

Bioquímia

Volumen
Volume **30**

Número
Number **3**

Julio-Septiembre
July-September **2005**

Artículo:

Influencia del polimorfismo del CYP2E1 sobre el riesgo de intoxicación aguda por exposición a plaguicidas

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

Others sections in this web site:

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



edigraphic.com

Influencia del polimorfismo del CYP2E1 sobre el riesgo de intoxicación aguda por exposición a plaguicidas[†]

Clara Elena Yerena,* L Clara R Hernández-Kelly,*** Juana Ramírez,* María Edith Riaño,* María del Refugio López,* Socorro Fernández,** Arturo Ortega***

RESUMEN

La capacidad individual para metabolizar diversos xenobióticos puede ser alterada por la presencia de variantes alélicas en los genes que codifican las enzimas. Diversos estudios indican una gran variación en la expresión del citocromo 2E1 (CYP2E1), enzima perteneciente a la superfamilia de citocromos P450 (sistemas enzimáticos con funciones destoxicificantes) involucrada en el metabolismo de plaguicidas, lo que resulta en una susceptibilidad diferencial a la intoxicación con estos compuestos. Tomando en consideración el uso indiscriminado de plaguicidas en el medio agrícola, el objetivo de este estudio fue determinar en una población de fumigadores de caña, la asociación del polimorfismo genético del CYP2E1 con la intoxicación aguda con plaguicidas. Se determinaron los genotipos del CYP2E1 para los sitios polimórficos *RsaI/PstI* y *DraI*, utilizando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el análisis de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP), a partir de ADN extraído de muestras de sangre de la población estudiada. Paralelamente se elaboraron historias clínicas para detectar la presencia de síntomas de intoxicación aguda por el contacto con los plaguicidas y se aplicaron encuestas sobre su uso y manejo. Los resultados indican que la presencia de genotipos con alelo mutado para *DraI* (CD,CC) están asociados con una susceptibilidad 4 veces mayor a la intoxicación aguda en personas que están en contacto con plaguicidas, en comparación con el genotipo homocigoto silvestre (DD). El monitoreo de las variantes polimórficas del CYP2E1 debe de ser utilizado como biomarcador de susceptibilidad en poblaciones expuestas como medida preventiva a fin de reducir los riesgos ocupacionales.

Palabras clave: Polimorfismo, CYP2E1, genotipo, intoxicación, biomarcador, fumigador.

ABSTRACT

*Xenobiotic metabolism is dramatically influenced by the presence of allelic variants in the drug metabolizing enzymes. Several studies have indicated the presence of different expression levels of CYP 2E1, an enzyme involved in the metabolism of pesticides, resulting in a differential susceptibility to the chronic exposure to these compounds. Taking into consideration the board use of these compounds in agriculture, the aim of the present study was to establish the association of the genetic polymorphism of CYP2E1 with the intoxication symptoms in a population of sugar cane fumigators. The frequency of CYP2E1 *RsaI/PstI* and *DraI* polymorphisms was determined by PCR-RFLP methods in DNA isolated from blood samples. In parallel, a questionnaire was prepared in order to detect clinic information concerning intoxication symptoms in the fumigators. Our results indicate that the mutated allele for *DraI* is associated with a 4 fold- increase in susceptibility to pesticide exposure. Genetic polymorphism studies are imperative in exposed population in order to prevent or reduce occupational risks.*

Key words: Polymorphism, CYP2E1, genotype, intoxication, biomarker, fumigator.

[†] Trabajo ganador del Premio CARPERMOR 2005 en la categoría B.

* Facultad de Química Farmacéutica Biológica, Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz.

** Facultad de Biología, Universidad Veracruzana, Xalapa Veracruz.

*** Departamento de Genética y Biología Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, México D.F., México.

Correspondencia:

Dr. Arturo Ortega. Departamento de Genética y Biología Molecular. Cinvestav-Zacatenco. Apartado Postal 14-740, DF. Fax. 5061-3800 x 5317.
e-mail: arortega@cinvestav.mx

Recibido: 25-04-2005

Aceptado: 20-08-2005

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de las interacciones entre los agentes presentes en el medio ambiente y el hombre ha ido adquiriendo gran relevancia; ahora se sabe que existe una considerable diferencia de una persona a otra en los niveles de las enzimas encargadas de la biotransformación de xenobióticos y en sus correspondientes actividades.¹ En estas diferencias el polimorfismo genético juega un papel fundamental, ya que las variantes alélicas pueden alterar la capacidad individual para metabolizar los tóxicos.² La posibilidad de identificar marcadores de susceptibilidad genética relacionados con alteraciones en la salud ante la exposición a determinados tóxicos, proporciona una gran oportunidad para predecir el peligro y poder intervenir para eliminar, disminuir o retrasar el posible daño.

