

# *Biomonitorización de trabajadores con exposición crónica a plaguicidas. Importancia de las esterazas sanguíneas*

---

Antonio F. Hernández, Olga López,  
Fernando Gil, Lourdes Rodrigo y Antonio Pla

## **RIESGOS E IMPLICACIONES DE CARÁCTER TÓXICO**

### **A) FACTORES DE EXPOSICIÓN Y TOXICIDAD**

**A**ndalucía ocupa la primera posición en España en cuanto a consumo de plaguicidas con una gran variedad de formas de cultivo y amplias zonas en donde se utilizan, sobre todo la costa oriental que en las últimas décadas ha experimentado un importante aumento de la “agricultura intensiva” en forma de invernaderos bajo plástico. Este tipo de agricultura se caracteriza por una fuerte explotación de la tierra y un incremento notable en la utilización de plaguicidas. El litoral del Poniente Almeriense es la zona de mayor

densidad de cultivos bajo plástico del mundo, con una superficie de cultivo de unas 25.000 Ha. Esta modalidad se ha extendido también por el litoral granadino, cuyos tradicionales cultivos subtropicales están siendo desplazados y sustituidos por cultivos intensivos bajo plástico. Este espectacular desarrollo ha ido acompañado de una gran inversión económica. Sin embargo, las especiales características de los invernaderos (recinto cerrado, elevada temperatura y alta humedad relativa) favorece la aparición de numerosas plagas que pueden poner en riesgo las cosechas. Para proteger los productos hortofrutícolas se emplea una gran cantidad de plaguicidas, en muchos casos excesiva por la errónea percepción de que a mayor dosis mayor eficacia del tratamiento. Las condiciones ambientales en que

---

\* Las notas que aparecen a lo largo de este artículo hacen referencia a la bibliografía citada al final del mismo.

se realizan esas actividades agrícolas dificultan la adopción de medidas de protección adecuadas, lo que inexorablemente lleva aparejado un mayor riesgo de exposición y, por tanto, una mayor incidencia de intoxicaciones agudas por plaguicidas. A ello se une el alto porcentaje de población laboral inmigrante extranjera que se emplea en estas tareas, lo que complica aún más la puesta en práctica de las recomendaciones de salud e higiene laboral a este sector de trabajadores.

El uso incorrecto de plaguicidas puede plantear problemas graves para la salud a medio y largo plazo, entre ellos neurotoxicidad, carcinogénesis, teratogénesis, hepatotoxicidad, alteraciones hormonales y del sistema inmunológico<sup>1</sup>. La principal vía de absorción de los plaguicidas en el medio laboral es a través de la piel, en la que influye la superficie cutánea expuesta al plaguicida, la cantidad total del producto que alcanza la piel, el tiempo que está en contacto con la misma, la toxicidad cutánea del plaguicida y la velocidad de absorción a través de la piel. En líneas generales se absorbe un promedio del 10% del producto que entra en contacto con ella. Por vía respiratoria se pueden absorber plaguicidas en forma de gas, vapor o aerosoles sólidos o líquidos; la mayor o menor absorción depende de las características físicas del ingrediente activo, su formulación y la técnica de aplicación. Por esta vía sólo se absorben los plaguicidas gaseosos o volátiles, así como aquellos otros que forman aerosoles de tamaño inferior a 1 (m. En general, la absorción respiratoria neta es inferior al 1% de lo que se absorbe a través de la piel, debido a que pocos ingredientes activos son suficientemente volátiles y la mayoría de las técnicas de aplicación generan tamaños de gota superiores a 50 µm de diámetro aerodinámico, que no son inhalables. Los plaguicidas también se pueden absorber por vía digestiva como resulta-

do de manipulación negligente de los mismos, de intentos de autólisis o tras la ingestión accidental de alimentos contaminados.

La población potencialmente expuesta no son sólo los trabajadores que manejan plaguicidas sino también, aunque en menor medida, la población general, ya que el uso incorrecto de estos agentes produce contaminación medioambiental y sus residuos pueden alcanzar finalmente al resto de la población, bien por vía respiratoria (al sobrepasarse los niveles máximos permitidos en el aire), o por vía digestiva, al consumir alimentos con niveles máximos de residuos superiores a los admitidos.

En definitiva, los agricultores, debido a las propiedades de los diferentes productos que manejan (que a su vez están en función de los cultivos y trabajos que realizan), presentan un patrón de exposición muy heterogéneo, lo que hace muy difícil su cuantificación y, por tanto, la evaluación de riesgos. Los fumigadores o aplicadores regulares de plaguicidas son los que presentan mayor riesgo, ya que manejan fórmulas concentradas a partir de las cuales preparan las soluciones diluidas que posteriormente aplican a los cultivos. De hecho, en un estudio preliminar hemos observado que la no utilización de guantes durante la dilución y mezcla del plaguicida concentrado conlleva 8 veces más probabilidad de que la colinesterasa sérica se inhiba más de un 25%, punto de corte establecido en el protocolo de vigilancia de la salud de trabajadores expuestos a plaguicidas.

