animales de prueba.</i>				

Fuente: Red de acción de plaguicidas en el Reino Unido, (PAN UK, 2009). La lista de listas.

Adicionalmente el Sistema Global Armonizado (SGA) ha desarrollado una clasificación de toxicidad aguda para productos químicos entre los que se encuentran los plaguicidas (Tabla 2), la cual responde a las necesidades de los sistemas existentes, la armonización significa establecer una base común y coherente de clasificación y comunicación de peligros químicos de los que puedan seleccionarse los elementos pertinentes para el transporte, los consumidores, los trabajadores y la protección del medioambiente (ONU, 2011).

Tabla 2. Clasificación según la SGA

Categoría de peligro	Criterios	Elementos de comunicación de peligro	
1	DL ₅₀ (ingestión) ≤ 5 mg/kg de peso corporal DL ₅₀ (vía cutánea) ≤ 50 mg/kg de peso corporal CL ₅₀ (gas) ≤ 100 ppm CL ₅₀ (vapor) ≤ 0,5 mg/l CL ₅₀ (polvo/niebla) ≤ 0,05 mg/l	Símbolo	
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro	Mortal en caso de ingestión Mortal en contacto con la piel Mortal si se inhala (gas, vapor, polvo/niebla)
2	DL ₅₀ (ingestión) > 5 mg/kg pero ≤ 50 mg/kg de peso corporal DL ₅₀ (vía cutánea) > 50 mg/kg pero ≤ 200 mg/kg de peso corporal CL ₅₀ (gas) > 100 ppm pero ≤ 500 ppm CL ₅₀ (vapor) > 0,5 mg/l pero ≤ 2,0 (mg/l) CL ₅₀ (polvo/niebla) > 0,05 mg/l pero ≤ 0,5 mg/l	Símbolo	
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro	Mortal en caso de ingestión Mortal en contacto con la piel Mortal si se inhala (gas, vapor, polvo/niebla)
3	DL ₅₀ (ingestión) > 50 mg/kg pero ≤ 300 mg/kg de peso corporal DL ₅₀ (vía cutánea) > 200 mg/kg pero < 1000 mg/kg de peso corporal CL ₅₀ (gas) > 500 ppm pero ≤ 2500 ppm CL ₅₀ (vapor) > 2,0 mg/l pero ≤ 10,0 (mg/l) CL ₅₀ (polvo/niebla) > 0,5 mg/l pero ≤ 1,0 mg/l	Símbolo	
		Palabra de advertencia	Peligro
		Indicación de peligro	Tóxico en caso de ingestión Tóxico en contacto con la piel Tóxico si se inhala (gas, vapor, polvo, niebla)
4	DL ₅₀ (ingestión) > 300 mg/kg pero ≤ 2000 mg/kg de peso corporal DL ₅₀ (vía cutánea) > 1000 mg/kg pero ≤ 2000 mg/kg de peso corporal CL ₅₀ (gas) > 2500 ppm pero ≤ 20000 ppm CL ₅₀ (vapor) > 10,0 mg/l pero ≤ 20,0 mg/l CL ₅₀ (polvo/niebla) > 1,0 mg/l pero ≤ 5,0 (mg/l)	Símbolo	
		Palabra de advertencia	Atención
		Indicación de peligro	Nocivo en caso de ingestión Nocivo en contacto con la piel Nocivo si se inhala (gas, vapor, polvo, niebla)
5	DL ₅₀ (ingestión o absorción cutánea) > 2000 mg/kg pero ≤ 5000 mg/kg de peso corporal Para gases, vapores, polvo, niebla, CL ₅₀ en la gama equivalente a la DL ₅₀ por vía oral (ingestión) y cutánea (es decir, > 2000 pero ≤ 5000 mg/kg de peso corporal) Véanse también los criterios adicionales: a) Indicación de efectos significativos en el ser humano; b) Todo dato de mortalidad de la Categoría 4; c) Signos clínicos apreciables de la Categoría 4; d) Indicaciones de otros estudios.	Símbolo	Sin símbolo
		Palabra de advertencia	Atención
		Indicación de peligro	Puede ser nocivo en caso de ingestión Puede ser nocivo en contacto con la piel Puede ser nocivo si se inhala (gas, vapor, polvo, niebla)

Fuente: ONU, 2011. Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA)

Con tal fin se han definido cinco categorías de toxicidad aguda, según la DL50 (oral, cutánea) o la CL50 (inhalación). Los valores de CL50 se basan en ensayos realizados en animales durante 4 horas. El SGA proporciona pautas de orientación sobre cómo convertir los resultados de ensayos por inhalación realizados durante 1 hora en su equivalente en 4 horas (UNITAR, 2010).

2.2.4 Efectos a la salud de los plaguicidas.

Se consideran, básicamente, dos tipos de intoxicaciones derivadas de la exposición a plaguicidas: la aguda y la crónica. Los efectos agudos suceden usualmente al cabo de unos minutos u horas de la exposición y pueden ser locales o sistémicos, mientras que los efectos crónicos pueden manifestarse incluso hasta años después de la exposición (Karam y col 2004).

La exposición crónica a los plaguicidas se encuentra asociada a daños en la salud que incluyen neurotoxicidad, efectos carcinogénicos e inmunológicos, alteraciones en la reproducción y el desarrollo (Simoniello y col 2010), entre algunos de los reportados en la literatura tenemos:

Cáncer: Basado en estudios epidemiológicos de salud y agrícolas asociados con la exposición a plaguicidas, se han reportado diferentes tipos de neoplasias, como cáncer de mama, próstata, pulmón, cerebro, colorrectal, testicular, páncreas, esófago,

estómago, piel y Linfoma no Hodgkin (Alavanja & Bonner 2012; Weichental et al., 2012; Mostafalou & Abdollahi 2013), señalando la exposición a los plaguicidas como un posible factor de riesgo.

En recientes revisiones bibliográficas (Mostafalou & Abdollahi 2013) recopilaron una variedad de estudios que relacionan la exposición a plaguicidas con diferentes tipos de neoplasias, aunque no hubo similitudes claras entre los diferentes grupos de plaguicidas, si fueron relacionados con algún tipo de cáncer. (Anexo A)

Así mismo, se ha reportado una incidencia de linfoma no-Hodgkin (NHL) donde son frecuentes anomalías cromosómicas y mutaciones genéticas, en particular la translocación t(14; 18) (q32; q21) la cual ha sido asociada a la exposición de plaguicidas como algunos organoclorados (clordano, DDT, lindano, toxafeno), organofosforados (diazinon, diclorvos, malatión) y derivados del ácido fenoxiacético (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) (Brian & Aaron, 2009).

Desordenes reproductivos: En este sentido, existen evidencias del potencial impacto de los plaguicidas como disruptores endocrinos en la función reproductiva masculina, pudiendo causar daños en la cromatina de los espermatozoides, disminuyendo la calidad del semen y produciendo alteraciones de las hormonas masculinas que pueden conducir a resultados adversos de salud reproductiva (Miranda et al., 2013). Las disfunciones reproductivas más reportadas como

inducidas por la exposición crónica a plaguicidas son la disminución de la fertilidad en ambos sexos y el aborto involuntario (Frazier, 2007).

Parkinson: La enfermedad de Parkinson es un trastorno motor progresivo del sistema nervioso central que se caracteriza por la muerte progresiva de neuronas en una parte del cerebro denominada sustancia negra, que trae como consecuencia la disminución en la disponibilidad de dopamina. La causa de esta degeneración no es bien conocida, pero algunos estudios indican que el estrés oxidativo y la disfunción mitocondrial desempeñan un papel primordial en el desarrollo de este trastorno (Mostafalou & Abdollahi 2013).

La hipótesis de que ciertos tóxicos ambientales pudieran ser el origen del Parkinson ha sido apoyada por el descubrimiento de que compuestos químicos como los herbicidas paraquat, diquat y el fungicida maneb son selectivamente tóxicos en las neuronas dopaminérgicas nigroestriadas (Ortiz y col, 2011)

Alzheimer: Aunque en menor proporción, se ha encontrado asociaciones directas y significativas entre la exposición a organofosforados y el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (Mostafalou & Abdollahi 2013). En un estudio realizado a una población que vive en áreas con alto uso de plaguicidas se reportó una mayor incidencia de la enfermedad (Parrón, Requena, Hernández & Alarcón, 2011).

Esclerosis lateral amiotrófica (ELA): Es la pérdida de las neuronas motoras tanto superiores como inferiores. Los síntomas incluyen debilidad progresiva, atrofia muscular y fasciculaciones, espasticidad muscular, disartria (dificultad para hablar), disfagia (dificultad para tragar) y disminución de la capacidad respiratoria (Mostafalou & Abdollahi, 2013). Aunque sus causas son desconocidas varios informes indican la asociación de la ELA con la exposición a plaguicidas (Vinceti, Bottecchi, Fan, Finkelstein & Mandrioli, 2012)

Otras enfermedades: También hay pruebas circunstanciales en la asociación de la exposición a plaguicidas con algunas otras enfermedades crónicas como la problemas respiratorios, particularmente el asma y la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades cardiovasculares como la aterosclerosis y la enfermedad de la arteria coronaria, nefropatías crónicas, enfermedades autoinmunes como el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide, síndrome de fatiga crónica, y el envejecimiento. (Mostafalou & Abdollahi, 2013)

Por estar todas estas patologías previamente mencionadas, asociadas al uso de plaguicidas es necesario monitorear a las personas expuestas para estar alerta y prevenir cualquiera de estas enfermedades a través de biomarcadores de exposición y de efecto.

2.3. Inhibición de la actividad colinesterásica como biomarcador de exposición a compuestos organofosforados y carbamatos.

Los organofosforados y carbamatos son inhibidores de la colinesterasa, enzima humana que cataliza la hidrólisis de los ésteres del neurotransmisor acetilcolina. Los organofosforados se unen a la acetilcolinesterasa e inhiben su actividad por fosforilación irreversible, tanto en los glóbulos rojos como en el plasma, por lo cual su restauración depende de la síntesis de nuevas moléculas de la enzima, a diferencia de los carbamatos en los que esta unión es reversible de manera espontánea (Cárdenas, Silva & Ortíz, 2010). La colinesterasa según su especificidad por un sustrato puede ser de dos tipos:

La acetilcolinesterasa (AChE) (acetilcolina-acetilhidrolasa), también llamada colinesterasa verdadera, específica o eritrocitaria, es una enzima esencial con un alto grado de especificidad en cuanto al sustrato, y que está presente unida a estructuras celulares en las regiones de las sinapsis colinérgicas, la sustancia gris del sistema nervioso central, los ganglios autonómicos, las sinapsis simpáticas pre y postganglionar y las terminaciones motoras de los músculos, así como en las sinapsis postganglionar parasimpáticas y los eritrocitos (Ibarra & Linares, 2012)

Se encuentra presente en eritrocitos y tejido nervioso, ha sido empleada para evaluar los efectos nocivos de organofosforados y metil-carbámicos ya que se deprime más lentamente y toma varias semanas y hasta meses para retornar a niveles

normales; por lo tanto, es útil en los sistemas de vigilancia para medir la exposición crónica a plaguicidas anticolinesterásicos (Cárdenas y col, 2010).

La colinesterasa (BCh) (acilcolina-acilhidrolasa) también denominada colinesterasa no específica, pseudocolinesterasa, colinesterasa plasmática o sérica, butirilcolinesterasas y benzoilcolinesterasas (Ibarra y Linares, 2012). Se sintetiza en los hepatocitos y se encuentran presente en la mayoría de los tejidos con excepción de los eritrocitos, se produce generalmente en exceso, ya que su actividad apenas disminuye en enfermedades hepáticas grave (Fernández, Ramallo, Carmona & Carrasco, 2011).

Los organofosforados y carbamatos no son las únicas sustancias inhibidoras de la colinesterasa, una síntesis insuficiente de proteínas en el parénquima hepático puede disminuir en un 30-40 % la actividad de las BCh en el plasma o suero. Existen otros factores de variación en la actividad de la BCh, por ejemplo, en hombres los valores son un 10-15 % mayores que en mujeres, sus valores decrecen en las mujeres durante la menstruación y el embarazo, y algunos estados fisiopatológicos (los disminuyen las hepatopatías, uremia, cáncer, insuficiencia cardíaca y reacciones alérgicas, mientras que los incrementan el hipertiroidismo y otros estados de ritmo metabólico (Ibarra y Linares, 2012).