La superfamilia de enzimas citocromo P450 participa en la fase I del metabolismo de xenobióticos, en la que la reacción más común es la hidroxilación; además estas enzimas catalizan una variedad muy amplia de reacciones, inclusive las que implican desaminación, deshalogenación, desulfuración, epoxidación, peroxygenación y reducción de una amplia variedad de xenobióticos como son: fármacos, carcinógenos, plaguicidas, derivados del petróleo y polutos.³ La capacidad individual para metabolizar estos tóxicos puede alterarse por las variantes alélicas, por lo que el polimorfismo genético de las enzimas del CYP ha sido propuesto como un biomarcador de susceptibilidad a carcinógenos y tóxicos.²

Dentro de la superfamilia del CYP450, el CYP2E1 es una enzima toxicológicamente importante, de gran interés para la medicina industrial y medio ambiental ya que tiene la habilidad de convertir numerosos sustratos del medio ambiente a citotoxinas y está relacionado con la activación de una amplia variedad de xenobióticos; más de 70 compuestos orgánicos tales como alcoholes, aldehídos, éteres, ácidos grasos, cetonas, hidrocarburos alifáticos y aromáticos, dialquilnitrosaminas, etilcarbamatos, solventes halogenados o fármacos, son metabolizados por el CYP2E1.^{1,2,4-7} Cuantitativamente, es una de las más abundantes isoformas del citocromo P-450, comprende aproximadamente el 7% de todas las isoformas de esta enzima expresadas en el hígado. Aunado a ello, se ha visto que la naturaleza polimórfica de su gen es significativa para las diferencias interindividuales en la toxicidad a sus sustratos; por ello, la asociación del polimorfismo genético del CYP2E1 y la susceptibilidad a los daños producidos por exposición a tóxicos han recibido atención creciente.^{2,4,6,7}

La exposición a plaguicidas representa una amenaza potencial para la salud, productividad y eficiencia, principalmente de los trabajadores agrícolas, ya que son la población más numerosa que los utiliza para su actividad laboral. La Organización Mundial de la Salud ha estimado que cada año se producen en el mundo alrededor de un millón de intoxicaciones agudas por exposición a plaguicidas, con una letalidad entre el 0.4 y 1.9%, encontrándose la exposición laboral detrás del 70% de estos casos mortales.⁸ Para el año de 1997, el Departamento de Registro y Control de Sustancias Tóxicas del Ministerio de Salud de Costa Rica reportó 920 casos de intoxicación con plaguicidas, de los cuales 417 (45.3%) fueron de origen laboral.⁹ En el caso particular de México existen pocos datos sobre la epidemiología de la intoxicación aguda por plaguicidas;¹⁰ para el año 2003 se reportaron un total de 3,739 casos pero no se especifican datos sobre su origen ni el tipo de compuesto químico involucrado.¹¹

Se ha descrito que el posible efecto perjudicial de un determinado plaguicida sobre la salud depende de ciertos factores como son las propiedades fisicoquímicas del producto, las condiciones climáticas en el momento de la exposición, las características fisiológicas del individuo expuesto, la vía de absorción así como la interacción entre ellos.^{6,7,12} Sin embargo, actualmente se ha demostrado que los factores genéticos del huésped, como los polimorfismos enzimáticos, pueden interactuar con las sustancias químicas del medio ambiente para situar a un individuo en un mayor o menor riesgo de toxicidad en particular. El CYP2E1, tiene un papel importante en la biotransformación de diversos xenobióticos por el amplio espectro de compuestos químicos que metaboliza, por lo que las posibles consecuencias de las diferencias interindividuales e interétnicas de susceptibilidad pueden estar relacionadas con la expresión individual de síntomas clínicos de intoxicación.⁴

El presente trabajo se enfocó a evaluar en una población de fumigadores de caña, la influencia de los distintos genotipos del CYP2E1 para *RsaI*, *PstI* y *DraI* sobre la presencia de manifestaciones clínicas de intoxicación aguda por contacto con plaguicidas, con el fin de proponer su posible aplicación como un biomarcador que permita clasificar a la población expuesta a plaguicidas como de mayor o menor susceptibilidad a la intoxicación, dependiendo del genotipo que presente, y por lo tanto tomar medidas preventivas para evitar efectos adversos a la salud ante la exposición a estos compuestos químicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

La población estudiada se integró por 60 individuos del sexo masculino seleccionados al azar, que se desempeñan como fumigadores de caña. A cada uno de ellos se les extrajeron 5 mL de sangre venosa, en tubos con EDTA; estas muestras se mantuvieron a 4°C hasta su procesamiento.

