



Expresión genotípica de la CYP3A4 en trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, Venezuela

Genotypic expression of CYP3A4 in workers exposed to inhibitor pesticides of the cholinesterase, Venezuela

Palabras clave:
Exón; CYP3A4,
plaguicidas,
exposición,
biomarcadores.

Keywords:
Exon; CYP3A4,
pesticides, exposure,
biomarkers.

* Unidad de Toxicología Molecular (UTM). Escuela de Bioanálisis. Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad de Carabobo. Venezuela.

† Doctorado Individualizado. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela. Caracas. Venezuela.

§ Centro de Biofísica y Neurociencias, CBN-UC. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo, Venezuela.

|| Instituto de Ingeniería Biológica y Médica. Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

¶ Departamento de Microbiología. Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas. Universidad de Carabobo. Venezuela.

Recibido:
25/03/2019
Aceptado:
30/04/2019

RESUMEN

Los plaguicidas son responsables de un elevado número de casos de intoxicación, provocando cáncer u otros trastornos. Se realizó un estudio descriptivo-correlacional entre los meses de junio y octubre de 2017 en la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela, para identificar la prevalencia de sintomatología persistente asociada con exposición a plaguicidas y su relación con los niveles de colinesterasa sanguínea, parámetros hematológicos, bioquímicos de funcionamiento renal-hepático y la expresión genotípica de la CYP3A4. La muestra estuvo representada por 20 trabajadores ocupacionalmente expuestos y un grupo control de 10 sujetos no expuestos. Se realizó análisis de laboratorio clínico y molecular mediante la técnica de PCR. Los resultados más relevantes señalan diferencias estadísticamente significativas de las manifestaciones clínicas y parámetros hematológicos entre grupos expuestos y no expuestos; la expresión de los exones CYP3A4-F y CYP3A4-K del grupo expuesto mostró diferencias estadísticamente significativas y una geolocalización con una densidad aumentada de pacientes expuestos con expresión. Estos resultados de densidad podrían ser el resultado de una mayor exposición a plaguicidas en estas áreas, de una mayor agrupación de estos pacientes o de una combinación de ambos factores, pero en cualquiera de estas situaciones se requiere evaluar la posibilidad de reubicación de los sitios de vivienda.

ABSTRACT

Pesticides are responsible for a high number of cases of poisoning, causing cancer or other disorders. A descriptive-correlational study was conducted between the months of June and October 2017 in Colonia Tovar-Aragua State, Venezuela; to identify the prevalence of persistent symptomatology associated with exposure to pesticides and its relationship with blood cholinesterase levels, hematological parameters, renal-hepatic function biochemicals and genotypic expression of CYP3A4. The sample was represented by 20 workers occupationally exposed; and a control group of 10 subjects not exposed. Clinical and molecular laboratory analysis was performed using the PCR technique. The most relevant results indicate, statistically significant differences of the clinical manifestations and haematological parameters between exposed and non-exposed groups; Expression of exons CYP3A4-F and CYP3A4-K of the exposed group showed statistically significant differences and a geolocation with an increased density of exposed patients with expression. These density results could be the result of a greater exposure to pesticides in these areas, a greater grouping of these patients or a combination of both factors, but in any of these situations it is necessary to evaluate the possibility of relocation of housing sites.

INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son los responsables de un elevado número de casos de intoxicación y pueden provocar cáncer, efectos neurotóxicos y teratogénicos en la población no expuesta

occupacionalmente.^{1,2} Por ello, la Organización Mundial de la Salud (OMS), a través del Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (CIIC), ha relacionado de manera no constante el uso de plaguicidas con una serie de efectos a largo plazo.^{2,3}

Correspondencia:
Sharim Marrero
 Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela de Bioanálisis. Unidad de Toxicología Molecular (UTM), Universidad de Carabobo, Venezuela.
 Tel: +58 416 6482689
 E-mail: smarrero@uc.edu.ve; sharimmarrerob@hotmail.com

Durante años se ha promovido la venta de plaguicidas sin informar adecuadamente el riesgo inherente a su uso; además, algunos de ellos son considerados compuestos orgánicos persistentes (COP). Por ello, el Convenio de Estocolmo⁴ fue el primer gran paso, a este convenio le siguieron otros también internacionales como el de Rotterdam, Basilea y, por último y más reciente, el Código de Conducta para la Distribución y Uso de Plaguicidas.^{1,5,6}

Los principales plaguicidas utilizados hoy día en los países desarrollados pertenecen al grupo de los carbamatos, organofosforados (OF), tiocarbamatos y piretroides.⁶⁻⁸

El conocimiento de las interacciones entre los agentes presentes en el medio ambiente y el hombre ha ido adquiriendo gran relevancia; por tal motivo, la forma en que el organismo humano responde a la exposición de plaguicidas como xenobióticos presenta una gran variación interindividual, debido en parte a alteraciones en el metabolismo de los mismos. Una de las principales enzimas implicadas en este metabolismo es el citocromo P450 (CYP); dentro de esta familia se encuentra la isoforma CYP3A4, la cual cataliza el metabolismo oxidativo a nivel hepático y está implicada en la bioactivación y la detoxificación de inhibidores de la colinesterasa, la cual, dependiendo del compuesto base del plaguicida y su concentración, puede generar subproductos que contribuyen a la toxicidad.⁴ Se ha sugerido que la expresión de CYP3A4 puede modificarse ante la exposición a plaguicidas.^{9,10}

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) en su informe 2015-2030 indica que «el uso de plaguicidas se ha incrementado considerablemente a lo largo de los últimos 35 años...». En los países desarrollados, su uso se restringe cada vez más mediante leyes e impuestos y en el futuro se espera que el uso de plaguicidas «inteligentes», el manejo de la agricultura climáticamente inteligente (CSA), variedades de cultivos resistentes y métodos ecológicos de control de plagas (manejo integrado de plagas) logren el objetivo final de reducir la dependencia de los plaguicidas.^{5,11,12} Sin embargo, durante la Conferencia de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (COP23) en 2017, la FAO indicó que la población mundial

crecerá en 2,000 millones de habitantes para el año 2050, por lo que la producción agrícola tendrá que aumentar 60% para poder mitigar la pobreza y adaptarse al cambio climático y, por ende, el incremento en el uso de plaguicidas será mayor.^{1,11,12} A partir de la COP24 en Katowice en 2018, la FAO ayuda a los países a garantizar que se establezcan vínculos para adoptar medidas para combatir el cambio climático y sus efectos.¹³