## **B) PLAGUICIDAS MÁS AMPLIAMENTE UTILIZADOS**

El número medio de plaguicidas utilizados por campaña en el Poniente Almeriense, a mitad de la década de los noventa, era de veinte. Por otra parte, el número medio de aplicaciones por campaña ha aumentado,

pasando de 9 en 1986 a 24 a mitad de la década de los noventa<sup>2</sup>, aunque varía según el cultivo, empleándose para cada uno de ellos un tiempo por persona que oscila entre 24 y 95 horas durante todo el ciclo de cultivo<sup>3</sup>.

Desde hace más de 30 años, los insecticidas organofosforados han ido sustituyendo progresivamente a los organoclorados pues su toxicidad crónica era menor debido a su rápida hidrólisis y a un desfavorable coeficiente de partición en el tejido graso. La mayor producción y uso de los organofosforados llevó aparejado un incremento en el número de personas expuestas y en la incidencia de intoxicaciones agudas. Sin embargo, el mayor conocimiento de la toxicidad crónica de los organofosforados y sus efectos ecotóxicos derivados de su alta utilización y baja selectividad biológica ha determinado que, en los últimos años, estén siendo a su vez desplazados por otros insecticidas menos tóxicos y de similar efectividad, como los neonicotinoides, abamectina, fenilureas (insecticidas reguladores del crecimiento), carbamatos y piretroides. Igualmente, ha aumentado el uso de fungicidas (oxadixil, oxi-tioquinox, cimoxanilo, ditiocarbamatos) y diversas mezclas de productos, algunas de ellas preparadas comercialmente, aunque otras las elaboran los propios agricultores a partir de los productos comerciales.

Según Cabello<sup>3</sup> los dos grupos de plaguicidas más empleados en invernaderos en la década de los noventa eran: *insecticidas/acaricidas* (destacando endosulfán, metomilo, abamectina, metiocarb, cipermetrina, *Bacillus thuringiensis*, imidacloprid y ctiromazina) y *fungicidas* (destacando azufre, zineb, cobre, maneb, mancozeb, cimoxanilo y procimidona). Con respecto a la frecuencia de utilización, los fungicidas representan un 51% del total de los tratamientos fitosanitarios, seguidos por los insecticidas/acaricidas, que representaron un 40%.

### C) INCIDENCIA DE INTOXICACIONES AGUDAS Y PLAGUICIDAS RESPONSABLES DE LAS MISMAS

En la década de los ochenta se produjo un incremento continuo en el número de intoxicaciones registradas en los servicios de urgencias no hospitalarios de la zona de El Ejido (Poniente Almeriense), pasando de 42 intoxicaciones agudas en 1981 a 177 en 1990, lo cual indica la importancia de este problema y la necesidad de realizar estudios de seguimiento<sup>2</sup>. Pero es necesario diferenciar los intoxicados que fueron atendidos en los Servicios de urgencias de la zona y que no precisaron ingreso hospitalario (intoxicaciones leves), de aquellos otros que tuvieron que ser derivados e ingresados finalmente en el Hospital de Referencia por ser intoxicaciones graves. Se estimó que uno de cada cuatro casos atendidos en los Servicios de urgencias extrahospitalarios era enviado al Hospital de Referencia<sup>4</sup>.

Según el “Programa de Vigilancia Epidemiológica de los efectos agudos en la salud originados por el uso de Plaguicidas” (implantado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía en el año 2000) el número de intoxicaciones declaradas en Almería fue de 129 en el año 2000 y 157 en el 2001<sup>1</sup>, lo que representa más del 90%, en ambos años, del total de casos detectados por el Programa en toda Andalucía. Los principales compuestos implicados fueron: carbamatos (48% del total de intoxicaciones), organofosforados (13%), endosulfán (un insecticida organoclorado, 8%), piretroides (8%), insecticidas neonicotinoides (imidacloprid y acetamiprid, 6,4%), insecticidas inhibidores de la síntesis de quitina (fenilbenzoilureas, 5,6%), piridaben (4,5%), abamectina (3,8%), paraquat (3,8%), piriproxifén (3,8%), *Bacillus thuringiensis* (3,0%), fungicidas

ditiocarbamatos (3,0%), derivados de la formamida (1,9%), y tebufenozida (1,5%).

La mayoría de las intoxicaciones se presentan en personas que realizan trabajos relacionados con la agricultura intensiva bajo plástico, por tanto se trata de exposiciones de carácter profesional. Efectivamente, el 78% y 84% de los casos declarados en los años 2000 y 2001, respectivamente, fueron de origen ocupacional. Al relacionar el total de casos producidos con la población empadronada en Almería en esos mismos años se obtiene una “tasa de incidencia” de 25 intoxicaciones agudas por 100.000 habitantes en el año 2000 y de 29 por 100.000 en el 2001<sup>5</sup>. El “perfil del intoxicado” en los casos declarados en el año 2002 era el siguiente: varón (86% de los casos), autónomo (52%), trabajador del Poniente almeriense (88%), se intoxicó mientras trabajaba en el invernadero (80%), al realizar trabajos de fumigación (76%), en cultivos de pimientos/tomates (49%), estaba trabajando sin medidas de protección individual (52%), la intoxicación fue por vía cutánea y respiratoria (37%), presentó síntomas neurológicos y digestivos (70%), fue atendido en Servicios de Urgencias (57%) y no necesitó hospitalización (91%).