La BCh es inhibida más rápidamente que la eritrocitaria y sus niveles normales se restablecen dentro de los 60 días posteriores a la exposición, siendo un

indicador de intoxicación aguda por organofosforados (Cárdenas y col, 2010). Aunque en la presente investigación sería ideal la determinación eritrocitaria, por dificultades en reactivos, se optó por la determinación de la BCh.

2.4. Pruebas citogenéticas como biomarcadores de efecto.

Dentro de los biomarcadores de efecto se encuentran los de genotoxicidad que permiten establecer la interacción del xenobiótico con el material genético e indicar precozmente posibles daños en el ADN (Simoniello y col 2010), entre los que se encuentran las aberraciones cromosómicas (AC), intercambios de cromátidas hermanas (ICH) el ensayo cometa (CO) y los micronúcleos (MN), (Gómez y col, 2013).

2.4.1. Prueba de micronúcleos (MN).

Los MN son fragmentos de cromosomas o cromosomas completos que quedan rezagados en anafase, por lo tanto no son incluidos en el núcleo de las células hijas durante la división nuclear. (Holland et al., 2008).

Durante la división celular el material genético (ADN) contenido en el núcleo se replica y divide equitativamente dando lugar a dos células hijas idénticas (Fig 1), este proceso puede producirse de manera errónea debido a errores durante la replicación y posterior división del ADN, a roturas cromosómicas y al efecto de la radiación y de sustancias genotóxicas, produciéndose pérdida cromosómica y

haciendo que el reparto del material genético no sea equitativo. Cuando esto ocurre, el material genético que se desprende y que, por tanto, queda excluido y no se incorpora correctamente al núcleo de la célula hija, origina un nuevo núcleo de menor tamaño denominado micronúcleo (MN), visible fácilmente al microscopio óptico (Zalacain, Sierrasesúgama & Patiño, 2005). (Fig 2)

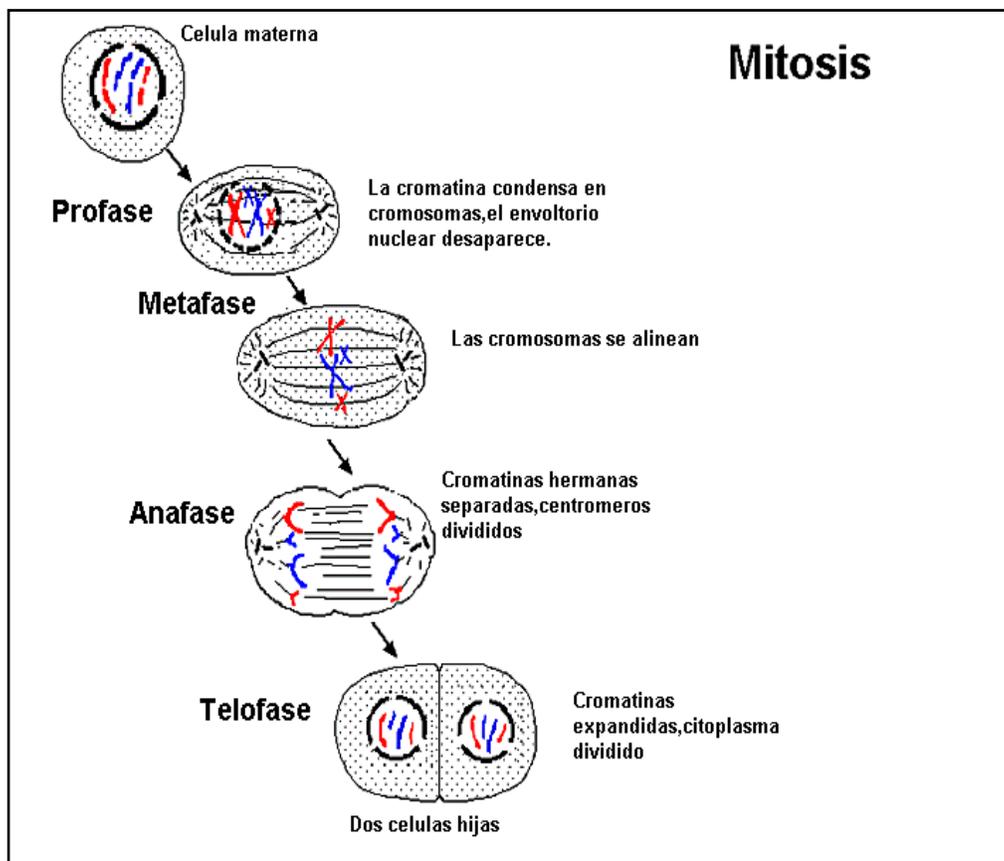


Fig 1. Etapas de la división celular. <http://www.escuelapedia.com/mitosis/>

Actualmente, los micronúcleos constituyen un biomarcador de efecto genotóxico ya que éstos son cuerpos extranucleares que se formaron durante la

mitosis en la transición de metafase–anafase y pueden ser cromosomas completos rezagados por daño al huso mitótico (efecto aneugénico), o bien fragmentos de cromosomas sin centrómero (efecto clastogénico); en cualquiera de los casos, no lograron incorporarse a ninguno de los núcleos de las células hijas. (Torres & Ramos, 2013).

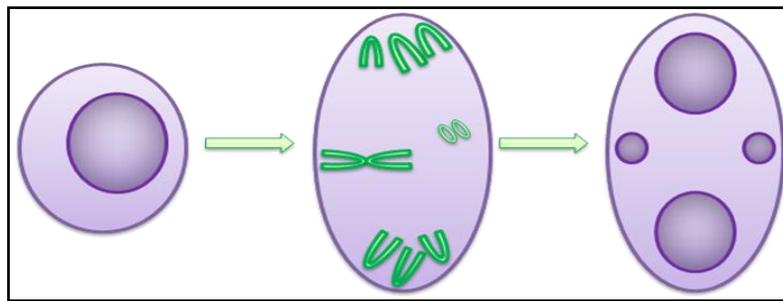


Fig 2. Formación de Micronúcleos en el curso de la división celular. Fuente: Elaboración propia.

El conteo de los micronúcleos es llevado a cabo fácilmente en cualquier tejido que se divida como es el epitelio de mucosa bucal (Bonassi et al, 2011). Específicamente, los micronúcleos observados en células exfoliadas de tejido epitelial se forman en las células de la capa basal que es donde se lleva a cabo la división celular; éstas migran a la superficie en el transcurso de cinco a 14 días, de manera que el monitoreo de poblaciones mediante la observación de este tejido puede reflejar el daño ocurrido durante este tiempo. Este daño puede ser espontáneo o inducido por factores endógenos o exógenos. (Ruiz y col 2013, Bonassi et al., 2011, Torres, Zavala, Macriz, Flores & Ramos, 2013).

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Tipo de investigación.

La investigación realizada fue de tipo descriptiva y correlacional, con la finalidad de evaluar la actividad de la butirilcolinesterasa y la presencia de micronúcleos en trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en el Municipio Urdaneta del Estado Lara. Venezuela. Es descriptiva, ya que caracteriza un hecho, fenómeno, individuo o grupo, con el fin de establecer su estructura o comportamiento. Así mismo, es correlacional, ya que determina el grado de relación o asociación existente entre dos o más variables. En estos estudios, primero se miden las variables y luego, se estima la correlación. (Arias, 2012).

3.2 Diseño de la investigación.

La investigación realizada fue no experimental y de corte transversal, ya que se recolectaron los datos directamente de los sujetos investigados, o de la realidad donde ocurren los hechos, sin manipular o controlar las variables, es decir, el investigador obtiene la información pero no altera las condiciones existentes, (Arias, 2012) y transversal ya que la recolección de datos se realiza en un solo momento.

3.3. Población y muestra.

La población estuvo constituida por agricultores que laboran en fincas de comunidades del Municipio Urdaneta. Y la muestra se conformó por 41 trabajadores (GE) de sexo masculino que realizan actividades agrícolas y que por lo tanto se encuentran expuestos a plaguicidas. Además se incluyó un grupo de individuos, no expuesto (GNE), formado por 41 trabajadores de actividad comercial y del mismo municipio, con las mismas características de sexo y edad similar.

La selección se determinó por la disponibilidad de voluntarios en cada situación y se realizó a través de un muestreo no probabilístico intencional, ya que la muestra fue seleccionada sin conocer la probabilidad que tienen los elementos de la población para integrar la muestra, en este caso los elementos son escogidos en base a criterios o juicios preestablecidos por el investigador y no por escogencia al azar. (Arias, 2012).

Una vez seleccionados los participantes del estudio se les informó los objetivos de la investigación propuesta y se le solicitó su autorización para participar en el proyecto, para lo cual debieron firmar la hoja de consentimiento informado en aceptación a su participación en el estudio (Anexo B).

Criterios de inclusión:

- Trabajadores mayores de 18 años.
- Ser trabajadores de fincas ubicadas en el Municipio Urdaneta del Edo. Lara, que realicen regularmente operaciones de preparación y/o aplicación de plaguicidas.
- Presentar antigüedad laboral como mínimo de 6 meses.

Criterios de exclusión:

- Trabajadores que realicen actividades adicionales a las agrícolas que estén en contacto con sustancias que puedan alterar las pruebas a realizar, como exposición a solventes orgánicos, o que se encuentren sometidos a tratamientos de radioterapia o quimioterapia, entre otros.

El GNE estuvo constituido por habitantes del Municipio Urdaneta, entre los criterios de inclusión debieron ser mayores de edad y no estar expuestos a plaguicidas. Como criterio de exclusión, se tomaron en cuenta los mismos que para el GE.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de información.

Para llevar a cabo los objetivos planteados se realizó la técnica de encuesta donde a través de un cuestionario (Anexo C), el cual fue validado previamente por el juicio de expertos, se efectuaron preguntas socio- demográficas (edad, sexo, grado de instrucción, hábito de consumo de alcohol y cigarrillo), historial médico (patologías, síntomas, antecedentes familiares), actividad laboral (uso de medidas de protección, productos utilizados, frecuencia de la aplicación de los plaguicidas, almacenamiento y preparación de los productos, entre otros).

3.4.1. Toma y procesamiento de muestras

Previo a la toma de muestra se le informó a los participantes que no podían ingerir alcohol el día anterior, y que deberían presentarse en ayuno de 12-14 horas en el laboratorio de la localidad para la toma de la muestra de sangre y el raspado de la mucosa oral.

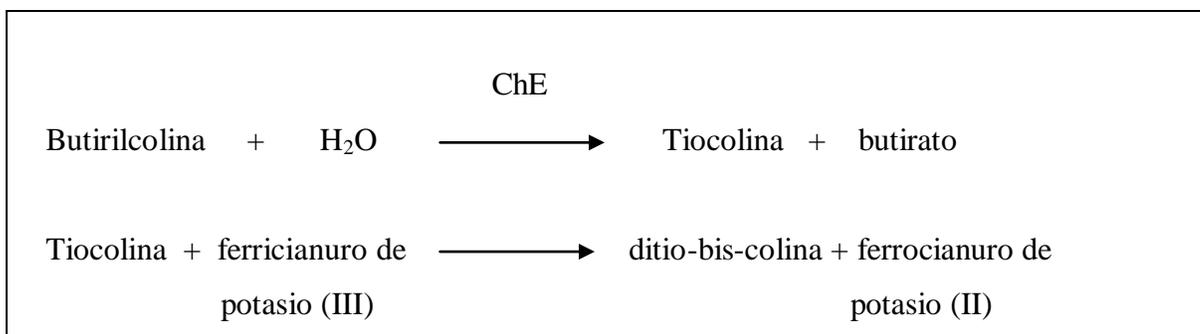
La obtención de las muestras se realizó en horas de la mañana por personal calificado bajo los procedimientos estándar. Siguiendo las medidas de asepsia de la zona de punción del antebrazo, se tomaron 10 ml de sangre venosa en tubos heparinizados, rotulados con el nombre completo.