Resulta oportuno comentar que el número de trabajadores activos a nivel mundial relacionados con la producción agrícola es de 1,300 millones, lo cual corresponde al 50% de la mano de obra en el mundo. Según las estimaciones de la Organización Internacional del Trabajo (OIT), un mínimo de 170,000 trabajadores agrícolas muere cada año, siendo víctimas de lesiones graves causadas por accidentes con maquinaria o por envenenamiento con pesticidas u otros agroquímicos.^{6,14} Por ello, en diciembre de 2018, la Asamblea General de las Naciones Unidas adopta la declaración sobre los derechos de los campesinos y otras personas que trabajan en las zonas rurales, al tiempo que reconoce su contribución al desarrollo sostenible, la biodiversidad y los desafíos a los que se enfrentan, así como se sostiene la necesidad de respetar la identidad cultural, exigir protección social y garantizar igualdad de género en las zonas rurales, declaración aplaudida por la FAO.¹⁵

Los países en desarrollo, a pesar de algunos esfuerzos en positivo, todavía tienen deficiencias importantes en algunos aspectos del manejo de plaguicidas; entre estos países destaca Venezuela, aun cuando firmó el Convenio de Estocolmo el 23 de mayo de 2001 y lo ratificó el 03 de enero de 2005, según la Gaceta Oficial 38.098, «lo que implica su incorporación a la legislación como Ley Aprobatoria o Ley Supra en el artículo 23 de la Constitución de la República Bolivariana de Venezuela¹⁶ y en los artículos 127 y 129 del Capítulo IX de los Derechos Ambientales, Ley No. 55 sobre sustancias, materiales y desechos peligrosos en su artículo 7, además de la Norma Convenio 2709 del 2002».^{6,17}

En cuanto a los eventos de notificación obligatoria en Venezuela, el Boletín Epidemiológico de la semana 32 de 2014 señala que

entre las principales causas de consulta se encuentran las intoxicaciones por plaguicidas, que ocupan 0.01%; además, existen 463 casos de intoxicaciones por plaguicidas acumulados hasta el mes de agosto del mismo año.¹⁸

Conociendo las secuelas de los plaguicidas, así como sus efectos en el ser humano, en el presente estudio se evaluó la exposición a OF y carbamatos (inhibidores de la colinesterasa) en trabajadores agrícolas del caserío Capachal de Palmarito de la Colonia Tovar mediante la determinación de la actividad de la colinesterasa plasmática, signos y síntomas y el uso y manejo de plaguicidas. Asimismo, se midieron parámetros hematológicos, bioquímicos de functionalismo renal y hepático, la geolocalización de los trabajadores y se procedió a la caracterización genotípica de la isoforma CYP3A4 mediante la técnica de PCR (*Polymerase Chain Reaction*).

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo-correlacional, dando continuidad a una línea de investigación de la Unidad de Toxicología Molecular de la Universidad de Carabobo, Venezuela. Se llevó a cabo entre los meses de junio y octubre de 2017 en la Colonia Tovar, estado Aragua, Venezuela, a unos 63 km al oeste de la ciudad de Caracas, con una población censada por el Consejo Comunal de 57 agricultores. La muestra estuvo representada por un total de 20 trabajadores ocupacionalmente expuestos; mientras que el grupo control estuvo constituido por 10 sujetos del personal que labora en el área administrativa comercial de la ciudad de Valencia, estado Carabobo, Venezuela, aproximadamente a unos 160 km al oeste de Caracas. En los dos grupos se trabajó con personas de ambos géneros, con edades comprendidas entre 21 y 58 años que aceptaran participar en el estudio. El criterio de inclusión para la selección de la muestra fue: ser trabajador agrícola expuesto por un periodo no menor de seis meses, con aparente buena condición de salud, sin hábitos psicosociales (fumar, ingesta de alcohol), y respecto al grupo control se tomó en cuenta la zona residencial y actividad laboral del sujeto alejado del contacto con plaguicidas, en el rango de edad, en aparentes buenas condiciones de salud y sin hábitos psicosociales.

Para llevar a cabo el estudio se aplicaron las normas éticas correspondientes, incluyéndose la carta de consentimiento informado, de acuerdo con lo establecido en los principios éticos para la investigación médica en seres humanos de la declaración de Helsinki.

El instrumento aplicado tanto a los trabajadores expuestos como al grupo control fue una entrevista, la

cual se elaboró considerando lo referido por la literatura internacional y las observaciones empíricas.

Las determinaciones de laboratorio realizadas en muestras de sangre periférica (aproximadamente 10 mL) con y sin anticoagulante fueron: niveles de colinesterasa plasmática, parámetros hematimétricos, actividad enzimática de las transaminasas, creatinina y urea.

Para el análisis molecular de la CYP3A4 se efectuó previamente una extracción de ADN genómico a partir de un total de 200 µL de sangre, empleando *kit* comercial (PureLink™ Genomic DNA Mini Kit, Invitrogen, EUA); posteriormente, para la amplificación se aplicó la técnica de PCR convencional, usando cebadores específicos para las regiones que flanquean los distintos exones descritos por Berno et al.¹⁹ (*cuadro I*). La PCR se llevó a cabo en un volumen total de 25 µL, usando la siguiente mezcla de reacción: 12.5 µL Platinum Hot Start PCR 2X Master Mix (Invitrogen, USA), 10 µM de cada uno de los cebadores, de 100 a 200 ng de ADN genómico y agua libre de nucleasa.