## MARCADORES BIOQUÍMICOS DE UTILIDAD EN LA VIGILANCIA DE LA SALUD DE TRABAJADORES EXPUESTOS A PLAGUICIDAS

### A) NECESIDAD DE MONITORIZACIÓN BIOLÓGICA

La utilización de plaguicidas conlleva inevitablemente la absorción de pequeñas cantidades de los mismos que pueden oscilar desde niveles indetectables hasta otros fácilmente medibles utilizando técnicas analíticas lo

suficientemente sensibles. La repercusión sobre la salud depende de la duración de la exposición, de la dosis y de la reactividad biológica, es decir, de la sensibilidad de las diferentes dianas biológicas celulares o moleculares a la dosis interna de plaguicidas<sup>6</sup>. Para evaluar la exposición a estos agentes y predecir los riesgos para la salud de los trabajadores expuestos a los mismos es necesario desarrollar técnicas de monitorización biológica. La exposición potencial a través del aire puede estimarse por medio de la monitorización ambiental, mientras que la exposición individual requiere la monitorización biológica de fluidos y, en menor medida, de tejidos corporales obtenidos durante intervenciones quirúrgicas (p.ej., grasa subcutánea). Así, la determinación de plaguicidas y sus metabolitos en muestras de suero, grasa, orina, sangre o leche materna constituye un ejemplo de biomarcadores de exposición.

La evaluación de riesgos tóxicos de trabajadores con exposición ocupacional a plaguicidas se realiza por medio de marcadores bioquímicos que constituyen una señal de alarma previa a la aparición de manifestaciones clínicas. En la evaluación de la exposición se pueden utilizar dos tipos de determinaciones: niveles de plaguicidas y/o sus metabolitos en fluidos biológicos y actividades enzimáticas en sangre. Existen procedimientos analíticos para la determinación de alquilfosfatos, carbamatos, piretroides, organoclorados y algunos herbicidas y fungicidas en muestras de sangre y orina. Sin embargo, las relaciones dosis-respuesta o dosis-efecto no son en absoluto significativas, por lo que este tipo de determinaciones sólo son útiles como indicadores biológicos de exposición; es decir, para confirmar la exposición o estimar la dosis interna. En cualquier caso, para evaluar el grado de exposición y absorción es necesario disponer de valores de referencia en la población general

no expuesta o de valores previos a la exposición en el caso de trabajadores<sup>7</sup>. Un ejemplo de estos marcadores bioquímicos, sin duda el más utilizado, es la inhibición de la colinesterasa sérica, que refleja exposición a insecticidas organofosforados y/o carbamatos.

Según los protocolos de la OMS, la monitorización biológica de trabajadores expuestos a organofosforados debe basarse al menos en dos tipos de determinaciones: la actividad colinesterasa (plasmática –PChE– y eritrocitaria –AChE–) y la determinación de alquilfosfatos en orina. Una evaluación complementaria consistiría en determinar, además, paraoxonasa sérica (PON1), esterasa neurotóxica (NTE) en linfocitos o plaquetas y las oxidasas de función mixta<sup>8</sup>. Debido a la amplia variabilidad interindividual de alguna de estas actividades enzimáticas en la población no expuesta, es necesario realizar estudios poblacionales para detectar aquellos individuos más susceptibles a los efectos tóxicos de los compuestos organofosforados.

Frente a los indicadores biológicos de exposición, los biomarcadores de efecto tienen la ventaja adicional de que reflejan la reactividad biológica de los plaguicidas mucho antes de que produzcan efectos adversos sobre la salud. Por tanto, esta respuesta bioquímica proporciona una medida del efecto tóxico del compuesto en cuestión. Un ejemplo de ello sería la determinación del daño al material genético (p.ej., determinación de aductos de ADN) que permite evaluar los riesgos mutagénicos de los plaguicidas y otros contaminantes ambientales. Los estudios acerca de los efectos citogenéticos de los plaguicidas en trabajadores son contradictorios, pues mientras que algunos han observado una mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en la población expuesta, incluso asociadas con alteraciones de la actividad AChE<sup>9</sup>, otros en cambio no han encontrado resultados rele-

vantes, como por ejemplo los efectuados en la costa del Poniente Almeriense<sup>10</sup>.