Seguidamente, se realizó la toma de muestra de las células epiteliales, cada participante se enjuagó la boca con agua potable y con un citocepillo se raspó suavemente la mucosa bucal, se tomó una muestra por cada mejilla para obtener mayor cantidad de células y se recolectó en un tubo cónico que contenía 5 ml de solución salina (0,9 % NaCl), inmediatamente fueron colocadas en una cava refrigerada hasta su procesamiento.

3.5 Procedimientos metodológicos

3.5.1. Determinación de Butirilcolinesterasa (BCh)

Fundamento: La actividad de BCh se determinó por un método cinético de inhibición diferencial a través de la reacción de la tiocolina con el ferricianuro de potasio (III) del kit comercial de laboratorios Wiener, de acuerdo con la siguiente secuencia de reacciones (Young,1997).



El test está formado por un reactivo A que contiene buffer pirofosfato 73mM, ferricianuro de potasio(III) 2,4 mM, pH 7,7 y el reactivo B que contiene solución de buffer de Goofs 10mM, butirilticolina 92 mM, pH 4,0, los cuales fueron conservados en refrigeración (2-10 °C) hasta el momento de su uso. Para la determinación se tomaron 4 ul de muestra de suero y se le adicionaron 150 ul del reactivo A (incubado durante 300 segundos a 37 °C) y 30 ul del reactivo B (incubado 120 segundos a 37 ° C). La lectura de la absorbancia inicial se realizó en un equipo Espectrofotómetro Omega IV a 405 nm (A_1) y a los 90 segundos exactos, se registró una segunda lectura (A_2). Para obtener el resultado de la colinesterasa en U/L, se multiplicó la diferencia de absorbancia ($\Delta A = A_2 - A_1$) por el factor obtenido previamente con el calibrador A plus procesado de la misma manera que la muestra y con un material de control de calidad Standatrol S-E 2 niveles (Young, 1997).

Valores de referencia

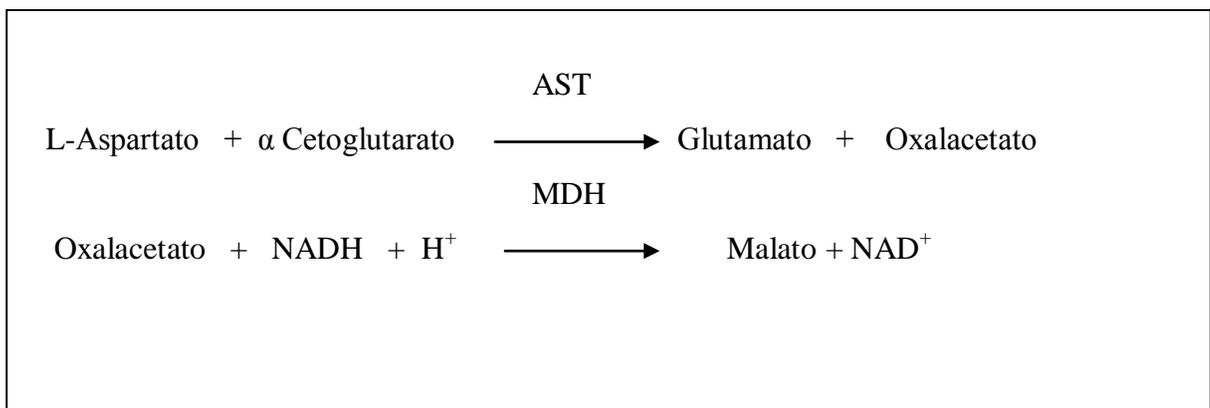
Suero o plasma:

- Niños, hombres y mujeres mayores 40 años: 5320-12920 U/L
- Mujeres entre 16 y 39 años, no embarazadas y que no toman anticonceptivos orales: 4260-11250 U/L
- Mujeres entre 18 y 41 años, embarazadas o tomando anticonceptivos orales: 3650-9120 U/L

3.5.2. Transaminasa Aspartato aminotransferasa (AST)

Fundamento: La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (TGO) fue medida a través de un método cinético del laboratorio Bio-Science Medical (Murray, 1984), que se fundamenta en que la AST cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al α -cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada (Murray, 1984a)

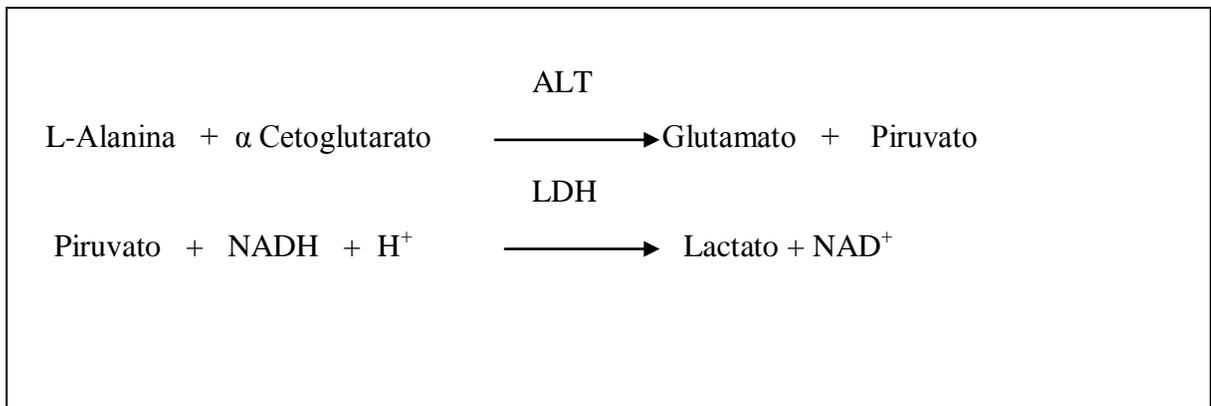


Valor de referencia (08-40 U/L)

3.5.3. Transaminasa Alanina aminotransferasa (ALT).

Fundamento: La alanina aminotrasferasa (ALT) inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (TGP) fue medida por el método cinético de Bio-Science Medical (Murray, 1984b) que se fundamenta en que la ALT cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al α -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH.

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada (Murray, 1984b).



Valor de referencia (05-30 U/L)

3.5.4. Estudio Hematológico y conteaje de Plaquetas

El estudio de hematología comprendió la determinación de hemoglobina, hematocrito, conteaje de glóbulos blancos, así como el estudio de las plaquetas, dichos análisis se realizaron en un equipo automatizado de Hematología Counter 19[®] (Wiener, Counter 19/19 CP, 2015) además se observaron al microscopio los frotis sanguíneo previa coloración con Giemsa.

3.5.5. MN en células epiteliales de la mucosa bucal

A las muestras epiteliales de descamación de la mucosa bucal se les realizó el siguiente protocolo en base a Benedetti et al., (2013) con modificaciones propias.

- Las muestras fueron centrifugadas a 1500 rpm, a 4° C, durante 8 minutos.
- El sedimento obtenido fue lavado 2 veces con 5 ml de solución salina bajo las mismas condiciones de centrifugación.
- Se procedió a un último lavado con una solución fijadora de Canny formada por metanol y ácido acético en proporción 3:1 con las condiciones mencionadas anteriormente.
- Se resuspendieron las células y se tomaron muestras de 100 microlitros en dos lámina portaobjeto previamente codificada para cada individuo.
- Se dejaron secar las láminas a temperatura ambiente y protegidas del polvo.

- Se realizó la tinción con Giemsa al 2 % durante 10 min, se lavaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.
- El recuento de MN se realizó sobre 1000 células bucales por individuo (500 por cada duplicado) y se visualizaron con microscopio óptico Zeiss Axiostar plus.

Se han descrito criterios de selección para reconocer tanto las células en las que se va a realizar el recuento, como criterios para seleccionar los MN que presenten las características necesarias para ser reconocidos como tales y que el recuento realizado sea fiable y objetivo, entre los criterios para seleccionar MN podemos mencionar que tengan forma redonda o almendrada y midan entre $1/3$ y $1/16$ del núcleo principal, presenten la misma intensidad, textura y plano focal que el núcleo, pueden tocar el núcleo principal pero no solaparse con él y estar localizados dentro del citoplasma de la célula (Torres & Ramos, 2013; Kausar, Giri, Roy & Giri, 2014).

3.6. Análisis de datos.

Se calcularon estadísticos descriptivos (medias, desviación estándar, medianas, mínimos y máximos), frecuencias absolutas y porcentajes. Para los análisis estadísticos se empleó la prueba t student y para diferencias entre grupos con distribución normal. Cuando las variables no siguieron una distribución normal se aplicaron estadísticos no paramétricos (prueba U de Mann Whitney) para diferencias

entre 2 grupos y Kruskal-Wallis para comparar 3 grupos o más. Finalmente, se aplicó el test de Spearman para establecer la correlación entre las variables en estudio. El estadístico utilizado fue el paquete libre PAST v.2.04 y el nivel de significancia fue ($p < 0,005$).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

La muestra estuvo conformada por 82 individuos, todos del género masculino, divididos en dos grupos: GE constituido por 41 trabajadores agrícolas que trabajan en fincas del Municipio Urdaneta. Edo. Lara; con edad promedio de $40,34 \pm 10,59$ años y un GNE conformado por 41 trabajadores que trabajan en comercios de la misma localidad, con edad promedio de $37,07 \pm 13,63$ años, observándose un predominio del rango de edad entre 29-38 años (34,1%) y 39-48 años (34,1%) para el GE y 29-38 años (43,9%) para el GNE. En cuanto al grado de instrucción en el GE hubo mayor frecuencia de individuos con la primaria completa (46,3%), y en el GNE predominaron los individuos con la secundaria completa (36,6%) (Tabla 3).

En relación al hábito tabáquico hubo mayor prevalencia de no fumadores para ambos grupos (GE 78%) y (GNE 80,5%), mientras que el hábito alcohólico se encontró presente en los dos grupos, con predominio en el (GE 78,1%) en relación al (GNE 58,5%).

Tabla 3. Características sociodemográficas de los grupos en estudio.

	GE n= 41	GNE n= 41
RANGO DE EDAD(años)	f (%)	f (%)
18-28	4 (9,8)	11 (26,8)
29-38	14 (34,1)	18 (43,9)
39-48	14 (34,1)	3 (7,3)
49-58	7 (17,1)	3 (7,3)
≥ 59	2 (4,9)	6 (14,6)
GRADO DE INSTRUCCIÓN	f (%)	f (%)
Analfabeta	2 (4,9)	0 (0)
Primaria Incompleta	10 (24,4)	6 (14,6)
Primaria Completa	19 (46,3)	8 (19,5)
Secundaria Incompleta	2 (4,9)	4 (9,8)
Secundaria Completa	4 (9,8)	15 (36,6)
Técnico	4 (9,8)	1(2,4)
Universitario	0 (0)	7 (17,1)

GE: Grupo Expuesto; GNE: Grupo No Expuesto

Tabla 4. Hábito tabáquico y alcohólico de los grupos en estudio.

HÁBITO TABÁQUICO	(GE) f(%)	(GNE) f (%)
No	32 (78)	33 (80,5)
Sí	9 (21,9)	8 (19,5)
HÁBITO ALCOHÓLICO	f (%)	f (%)
Sí	32 (78,1)	24 (58,5)
No	9 (22)	17 (41,5)

GE: Grupo Expuesto; GNE: Grupo No Expuesto

En relación a la información laboral, el tiempo de exposición a los plaguicidas en el GE, se evidenció que el mayor porcentaje se encuentra en el rango de 6-15 años (34,14%) y el rango de más de 26 años (34,14 %), con una jornada semanal de 5-6 días (65,9%) y un tiempo de trabajo de 7-8 horas diarias (58,5%) (Tabla 5).

Tabla 5. Distribución del grupo expuesto según el tiempo de exposición.