La amplificación se realizó en un termociclador automático (Seeamp™, Seegene, Corea del Sur) con los siguientes parámetros: desnaturalización por 12 min a 93 °C, seguida de 40 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s de temperatura de hibridación variable, 2.30 min de extensión a 72 °C y una final por 10 min a 72 °C. Los productos de PCR se analizaron por electroforesis en un gel de agarosa al 2% y se visualizaron en un transluminador UVP®.

Cuadro I. Tamaño de secuencia de exones de PCR para la CYP3A4.

Genotipo CYP3A4	Tamaño de exones	Temperatura (°C) de hibridación
Exón A	296	61
Exón B	1,137	59
Exón C	1,192	59
Exón D	1,200	59
Exón E	841	59
Exón F	933	59
Exón G	998	61
Exón H	956	60
Exón I	990	57
Exón J	952	60
Exón K	917	59
Exón L	910	57
Exón M	1,099	59

Fuente: Bibliografía consultada. Berno et al.¹⁹

Durante la entrevista con las personas evaluadas del grupo expuesto realizada en su casa de habitación, se hizo la lectura de las coordenadas de geolocalización mediante un equipo GPS Garmin® con señal detectada de al menos ocho satélites y reportada en grados decimales. Estas lecturas se utilizaron para el levantamiento del mapa bidimensional geográfico de los sujetos y sus valores de actividad de colinesterasa.

Todos los datos fueron analizados a través del programa estadístico PAST versión 3.19.²⁰ Se corroboró el ajuste de las variables cuantitativas a la distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, y se obtuvo la media aritmética y la desviación estándar. Las variables cualitativas se presentan en cuadros de distribución de frecuencias absolutas y relativas. Se calcularon medidas de asociación como coeficiente de Pearson (*r*), coeficiente de correlación por rangos de Spearman (*p*) y se realizó la prueba *t* de Student para comparar medias de dos muestras independientes (grupo expuesto y grupo control). Se establecieron comparaciones de proporciones con la prueba *Z*. La diferencia entre los grupos se consideró significativa a un nivel de *p* < 0.05. El mapa de geolocalización se realizó tomando los valores de latitud (coordenada *y*), longitud (coordenada *x*) y la detección de cualquiera de los exones del gen CYP3A4 y aplicando una función de densidad según Kernel Gaussiana de radio = 0.0015 con interpolación por splines cúbicas para generar una matriz de 100 pixeles cuadrados en los ejes *x*, *y*. Los valores de densidad o agrupación de pacientes se convirtieron a una escala de pseudocolor con tono rojo como valor más alto y tono azul como el valor más bajo. Esta metodología permite detectar en la geografía del área estudiada las zonas con pacientes que expresen el exón CYP3A4 correspondiente. Las diferencias entre los mapas se evaluaron mediante el índice de disimilaridad.

RESULTADOS

Se evaluaron 30 individuos adultos de ambos sexos, aparentemente sanos, conformando dos grupos, uno expuesto (GE) y uno control (GC); el GE estuvo conformado por 20 trabajadores (80% del sexo masculino y 20% del femenino); y el GC por 10 trabajadores (90% del sexo masculino y 10% del femenino).

Sin diferencias estadísticamente significativas respecto al promedio de edad de ambos grupos, para el GE 40.45 ± 10.37 (*p* = 0.644) y para el GC 42.20 ± 8.01 (*p* > 0.05). La antigüedad en años de trabajo entre los expuestos fue de 19-20 años con una desviación estándar ± 12.98 años, un límite inferior de dos años y un límite superior

de 50 años. Con relación a las actividades que ejecutan los trabajadores que componen el GE, 75.0% mezclan y fumigan, con predominio estadísticamente significativo (*Z* = 2.85; *p* = 0.002).

Es importante resaltar que los 20 trabajadores expuestos manipulan directamente los plaguicidas y laboran aproximadamente 4.15 ± 2.32 horas diarias, con un valor promedio de antigüedad aplicando plaguicidas de 19.20 ± 12.98 años. Además, se pudo establecer que dichos trabajadores tienen un tiempo promedio por cada ciclo de fumigación de 6.20 ± 2.04 días al mes, realizando dichos ciclos de fumigación 12 veces en el año, lo que daría un estimado de 74 días de fumigación en un año calendario.

En cuanto al nivel de instrucción de la muestra en estudio en el GE, 60% culminó la primaria y seis trabajadores son bachilleres, lo que corresponde a 30.0%; por el contrario, en el grupo control, 60% son universitarios.

Tanto en el GE como en el GC se observó que ningún trabajador presentó consumo de tabaco ni de alcohol y 70% conoce los efectos nocivos para la salud causados por los plaguicidas que utilizan (*cuadro II*).

Del total del GE, 95% de los trabajadores recibió instrucciones para el manejo de los plaguicidas, 55% conoce el significado del rótulo de los envases en los que se expende el plaguicida y 5% usa plaguicidas en su hogar (sólo un trabajador refirió usar piretroide de forma ocasional). Respecto a quién suministró la información sobre el uso de plaguicidas, la mayoría refirió que fue suministrada por compañeros de labores (55%), 15% por agrotécnico, 15% por un vecino y 15% por lectura del folleto.

De los trabajadores del GE, 100% lava la ropa de trabajo aparte de la ropa normal, no ingiere alimentos en la zona de fumigación, se cambia la ropa después de la jornada, usa el uniforme lavado después de la fumigación, cambia los equipos de protección personal cuando están dañados, se lava las manos antes de comer y no se baña en ríos cercanos a su vivienda; 95% se lava las manos inmediatamente después de la jornada, 70% toma agua durante la jornada, 70% se baña inmediatamente después de fumigar y 30% lo hace algunas horas después de fumigar, adicionalmente emplea equipos de protección personal (*cuadro III*).

Los datos suministrados por los trabajadores demuestran que 70% guarda los plaguicidas en un depósito aislado; 30% lo hace en el domicilio; respecto al material ya usado, nadie reutiliza el envase eliminado ni lo entierra sin lavado previo, 5% quema el envase usado sin lavado previo, 40% lo entierra con lavado previo y 40% lo quema

Cuadro II. Tipos de plaguicidas que usan los trabajadores expuestos.