## **B) RESULTADOS DE ALGUNOS ESTUDIOS QUE HAN ANALIZADO BIOMARCADORES DE EFECTO**

Diversos estudios han abordado la influencia de la exposición a plaguicidas sobre el perfil hematológico y bioquímico de los individuos expuestos. Con respecto a este último, se han estudiado especialmente las pruebas de función hepática (tanto las transaminasas AST y ALT como las enzimas de colestasis GGT y fosfatasa alcalina) y los niveles de lípidos. Parrón, Hernández, Pla y Villanueva<sup>11</sup>, tras estudiar una muestra de 105 fumigadores, observaron cifras de triglicéridos por encima del límite superior de normalidad en el 17% de los trabajadores, de la GGT en el 8% y del fósforo inorgánico en el 7%. Estas alteraciones se relacionaron con posibles implicaciones de la dieta, disfunción hepática y un mayor aporte exógeno de fósforo, respectivamente. El aumento de fósforo inorgánico podría proceder de los compuestos organofosforados manejados. Un estudio posterior<sup>12</sup> ha confirmado la elevación de los niveles séricos de fósforo en los individuos expuestos y, además, ha encontrado una asociación entre la exposición a plaguicidas y alteraciones de enzimas de citólisis, concretamente cifras más altas de AST y más bajas de LDH y amino oxidasa plasmática (PAO). Estos resultados apuntan a una muy ligera disfunción hepática.

Ruiz<sup>13</sup>, estudiando también agricultores del litoral SE andaluz expuestos a diversos tipos de plaguicidas, encontró una elevación de las transaminasas hepáticas, fosfatasa alcalina, colesterol y glucemia basal en trabajadores de invernadero que manejaban plaguicidas de forma regular. Otros estudios han observado una correlación positiva entre la exposición

laboral a plaguicidas y un aumento del perfil lipídico (p.ej., incrementos reversibles de colesterol), sobre todo tras la exposición a determinados organofosforados<sup>14</sup>. También se ha encontrado una relación directa entre la dosis interna de DDT y los niveles de triglicéridos, colesterol y GGT<sup>15</sup>. Otros estudios han descrito un aumento de GGT con independencia de la edad, sexo y consumo de alcohol en personas expuestas a insecticidas organoclorados<sup>15,16</sup> así como una elevación de la fosfatasa alcalina sérica asociada a la inhibición de la PChE<sup>17</sup>.

Respecto a las alteraciones del hemograma, se ha descrito un descenso de la concentración corpuscular media de hemoglobina en el 38% de los trabajadores estudiados, sin que se constatará franca anemia<sup>11</sup>. Desde el punto de vista clínico, este mismo estudio observó que el 37% de los fumigadores presentaba algún tipo de síntoma o signo de toxicidad, como por ejemplo abortos espontáneos, depresión, cefalea, temblor o parestesias.

También se han estudiado esterases séricas distintas de la PChE, entre ellas la  $\beta$ -glucuronidasa y fosfatasa ácida, que mostraron un comportamiento opuesto al de la PChE, pues sus niveles eran más altos en aplicadores de plaguicidas<sup>18,19</sup>. Estos mismos individuos presentaban niveles significativamente más bajos de PChE y paraoxonasa con respecto a otros trabajadores agrícolas no aplicadores pero indirectamente expuestos a plaguicidas. Teniendo en cuenta que los plaguicidas y sus metabolitos se eliminan por vía renal, es posible evaluar el efecto de estos compuestos sobre el funcionalismo renal de los trabajadores mediante la determinación de marcadores urinarios. En un estudio efectuado sobre trabajadores de una industria de producción de insecticidas organofosforados, especialmente clorfeninfos, Kossmann et al<sup>20</sup> observaron un incremento significativo de fosfatasa alcalina,

N-acetilglucosaminidasa, LDH, ALT, AST y arginasa en orina de los individuos expuestos con respecto a los controles. También se han observado niveles altos de urea y/o creatinina en trabajadores expuestos a plaguicidas<sup>21</sup>, indicativo de nefrotoxicidad subclínica. Por el contrario, existen resultados contradictorios pues otros estudios han encontrado una disminución de urea y de la actividad colinesterasa en trabajadores expuestos a organofosforados<sup>22</sup>. El descenso de urea fue observado también por Hernández et al<sup>12</sup>, quienes encontraron una asociación inversa con el tiempo total de exposición a plaguicidas a lo largo de su vida laboral.

A los marcadores bioquímicos anteriormente citados habría que añadir los marcadores de estrés oxidativo. Un considerable número de estudios indican que el estrés oxidativo juega un papel destacado en la toxicidad de diversos compuestos químicos, entre ellos los plaguicidas, lo que puede contribuir a las manifestaciones tóxicas de estos compuestos. Hay pruebas de que el daño tisular producido por los radicales libres contribuye, desde el punto de vista fisiopatológico, a la aparición de numerosas enfermedades crónicas y de carácter degenerativo (cáncer, enfermedades neurodegenerativas, etc.). Esto plantea la cuestión del estado antioxidante de cada individuo y su papel en la protección frente al desarrollo de dichos procesos patológicos, lo que puede justificar la variabilidad de la respuesta clínica en la población laboral con el mismo perfil de exposición a plaguicidas. Así, estudios epidemiológicos han observado una asociación entre la exposición a estos agentes y el descenso de las actividades superóxido dismutasa y glutatión reductasa en eritrocitos<sup>23,24</sup>, lo que daría lugar a la acumulación de especies reactivas de oxígeno que al no ser neutralizadas podrían interaccionar con macromoléculas y/o producir peroxidación lipídica. También se ha

comprobado experimentalmente en animales que algunos plaguicidas inducen estrés oxidativo en el hígado mediante acumulación de radicales libres. Todo esto indica que los diferentes plaguicidas empleados en agricultura favorecen la acumulación de radicales libres por inhibición de los enzimas encargados de su depuración.