A cada fumigador se le hizo una entrevista, utilizando un cuestionario previamente validado, para obtener información acerca del uso y manejo de plaguicidas durante su actividad laboral; también se realizó una historia clínica para conocer los síntomas ocasionados por el contacto con los plaguicidas. A partir de estos datos se formaron dos grupos de estudio, uno constituido por 36 sujetos que manifestaron haber tenido por lo menos alguno de los síntomas de intoxicación aguda al estar en contacto con los plaguicidas y el otro grupo, en el que se incluyeron 24 personas, que manifestaron no haber presentado ninguna manifestación clínica de esta intoxicación.

Extracción de ADN

Se procedió a la extracción del ADN de las muestras de sangre completa, utilizando la técnica del perclorato de sodio;¹³ para ello se utilizaron 3 mL de sangre a los que se le agregaron 11 mL de solución amortiguadora de lisis I a 4°C (sacarosa 0.3 M, Tris-HCl 0.010 M, MgCl₂ 0.005 M 6H₂O, tritón X-100, pH 7.5), se mezcló por inversión y se centrifugó a 4,500 rpm y a 4°C durante 10 min. Enseguida se decantó el sobrenadante y el botón obtenido se resuspendió en 2.25 mL de solución amortiguadora de lisis II (NaCl 0.075 M, EDTA 0.024 M), 62.5 μL de SDS al 10% y 550 μL de perclorato de sodio 5 M). Se agitó durante 10 minutos a temperatura ambiente y se agregó 1 mL de NaCl 6 M, agitando fuertemente durante 15 seg. Posteriormente se centrifugó a 3,500 rpm durante 30 minutos, a 4°C; al sobrenadante se le agregaron 3.5 mL de isopropanol absoluto a 4°C y se agitó suavemente hasta la formación de las hebras de ADN. Finalmente el ADN obtenido se lavó dos veces con etanol al 70% y se disolvió en 150 μL de solución amortiguadora TE (Tris-HCl pH 8.0 10 mM, EDTA pH 8.0 1 mM), incubándolo a 37°C, durante 60 minutos. El ADN de cada muestra se cuantificó por medición espectrofotométrica.

Amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

Se amplificaron dos regiones específicas del gen CYP2E1 mediante la técnica de reacción en cadena de

la polimerasa, utilizando el *PCR Core Systems* marca Promega,¹⁴ en una mezcla de reacción de 50 μL con 1.5 mM MgCl₂, 200 μM de cada nucleótido (A, C, G y T), 40 pmol de cada primer, 1.25 U de Taq ADN polimerasa en solución amortiguadora B y de 0.8 a 1 μg de ADN molde.

Para los sitios *PstI/RsaI*, localizados en el extremo 5' del gen, se utilizaron los primers 5'-CCA-GTC-GAG-TCT-ACA-TTG-TCA-3' y 5'-GGT-CAA-TCT-TCT-GTC-TTA-CTT-3' descritos por Hayashi y col.¹⁵ La reacción se llevó a cabo con un ciclo inicial de desnaturización de 3 minutos a 94°C, seguidos por 35 ciclos que incluyeron 0.5 minutos de desnaturización a 94°C, 1 minuto de alineación a 55°C y 1 minuto de elongación a 72°C, finalizando con un ciclo de elongación de 7 minutos a 72°C, obteniéndose un fragmento de 510 pb.

Para el sitio de *DraI*, que se encuentra en el intrón 6 del gen, se emplearon los iniciadores 5'-AGT-CGA-CAT-GTG-ATG-GAT-CCA-3' y 5'-GAC-AGG-GTT-TCA-TCA-TGT-TGG-3' descritos por Hirvonen y col¹⁶ que generan un fragmento de 373 pb mediante el programa que incluye un ciclo inicial de desnaturización de 3 minutos a 94°C, seguidos por 35 ciclos que incluyeron 1 minuto de desnaturización a 94°C, 1 minuto de alineación a 60°C y 1 minuto de elongación a 72°C, finalizando con un ciclo de elongación de 7 minutos a 72°C.

Ambos fragmentos fueron sujetos a electroforesis en gel de agarosa al 1.5%, aplicando 100 V durante 45 minutos, en solución amortiguadora TAE 1X (tris-acético-EDTA) y visualizados mediante tinción con bromuro de etidio bajo luz ultravioleta en un transiluminador, utilizando un marcador para ADN de 100 pares de bases marca Promega, con rango de 100 a 1,500 bp. Para el análisis de los resultados se procedió a la digitalización de los geles utilizando el 1D Image Analysis Software (Eastman Kodak Company, 1994-2001).

Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción (RFLP)

El fragmento amplificado correspondiente al extremo 5' del gen del CYP2E1 fue digerido a 37°C, durante 2 horas, con cada una de las enzimas de restricción *RsaI* y *PstI* (marca Promega), en mezclas de reacción de 20 μL con 0.1 mg/mL de albúmina bovina sérica acetilada, 7.5 U de la enzima correspondiente en solución amortiguadora (C para *RsaI*, H para *PstI*) y aproximadamente 1 μg del producto de PCR. Para el fragmento correspondiente al intrón 6, se siguió el

mismo procedimiento utilizando la enzima *DraI* en solución amortiguadora B. Los productos de restricción fueron sujetos a electroforesis y analizados bajo las mismas condiciones descritas para los productos de PCR, interpretando los resultados de acuerdo a los patrones de bandas observados con cada enzima de restricción. La digestión con *RsaI* produce dos fragmentos, 360 y 150 pb, para el genotipo c1c1 (sitio *RsaI* +/sitio *RsaI* +), en cambio el genotipo c2c2 (sitio *RsaI* -/sitio *RsaI* -) no produce digestión, conservándose el fragmento de 510 pb; en los heterocigotos (sitio *RsaI* +/sitio *RsaI* -), se observan los tres fragmentos. El patrón para el genotipo c1c1 para la enzima *PstI* se caracteriza por la observación de un sólo fragmento de 510 pb; el genotipo c2c2 produce dos fragmentos, de 384 y 126 pb, mientras que en el estado heterocigoto se observan los 3 fragmentos. Como se muestra en la figura 1, la presencia del sitio de restricción polimórfico para *DraI* en ambos alelos da 2 bandas (240 y 133 pb) y caracteriza al genotipo homocigoto DD; el genotipo homocigoto CC no produce la

digestión del fragmento amplificado, por lo que se observa una sola banda de 373 pb; el estado heterocigoto se caracteriza por la presencia de las 3 bandas.¹⁶

Análisis estadístico

Una vez obtenidos los datos, se procedió a procesarlos mediante análisis de la frecuencia de los distintos genotipos encontrados en la población objeto de estudio. También se realizó el cálculo de las medidas de asociación χ^2 , prueba de Barnard y razón de momios entre los genotipos encontrados y la presencia o ausencia de síntomas de intoxicación aguda, además de la prueba de t Student para los datos de edad, antigüedad en el trabajo de los fumigadores y número de plaguicidas utilizados.

RESULTADOS

La prevalencia de síntomas de intoxicación aguda en la población estudiada fue de 6 por cada 10 trabajadores (60%). A partir de estos datos, se formaron dos grupos, el número 1, constituido por 36 sujetos que refirieron haber presentado al menos un síntoma de intoxicación aguda por contacto con plaguicidas, y el grupo 2, con 24 integrantes que se caracterizaron por no haber presentado ninguno de los síntomas a que se hace referencia. Una de las maneras para poder explicar estas diferencias lo constituyen el polimorfismo genético del *cyp2E1*. En la figura 1 se muestra el análisis del sitio polimórfico *DraI*.

El rango de edad de la población estudiada fue de 18 a 74 años, con una edad promedio de 47 años. Con relación a la antigüedad en la actividad de fumigación, también se encontró un amplio rango que va de 3 a 39 años, con un promedio de 15.6 años y en cuanto al número de plaguicidas que utilizan, el intervalo fue de 2 a 8. No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la antigüedad de los fumigadores de los dos grupos de estudio ($p = 0.19$), en cambio en la característica de edad sí se presentó esta diferencia ($p = 0.008$), encontrándose mayor frecuencia de manifestaciones clínicas en la población de menor edad promedio. También, como se muestra en la figura 2, se encontró un número significativamente mayor de plaguicidas utilizados por los fumigadores del grupo 1 ($p = 0.0057$).

Los síntomas que presentaron los 36 fumigadores del grupo 1 fueron 28; los de mayor frecuencia se presentan en el cuadro I. Al agrupar estos síntomas por su ubicación anatómica, se obtuvieron 7 grupos. De ellos los más frecuentemente afectados fueron el sistema nervioso (72.2%), los ojos (58.3%) y la piel (38.9%).