Insecticida/ grado toxicidad	Número de trabajadores con respuesta afirmativa	%
Karate (fungicida/Ib)	11	55.0
Mercamil (carbamato/Ia)	11	55.0
Bravo 500 (fungicida/Ib)	10	50.0
Folpan (fungicida/IV)	7	35.0
Pyrine (OF/II)	5	25.0
Curacrón (OF/II)	5	25.0
Captán (fungicida/Ib)	4	20.0
Curazín (fungicida/III)	4	20.0
Paratón (OF/Ia)	3	15.0
Malatión (OF/III)	3	15.0
Amidor (OF/III)	3	15.0
Fulgor (carbamato/III)	3	15.0
Gramonzón (herbicida/II)	3	15.0
Manzate (fungicida/III)	3	15.0
Danol (OF/Ia)	2	10.0
Difós (OF/IV)	2	10.0
Triazol (fungicida/II)	1	5.0
Score (fungicida/III)	1	5.0
Curacarb (fungicida/III)	1	5.0
Fugitane (OF/IV)	1	5.0
Kuik (carbamato/Ib)	1	5.0
Glifosán (herbicida/IV)	1	5.0
Sumo (insecticida/IV)	1	5.0
Clorfluoazuro (insecticida/IV)	1	5.0
Drago (piretroide/II)	1	5.0

Fuente: Entrevista realizada.

y entierra con lavado previo; 10% acumula los envases en un vertedero de basura, 5% lo acumula en el almacén y en el vertedero de basura.

En cuanto a las manifestaciones clínicas, los signos y síntomas referidos por los trabajadores expuestos fueron: 30% presentó alergias y 30% refirió picazón, con predominio estadísticamente significativo, en comparación con los trabajadores del grupo no expuesto ($Z = 2.21$; $p = 0.01$).

Se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para los valores de hemoglobina, hematocrito, VCM, HCM, monocitos al comparar las medias de los GE y GC (cuadro IV). La matriz de corre-

Cuadro III. Equipos de protección utilizados por el grupo expuesto a plaguicida.

Equipo de protección	n	%
Gorra/sombrero, chaqueta, botas de goma y paño de boca	11	55.0
Botas de goma, paño de boca y gorra/sombrero	4	20.0
Gorra/Sombrero y botas de goma	1	5.0
Gorra/sombrero y paño de boca	1	5.0
Gorra/sombrero, paño de boca/braga, botas de goma,	1	5.0
Gorra/sombrero, chaqueta, paño de boca	1	5.0
Botas de goma, tapaboca con filtro, braga	1	5.0
Total	20	100.0

n = Frecuencia.

Fuente: Entrevista realizada.

lación de Pearson para los parámetros hematimétricos y bioquímicos con la colinesterasa en el GE evidenció que existe correlación estadísticamente significativa ($p < 0.05$), con la urea ($r = 0.500$; $p = 0.025$) y con la TGP ($r = 0.455$; $p = 0.044$).

En relación con la colinesterasa, la media del GE fue de 6.43 ± 1.24 y para el GC fue de 8.20 ± 1.87 . De los valores de colinesterasa obtenidos en el GE, 15% (tres trabajadores) se ubica por debajo del rango de normalidad y existe diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.005$) entre las medias para el biomarcador de efecto en estudio.

En los 30 trabajadores evaluados la expresión genética de la CYP3A4 estuvo presente para el exón A, exón E y exón M, con una prevalencia de 100% en ambos grupos. El exón F se expresó en 83.3% de la muestra, con diferencias estadísticamente significativas entre las prevalencias ($Z = 2.94$; $p = 0.001$). El exón K estuvo presente en 86.7% del total estudiado, sin diferencias estadísticamente significativas ($Z = 0.19$; $p = 0.42$). El exón H estuvo presente sólo en un trabajador expuesto (3.3% de la muestra), sin diferencias significativas respecto a los no expuestos ($Z = 0.36$; $p = 0.35$) (cuadro V).

No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas al comparar las medias de acetilcolinesterasa en el grupo expuesto y no expuesto según la presencia o

Cuadro IV. Parámetros hematimétricos y bioquímicos de grupos en estudio.

Parámetros hematimétricos y bioquímicos	Grupo expuesto			Grupo control			p	Valores de referencia
	n	X	DE ±	n	X	DE ±		
Hemoglobina g/dL	20	15.50	1.09	10	14.00	1.16	0.002	12.0-16.0 g/dL
Hematocrito %	20	46.90	3.92	10	42.50	2.90	0.004	40.0-50.0%
Hematíes 10 ⁶ /µL	20	5.12	0.33	10	5.10	0.50	0.874	4.0-5.50 × 10 ⁶ /mm ³
Leucocitos 10 ³ /µL	20	6.99	1.83	10	6.00	1.36	0.138	4.0-10.0 × 10 ³ /mm ³
VCM (fL)	20	91.60	4.96	10	83.80	7.57	0.02	82-95fL
CHCM (g/dL)	20	33.10	0.82	10	32.90	1.04	0.809	31.5-35.5 g/dL
HCM (pg)	20	30.20	1.69	10	27.70	3.03	0.005	27-32 pg
Linfocitos %	20	33.00	6.25	10	35.90	4.84	0.218	17.0-48.0%
Monocitos %	20	3.20	2.07	10	6.10	2.60	0.002	0-8%
Eosinófilos %	20	2.90	2.29	10	2.70	1.05	0.746	0-6%
Neutrófilos %	20	59.80	7.45	10	55.30	5.47	0.098	43.0-76.0%
Plaquetas 10 ³ U/l	20	220.90	36.58	10	235.80	38.90	0.314	150-450 × 10 ³ /mm ³
Urea (mg/dL)	20	27.10	9.95	10	32.80	23.10	0.353	15.0-45.0 mg/dL
Creatinina (mg/dL)	20	0.75	0.14	10	0.86	0.15	0.076	0.5-1.4 mg/dL
TGO/AST (U/l)	20	28.8	9.05	10	31.0	8.33	0.525	0-40.0 U/L
TGP/ALT (U/l)	20	28.8	12.88	10	37.3	11.51	0.091	0-38.0U/L

n = Frecuencia, X = Media, DE ± = Desviación estándar, p = t de Student.