### C) COLINESTERASAS SANGUÍNEAS Y EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS

La confirmación analítica de la intoxicación aguda por organofosforados o carbamatos se realiza determinando las actividades colinesterasa sérica y eritrocitaria (PChE y AChE, respectivamente). Los síntomas clínicos aparecen cuando se inhiben más de un 50%<sup>25</sup>. En las intoxicaciones moderadas la actividad baja hasta un 10-20% de los valores basales, mientras que en las intoxicaciones graves la actividad siempre es inferior al 10% de los mismos. El descenso de la PChE tras la exposición a organofosforados persiste de 1 a 3 semanas, mientras que el de la AChE puede durar hasta 12 semanas. El momento en el que el individuo puede regresar a su trabajo es cuando se alcanza una meseta en la recuperación de la actividad enzimática<sup>26</sup>.

La PChE y AChE están controladas por diferentes mecanismos fisiológicos. Por tanto, un descenso de ambas constituye un buen indicador de exposición a organofosforados, mucho más plausible que cualquier otra causa, incluida la variación fisiológica. En una intoxicación aguda por estos compuestos, la secuencia característica sería primero un descenso de la PChE, después un descenso de PChE y de AChE y, finalmente, una PChE normal y AChE aún descendida<sup>27</sup>. Ello encuentra su justificación en base a su diferente sensibilidad a los organofosforados así como en su diferente velocidad de regeneración.

La situación es completamente distinta en el caso de la exposición crónica, en el que la interpretación de los resultados no es nada fácil. Una PChE normal no excluye la intoxicación por organofosforados o carbamatos, pues existe una gran variabilidad individual. Las personas no expuestas a inhibidores de la colinesterasa presentan normalmente variaciones individuales de la actividad colinesterasa, debido a factores genéticos, ambientales y fisiopatológicos. Esta fluctuación es del orden del 15%, aunque algunos autores la estiman más alta y diferente para la PChE y AChE. Igualmente existen importantes variaciones de la actividad enzimática en distintas personas de una misma comunidad, es decir, variaciones interindividuales<sup>28</sup>.

La colinesterasa de elección es la AChE ya que refleja mejor el estado de las sinapsis colinérgicas (es decir, es más específica), aunque técnicamente es algo más complicado de hacer debido a la dificultad para su automatización<sup>28</sup>. Un aspecto clave y al que no se le suele prestar la suficiente atención es establecer los valores basales de ambas colinesterasas en trabajadores con exposición ocupacional a plaguicidas anticolinesterásicos. En caso de no disponer del valor basal, y ante una interpretación dudosa del resultado de colinesterasas en un trabajador expuesto, es necesario realizar análisis seriados de las mismas postexposición. Si en ellos se aprecia un incremento progresivo de la actividad enzimática se seguirán haciendo análisis hasta la normalización; es decir, hasta que no se observe más recuperación de la misma. En este momento se calculará el porcentaje de recuperación de la actividad con respecto al primer análisis y que reflejará el porcentaje de disminución de la colinesterasa sufrido por el trabajador. La frecuencia de estos análisis seriados debe ser semanal o incluso cada 3-4 días, pues la velocidad de recuperación de la PChE es muy rápida al principio.

En la exposición crónica casi tan importante como el grado de inhibición de la colinesterasa es la rapidez a la que ocurre. Así, pequeñas exposiciones pero continuas pueden disminuir gradualmente las actividades colinesterasa hasta niveles muy bajos y con escasa sintomatología. Por el contrario, también se han observado signos clínicos de toxicidad en individuos expuestos a plaguicidas anticolinesterásicos con niveles “no adversos” de AChE<sup>29,30</sup> o de PChE<sup>31</sup>. Por tanto, la actividad colinesterasa no se correlaciona del todo bien con las manifestaciones clínicas por lo que en cada caso hay que valorar la historia de la exposición y los síntomas y signos clínicos de toxicidad independientemente del valor de la actividad colinesterasa<sup>28</sup>.

Tras la exposición a organofosforados, la PChE se inhibe más rápidamente que la AChE<sup>32</sup> y se recupera antes, lo que indica la diferente sensibilidad de ambas<sup>33</sup>. Eso significa que la AChE es mejor indicador que la PChE en el caso de exposiciones crónicas a organofosforados<sup>25</sup>, pues la exposición continuada a estos compuestos originaría una acumulación de la inhibición de la AChE, dado el carácter irreversible de la misma.