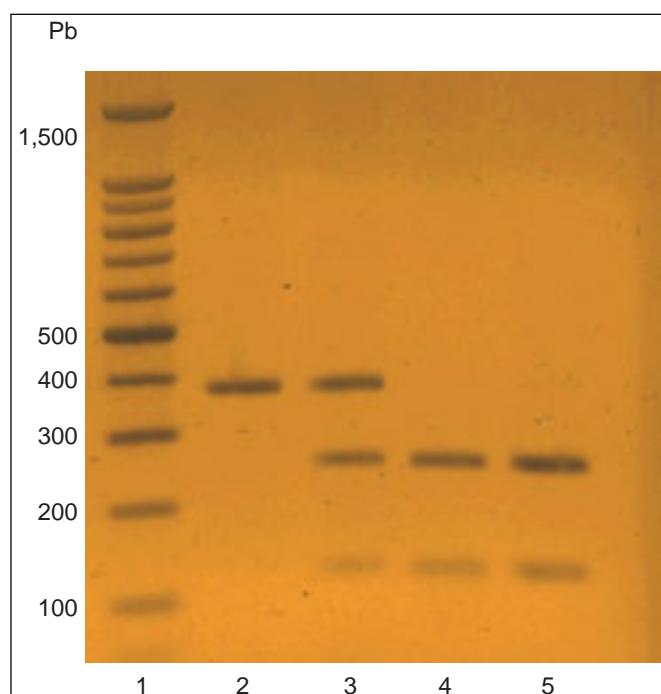


Figura 1. Polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción para el CYP 2E1. Patrones de corte con la enzima *DraI* de los fragmentos amplificados del ADN genómico con los oligonucleótidos específicos para el *cyp2E1*. Gel de agarosa al 1.5% teñido con bromuro de etidio en donde se observan los patrones de corte. Carril 1. Marcadores de tamaño molecular. Carril 2. Homocigoto mutado. Carril 3. Heterocigoto. Carril 4. Homocigoto silvestre. Carril 5. Homocigoto silvestre.

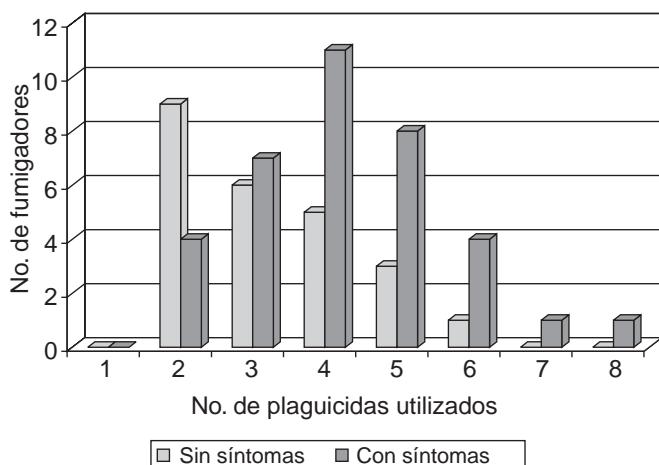


Figura 2. Comparación del número de plaguicidas utilizados en los dos grupos de estudio.

Cuadro I. Síntomas más frecuentes en una población de fumigadores expuestos a plaguicidas.

Síntoma	No. de fumigadores	%
Irritación de conjuntivas	16	44.4
Cefalea	13	36.1
Mareos	13	36.1
Lagrimeo	10	27.8
Comezón	10	27.8
Alteraciones de la vista	9	25.0
Dermatitis	6	16.7
Pérdida de fuerza	5	13.9
Vómitos	5	13.9
Dolor de huesos	5	13.9
Ardor en la piel	4	11.1

En lo que se refiere a los plaguicidas que utiliza este grupo de fumigadores se encontró que incluyen 13 diferentes compuestos químicos que se muestran en el cuadro II, los que son aplicados en su mayoría en forma de mezclas. Ninguno de los fumigadores de la población estudiada utiliza equipo de seguridad, por lo que la totalidad presenta exposición a los plaguicidas, principalmente a través de las vías respiratoria y cutánea. El grupo de plaguicidas más empleado es el de los herbicidas, destacando el glifosato que es ocupado por el 93.3% de esta población de fumigadores; se encontró que hay una diferencia estadísticamente significativa en el uso de ametrina entre los dos grupos ($p < 0.05$), así como del paraquat ($p < 0.01$), observándose que el 79.2% de las personas de la población estudiada que han aplicado este herbicida han presentado síntomas de intoxicación aguda, lo cual concuerda con las características de toxicidad reportadas para este compuesto. En cuanto a los insecticidas y fungicidas se detectó que su utilización fue mucho más reducida; sin embargo, a excepción del parathión metílico, el 100% de los fumigadores que los han aplicado han presentado síntomas de intoxicación, dada su elevada toxicidad.

La frecuencia de genotipos y alelos para cada sitio polimórfico y para cada grupo de estudio se muestra en las figuras 3 y 4. Los genotipos para *DraI* con alelo mutado (CD,CC) se encontraron en el 44.5% del grupo de fumigadores que han tenido síntomas de intoxicación aguda con plaguicidas, en cambio sólo se en-

Cuadro II. Frecuencia de uso de plaguicidas en la población estudiada.