Fuente: Exámenes de laboratorio realizados.

ausencia de los exones F, H y K ($p > 0.05$), ni al comparar las medias de los parámetros hematimétricos y bioquímicos estudiados en el grupo expuesto y no expuesto según la presencia de los exones mencionados. Tampoco hubo correlaciones estadísticamente significativas entre los valores de colinesterasa y la presencia de los exones F, H y K. No se evidenciaron correlaciones estadísticamente significativas entre los valores de colinesterasa y la sintomatología ni entre la expresión de exones y la sintomatología entre los trabajadores expuestos ocupacionalmente a los plaguicidas inhibidores de la colinesterasa.

Los exones CYP3A4-F y CYP3A4-K se seleccionaron con base en las diferencias estadísticas encontradas entre el grupo expuesto y el grupo control. La figura 1 presenta los mapas de geolocalización de densidad de pacientes con expresión de los exones CYP3A4-F (izquierda) o CYP3A4-K (derecha) del grupo expuesto, mostrando en ambos casos mayor densidad de pacientes en el cuadrante nororiental del área estudiada. Ambos mapas indicaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) en el cuadrante norte de ambos mapas basado en el índice de disimilaridad.

DISCUSIÓN

En cuanto a la media del grupo expuesto, Cárdenas et al. (2010) reportaron una situación similar en su estudio realizado en Colombia del total de trabajadores participantes, 78.9% eran hombres y 21.1% eran mujeres con rango de edad entre 18 y 40 años en ambos sexos expuestos a plaguicidas.²¹ En 2015, se llevó a cabo otro estudio con una edad media para individuos del grupo expuesto de 39.6 ± 10.8 , similar a los valores reportados por este estudio.²²

La antigüedad en años, promedio de horas diarias laborando y ejecutando actividades de mezcla y fumigación coinciden con los resultados encontrados por Gómez et al. (2010)²³ y por Toro-Osorio et al. (2017).²⁴

Al comparar el nivel académico en el presente estudio, el mismo es contrario al estudio de Castiblanco en 2014, en el cual 72.1% alcanzó la secundaria y 5% es profesional y cuenta con maestría.²⁵

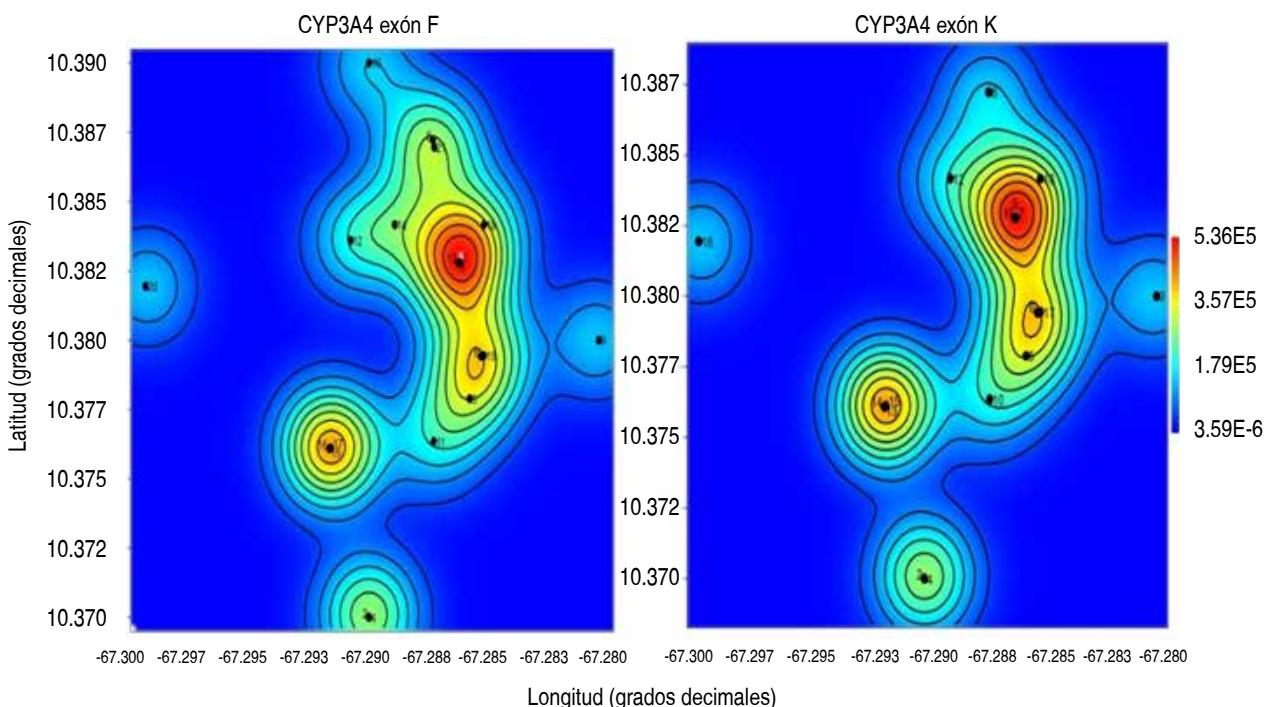
Para el valor de colinesterasa se detectó diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) entre las medias para el biomarcador de efecto en estudio. Similares resultados se obtuvieron de los estudios de Castiblanco (2014)

Cuadro V. Comparación de prevalencias de expresión de los exones en el grupo expuesto a plaguicidas y grupo control.