Antigüedad (años)	f	%
≤ 5	4	9,75
6-15	14	34,14
16-25	9	21,95
≥ 26	14	34,14
Días laborables (días/semana)	f	%
1-4	5	12,2
5-6	27	65,9
7	9	22
Jornada laboral (horas/día)	f	%
3-4	8	19,5
5-6	9	22,0
7-8	24	58,5

El GE realiza diversas actividades en el campo, destacándose una mayor frecuencia en actividades mixtas (51,2%) que es cuando alternan cualquiera de las actividades (fumigador, preparador y/o regador) dependiendo de la necesidad del momento. El equipo más utilizado para realizar las actividades de fumigación fue la pistola (56,1%) y la mayor frecuencia de aplicación es de 2-3 días por semana

(70,7%). En cuanto a la forma de descartar los envases de plaguicidas, se presentó una mayor frecuencia en la incineración (51,2%) (Tabla 6).

Tabla 6. Distribución del grupo expuesto según la actividad que realiza, equipo utilizado para la fumigación, frecuencia de aplicación y forma de descartar los envases de plaguicidas.

Actividad	f	%
Mixtas	21	51,2
Fumigador	13	31,7
Preparador	2	4,9
Regador	5	12,2
Equipo	f	%
Asperjadora	3	7,3
Tanque	8	19,5
Pistola	23	56,1
No fumigan	7	17,1
Días por semana	f	%
1	3	7,3
2-3	29	70,7
Cada 15 días	2	4,9
No fumigan	7	17,1
Forma de descarte	f	%
Incinerados	21	51,2
Reutilizados	9	22,0
Incinerados o reutilizados	11	26,8

Así mismo, en relación al uso de equipos de protección personal (EPP), los más utilizados fueron la gorra (75,6%) y el pantalón largo (70,7%) (Tabla 7).

Tabla 7. Uso de equipos de protección personal del grupo expuesto

EPP	Sí f (%)	No f (%)	Ocasionalmente f (%)
Gorra	31(75,6)	10 (24,4)	0 (0,0)
Pantalón largo	29 (70,7)	1 (2,4)	11 (26,8)
Lentes	8 (19,5)	33 (80,5)	0 (0,0)
Mascarilla	4 (9,8)	37 (90,2)	0 (0,0)
Botas	26 (63,4)	15 (36,6)	0 (0,0)
Camisa manga larga	10 (24,4)	10 (24,4)	21(51,2)

EPP: Equipos de protección personal

En los antecedentes patológicos, la hipertensión arterial fue la patología de mayor prevalencia para ambos grupo (GE: 7,3%; GNE: 4,9 %). En cuanto a los síntomas, el enrojecimiento ocular y el dolor de cabeza fueron los de mayor prevalencia en el GE (48,8%; 36,6%), mientras que en el GNE fue el dolor de cabeza (4,9%) (Tabla 8). Como hallazgo de la investigación se encontró en el GE la presencia de antecedentes familiares como el aborto espontáneo en la pareja (12,2%) e hijos con malformaciones (4,9%). (Tabla 8).

Tabla 8. Distribución de la muestra en estudio según antecedentes patológicos y familiares

Antecedente patológico	GE		GNE	
	Sí f(%)	No f(%)	Sí f(%)	No f(%)
Renales	2 (4,9%)	39 (95,1)	2 (4,9%)	39 (95,1)
Hepáticos	1 (2,4%)	40(97,6%)	0 (0)	41 (100)
Diabetes	2 (4,9%)	39 (95,1)	2 (4,9%)	39 (95,1)
Hipertensión	3 (7,3)	38 (92,7)	5 (12,2%)	36 (87,8)
Infertilidad	0 (0)	41 (100)	0 (0)	41 (100)
Antecedentes Familiares	Sí f (%)	No f (%)	Sí f (%)	No f (%)
Abortos en la pareja	5 (12,2)	36 (87,8)	0 (0)	41 (100)
Hijos con malformaciones	2 (4,9%)	39 (95,1)	0 (0)	41 (100)
Síntomas	Sí f(%)	No f(%)	Sí f(%)	No f(%)
Dolor de cabeza	15 (36,6)	26 (63,4)	2 (4,9%)	39 (95,1)
Erupciones en piel	9 (22)	32 (78)	0 (0)	41 (100)
Enrojecimiento ocular	20 (48,8)	21 (51,2)	0 (0)	41 (100)
Mareos	8 (19,5)	33 (80,5)	0 (0)	41 (100)
Convulsiones	1 (2,4%)	40 (97,6%)	0 (0)	41 (100)
Debilidad muscular	4 (9,8)	37(90,2)	0 (0)	41 (100)

GE: Grupo Expuesto; GNE: Grupo No Expuesto

En cuanto a los plaguicidas utilizados en los cultivos, los agricultores manifestaron usar mezclas de diferentes productos, fueron reportados 28 productos los cuales fueron agrupados de acuerdo a su componente, estructura química y grado de toxicidad reflejado en la etiqueta del empaque. Los más utilizados fueron organofosforados, carbamatos y piretroides (Tabla 9).

Así mismo, se clasificaron de acuerdo a la Organización Mundial de la Salud, Sistema Global Armonizado y por la Agencia Internacional de investigación de cáncer. (Tabla 10). En base a su toxicidad según la OMS la mayoría son considerados moderadamente tóxicos (grupo II), sin embargo, dos de ellos: metamidofos (organofosforado) y metomilo (carbamato) pertenecientes al grupo Ib son clasificados como altamente peligrosos. Asimismo, según la SGA, estos compuestos están ubicados en la categoría II, clasificados como mortales en contacto con la piel y si son inhalados (gas, vapor, polvo/niebla). No obstante, en base a la clasificación del SGA la mayoría de los plaguicidas referidos en este estudio pertenecen al grupo III que son considerados tóxicos en contacto con la piel y si son inhalados.

Por otra parte, según la Agencia Internacional para la Investigación sobre el Cáncer (IARC, 2015) el diazinón, glifosato y malatión pertenecen al grupo 2A ("probablemente cancerígenos para los humanos".)

En los valores promedio obtenidos para la (BCh) se evidenció una mayor inhibición de la enzima en el GE ($3528,75 \pm 1162,45$ U/L) en relación a el GNE ($5764,41 \pm 1641,43$ U/L). En cuanto a la AST se mostró un mayor promedio del GE ($34,82 \pm 5,01$ U/L) en relación al GNE ($29 \pm 5,76$ U/L), al igual que la ALT, donde el GE presentó ($25,87 \pm 2,49$ U/L) y el GNE ($22,82 \pm 3,20$ U/L), ambas se encontraron dentro de los rangos normales. El análisis estadístico utilizando t de Student mostró una diferencia estadísticamente significativa $p < 0,001$ para las variables BCh, AST y ALT del GE en relación al GNE (Tabla 11).

En cuanto al perfil hematológico se encontró un mayor promedio en los valores del GE en relación al GNE para las variables HGB, HTC y PQT, encontrándose una relación estadísticamente significativa para los parámetros de hemoglobina (HGB) $p < 0,05$ y hematocrito (HTC) $p < 0,001$ aunque todos se encontraron dentro de los rangos normales (Tabla 11).

Tabla 9. Plaguicidas utilizados por el grupo expuesto.

NOMBRE COMERCIAL	COMPONENTE	ESTRUCTURA QUÍMICA	GRADO DE TOXICIDAD
ABAC	Abamectina	Avermectina	Moderadamente peligroso
ACARAMIK 1.8 EC	Abamectina	Avermectina	Moderadamente peligroso
AMIDOR	Metamidofos	Insecticida organofosforado	Altamente tóxico
BRIGADE 50 CE	Bifentrin	Insecticida acaricida piretroide	Altamente tóxico
BRONCO	clorpirifos + alfacipermetrina	Insecticida organofosforado + piretroide.	Moderadamente tóxico
CONFIDOR	Imidacloprid	Insecticida cloronicotínlico	Moderadamente tóxico
CORSARIO	Diazinon+ Cipermitrina	Insecticida organofosforado + piretroide.	Moderadamente tóxico
CURACARB 500 SC	Carbendazim	Fungicida- Benzimidazol	Ligeramente tóxico
CURACRON	Profenofos	Insecticida organofosforado	Moderadamente tóxico
DOMINEX	Alfacipermetrina	Insecticida piretroide	Altamente tóxico
DRAGO	Cipermetrina	Insecticida piretroide	Moderadamente tóxico
DUAL-GOLD	S metolacloro	Herbicida acetanilida	Ligeramente tóxico
GLYFOSAN	Glifosato	Herbicida fosfometilglicina	Ligeramente tóxico
GRAMOXONE NF	Paraquat	Bipiridilo	Altamente tóxico
HACHE UNO 2000	fluazifop-p-butil	Herbicida Alcanoico Policíclico	Ligeramente tóxico
KARATE	Lambdacihalotina	Insecticida piretroide	Altamente tóxico
KASUMIN	Kasugamicina	Fungicida	Ligeramente tóxico
LEGEND	Oxifluorfen	Herbicida-difenil éter	Ligeramente tóxico
MALATHION	Malation	Insecticida organofosforado	Ligeramente tóxico
MARSHAL 25 CE	Carbosulfan	Insecticida acaricida carbamato	Altamente tóxico
MECARMIL S	Metomilo	Insecticida carbamato	Altamente tóxico
PREMIER 75 PM	Cyromazina	Insecticida triazina	Ligeramente tóxico
PR WL 400 EC	Pendimethalin	Herbicida dinitroanilina	Ligeramente tóxico
PYRINEX	Clorpirifos	Insecticida organofosforado	Moderadamente tóxico
REGENT	Fipronil	Insecticida fenil-pirazol	Moderadamente tóxico
RELEVO	Imidacloprid	Insecticida cloronicotínlico	Moderadamente tóxico
TRACER 120 CS	Spinosad	Espinocinas	Ligeramente tóxico
WIN 70 CS	Propamocarb clorhidrato	Fungicida carbamato	Ligeramente tóxico

Tabla 10. Clasificación de los plaguicidas utilizados de acuerdo a la OMS, SGA, IARC.

Compuesto	OMS	SGA	IARC
Abamectina			
Alfacipermetrina	II	3	
Bifentrin	II	3	
Carbendazim	U	5	
Carbosulfan	II	3	
Cipermetrina	II	3	
Clorpirifos	II	3	
Cyromazina	III	5	
Diazinon	II	4	2A
Fipronil	II	3	
Fuazifop-p-butil	III	5	
Glifosato	III	5	2A
Imidacloprid	II	4	
Kasugamicina	U	5	
Lambdacihalotina	II	3	
Malation	III	5	2A
Metamidofos	Ib	2	
Metomilo	Ib	2	
S metolacloro	III	5	
Oxifluorfen	U	5	
Paraquat	II	3	
Pendimethalin	II	4	
Profenofos	II	4	
Propamocarb	U	5	
clorhidrato			
Spinosad	III	5	

Clasificación de toxicidad aguda de la OMS (Organización Mundial de la salud): Ia: extremadamente peligroso; Ib: altamente peligroso; II: Moderadamente peligroso; III: levemente peligroso; U: Es poco probable produzca un peligro grave en el uso normal.

Clasificación de toxicidad del SGA (Sistema Global Armonizado): Categoría 1: Oral: ≤ 5 ; Cutánea: ≤ 50 ; Gases ≤ 100 . Categoría 2: Oral: $> 5 \leq 50$; Cutánea: $> 50 \leq 200$; Gases: $> 100 \leq 500$. Categoría 3. Oral: $> 50 \leq 300$; Cutánea: $> 200 \leq 1000$; Gases: $> 500 \leq 2500$. Categoría 4. Oral: $> 300 \leq 2000$; Cutánea: $> 1000 \leq 2000$; Gases: $> 2500 \leq 20000$. Categoría 5: Oral y Cutánea: $> 2000 \leq 5000$; Gases: Criterios de grupo 4. En base a DL50 (oral, cutánea: mg/Kg) o la CL50 (inhalación ppm).

IARC (Agencia Internacional de investigación de cáncer): Grupo 1: Conocido carcinógeno; Grupo 2a: Probable carcinógeno; Grupo 2b: Posible carcinógeno; Grupo 3: No clasificable como carcinógeno datos incompletos o ambiguos; Grupo 4: Probablemente no carcinógeno NL: No Listado.