Parrón et al<sup>11</sup> observaron una serie de descensos y recuperaciones de las actividades PChE y AChE tras año y medio de seguimiento analítico a trabajadores de invernadero, aunque en ningún momento el valor medio de las mismas se situó por debajo del límite inferior de normalidad. El descenso de la PChE coincidió con los periodos de mayor exposición a plaguicidas (septiembre/octubre) y, además, se observó un desfase de unos 45-60 días entre el descenso de PChE y el de AChE, lo cual se atribuyó a la diferente sensibilidad de ambas enzimas a los plaguicidas anticolinesterásicos, así como a su diferente velocidad de regeneración. Por su parte, Gómez Vidal<sup>18</sup> confirmó la utilidad de ambas colinesterasas

como marcadores de exposición. Aunque sus valores medios se encontraban dentro del rango de la normalidad, el análisis multivariante mostró que los trabajadores expuestos a plaguicidas presentaban niveles significativamente más bajos que los controles.

Sin embargo, los diferentes modelos agrícolas y, por tanto, de exposición pueden conducir a resultados dispares. Así, un estudio realizado sobre 36 trabajadores de invernadero del País Vasco<sup>34</sup> encontró un pequeño descenso no significativo en los valores medios de AChE y PChE en el periodo postexposición con respecto al periodo basal (2,3% y 1,9%, respectivamente). No obstante, ningún individuo en concreto presentó un descenso superior al 25% en alguna de las dos colinesterasas.

En el caso de la exposición a carbamatos también se ha observado un descenso significativo de la PChE después de aplicar metomilo con respecto a los niveles basales previos a la exposición, aunque la AChE no mostró diferencias significativas<sup>35</sup>. Otro estudio, realizado en trabajadores dedicados al cultivo de algodón expuestos a carbamatos y que no utilizaban equipos de protección individual, mostró un ligero descenso de la PChE durante el periodo de exposición<sup>36</sup>. Estos estudios ponen de manifiesto la utilidad de la PChE incluso en caso de exposición a carbamatos, compuestos que producen una inhibición reversible de la misma. Ello contrasta con la idea de que, en ausencia de intoxicaciones agudas, la inhibición de la colinesterasa desaparece en cuestión de pocas horas, por ejemplo mientras la muestra se guarda en frigorífico o se transporta al laboratorio, por lo que su determinación carecería de valor.

Según Gomes et al<sup>37</sup>, la exposición continuada a plaguicidas, aunque origine niveles significativamente más bajos de AChE en trabajadores expuestos con respecto a los controles, pocas veces se acompaña de signos o síntomas

clínicamente significativos. No obstante, un buen criterio para identificar a los agricultores con mayor riesgo sería la utilización de patrones de morbilidad que incluyan tanto síntomas clínicos como parámetros objetivos del tipo de las colinesterasas<sup>38</sup>.

Especialmente interesantes son los estudios que correlacionan las colinesterasas de los trabajadores con el grado de utilización de equipos de protección individual (EPIs). Es previsible que los agricultores que utilizan EPIs no presenten alteraciones de la PChE, a diferencia de los que no hacen uso de los mismos, que sí experimentarían un descenso significativo de la actividad enzimática, tal y como observaron Hruska y Corriols<sup>39</sup> en agricultores nicaragüenses. Por su parte, Lander et al<sup>40</sup> observaron un descenso estacional de la PChE en trabajadores dedicados al cultivo intensivo de flores (y que utilizaban guantes) con respecto a controles no expuestos. Esto indica que los productos anticolinesterásicos pueden absorberse de forma crónica por vía cutánea, incluso aunque se utilicen guantes. Los factores laborales que influyen significativamente sobre los niveles de PChE son la frecuencia con que se realizan las aplicaciones y, en segundo lugar, la utilización de ropa protectora, sobre todo trajes impermeables más que máscara o guantes<sup>41</sup>.

Soares et al<sup>42</sup> estudiaron mediante regresión logística los factores de riesgo asociados a la intoxicación por plaguicidas en agricultores, resultando ser estadísticamente significativos la no utilización de EPIs por los aplicadores de plaguicidas, la utilización de carbamatos y organofosforados, haber contactado con plaguicidas en las dos semanas previas a la extracción de la muestra de sangre y haber recibido instrucciones del vendedor de estos compuestos. También se ha observado una correlación inversa entre la inhibición de la AChE con el uso de guantes, monos o masca-

rillas y con la mejora de las condiciones higiénicas en el trabajo. Como era previsible, la inhibición de AChE se asoció de forma directa con la frecuencia de fumigación<sup>43</sup>.

La falta de utilización de EPIs es muy significativa en países del Tercer Mundo. Así, un estudio realizado en Ghana mostró que los agricultores tenían una mayor prevalencia de síntomas clínicos y niveles de AChE más bajos que los controles<sup>44</sup>. Como prácticas de riesgo observaron una frecuente manipulación de plaguicidas, almacenamiento de los mismos en sus propias casas y no respetar el plazo de seguridad. Asimismo, utilizaban muy pocos EPIs por falta de recursos económicos.