Exones expresados	Grupo expuesto (n = 20)		Grupo control (n = 10)		Z	p
	f	%	f	%		
Exón A	20	100.0	10	100.0	—	—
Exón E	20	100.0	10	100.0	—	—
Exón M	20	100.0	10	100.0	—	—
Exón F	20	100.0	5	50.0	2.94	0.001
Exón K	17	85.0	9	90.0	0.19	0.420
Exón H	1	5.0	0	0.0	0.36	0.350
Exón B	0	0.0	0	0.0	—	—
Exón C	0	0.0	0	0.0	—	—
Exón D	0	0.0	0	0.0	—	—
Exón G	0	0.0	0	0.0	—	—
Exón I	0	0.0	0	0.0	—	—
Exón J	0	0.0	0	0.0	—	—
Exón L	0	0.0	0	0.0	—	—

F = Frecuencia.

Fuente: Exámenes de laboratorio realizados.



Fuente: Exámenes de laboratorio realizados.

Figura 1. Localización geográfica de los expuestos ocupacionalmente a plaguicidas vs expresión CYP3A4.

y Matheus et al. (2017), reportándose diferencias significativas con una $p < 0.01$ y $p < 0.000$, respectivamente,^{25,26} lo que permite inferir que al mantenerse condiciones hostiles o de estrés en los individuos se esté dando una estimulación del sistema metabólico como una primera respuesta adaptativa al ambiente; esta respuesta adaptativa fue descrita por primera vez por Kashyap en 1984 y luego nuevamente reportada por García et al. (2015), en la cual pudieron establecer que ante una exposición crónica a plaguicidas, el sistema metabólico responde con un incremento de la actividad enzimática, con el fin de establecer nuevamente el equilibrio del sistema;²⁷ en cambio, en el estudio de Toro-Osorio et al. (2017) no existe diferencia significativa en los niveles de exposición a plaguicidas entre los agricultores estudiados.²⁴

Los plaguicidas más utilizados por los trabajadores de este estudio son del tipo organofosforados (categorías II y Ia), y en el caso de los Carbamatos, categoría Ia, III y Ib. Estos datos tienen concordancia con los aportados por estudios de Gómez et al. (2010), Toro et al. (2017) y López et al. (2018). Los organofosforados son los insecticidas más utilizados para el control de plagas en los cultivos tanto a nivel internacional como en Venezuela, éstos junto con los carbamatos son los involucrados con más frecuencia en intoxicaciones en todo el mundo.^{23,24,28} Sin embargo, según la información suministrada por el grupo estudiado de Capachal de Palmarito, 70% conoce los efectos nocivos para la salud causada por los plaguicidas que utilizan.

Con relación a recibir instrucciones para el manejo de los plaguicidas, conocer el significado del rótulo de los envases y uso de plaguicidas en el hogar, los porcentajes coinciden con los reportados por Duran et al. (2017), en los cuales los agricultores emplean plaguicidas sin ninguna capacitación formal previa, lo cual representa un enorme riesgo, ya que éste es un tema muy amplio y de alta complejidad.²⁹

Los trabajadores agrícolas, la mayoría de bajo nivel sociocultural, no utilizan las debidas medidas de protección, ya sea por falta de conocimiento, descuido o porque las empresas no proveen el equipamiento necesario a sus trabajadores, planteamientos que consideran, junto con otros, la agricultura como una de las actividades más peligrosas, según la OIT, que genera trabajo físico excesivo, estrés psicológico, desequilibrios en el ritmo del trabajo y, por consiguiente, mayores riesgos de accidentes y enfermedades por exposición sin control del uso excesivo de plaguicidas, sin períodos de carencia, lo que se traduce como explotación laboral, considerada por la OIT como la nueva forma de esclavitud del siglo XXI.³⁰

Siguiendo con el punto relacionado con el manejo adecuado de la información para el uso correcto de pla-

guicidas, los resultados son comparables con el estudio de Toro et al. (2017),²⁴ al igual que los reportados por Cárdenas et al.²³ El incumplimiento de estas medidas higiénicas propicia la presencia de síntomas asociados a la exposición a plaguicidas, mezclas de solventes, orgánicos y metales pesados, por lo cual resulta interesante plantear la aplicación de una batería de test neuroconductuales para detectar precozmente los posibles efectos neurocomportamentales de los plaguicidas en los sujetos estudiados.^{31,32} El estudio llevado a cabo por Muñoz (2011) refirió la prevalencia en toda la muestra en estudio del síndrome muscarínico.³³

Los datos suministrados por los trabajadores demuestran similitud en porcentajes con el trabajo de Varona et al. (2016); en cambio, García et al. (2006) refieren que la mayoría del grupo expuesto almacena correctamente los plaguicidas.^{23,34}

Respecto a los resultados de los exámenes de laboratorio, se detectaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos para los valores de hemoglobina, hematocrito, VCM y HCM y monocitos, los cuales pueden justificarse por la diferencia de altura con respecto al lugar de residencia tanto del grupo expuesto como del grupo control. Sin embargo, en estudios realizados por Ahmadi et al. (2018), los resultados fueron contrarios a los expuestos en este estudio, pudiendo asociar estos hallazgos con daños oxidativos y presencia de citocinas inflamatorias inducidas por la presencia de xenobióticos.³⁵

A nivel renal, con la urea se evidenció correlación estadísticamente significativa, analito de suma utilidad para los fines de determinar una alteración en la función renal, debida a una disminución en la capacidad del organismo para eliminar sustancias químicas potencialmente genotóxicas; sin embargo, estudios llevados a cabo por Lebov et al. (2016) indican que se requieren estudios epidemiológicos adicionales para confirmar el efecto nefrotóxico y desarrollo de posteriores patologías renales por exposición.³⁶

Es importante resaltar que la diferencia significativa entre los dos grupos para los valores de TGP pueden estar relacionados con el hecho de que los plaguicidas se metabolizan en el hígado y dicha enzima es específica en este órgano, lo que facilita la identificación de hepatopatías y de otros padecimientos; en este contexto, nuestros resultados concuerdan con lo reportado por otros autores, debido a la generación de estrés oxidante caracterizado por lipoperoxidación membranal de los hepatocitos, disminución de la síntesis de ATP, daño estructural y necrosis celular, incremento en el depósito de lípidos y disminución de glucógeno.³⁷ Sería de gran utilidad, por tanto, intensificar las medidas de protec-

ción de estos trabajadores para evitar consecuencias mayores en el futuro y establecer terapias racionales que prevengan ese daño.³⁸

En la figura 1, mapas de geolocalización de densidad de pacientes expuestos a plaguicidas con expresión del exón F (izquierda) o K (derecha) en el área estudiada. La escala de pseudocolores indica la mayor (roja) o menor (azul) densidad relativa (unidades arbitrarias) de pacientes con expresión de cada exón. La localización de cada paciente específico es indicada con un punto negro y su respectivo número. Los contornos indican las líneas de isodensidad relativa. En cada mapa el norte es arriba y el este a la derecha.