Herbicidas Ingrediente activo	No. total	% Total	Grupo 1	%	Grupo 2	%
Ácido 2,4 diclorofenoxyacético (2,4 D)	27	45.0	16	59.3	11	40.7
Ametrina	48	80.0	32	66.7	16	33.3
Dicamba	1	1.7	1	100.0	0	0.0
Diurón	40	66.7	26	65.0	14	35.0
Glifosato	56	93.3	33	58.9	23	41.1
Paraquat	24	40.0	19	79.2	5	20.8
Insecticidas Ingrediente activo	No.	%	Grupo 1	%	Grupo 2	%
Carbofurán	6	10.0	6	100.0	0	0.0
Dimetrín	1	1.7	1	100.0	0	0.0
Lamdacihalotrina	2	3.3	2	100.0	0	0.0
Malatión	2	3.3	2	100.0	0	0.0
Parathión metílico	9	15.0	6	66.7	3	33.3
Fungicidas Ingrediente activo	No.	%	Grupo 1	%	Grupo 2	%
Oxicloruro de cobre	1	1.7	1	100.0	0	0.0
Triademefon	1	1.7	1	100.0	0	0.0

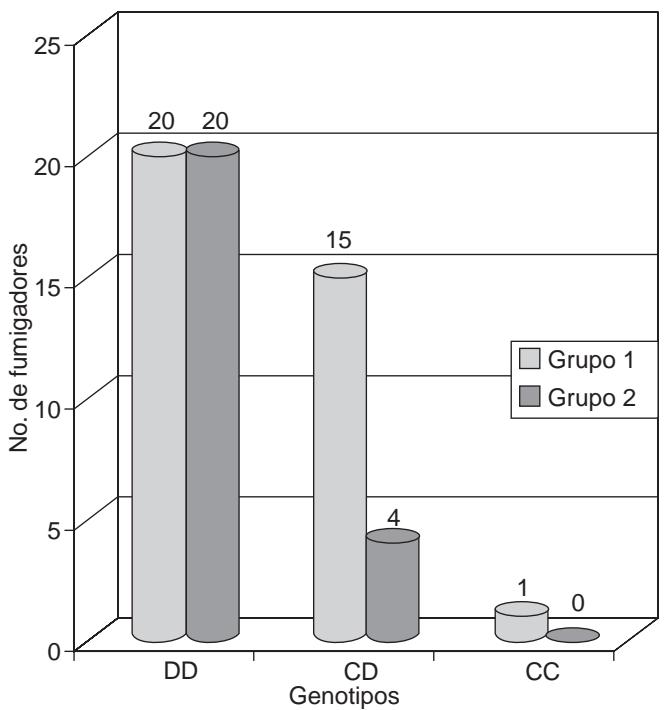


Figura 3. Comparación de la frecuencia de genotipos para *DraI* en los dos grupos de estudio.

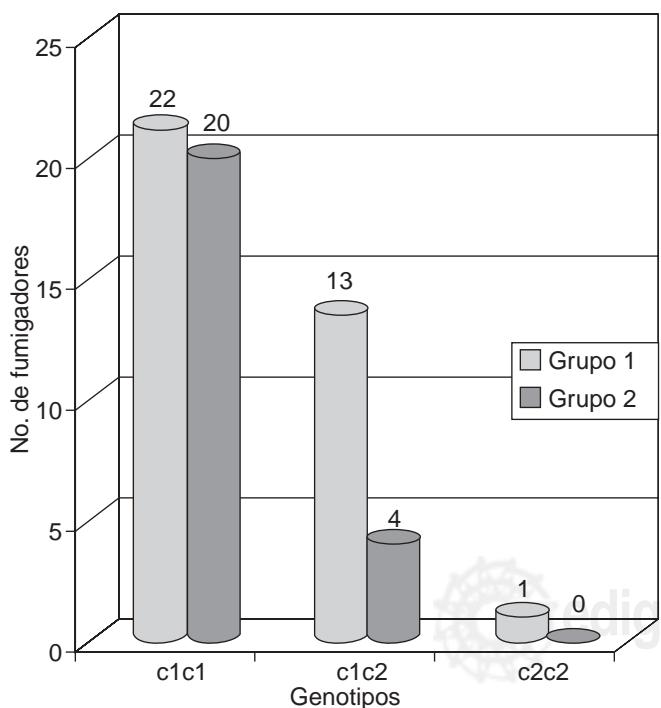


Figura 4. Comparación de la frecuencia de genotipos para *RsaI/PstI* en los dos grupos de estudio.

contró esta característica en el 16.7% de aquellos que no han tenido estas manifestaciones clínicas, lo cual establece una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$ para χ^2 y prueba de Barnard); además se determinó que en esta población los sujetos con genotipos que incluyen alelo mutado para *DraI* presentaron un riesgo 3 veces mayor de presentar intoxicación aguda al estar en contacto con plaguicidas (razón de momios, RM = 4.0; intervalo de confianza del 95 % (IC_{95%}) = 1.14 - 14.85) comparados con los homocigotos para el alelo silvestre (DD) quienes presentan un riesgo disminuido (RM = 0.25; IC_{95%} = 0.07 - 0.88). No se encontró diferencia estadísticamente significativa ni se observó asociación con el riesgo de intoxicación aguda para el polimorfismo de *RsaI/PstI*.

DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación muestran que en la población estudiada, es elevada la prevalencia de fumigadores (60%) que presentan, cuando menos, algún síntoma de intoxicación aguda cuando están en contacto con los plaguicidas. Los datos reportados con relación a esta situación indican que en los países en desarrollo los plaguicidas causan hasta un millón de casos de intoxicación y hasta 20,000 muertes anualmente. En el caso particular de México existen pocos datos sobre la epidemiología de la intoxicación aguda por plaguicidas,^{10,11} además es importante considerar que dichos datos solamente reflejan los casos más graves que llegan a solicitar atención hospitalaria y que incluso llegan a fallecer por esta causa. Sin embargo, en estas estadísticas no se incluyen los casos de intoxicación aguda leve o moderada, como la mayoría de los encontrados en este estudio, y que también representan un problema de salud para estas comunidades agrícolas, así como el impacto económico que implica la incapacidad que les produce para llevar a cabo su actividad laboral; esta situación hace indispensable continuar con este tipo de estudios que profundicen en el conocimiento de la toxicidad de cada uno de estos compuestos químicos en población mexicana, y que sirvan de base para la toma de decisiones sobre su uso y manejo.

En la población estudiada, los síntomas de intoxicación que se detectaron coinciden con los reportados para estos compuestos químicos;^{12,17-19} sin embargo, dado que todos los encuestados utilizan más de un plaguicida, no fue posible asociar estos síntomas a un ingrediente activo en particular.

En este estudio se constató que en el desarrollo de un proceso patológico de esta naturaleza están invo-

lucrados diversos factores como son los fisiológicos, genéticos o las características del tóxico, cuyo conjunto puede, en un determinado momento, hacer que se manifieste la alteración. Se observó que el grado de toxicidad del plaguicida utilizado es un factor determinante en el desarrollo de la intoxicación, ya que los reconocidos como muy tóxicos producen síntomas en la mayoría de las personas expuestas, independientemente de los demás factores involucrados. También se observó que el número de ingredientes activos utilizados tiene un efecto tóxico aditivo, relacionado con la aparición de manifestaciones clínicas, es decir, a un mayor número de plaguicidas aplicados corresponde una mayor frecuencia de fumigadores con alteraciones en su salud (*Figura 2*); sin embargo, esta relación no es absoluta, ya que por un lado se encontraron casos de fumigadores que utilizan pocos principios activos, que son además considerados como de baja toxicidad, que refieren tener manifestaciones clínicas frecuentes, mientras que en otros casos los trabajadores agrícolas encuestados no han presentado ningún síntoma a pesar de haber estado expuestos a un número mayor de plaguicidas, en algunos casos de elevada toxicidad (por ejemplo el 20.8% de los que aplican paraquat). Esta situación nos confirma que existen otros factores, como son las variantes alélicas, que pueden alterar la capacidad individual para metabolizar los tóxicos y que por lo tanto influyen en la respuesta de cada organismo ante ellos.

En este sentido, los resultados encontrados en la presente investigación en cuanto a la asociación entre el polimorfismo genético de *DraI* y la intoxicación aguda por plaguicidas, indican que la frecuencia del alelo mutado C y los genotipos heterocigotos u homocigotos para este alelo es más alta ($p < 0.05$) en el grupo de fumigadores que presentan síntomas de intoxicación aguda al estar en contacto de tipo laboral con los plaguicidas, que en el grupo que no los manifiesta, mientras que para el caso del alelo c2 del sitio polimórfico para *RsaI/PstI*, los valores de asociación calculados no fueron estadísticamente significativos, aunque estuvieron cerca de serlo ($\chi^2 = 3.386$, $p = 0.066$).

Mediante este estudio se corroboró que no todos los individuos en una población tienen la misma respuesta biológica ante la exposición a estos xenobióticos, encontrándose que el genotipo homocigoto silvestre para *DraI* (DD) actúa como factor de protección (RM = 0.25) mientras que la presencia de genotipos con alelo mutado (CD, CC) está asociada con un mayor riesgo (RM = 4.0) de desarrollar procesos de intoxicación aguda al tener contacto con plaguicidas, por lo que la determinación de este polimorfismo del

CYP2E1 puede tener utilidad como biomarcador de riesgo. Desde luego debemos tener presente la condición multifactorial de estos procesos, resultado de las interacciones entre genes, tóxicos y ambiente.