Por último, resulta ilustrativo el caso de una intoxicación aguda de carácter leve por organofosforados en un trabajador de una industria de reciclado de envases de plaguicidas que utilizó unos zapatos con las suelas rotas durante varios días de intensa lluvia que arrastró restos de plaguicidas al suelo. Ello pone de manifiesto tanto la absorción cutánea de plaguicidas como la importancia de la utilización de botas a modo de EPIs<sup>45</sup>.

## BIOMARCADORES DE SUSCEPTIBILIDAD

La exposición humana a mezclas de plaguicidas puede originar desiguales efectos biológicos y patológicos, lo cual se ha atribuido en parte al polimorfismo de las enzimas implicadas en el metabolismo de tales agentes<sup>46</sup>. Entre dichas enzimas destacan esterasas séricas, tales como colinesterasas, y paraoxonasa. La ausencia de carboxilesterasas en suero humano<sup>47</sup> determina que seamos más proclives a sufrir los efectos adversos tanto de los piretroides, plaguicidas que se metabolizan por medio de estas esterasas, como de los organofosforados, ya que las carboxilesteras-

sas se unen con una alta afinidad a los mismos, impidiendo así que alcancen otras dianas titulares más relevantes.

### A) IMPLICACIONES TÓXICAS DEL FENOTIPADO SÉRICO DE COLINESTERASA

El descubrimiento por Karlow de la variante atípica (A) de la PChE proporcionó una explicación bioquímica a la apnea prolongada con que reaccionaban determinados pacientes a la succinilcolina, un relajante muscular de acción corta<sup>48</sup>. Este hallazgo propició la búsqueda de otras variantes genéticas, encontrando finalmente la enzima resistente al fluoruro (F) y varios alelos cuantitativamente deficientes: silente (S), Karlow (K) y James (J). En la actualidad se han descrito al menos 39 variantes genéticas en la región codificante del gen de la PChE, la mayoría de las cuales se agrupan en 4 categorías (silente, variante K, atípica y fluoruro), cuya actividad enzimática es nula o inferior al 10% de la actividad normal<sup>49</sup>. Sus correspondientes fenotipos se han identificado claramente por medio de pruebas bioquímicas estándar, utilizando diversos inhibidores, entre ellos dibucaína y fluoruro sódico.

Como la AChE tanto de eritrocitos como del tejido nervioso tiene un control genético distinto del de la PChE, el déficit congénito de PChE no constituye un riesgo específico frente a la toxicidad de los organofosforados o carbamatos, que tiene lugar a nivel de los neuroreceptores. Sin embargo, estos individuos podrían tener un riesgo algo más elevado debido a un desfavorable potencial estequiométrico ya que la PChE serviría, al igual que las carboxilesterasas, como escudo enzimático para atrapar moléculas de organofosforados que, de otra forma, alcanzarían el sistema nervioso donde producirían sus efectos tóxicos.

En Europa, la prevalencia del déficit congénito de PChE en la población general es de aproximadamente un 4%. En un programa de salud ocupacional se observó que el 3.9% los trabajadores americanos tenía niveles basales por debajo del límite inferior de normalidad, pero ningún caso era homocigoto para la deficiencia genética sino que todos eran heterocigotos<sup>50</sup>. Por su parte, Hernández et al<sup>51</sup> tampoco encontraron ningún caso homocigoto para la variante atípica en donantes de sangre sanos de la provincia de Granada. Sin embargo, casi el 23% de los individuos estudiados presentaban fenotipos inusuales de PChE (US, UA y UF), mientras que un 1% mostraba niveles muy bajos de la actividad enzimática por lo que serían particularmente sensibles a los organofosforados. Además, observaron que los individuos con fenotipo sérico de muy baja actividad colinesterasa tenían niveles de paraoxonasa significativamente más bajos, por lo que se pueden considerar especialmente sensibles a los organofosforados. De ahí que el fenotipado sérico de ambas actividades enzimáticas tenga interés en la vigilancia de la salud de los trabajadores expuestos<sup>51</sup>.

### B) PARAOXONASA (PON1) Y SUSCEPTIBILIDAD A ORGANOFOSFORADOS

La paraoxonasa-1 (PON1) es una enzima sintetizada en el hígado y posteriormente secretada al plasma donde se asocia a las partículas HDL. Inicialmente interesó por su capacidad de hidrolizar compuestos organofosforados; de hecho su nombre deriva de uno de los sustratos artificiales más utilizados, el paraoxón, metabolito activo del insecticida paratión. Posteriormente, en la década de los noventa se descubrió su implicación en el metabolismo lipídico, pues era capaz de destruir lípi-

dos oxidados, por lo que puede desempeñar un papel importante en las primeras fases de la patogenia de la aterosclerosis<sup>52</sup>, por lo que alcanzó un gran protagonismo como factor de riesgo/protector en la enfermedad cardiovascular. En los últimos años se ha observado que algunos de sus sustratos naturales son carbonatos cíclicos y lactonas, lo que sugiere que podría metabolizar determinados medicamentos, entre ellos quinolonas y glucocorticoides, debido a su actividad lactonasa<sup>53</sup>.