Nótese en ambos mapas mayor densidad de pacientes con expresión genética en el cuadrante nororiental del área estudiada.

Los resultados del estudio de geolocalización sugieren una densidad aumentada de pacientes expuestos con expresión CYP3A4 exones F y K incrementada en el sector nororiental del área estudiada con diferencias en las densidades para cada uno de estos exones. Estos resultados de densidad podrían ser el resultado de una mayor exposición a plaguicidas en estas áreas, de una mayor agrupación de estos pacientes o de una combinación de ambos factores, pero en cualquiera de estas situaciones se requiere evaluar la posibilidad de reubicación de los sitios de vivienda.

Diversos estudios sugieren que las diferencias en los niveles basales de la CYP constituyen una de las principales fuentes de variabilidad interindividual en la respuesta a xenobióticos. En este contexto, el presente estudio puso en evidencia la expresión del exón F de la CYP3A4 en 100% de los expuestos a plaguicidas, a diferencia de 50% de expresión del mismo gen en los no expuestos y la expresión del exón H de la CYP3A4 en un paciente expuesto ocupacionalmente a la metabolización del mismo xenobiótico, lo que permite inferir que la diferencia entre individuos en la expresión o actividad de las enzimas CYP se puede deber a factores fisiológicos, patológicos, ambientales y/o genéticos. Estos últimos pueden corresponderse a repeticiones nucleotídicas, inserciones, delecciones o polimorfismos de un nucleótido, lo cual modifica la secuencia de aminoácidos de las proteínas codificadas y su expresión. Por lo expuesto anteriormente, las diferencias en la regulación, expresión y actividades de las enzimas de la CYP450 en fase I y II del metabolismo pueden ser factores para definir la susceptibilidad del individuo y que podrían contribuir a los efectos en la salud en el caso de exposiciones a plaguicidas por largos períodos, lo cual debería tenerse en cuenta en futuros estudios a fin de mejorar la predicción de tales efectos.³⁹

REFERENCIAS

- Correa A. Manual de Registro de Plaguicidas para Centroamérica. FAO 2.011. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/019/as399s/as399s.pdf>.
- FAO y OMS. Las nuevas directrices sobre plaguicidas pretenden suprimir más rápidamente las toxinas peligrosas. Roma 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/414021icode/>
- Androutsopoulos V, Kanavouras K, Tsatsakis K. Role of paraoxonase 1 (PON1) in organophosphate metabolism: implications in neurodegenerative diseases. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2011; 256: 418-424.
- Yerena C, Hernández C, Ramírez J, Riaño M, López M et al. Influencia de polimorfismo del CYP2E1 sobre el riesgo de intoxicación aguda por exposición a plaguicidas. *Bioquímica.* 2005; 30 (3): .
- PNUMA. Los Convenios sobre productos químicos y desechos peligrosos. 2004. Disponible en: <http://archive.basel.int/pub/threeConventions-s.pdf>.
- Marrero S, González S, Guevara H, Eblen A. Evaluación de la exposición a organofosforados y carbamato en trabajadores de una comunidad agraria. *Comunidad y Salud.* 2017; 15 (1): 30-41.
- Repetto M, Repetto G. Toxicología Fundamental. Ediciones Díaz Santos. Cuarta Edición; 2009. Madrid España.
- Baconi D, Bárcá M, Manda G, Ciobanu A, Balalau C. Investigation of the toxicity of some organophosphorus pesticides in a repeated dose study in rats. *Rom J Morphol. Embryol.* 2013; 54 (2): 349-356.
- Buratti F, Testai E. Evidences for CYP3A4 autoactivation in the desulfuration of dimethoate by the human liver. *Toxicology.* 2007; 241 (11): 33-46.
- Lemaire G, De Sousa G, Rahmani R. A PXR reporter gene assay in a stable cell culture system: CYP3A4 and CYP2B6 induction by pesticides. *Biochem Pharmacol.* 2004; 68 (12): 2347-2358.
- FAO. Bonn: La FAO lanza una guía para adaptar la agricultura al cambio climático. 2017. Disponible en: <https://news.un.org/es/story/2017/11/1421982>.
- FAO. Boletín Informativo. 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/climatechange/epic/que-hacemos/que-es-la-agricultura-climáticamente-inteligentemente/es/-Wqp9PujOUdV>.
- FAO. Katowice: La FAO insta a ampliarla respuesta al cambio climático en la agricultura. 2019. Disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/1174848/icode/>.
- Programa de Seguridad y Salud en el Trabajo y Medio Ambiente Departamento de la Protección del Trabajo Oficina Internacional del Trabajo OIT. Seguridad y Salud en la agricultura. Ginebra Suiza 2000. Disponible en: http://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/@ed_protect/@protrav/@safework/documents/publication/wcms_117460.pdf.
- FAO. Boletín Informativo 2018. La FAO aplaude una resolución histórica de la ONU que consangra los derechos de los campesinos y los trabajadores rurales. Disponible en: <http://www.fao.org/news/story/es/item/1175226/icode/>.
- Gil M. Proyecto Internacional de Eliminación de los COP. Informe Ciudadano de la Situación de los Contaminantes Orgánicos Persistentes en Venezuela. Fundación Aguaclara; 2006. Disponible en: <http://docplayer.es/15000477-Informe-ciudadano-de-la-situacion-de-los-contaminantes-organicos-persistentes-en-venezuela.html>.
- Comisión Venezolana de Normas Industriales (Ministerio de Fomento). Norma Venezolana. Caracas: FONDONORMA; 2002. COVENIN: 2709.
- Boletín epidemiológico semana 32 Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). REVEP; 2013. Disponible en: http://www.bvs.gob.ve/boletin_epidemiologico/2013/Boletin_32_2014.pdf.