Tabla 11. Valores de butirilcolinesterasa, transaminasas y perfil hematológico en los grupos de estudio.

Grupos Parámetros	GE n= 41 $\bar{X} \pm DS$	GNE n= 41 $\bar{X} \pm DS$	P
BCh (U/L)	3528,75 \pm 1162,45	5764,41 \pm 1641,43	0,000
AST (U/ L)	34,82 \pm 5,01	29 \pm 5,76	0,000
ALT(U/ L)	25,87 \pm 2,49	22,82 \pm 3,20	0,000
HGB(g/dL)	14,72 \pm 0,91	14,03 \pm 1,28	0,006
GB (10³/uL)	2,51 \pm 0,60	2,59 \pm 0,75	0,596
HTC (%)	43,60 \pm 2,75	40,95 \pm 3,45	0,000
PQT(10³/uL	281,02 \pm 62,16	262,75 \pm 58,70	0,175

BCh:Butirilcolinesterasa; AST:Aspartato aminotransferasa; ALT: Alanina aminotransferasa; HGB: Hemoglobina; GB: Glóbulos blancos; HTC: Hematocrito; PQT: Plaquetas. $\bar{X} \pm DS$: Media \pm Desviación estándar Prueba T de Student $p < 0,05$ y $p < 0,001$.

En cuanto a la frecuencia de micronúcleos (MN) se presentó mayor promedio en el GE (3,09) respecto al GNE (0,73), así mismo, fueron observados células con un MN y células con más de un MN o polimicronucleadas (PMN) (Fig 3). El análisis estadístico utilizando la U de Mann-Whitney mostró una diferencia estadísticamente significativa $p < 0,001$ entre los grupos. (Tab 12).

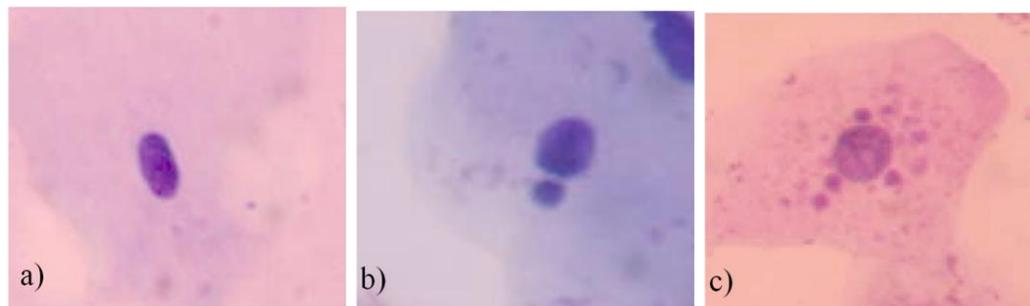


Fig 3. Tipos de célula: a) Célula normal mononucleada; b) Célula mononucleada con un micronúcleo; c) Célula mononucleada con polimicronúcleos. Tinción con Giemsa 100X. Microscopio óptico Zeiss Axiostar plus.

Tabla 12. Frecuencia de micronúcleos en los grupos de estudio.

	GE			GNE			p
	Mediana	Mínimo	Máximo	Mediana	Mínimo	Máximo	
MN	3,09	0	15	0,73	0	5	0,000

GE: Grupo Expuesto; GNE: Grupo No Expuesto; MN: Micronúcleos. Prueba de U de Mann-Whitney $p < 0,001$

Al relacionar la variable tiempo de exposición con BCh, AST, ALT, MN, HGB, GB, HTC y PLQ del grupo expuesto, utilizando el análisis estadístico coeficiente de Spearman se observó una correlación estadísticamente significativa $p < 0,001$ y $p < 0,05$ excepto para los GB y PQT (Tabla 13).

En cuanto a la actividad que desempeña el GE, los que realizan actividades mixtas presentaron una mayor inhibición de la BCh y un mayor promedio de MN. En relación al rango de edad el grupo ≥ 59 años fue el que presentó mayor promedio de MN, al realizarle el estadístico Kruskal-Wallis no fue significativo.

Al comparar los valores BCh, AST y ALT de acuerdo al hábito alcohólico y tabáquico aplicando la Prueba t de Student no se encontró diferencia estadísticamente significativa, adicionalmente se aplicó la prueba de Mann-Whitney para comparar la frecuencia de micronúcleos con los mismos parámetros y no hubo diferencia estadísticamente significativa.

En relación a los valores de BCh y el uso de EPP, se encontró que quienes utilizaban 2 EPP presentaron valores estadísticamente significativos a los que usaban 3 EPP. Así mismo, para la AST se encontraron valores estadísticamente significativos de quienes utilizaban 4 EPP vs los que utilizaron 2 EPP. Y para la ATP los que usaban 2 EPP presentaron valores estadísticamente significativos vs los que utilizaron 4 según el estadístico post hoc de Tukey con una significancia de $p < 0,05$ (Tabla 14).

Al relacionar la butirilcolinesterasa con los antecedentes patológicos y los síntomas no se encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio. Sin embargo, se encontró una diferencia estadísticamente significativa $p < 0,05$ de los valores de BCh con el antecedente familiar aborto en la pareja (Tabla 15). Adicionalmente, la frecuencia de MN presentó una diferencia estadísticamente significativa $p < 0,001$ con el antecedente familiar hijos con malformaciones (Tabla 16). También se evidenció un aumento en la frecuencia de micronúcleos en el aborto espontáneo de la pareja pero no fue significativo.

Tabla 13. Relación del tiempo de exposición, BCh, AST, ALT, HGB, GB, HTC, PQT y MN del grupo expuesto.

		Tiempo de exposición	BCh (U/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)	HGB (g/dL)	GB (10 ³ /uL)	HTC (%)	PQT (10 ³ /uL)	MN
Tiempo de exposición	r	1,000								
	p									
BCh(U/L)	r	- 0,520	1,000							
	p	0,000(**)								
AST(U/L)	r	0,527	-0,261	1,000						
	p	0,000(**)	0,018(*)							
ALT(U/L)	r	0,516	-0,220	0,939	1,000					
	p	0,000(**)	0,047(*)	0,000(**)						
HGB(g/dL)	r	0,286	-0,240	0,199	0,195	1,000				
	p	0,009(**)	0,030(*)	0,073	0,079					
GB(10³/uL)	r	-0,045	-0,014	-0,146	-0,168	0,125	1,000			
	p	0,686	0,897	0,192	0,132	0,262				
HTC(%)	r	0,374	-0,275	0,230	0,215	0,884	0,126	1,000		
	p	0,001(**)	0,012(*)	0,038(*)	0,052	0,000(**)	0,259			
PQT(10³/uL)	r	0,148	-0,005	-0,089	-0,062	-0,092	0,062	-0,068	1,000	
	p	0,185	0,968	0,424	0,583	0,411	0,580	0,542		
MN	r	0,463	-0,258	0,476	0,465	0,160	-0,112	0,211	0,105	1,000
	p	0,000(**)	0,041(*)	0,000(**)	0,000(**)	0,151	0,318	0,057	0,347	

BCh: Butirilcolinesterasa; AST: Aspartato aminotransferasa; ALT: Alanina aminotransferasa; HGB: Hemoglobina; GB: Glóbulos blancos; HTC: Hematocrito; PQT: Plaquetas; MN: Micronúcleos.

** La correlación es significativa al nivel 0,001 (bilateral); * La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral) con la prueba de coeficiente de Spearman.

Tabla 14. Valores de BCh, AST y ALT de acuerdo a la cantidad de equipos de protección personal utilizados por el grupo expuesto

Cantidad de equipos de protección	BCh(U/L)			AST(U/L)			ALT(U/L)		
	\bar{X}	DS	p	\bar{X}	DS	p	\bar{X}	DS	p
2	4453,75	1616,87		38,50	4,44		27,75	2,12	
3	3081,50	959,23	0,039*	36,00	4,93	0,041**	26,33	2,38	0,041**
4	3578,35	941,96		33,00	4,65		25,00	2,50	
5	2809,75	161,94		31,75	3,50		24,50	1,00	

BCh: Butirilcolinesterasa; AST: Aspartato aminotransferasa; ALT: Alanina aminotransferasa; $\bar{X} \pm DS$: Media \pm Desviación estándar.

Test de ANOVA

* Tukey 2 vs 3 $p < 0,05$

**Tukey 2 vs 4 $p < 0,05$

Tabla 15. Valores de BCh de acuerdo al antecedente familiar: aborto en la pareja.

Aborto en la pareja	BCh (U/L)			
	Mediana	Mínimo	Máximo	P
No	3684,00	3184,00	6953,00	0,041
Sí	3153,00	1963,00	6284,00	

BCh: Butirilcolinesterasa. Prueba de U Mann-Witney $p < 0,05$

Tabla 16. Frecuencia de MN de acuerdo al antecedente familiar: hijos con malformaciones.

Hijos con Malformaciones	MN			
	Mediana	Mínimo	Máximo	P
No presentaron malformaciones	2,53	0	14	
Tumor en testículo	15,00	15	15	0,000
Cardiopatía congénita	13,00	13	13	

MN: Micronúcleos. Prueba de Kruskal-Wallis $p < 0,001$

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Los plaguicidas son xenobióticos de gran utilidad para el control de las plagas y su uso es una realidad para obtener un mayor rendimiento en los cultivos. Sin embargo, tienen el riesgo de producir toxicidad por lo que es necesario mantenerlos dentro de los niveles de seguridad para garantizar la salud de quienes trabajan con estas sustancias y la población en general.

En la presente investigación el GE estuvo conformado por 41 trabajadores del sexo masculino, lo que coincide con lo reportado por Satyender et al, (2011) en su investigación, donde los agricultores que se encontraban expuestos a mezclas de plaguicidas en la India eran varones. En contraste con un estudio realizado por Varona y col, (2003) en cultivos de flores en Colombia, lo que sugiere que dependiendo de las características del cultivo prevalece un sexo u otro.

Adicionalmente, se observó que el grupo expuesto estuvo conformado por personas con edades promedio de $40,34 \pm 10,59$ años y los grados de instrucción prevalentes fueron la primaria completa e incompleta (46,3% / 24,4%), características similares presentó una investigación de Botião et al., (2014) al sur de Brasil en

productores de frutas y hortalizas donde la edad promedio de los agricultores fue de $40,00 \pm 11,2$ años y predominaban las personas con estudios de primaria incompleta (52,6 %), evidenciando que los agricultores en su mayoría son personas con un nivel educativo básico.

En relación a los hábitos, los resultados mostraron que el hábito tabáquico presentó una baja prevalencia tanto en el GE (21,9%) como GNE (19,5%), mientras que el hábito alcohólico estuvo presente en los dos grupos, (GE 78,1%) y (GNE 58,5%). Similares características se observaron en un estudio realizado por Borges et al., (2013) los fumadores fueron en el GE (24,4%) y para el GNE (31,2 %), así mismo, predominó el hábito alcohólico tanto para el GE (75,6%) como para el GNE (78,1%).

En cuanto a los plaguicidas más utilizados en los cultivos, los agricultores reportaron gran variedad de productos siendo los más utilizados: organofosforados, carbamatos y piretroides, coincidiendo con un estudio realizado por López y col, (2015) en cultivos de arroz en Colombia donde predominaron estos mismos grupos, sin embargo, se dificultó clasificar exactamente cuáles son los más frecuentes, ya que los plaguicidas son usados en forma de mezclas dependiendo de las necesidades que presente el cultivo y en algunos casos los trabajadores manifestaron no conocer el producto con el que fumigaban. Para ahorrar tiempo y recursos, en un mismo tanque de aplicación se mezclan diversos plaguicidas, con diferentes principios activos, aditivos y para distintos organismos blanco, cuando estas formulaciones

están diseñadas para ser utilizadas en forma individual disueltas en agua (Coalova y col, 2013), por lo que se dificulta determinar efectos de cada uno de los plaguicidas, además, de los efectos sinérgicos o antagónicos como consecuencia de las mezclas utilizadas.