Este hallazgo puede aplicarse en los métodos de evaluación de riesgos ambientales que actualmente no tienen en cuenta estos factores, y proporciona la posibilidad de desarrollar medidas predictivas y preventivas en la población expuesta a plaguicidas, dejando de lado el enfoque de detectar daños a la salud, cuando éstos ya muchas veces son irreversibles.

REFERENCIAS

1. Lucas D, Ferrara R, Gonzales E, Albores A, Manno M, Berthou F. Cytochrome CYP2E1 phenotyping and genotyping in the evaluation of health risks from exposure to polluted environments. *Toxicol Lett* 2001; 124 (1-3): 71-82.
2. Hong JY, Yang CS. Genetic polymorphism cytochrome P450 as a biomarker of susceptibility to environmental toxicity. *Environ Health Perspect* 1997; 105 (Suppl 4): 759-762.
3. Murray R, Granner D, Mayes P, Rodwell V. *Bioquímica de Harper*. 14^a ed. México: El Manual Moderno; 1997: 879-880.
4. Bolt HM, Roos PH, Their R. The cytochrome P-450 isoenzyme CYP2E1 in the biological processing of industrial chemicals: consequences for occupational and environmental medicine. *Int Arch Occup Environ Health* 2003; 76: 174-185.
5. Lieber CS. Cytochrome P-4502E1: Its physiological and pathological role. *Physiol Rev* 1997; 77: 517-544.
6. González-Jasso E, López T, Lucas D, Berthout F, Manno M, Ortega A, et al. CYP2E1 regulation by benzene and other small organic chemicals in rat liver and peripheral lymphocytes. *Toxicol Lett* 2003; 144: 55-67.
7. Mendoza-Cantú A, Castorena-Torres F, Bermúdez M, Martínez-Hernández R, Ortega A, Salinas JE, Albores A. Genotype and allele frequencies of polymorphic cytochromes P450 CYP1A2 and CYP2E1 in Mexicans. *Cell Biochem Funct* 2004; 22: 29-34.
8. Organización Mundial de la Salud. Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura. Ginebra: *Organización Mundial de la Salud*, 1992.
9. Ministerio de Salud de Costa Rica. Registro de Intoxicaciones con Plaguicidas. 1997 citado el 15 de noviembre de 2002. Disponible en: <http://www.netsalud.sa.cr/ms/estadist/intox.htm>
10. Durán-Nah JJ, Collí-Quintal J. Intoxicación aguda por plaguicidas. *Salud Pública Mex* 2000; 42: 53-55.
11. Dirección General de Epidemiología; Secretaría de Salud. *Boletín del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica* 2004; sem 52: 22.
12. Fernández M, López M, Ortiz F. *Aplicación de plaguicidas*. Córdoba: Ediciones Ilustres; 2002; 23: 39-46.
13. Graham DE. The isolation of high molecular weight DNA from whole organisms of large tissues masses. *Anal Biochem* 1978; 85: 609-613.
14. Promega. *PCR Core Systems*. Technical Bulletin No. 254. USA; 2001: 1-20.
15. Hayashi S, Watanabe J, Kaname K. Genetic polymorphism in the 5'-flanking region change transcriptional regulation of the human cytochrome P4502E1 gene. *J Biochem* 1991; 110: 559-565.

16. Hirvonen A, Husgafvel-Pursiainen K, Anttila S, Karjalainen A, Vainio H. The human *CYP2E1* gene and lung cancer: *DraI* and *RsaI* restriction fragment length polymorphisms in a Finnish study population. *Carcinogenesis* 1993; 14: 85-88.
17. Maldonado A, Buitrón R, Granda P, Gallardo L. Reporte de la investigación de los impactos de las fumigaciones en la frontera ecuatoriana. Acción ecológica. Junio 2001 citado el 13 de diciembre de 2002. Disponible en: www.accionecologica.org/.../documentos/Informes/PDF/Informe%20Fumigaciones%20junio%202001-espanol.pdf
18. Dreisbach R, Rebertson W. *Manual de toxicología clínica*. Prevención, diagnóstico y tratamiento. 6^a edición. México: El Manual Moderno; 1988: 85-126.
19. Reigart JR, Roberts JR. Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas. 5^a edición. Washington, DC; U.S Environmental Protection Agency: 1999. p.11, 232-44. (citado el 27 de enero de 2003): Disponible en: <http://www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/handbook.htm>