19. Berno G, Zaccarelli M, Gori C, Tempestilli M, Antinori A et al. Analysis of single-nucleotide polymorphisms (SNPs) in human CYP3A4 and CYP3A5 genes: potential implications for the metabolism of HIV drugs. *Medical Genetics*. 2014; 15: 76.
20. Hammer Ø, Harper DAT, Ryan PD. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeont Electronica* 2001; 4 (1): 9. Available from: http://palaeo-electronica.org/2001_1/past/issue1_01.htm
21. Cárdenas O, Silva E, Morales L, Ortiz J. Uso de plaguicidas inhibidores de acetilcolinesterasa en once entidades territoriales de salud en Colombia, 2002-2005. *Biomédica*. 2010; 30 (1):
22. Rosales J. Uso de marcadores genotoxicológicos para la evaluación de agricultores expuestos a plaguicidas organofosforados. *An Med*. 2015; 76 (3): 247-252.
23. Gómez M, Cáceres J. Toxicidad por insecticidas organofosforados en fumigadores de Campaña contra el Dengue, estado Aragua, Venezuela 2008. *Bol Mal Salud Amb*. 2010; 50 (1): 119-125. Disponible en: <http://www.scielo.org.ve/pdf/bmsa/v50n1/art12.pdf>.
24. Toro B, Rojas A, Díaz J. Niveles de colinesterasa sérica en caficultores del Departamento de Caldas, Colombia. *Rev Salud Pública*. 2017; 19 (3): 318-324.
25. Castiblanco A. Caracterización de la actividad enzimática y polimorfismo genéticos de butirilcolinesterasa (BCHE) en una población de trabajadores expuestos a plaguicidas inhibidores de colinesterasa en el municipio de Soacha 2014. Tesis Magister en Toxicología. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Biotecnología. Departamento de Toxicología. Facultad de Medicina. Bogotá, Colombia.
26. Matheus T, Aular Y, Bolaños A, Fernández Y, Barrios E, Hung M. Actividad de butirilcolinesterasa y micronúcleos en trabajadores agrícolas expuestos a mezcla de plaguicidas. *Salud de los Trabajadores*. 2017; 25 (1): 23-26.
27. García R, Parrón T, Requena M, Alarcón R, Tsatsakis A, Hernández A. Occupational pesticide exposure and adverse health effects at the clinical, hematological and biochemical level. *Life Sciences*. 2015; 145: 274-283.
28. López G, Paredes D, Rojas A, Medina I, Barron B et al. Implicaciones del contexto socioeconómico en la exposición a plaguicidas en Jornaleros Huicholes. *Rev Int Contam Ambie*. 2018; 34: 73-80.
29. Durán A, González M, Vargas G, Mora D. Situaciones de riesgo potencial relacionadas con la aplicación de agroquímicos en los sistemas hortícolas. *Agronomía Costarricense*. 2017; 41 (2): 67-77.
30. Organización Internacional del Trabajo (OIT). Los Convenios de la OIT sobre seguridad y salud en el trabajo: una oportunidad para mejorar las condiciones y el medio ambiente de trabajo. Publicaciones, Centro Internacional de Formación de la OIT 2009. Disponible en: http://www.ilo.org/buenosaires/publicaciones/WCMS_BAI_PUB_118/lang--es/index.htm.
31. Otero G, Porcayo R, Aguirre D, Pedraza M. Estudios Neuroconductuales en sujetos laboralmente expuestos a plaguicidas. *Rev Int Contaminación Ambiental*. 2000; 6 (2): 67-74.
32. Caraballo M, Blanco G. Evaluación neuropsicológica de trabajadores expuestos a solventes orgánicos en una empresa de transporte público. *Revista Facultad de Medicina*. 2005; 28 (1): 79-88.
33. Muñoz M. Aspectos bioéticos en el control y aplicación de plaguicidas en Chile. *Acta Boeth [Revista en internet]* 2011; 17(1): 95-104 Disponible en: www.revistas.uchile.cl/index.php/AB/article/download/15683/16154.
34. Varona M, Díaz S, Briceño L, Sánchez C, Torres C, Palma R, Groot H, Idrovo A. Determinantes sociales de la intoxicación por plaguicidas entre cultivadores de arroz en Colombia. *Rev Salud Pública*. 2016; 18 (4): 617-629.
35. Ahmadi N, Mandegary A, Jamshidzadeh A, Mohammadi M, Mohammadi M, Salari E et al. Hematological Abnormality, oxidative stress and genotoxicity induction in the Greenhouse Pesticide Sprayers. *Toxics*. 2018; 6 (1): 1-15.
36. Lebov J, Engel L, Richardson D, Hogan S, Hoppin J, Sadler D. Pesticide use and risk of end-stage renal disease among licensed pesticide applicators in the agricultural health study. *Occup Environ Med*. 2016; 73 (1): 3-12.
37. Fuentes V, Quezada C, Martínez M, Jaramillo F, Rodríguez L, Jaramillo F et al. Hepatoxicidad subaguda y crónica producida por el plaguicida Paratión-metílico en la rata. *Rev Mex Cienc Farm*. 2011; 42 (3): 50-59.
38. Astiz M. Efecto de Contaminantes ambientales sobre el metabolismo lipídico y el Sistema de defensa antioxidante en tejidos de rata. [Tesis Doctoral]. Universidad Nacional de la Plata, Argentina, 2009.
39. Quiñones L, Lee K, Varela N, Escala M, García K et al. Farmacogenética del cáncer: Estudio de variaciones genéticamente determinadas en la susceptibilidad a cáncer por exposición a xenobióticos. *Rev. Med Chile*. 2006; 134: 499-515.