Además, utilizan plaguicidas que han sido declarados recientemente como "probablemente cancerígenos para los humanos" grupo 2A, como el diazinón, en el cual existe "evidencia limitada" que produce cáncer de pulmón y "fuerte evidencia" que induce daños en el ADN o sobre los cromosomas. Malatión con "evidencia limitada" que produce Linfoma no Hodgkin y cáncer de próstata en humanos. Y el Glifosato con evidencia de cáncer en animales de experimentación y Linfoma no Hodgkin (IARC, 2015). lo que manifiesta el riesgo ocupacional al que están expuestos los agricultores.

En el presente estudio, los valores de butirilcolinesterasa, mostraron una disminución con una diferencia estadísticamente significativa entre el GE en relación al GNE ($p < 0,001$), coincidiendo con Satyender et al., (2011) en un estudio donde se evaluaron niveles de colinesterasa, en el cual atribuye la disminución de los niveles de colinesterasa al papel neuroinmunoregulador de la enzima. En contraste, Benedetti et al., (2013) en un estudio para determinar el daño genético en trabajadores de cultivos de soya donde se determinó la butirilcolinesterasa no encontraron relación estadísticamente significativa, atribuyendo este efecto a que no todos los compuestos utilizados en las diferentes mezclas son inhibidores de la colinesterasa, sino que

también actúan por otros mecanismos, además que existe la limitación de la determinación de BCh para exposición a largo plazo. Asimismo Garcia et al., (2015) tampoco encontraron relación significativa con la enzimas; no obstante, estos autores lo atribuyeron a un mecanismo de protección natural de la enzima frente a estos xenobióticos.

En relación al perfil hepático se observó que las enzimas AST y ALT estaban dentro de los rangos normales para ambos grupos, sin embargo, mostraron una diferencia estadísticamente significativas con respecto al grupo no expuesto, obteniéndose valores más altos en los individuos expuestos, lo que pudiera sugerir que la exposición a plaguicidas produce una tendencia a aumentar el valor de las transaminasas aunque no exista alteración a nivel hepático, estos resultados coinciden con Satyender et al, (2011) que al estudiar las enzimas hepáticas también obtuvieron una diferencia estadísticamente significativas ($p < 0,001$) entre el GE y el GNE. En contraste García et al., (2015) no encontraron diferencias significativas entre los grupos en estudio atribuyéndolo a que los plaguicidas pueden alterar la función hepática sin inducir necrosis hepatocelular.

En cuanto al perfil hematológico, los GB y PQT no presentaron diferencias significativas. Los valores de HGB y HTC presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el GE y GNE aunque dentro de los rangos normales ($p = 0,006$ y $p = 0,000$) coincidiendo con García et al., (2015) que también observaron diferencias significativas de estos valores; estos autores atribuyen los resultados a la acción

perjudicial de los plaguicidas en el tejido eritropoyético o a una reacción adaptativa de la médula ósea para reducir la viabilidad de las células que sufren daño oxidativo.

En lo que respecta a los micronúcleos que son capaces de detectar indirectamente roturas o pérdidas cromosómicas son de gran utilidad como biomarcador de efecto de genotoxicidad (Torres y col, 2013). A pesar de que no existen valores de referencia para la frecuencia de ellos, los resultados del proyecto micronúcleos humanos en células bucales exfoliadas (XUMN_{XL}), mostraron un rango entre 0,30-1,70/1000 células como frecuencia de micronúcleos espontánea, el cual ha servido de referencia en diferentes estudios (Bonassi 2011; Bolognesi, Kanasmueller, Nersesyan, Thomas & Fenech, 2013).

En este sentido, en la presente investigación se observó una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) de la frecuencia de MN del GE (3,09/1000 células) en relación al GNE (0,73/1000 células), encontrándose el segundo dentro del rango de frecuencia espontánea en células bucales, mientras que para el GE la frecuencia de MN fue superior al rango de frecuencia espontánea, lo que sugiere que este incremento puede deberse a la exposición a los diferentes plaguicidas. Estos resultados coinciden con Larrea y col (2010); Simoniello y col, (2010); Borges et al, (2013); Benedetti et al., (2013); Carbajal et al, (2015). En contraste, Lamadrid y col, (2011) los cuales evaluaron frecuencia de MN como indicador de daño genético no encontraron diferencias significativas entre los grupos de estudio.

Además, en esta investigación se observó mayor frecuencia de micronúcleos en relación con la edad, predominando en el grupo etario ≥ 59 años, no obstante estas diferencias no fueron estadísticamente significativa, coincidiendo con Carbajal et al, (2015), quienes en un estudio similar tampoco encontraron diferencias significativas entre la frecuencia de MN con la edad. Estos autores han señalado que los aumentos de MN pudieran atribuirse al incremento en la acumulación de daño en el ADN, deterioro progresivo en la capacidad de reparación y al aumento de radicales libres en las células, lo que sugiere que con la edad el riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas puede aumentar.

Por otra parte, al asociar los valores de la AST, ALT, HG, HTC y MN con el tiempo de exposición se encontró una correlación positiva, indicando que a mayor tiempo de exposición aumentan los valores de los parámetros antes mencionados, adicionalmente, se observó una correlación negativa del tiempo de exposición con la BCh lo que sugiere que a mayor exposición, disminuye la actividad de la enzima lo que coincide con Satyender et al., (2011) que encontraron relación estadísticamente significativa con la actividad de la enzima.

Al relacionar la BCh y los MN con los hábitos alcohólico y tabáquico no se encontró relación estadísticamente significativa, resultados similares fueron obtenidos por Simoniello y col, (2010); Larrea y col, (2010); Carbajal et al., (2015). Otras variables estudiadas como el tipo de actividad realizada, duración de la jornada

laboral (en días a la semana y horas diarias) tampoco presentaron diferencias significativas.

En cuanto al uso de equipos de protección personal, se encontró diferencias estadísticamente significativa entre el uso de estos y los niveles BCh y las transaminasas; los individuos que utilizaron más equipos de protección presentaron valores más bajos de la enzima, resultado similar fue obtenido por Simoniello y col, (2010) los cuales observaron valores más bajos de las enzimas colinesterásicas en aquellos agricultores que utilizaron los equipos de protección en comparación con aquellos que manifestaron no usarlos.

En este punto, debe destacarse la importancia de la calidad y cantidad de los EPP, puesto que en el presente estudio ninguno de los agricultores manifestó haber utilizado todos los equipos que fueron evaluados, también se observó que equipos como la mascarilla que brinda una alta protección a plaguicidas que se absorben por vía inhalatoria fue el equipo menos utilizado, otro detalle manifestado por los agricultores es que debido a la alta temperatura en la región no siempre permanecen con sus equipos de protección durante toda la jornada.

En cuanto a la cantidad de equipos de protección utilizada y los niveles de AST y ALT hubo una diferencia significativa $p < 0,05$ evidenciando que a mayor número de equipos usados los valores de las transaminasas disminuyen.

Otro aspecto de interés es el papel de la colinesterasa en la vigilancia de los trabajadores en situación de alto riesgo a organofosforados y metil carbámicos, puesto que ambos grupos son inhibidores de la colinesterasa, sin embargo no son los únicos plaguicidas utilizados en las diferentes mezclas por lo que debe considerarse que el empleo único de la determinación de la colinesterasa es insuficiente, además de la variación interindividual de la enzima.

En relación a los antecedentes patológicos, la hipertensión arterial fue la patología de mayor prevalencia para ambos grupo (GE: 7,3%; GNE: 4,9 %). Además, el enrojecimiento ocular y el dolor de cabeza fueron los síntomas de mayor prevalencia en el GE (48,8%; 36,6%), mientras que en el GNE fue el dolor de cabeza (4,9%) (Tabla 8). Estos síntomas (molestia en la mucosa ocular, lagrimeo y dolor de cabeza) son considerados no específicos para la exposición a plaguicidas, sin embargo, han sido reportados en otras investigaciones (Muñoz, 2011) y en un trabajo realizado por Palacios & Paz, (2011) en agricultores de México, el dolor de cabeza fue el síntoma de mayor prevalencia (23,6%).

Adicionalmente, en esta investigación se reportó el aborto espontáneo en la pareja (12,2%) en concordancia con otras investigaciones (Carbajal et al, 2015) donde estudiaron tres comunidades rurales expuestas a plaguicidas, encontraron que las parejas de los trabajadores tenían una alta incidencia de abortos espontáneos (Arcelia 40,3%, Ajuchitlan 76,92% y Tlapehuala 8,33%), los autores precitados atribuyen este hecho a que los agricultores llegan con la ropa impregnada de los diferentes

plaguicidas exponiendo a sus parejas embarazadas a este tipo de xenobióticos y en muchos casos almacenan estas sustancias en el hogar.

Asimismo, al relacionar la butirilcolinesterasa con el aborto espontáneo en la pareja se obtuvo una relación estadísticamente significativa $p < 0,05$ y la frecuencia de MN fue mayor en los agricultores cuyas parejas presentaron aborto espontáneo aunque no fue estadísticamente significativo. Cabe destacar que en regiones de Argentina donde utilizan gran cantidad de plaguicidas se han registrado altas tasas de aborto espontáneo (hasta 23 % de las mujeres en edad reproductiva sufrió al menos un aborto en los últimos cinco años, cuando la tasa normal es de 5 %) y aumentaron notablemente las consultas por infertilidad en varones y mujeres (Ávila, 2014).

En este sentido, esta observación es importante por cuanto un aborto espontáneo puede relacionarse con una mutación, lo cual ha sido evidenciado por diversos autores (Moghbeli, Mozdarani & Aleyasin, 2012; Trkova, Kapras, Bobkova, Stankova & Mejsnarova, 2000) y se ha relacionado con un incremento de MN en parejas infértiles o con alta tasa de aborto espontáneo, sugiriendo que un incremento en el nivel de MN puede ser de utilidad en la determinación del daño cromosómico.

En relación a las malformaciones congénitas en los hijos de los agricultores, se mostró una relación estadísticamente significativa con la presencia de MN $p < 0,001$. Cada vez nacen más niños con malformaciones en zonas agrícolas especialmente si los primeros meses del embarazo coinciden con la época de

fumigaciones. Entre las que se diagnostican con mayor frecuencia se encuentra el síndrome de Down, mielomeningoceles y cardiopatías congénitas, entre otras. En algunos pueblos y años llegan a triplicar las tasas normales y se vinculan directamente al aumento de las aplicaciones de agrotóxicos en los alrededores (Ávila, 2014).

Sobre la base de estos resultados, que muestran por una parte que los valores de la enzima BCh fueron significativamente menores en el GE respecto al GNE, una correlación negativa estadísticamente significativa entre los valores de BCh de los trabajadores expuestos con el tiempo de exposición y una diferencia estadísticamente significativa de la BCh con el aborto en la pareja, y por la otra, que la frecuencia de MN fue mayor en el GE respecto al GNE, con una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos y una correlación positiva con el tiempo de exposición; se ratifica la importancia de la evaluación periódica de los trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas, además de favorecer estrategias educativas que conduzcan a un uso adecuado de EPP y el manejo seguro de los plaguicidas a los que están expuestos, a fin de garantizar su adecuado estado de salud y de su familia.

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. Conclusiones.

Una vez analizados los resultados obtenidos en el presente estudio se puede concluir lo siguiente:

La muestra en estudio estuvo conformada por 82 individuos (41 expuestos y 41 no expuestos) todos del sexo masculino, con edades promedio de $40,34 \pm 10,59$ años y de $37,07 \pm 13,63$ años respectivamente.

Los plaguicidas fueron utilizados en forma de mezclas, siendo los más utilizados organofosforados, carbamatos y piretroides.

Los valores para la enzima BCh fueron significativamente menores en el GE respecto al GNE, además se mostró una correlación negativa estadísticamente significativa, entre los valores de BCh de los trabajadores expuestos con el tiempo de exposición.

La frecuencia de MN presentó mayor promedio en el GE (3,09) respecto al GNE (0,73), mostrando una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,001$) entre los grupos, además se mostró una correlación positiva con el tiempo de exposición.

No se evidenció asociación estadística entre los valores de BCh y MN con los hábitos de alcohol y tabáquico entre los grupos de estudio.

En el perfil hepático la AST y la ALT mostraron un mayor promedio en el GE en relación al GNE, aunque ambas se encontraron dentro de los rangos normales.

En el perfil hematológico, los glóbulos blancos y plaquetas no presentaron diferencias significativas. Los valores de hematología y hematocrito presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el GE y GNE aunque dentro de los rangos normales.

En cuanto a la cantidad de equipos de protección personal utilizado hubo una relación estadísticamente significativa entre los que usan 2 y 3 equipos con la BCh, y entre los que utilizan 2 y 4 para la AST y la ALT.

En los antecedentes patológicos, la hipertensión arterial fue la patología de mayor prevalencia para ambos grupo. En cuanto a los síntomas, el enrojecimiento ocular y el dolor de cabeza fueron los de mayor prevalencia en el GE, mientras que en el GNE fue el dolor de cabeza.

No se encontraron relaciones estadísticamente significativas entre la BCh, los antecedentes patológicos y los síntomas en los grupos de estudio. Sin embargo, se encontraron relaciones estadísticamente significativa ($p = 0,041$) de la BCh con el aborto en la pareja y de la frecuencia de MN ($p= 0,000$) con el antecedente familiar hijos con malformaciones.

6.2. Recomendaciones

Constituir programas de capacitación continua, que permita concientizar a los productores agrícolas sobre consecuencias y riesgos que presentan el uso excesivo de los plaguicidas. Y principalmente las medidas de seguridad para el uso y manejo de estas sustancias.

Instaurar sistemas nacionales de vigilancia para monitorear la salud de los trabajadores agrícolas, es necesario realizar estudios que hagan seguimiento de esta población y su descendencia para poder evaluar el impacto de estos xenobióticos en el tiempo.

Aplicar la prueba de micronúcleos, en la mucosa bucal, técnica no invasiva para el control de la población expuesta, para continuar realizando estudios de toxicidad genética que puedan ser utilizados en la prevención de enfermedades producidas por estas transformaciones.

Realizar estudios donde se pueda conocer y determinar la cantidad de plaguicidas utilizadas en las diferentes mezclas para poder identificar efectos de cada plaguicida, ya que en muchos casos los trabajadores desconocen las sustancias con las que trabajan.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adum, M., (2015). Determinación de intervalos de referencia de la colinesterasa plasmática y eritrocítica en adultos sanos, en Portoviejo, Ecuador. *Revista San Gregorio*; 9 (1): 56-67.
- Alavanja, MC., & Bonner, MR. (2012). Occupational pesticide exposures and cancer risk: a review. *Journal Toxicology Environ Health*; 15(4): 238-63.
- Arias, F. (2012). El proyecto de investigación. Caracas: Editorial Episteme. Sexta edición.
- Ávila, M., (2014). Agricultura tóxica y pueblos fumigados en Argentina. +E. (4): 28-34.
- Benedetti, D., Nunes, E., Sarmiento M., Porto, C., Dos Santos, CE., Dias, JF., da Silva, J. (2013). Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assay. *Mutation Research*; 752: 28-33.
- Bhatia, A., & Kumar, Y. (2013). Cancer cell micronucleus: an update on clinical and diagnostic applications. *Acta pathologica, microbiologica, et immunologica Scandinavica*; 121: 569–81.
- Bolognesi, C., Knasmueller, S., Nersesyan, A., Thomas, P., Fenech, M., (2013). The HUMNxl scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay - an update and expanded photogallery. *Mutation Research*; 753(2): 100-13
- Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, WP., Holland, N., et al., (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*; 28(3): 25-31
- Bonassi, S., Coskun, E., Ceppi, M., Lando, C., Bolognesi, C., Burgaz, S., et al. (2011). The Human Micronucleus project on exfoliated buccal cells (HUMNxl): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutation Research*; 728: 88-97.

- Borges, C., Oliveira, E., Wendhell, M., da Silva, A., Oliveira, C., Pereira, R., da Cruz, A., et al, (2013). Assessment of DNA damage in Brazilian workers occupationally exposed to pesticides: a study from Central Brazil. *Environmental science and pollution research international*. (10):7334-40.
- Botião, S., Andrade, F., Botião, L., Cocco, V., Yoshio, R., Oliveira, G., et al. (2014). Pesticide use and cholinesterase inhibition in small-scale agricultural workers in southern Brazil. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 50(4), 783-791.
- Brian, C., & Aaron, B.(2009). Pesticides, Chromosomal Aberrations, and Non-Hodgkin's Lymphoma. *Journal of Agromedicine*; 14: 250-255.
- Campos, A., (2008). Aspectos neuroanatómicos, neurofisiológicos y neuroquímicos del SNA. En: *Farmacología Médica*. Mendoza, N. (210- 219). Editorial médica panamericana. México
- Cárdenas, O., Silva, E., Ortiz, J., (2010). Uso de plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasa en once entidades territoriales de salud en Colombia, 2002-2005. *Biomédica*: 30:95-106.
- Carbajal-López, Y., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Calderón-Segura, M., Martínez-Arroyo, A., (2015) Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide mixtures in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronucleus test. *Environmental science and pollution research international*. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26423288>
- Cavas, T., (2011). In vivo genotoxicity evaluation of atrazine and atrazine-based herbicide on fish *Carassius auratus* using the micronucleus test and the comet assay. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*; 49(6):1431-5.
- Coalova, I., Mencacci, S., Fassiano, A. (2013). Genotoxicidad de mezclas de pesticidas: ¿algo más que la suma de las partes? *Acta Toxicológica Argentina*; 21: 5-14
- Córdoba, P. (2001). *Toxicología manual moderno*. 4ta edición. Editorial ISBM 958-9446-16-17, Bogotá, Colombia.
- Del Puerto, A., Suárez, S., Palacio, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene y Epidemiología*; 52(3): 372-387.

- EPA, (2015). Pesticides; Agricultural Worker Protection Standard Revisions. Disponible en: www2.epa.gov/pesticide-worker-safety/revisions-worker-protection-standard
- Escuelapedia. Mitosis. Recuperado el 18 de marzo del 2015 de <http://www.escuelapedia.com/mitosis/>
- FAO, (1990). Eliminación de Plaguicidas. Recuperado el 15 de octubre del 2015 de: <http://www.fao.org/docrep/w1604s/w1604s04.htm#%C2%BFqu%C3%A9%20son%20los%20plaguicidas>
- Fernández, D., Mancipe, L., Fernández, A., (2010). Intoxicación por organofosforados. *Revista facultad de medicina*. (1): 84-92.
- Fernández, R., Ramallo, A., Carmona, G., Carrasco, M.,(2011). Papel de las colinesterasas plasmáticas. Actualización. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*; 2011;58:508-516.
- Frazier, LM. (2007). Reproductive disorders associated with pesticide exposure. *Journal Agromedicine* ; (12): 27-37.
- García-García, R., Parrón, T., Requena, M., Alarcón, R., Tsatsakis, A., Hernández, A., (2015). Occupational pesticide exposure and adverse health effects at the clinical, hematological and biochemical level. *Life Sciences*; (145): 274-83.
- Gómez, M., & Cáceres, J. (2010). Toxicidad por insecticidas organofosforados en fumigadores de Campaña contra el Dengue, estado Aragua, Venezuela, año 2008. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*; 50 (1):119-125.
- Gómez, S., Martínez, C., Carbajal, Y., Martínez, A., Calderón, M., Villalobos, P., Waliszewski, S. (2013). Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América Latina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*; (29):159-180.
- Gutiérrez, M., Grau, P., Vallebuona, C., Winser, M. (2012). Protocolo de vigilancia de salud de los trabajadores expuestos a plaguicidas. Ministerio de Salud. Gobierno de Chile. División de Políticas Públicas. Departamento de Salud Ocupacional.
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsh-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller S., et al. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*. 656(1-2):93-108.

- IARC, (2015). Evaluation of five organophosphate insecticides and herbicides. . Recuperado el 15 de octubre del 2015 de: <https://www.iarc.fr/en/mediacentre/iarcnews/pdf/MonographVolume112.pdf>
- Ibarra, EJ., Linares, TM. (2012). La inhibición de la actividad colinesterásica sanguínea como biomarcador de exposición a compuestos organofosforados y carbamatos. Una revisión crítica. *Revista Cubana de Salud y Trabajo*; 13(3): 59-65.
- Karam, M. Ramirez, G. Bustamente, P. Galván, J. (2004) Plaguicidas y salud de la población. *Ciencia Ergo-Sum*; (11): 246-254.
- Kausar, A., Giri, S., Roy, P., Giri, A., (2014). Changes in buccal micronucleus cytome parameters associated with smokeless tobacco and pesticide exposure among female tea garden workers of Assam, India. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*; (217): 169– 175
- Lamadrid, A., Romero, I., González, J., Mandina, T. (2011). Biomonitoring of workers exposed to pesticides. *Rev Cubana Investigación Biomédica*; 30(2): 235-244
- Larrea, M., Tirado, N., Azcarruns, M., (2010). Daño genotóxico por exposición a plaguicidas en agricultores del municipio de Luribay. *Biofarbo*. 18 (2): 31-43.
- López, K., Pinedo, C., & Zambrano, M. (2015). Prácticas de Salud Ocupacional y niveles de biomarcadores séricos en aplicadores de plaguicidas de cultivos de arroz en Natagaima-Tolima, Colombia. *Revista de Toxicología*; 32: 102-106.
- Matheus, T., & Bolaños, A. (2014). Micronúcleos: biomarcador de toxicidad en expuestos a plaguicidas. *Salus*; 18(2); 18-26
- Miranda, L., Gómez, R., Rojas, G., Cruz, I., Berrueta, L., Salmen, S., et al (2013). Occupational Exposure to Organophosphate and Carbamate Pesticides Affects Sperm Chromatin Integrity and Reproductive Hormone Levels among Venezuelan Farm Workers. *Journal of Occupational Health*; (55):195-203.
- Moghbeli-Nejad, S., Mozdarani, H., Aleyasin, A.(2012): Increased frequency of micronuclei in lymphocytes of infertile males after exposure to gamma irradiation: a possible sign of genomic instability. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*; (29):89–94.

- Mostafalou, S., & Abdollahi, M. Pesticides and human chronic diseases: evidences, mechanisms, and perspectives. (2013). *Toxicology and applied pharmacology*; (268): 157-77
- Muñoz, M. (2011). Aspectos bioéticos en el control y aplicación de plaguicidas en Chile. *Acta Bioethica*. 17(1): 95-104.
- Murray R. (1984a). Aspartate aminotransferase. *Clinical Chemistry*. The C.V. Mosby Co; 1112-1116.
- Murray R. (1984b). Alanine aminotransferase. *Clinical Chemistry*. The C.V. Mosby Co; 1088-1090.
- ONU, (2011). Sistema Globalmente Armonizado de clasificación y etiquetado de productos químicos (SGA). Cuarta edición. Recuperado el 16 de septiembre del 2015 de: https://www.unece.org/fileadmin/DAM/trans/danger/publi/ghs/ghs_rev04/Spanish/ST-SG-AC10-30-Rev4sp.pdf.
- Ortiz, G., Pacheco, F., Macías, M., Jiménez, F., Miranda, A., Flores, L., y col, (2011). Toxicidad de plaguicidas y su asociación con la enfermedad de Parkinson. *Arch Neurocién (Mex)* 16 (1): 33-39.
- Palacios M. & Paz M., (2011). Sintomatología persistente en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas órgano-fosforados. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*; 29(2):153-162.
- Parrón, T., Requena, M., Hernández, AF., Alarcón, R. (2011). Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases. *Toxicology and applied pharmacology*; (256): 379-85.
- PAN UK. (2009). Red de acción de plaguicidas del Reino Unido. La lista de listas. Recuperado el 15 de septiembre del 2015 de: http://www.rapaluruaguay.org/agrotoxicos/Prensa/La_lista_de_listas.pdf
- Ramírez, J. & Lacasaña, M., (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales*; 4(2):67-75.
- Ruíz-Bernés, S., Flores-García, A., Ramos-Ibarra, M., Moya-García, M., Aguiar-García, P., Sánchez-Gutiérrez, R., et al (2013). Micronúcleos en células de mucosa bucal como biomarcador de riesgo para cáncer. *Fuente nueva época*; (13): 34-39.
- Satyender, S., Ascarrunz E, Tirado N, Gonzáles A, Cuti M, Cervantes R, (2011). DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology*; (31): 278-285.

- Simoniello, M., Kleinsorge, E., Carballo, M., (2010). Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a pesticidas. *Medicina* (Buenos Aires); (70): 489-498.
- Torres, O, & Ramos, M. (2013). Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico. *International journal of morphology*; (31):650-657.
- Torres, O., Zavala, M., Macriz, N., Flores, A., Ramos, M. (2013). Procedimientos básicos de la prueba de micronúcleos y anormalidades nucleares en células exfoliadas de mucosa oral. *El residente*; 8 (1): 4-11
- Trkova, M., Kapras, J, Bobkova, K., Stankova, J., Mejsnarova, B. (2000). Increased micronuclei frequencies in couples with reproductive failure. *Reproductive toxicology*; (14):331-5.
- UNITAR. (2010). Comprendiendo el Sistema Globalmente Armonizado de Clasificación y Etiquetado de Productos Químicos (SGA). Recuperado el 20 de octubre del 2015 de: http://www2.unitar.org/cwm/publications/cw/ghs/GHS_Companion_Guide_final_June2010_SPA.pdf
- Vallejo, M., (2000). Química de plaguicidas. En: Córdoba P. *Toxicología manual moderno*. 4ta edición. Editorial ISBN 958-9446-16-17, Bogotá, Colombia.
- Varona, M., Cárdenas, O., Crane, C., Rocha, S., Cuervo, G., Vargas, J. (2003). Alteraciones citogenéticas en trabajadoras con riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas en cultivos de flores en Bogotá. *Biomédica* ; (23): 141-152.
- Velasco, M., & De la Fuente, M. (2008). Colinérgicos. En: Mendoza, N. *Farmacología Médica*. (222-228). Editorial médica panamericana. México
- Vinceti M, Bottecchi I, Fan A, Finkelstein Y, Mandrioli J.(2012). Are environmental exposure to selenium, heavy metals, and pesticides risk factors for amyotrophic lateral sclerosis?. *Reviews on environmental health*; (27):19-41.
- Weichenthal, S., Moase, C., Chan, P. (2012). A review of pesticide exposure and cancer incidence in the agricultural health study cohort. *Ciência e saúde coletiva*; (17): 255-70.
- Wiener Counter 19/19 CP, (2015). Recuperado el 15 de marzo del 2016 de: <http://www.wienerlab.com.ar/ES/SitePages/DetalleInstrumentos.aspx?IdInstrumento=20>.

- Young, D., (1997). Effects of preanalytical variables on clinical laboratory test. AACC.
- Zalacain M, Sierrasesúmaga L, Patiño A. (2005). El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. *Anales del sistema sanitario de Navarra*; (28): 227-236.

ANEXOS

ANEXO A

Pesticides associated with elevated incidence of cancer in epidemiological studies.		
Type of cancer	Pesticide	Reference
Leukemia	Chlordane/heptachlor	Purdue et al. (2007)
	Chlorpyrifos	Lee et al. (2004b)
	Diazinon	Beane Freeman et al. (2005)
	EPTC	van Bommel et al. (2008)
	Fonofos	Mahajan et al. (2006)
Non-Hodgkin's lymphoma	Lindane	Purdue et al. (2007)
	Oxychlordane/chlordane	Spinelli et al. (2007)
Multiple myeloma	Permethrin	Rusiecki et al. (2009)
Brain cancer	Chlorpyrifos	Lee et al. (2004b)
Prostate cancer	Fonofos	Mahajan et al. (2006)
	Methylbromide	Alavanja et al. (2003)
	Butylate	Lynch et al. (2009)
	Clordecone	Multigner et al. (2010)
	DDT, lindane, simazine	Band et al. (2011)
Colon cancer	Aldicarb	Lee et al. (2007)
	Dicamba	Samanic et al. (2006)
	EPTC	van Bommel et al. (2008)
	Imazethapyr	Koutros et al. (2009)
	Trifluralin	Kang et al. (2008)
Rectum cancer	Chlordane	Purdue et al. (2007)
	Chlorpyrifos	Lee et al. (2004b)
		Lee et al. (2007)
Pancreatic cancer	Pendimethalin	Hou et al. (2006)
	EPTC, pendimethalin	Andreotti et al. (2009)
	DDT	Garabrant et al. (1992)
Lung cancer	Chlorpyrifos	Lee et al. (2004b)
	Diazinon	Beane Freeman et al. (2005)
	Dicamba	Alavanja et al. (2004)
	Dieldrin	Purdue et al. (2007)
	Metolachlor	Alavanja et al. (2004)
	Pendimethalin	Hou et al. (2006)
	Imazethapyr	Koutros et al. (2009)
Bladder cancer Melanoma	Carbaryl	Mahajan et al. (2007)
	Toxaphene	Purdue et al. (2007)
	Carbaryl, parathion, maneb/mancozeb	Dennis et al. (2010)

Fuente: Mostafalou S, & Abdollahi M (2013)

ANEXO B



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Se llevará a cabo un estudio titulado **“ACTIVIDAD DE BUTIRICOLINESTERASA Y MICRONÚCLEOS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA EN EL MUNICIPIO URDANETA. EDO. LARA,** “cuyo objetivo es evaluar la actividad de la colinesterasa y micronúcleos en trabajadores expuestos a inhibidores de la colinesterasa en el Municipio Urdaneta del Estado Lara.

Su participación en el estudio consistirá en permitir la toma de una muestra sanguínea a fin de realizar los análisis necesarios para determinar la acetilcolinesterasa y una muestra de células epiteliales en la mucosa bucal para la determinación de micrónúcleos. Además de esto, deberá responder una encuesta estructurada con una serie de preguntas que serán útiles para la investigación.

Es necesario resaltar que la participación es voluntaria, y no recibirá compensación económica por la misma, así mismo la información obtenida a través de su participación es estrictamente confidencial y de uso exclusivo en la investigación.

Autorización: Yo _____ voluntariamente
consiento participar en dicha investigación. Se me ha explicado que éste estudio no
conlleva riesgo alguno, que no recibiré compensación económica y que los datos
obtenidos en la investigación serán empleados de manera confidencial.

Firma _____ C.I. _____ Fecha _____

ANEXO C



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA



CUESTIONARIO PARA LOS AGRICULTORES

Nombre y Apellido: _____ **Edad:** _____

C.I.: _____ **Sexo:** _____ **Tlf:** _____ **Fecha:** _____

1) Grado de instrucción

Analfabeta _____ Primaria incompleta _____ Primaria completa _____
 Secundaria incompleta _____ Secundaria completa _____ Técnico
 medio _____ Técnico superior _____ Universitario _____

2) Antigüedad laboral

6 meses-1 año _____ 2 a 5 años _____ 6 a 10 años _____ 11-15 años _____
 16 a 20 años _____ 21 a 25 años _____ Más de 26 años _____

3) ¿Cuántos días trabaja en la semana? (Duración de la jornada de trabajo semanal)

_____ Días,

4) ¿Cuántas horas trabaja diariamente? (Duración de la jornada de trabajo diaria)

_____ Horas

5) ¿Cuál es su actividad principal en el campo

Preparador de plaguicida_____ Fumigador_____ Supervisor_____ Cosechador o
cortador_____ Sembrador_____ Almacenador_____ Riego de pie con agua_____
Ayudante del fumigador_____ Otro especifique:_____

6) ¿Utiliza un sistema de protección al momento de trabajo?

EQUIPO DE PROTECCIÓN	SI	NO
Camisa manga larga		
Pantalón largo		
Gorro		
Botas		
Lentes		
Mascarilla		
Otras		
Ninguna en especial		

7) Mencione que equipos utiliza para fumigar

Tanque de espalda_____ Fumigación aérea_____ Pistola_____ Polvo en pote o
marusa_____ Asperjadora_____ Otros_____

8) Mencione el número de veces de aplicación del plaguicida

1 vez por semana_____, 2 a 3 veces por semana_____, 4 a 5 veces por
semana_____, 1 vez cada 15 días_____, 1 vez al mes_____

9) Mencione el modo de aplicación de los plaguicidas

A favor del viento_____ En contra del viento_____ Algunas veces a favor y otras en
contra_____ No sabe_____

10) ¿Cuáles son sus antecedentes patológicos?

PATOLOGÍAS O ENFERMEDADES	SI	NO
Alteración o enfermedad renal		
Alteración o enfermedad hepática		
Sufre de Diabetes		
Es Hipertenso		
Presenta dolor de cabeza frecuentemente		
Erupciones a nivel de la piel		
Enrojecimiento ocular		
Mareos		
Convulsiones		
Debilidad muscular		
Esterilidad		
ANTECEDENTES FAMILIARES		
Abortos en la pareja		
Hijos con malformaciones		

11) A qué plaguicida se ha expuesto en los últimos cultivos donde ha trabajado

12) Si utiliza mezclas, especifique de cuantos y cuales productos

13) ¿Dónde prepara los plaguicidas para su aplicación?

En la finca bajo techo____, En la finca a la interperie____, Dentro de la casa____Fuera de la casa____, Otro_____.

Especifique_____

14) ¿ Donde guarda los equipos que utiliza luego de aplicar los plaguicidas?

En la finca (sitio destinado para tal fin)____, Los lleva para su casa_____

15) Indique de que manera son desechados los envases de plaguicidas;

Quemados____, Reutilizados____, Enterrados____, En quebradas o ríos cercanos____, Sitios destinados para tal fin____, Otros____ Especifique_____

16) Además de su trabajo en la agricultura, realiza alguna otra actividad laboral frecuentemente.

SI____, NO_____.

Especifique_____

17) En cuanto a su estilo de vida

Fuma usted: SI____, NO____; ¿Cuántos cigarrillos al día_____

Ingiere licor: SI____, NO____; ¿Con qué frecuencia?_____

18) En cuanto a su tipo de alimentación

Dieta rica en grasas y frituras____, Consume abundantes frutas____; Ingiere bebidas gaseosas frecuentemente: SI____ NO____ ¿Con que frecuencia?_____

Observaciones:_____

Elaborado por _____



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
MAESTRÍA EN TOXICOLOGÍA ANALÍTICA



CUESTIONARIO PARA GRUPO NO EXPUESTO

Nombre y Apellido: _____ **Edad:** _____

C.I.: _____ **Sexo:** _____ **Tlf:** _____ **Fecha:** _____

1) Grado de instrucción

Analfabeta _____ Primaria incompleta _____ Primaria completa _____
 Secundaria incompleta _____ Secundaria completa _____ Técnico
 medio _____ Técnico superior _____ Universitario _____

2) Lugar de trabajo

3) Especifique actividad que realiza

4) Habita en alguna finca donde se utilicen plaguicidas para los cultivos

SI _____, NO _____

5) Alguna de las personas que habita en su vivienda trabaja con plaguicidas

SI _____, NO _____

6) ¿Cuáles son sus antecedentes patológicos?

PATOLOGÍAS O ENFERMEDADES	SI	NO
Alteración o enfermedad renal		
Alteración o enfermedad hepática		
Sufre de Diabetes		
Es Hipertenso		
Presenta dolor de cabeza frecuentemente		
Erupciones a nivel de la piel		
Enrojecimiento ocular		
Mareos		
Convulsiones		
Debilidad muscular		
Esterilidad		
ANTECEDENTES FAMILIARES		
Abortos en la pareja		
Hijos con malformaciones		

7) En cuanto a su estilo de vida

Fuma usted: SI___, NO___; ¿Cuántos cigarrillos al día_____

Ingiere licor: SI___, NO___; ¿Con qué frecuencia?_____

8) En cuanto a su tipo de alimentación

Dieta rica en grasas y frituras___, Consume abundantes frutas_____; Ingiere bebidas gaseosas frecuentemente: SI___ NO___ ¿Con que frecuencia?_____

Elaborado por _____