Los primeros estudios poblacionales revelaron una distribución trimodal de la actividad utilizando paraoxón como sustrato, lo que permitía dividir a la población en tres fenotipos en función de la mayor o menor tasa de hidrólisis de paraoxón: los de actividad baja, intermedia y alta<sup>54</sup>. Posteriormente se diseñaron procedimientos bioquímicos para caracterizar más fácilmente tales fenotipos y poder separarlos con mayor claridad; entre ellos el cociente entre la actividad paraoxonasa salina (determinada en presencia de NaCl 1M) y la arilesterasa (actividad que hidroliza fenilacetato). La representación gráfica del correspondiente histograma de frecuencias presenta tres modos, o distribuciones de frecuencias, correspondientes a cada uno de los fenotipos (QQ, QR y RR)<sup>55</sup>.

En 1993 se identificaron las bases genéticas de dicho polimorfismo, es decir, de la distribución polimodal de la actividad paraoxonasa<sup>56</sup>. Consistía en la existencia de una mutación en la región codificante de la PON1 que daba lugar a la sustitución del aminoácido glutamina (Q) en posición 192 por arginina (R). Así, la tasa de hidrólisis de paraoxón era mayor en el genotipo 192 RR, intermedia en el 192 QR y menor en el 192 QQ. Además se observaron diferentes distribuciones genotípicas y alélicas en función de la ubicación geográfica de las poblaciones, con una mayor frecuencia del alelo R en poblaciones orienta-

les<sup>57</sup>, lo que sugería diferencias en la susceptibilidad a organofosforados de unos individuos con respecto a otros y de unas poblaciones a otras. A partir del año 2000 se han descrito otros polimorfismos en la región promotora o reguladora del gen, algunos de los cuales modulan la cantidad de proteína presente en suero, como el PON1 -108 C/T.

El genotipo PON1 -192 se puede predecir aún con mayor exactitud mediante la representación gráfica de las actividades paraoxonasa y diazoxonasa, determinadas en presencia de altas concentraciones de sal (NaCl 2M)<sup>58</sup>. Sin embargo, existe un 5-10% de discrepancia entre ambos procedimientos (fenotipado y genotipado) que puede obedecer a diversas mutaciones genéticas<sup>59</sup> que conducen a fallos en la proteína final la cual, a pesar de tener un determinado genotipo, muestra diferente actividad enzimática.

La variación poblacional de la actividad paraoxonasa sérica puede llegar a ser de hasta 40 veces. Los polimorfismos genéticos tanto de la región codificante (Q192R) como de la región 5' reguladora (T-108C) son la principal causa de la misma, aunque también influyen diversos factores ambientales<sup>60</sup>. Entre ellos destacan determinadas sustancias químicas (metales pesados, plaguicidas, medicamentos e inductores enzimáticos clásicos), estilos de vida (tabaco, alcohol, dieta) y factores fisiopatológicos (edad, embarazo, respuesta de fase aguda y diversas enfermedades como diabetes, insuficiencia renal crónica, Alzheimer y hepatopatías crónicas).

En cuanto a la relación de la PON1 con el metabolismo de los organofosforados se sabe que diversos insecticidas organofosforotioatos (entre ellos paratión, clorpirifós, diazinón) siguen una vía metabólica en dos pasos, que incluyen una bioactivación del compuesto original por el sistema CYP450 microsomal y la posterior hidrólisis del metabolito oxige-

nado (oxón) por las paraoxonasas hepática y sérica<sup>61</sup>. Al existir un polimorfismo funcional de esta enzima, los individuos con genotipo QQ muestran una menor tasa de hidrólisis de los oxones, por lo que en principio serían más sensibles a estos compuestos que los portadores del genotipo RR. De esta forma, la caracterización del genotipo o fenotipo PON1 permitiría establecer a priori la mayor o menor sensibilidad de individuos expuestos a algunos organofosforados. En otras palabras, dicho parámetro puede constituir un importante biomarcador de susceptibilidad individual, con importantes aplicaciones a nivel laboral, ambiental e incluso militar. El análisis cinético de las dos isoformas humanas de PON1 192 ha revelado que, más que la tasa de hidrólisis enzimática, va a ser la eficacia catalítica lo que realmente determina la eficacia “in vivo” de la PON1 para la degradación de los organofosforados. Eso significa que la PON1 juega un papel destacado en la detoxificación del diazoxón y clorpirifós, pero no del paraoxón<sup>62</sup>.

Varios estudios epidemiológicos han abordado el papel de la PON1 en la susceptibilidad a plaguicidas en diferentes escenarios: síndrome de la Guerra del Golfo, baño de la oveja (“sheep dipping”), intoxicaciones agudas por organofosforados y exposición crónica a plaguicidas en agricultura. En esta revisión sólo vamos a ocuparnos de este último.

### C) POLIMORFISMO PON1 Y EXPOSICIÓN CRÓNICA A PLAGUICIDAS

Lee et al<sup>63</sup> observaron que agricultores portadores del alelo Q de PON1 (genotipos QQ o QR) tenían casi 3 veces más probabilidad de presentar sintomatología relacionada con la exposición crónica a plaguicidas con respecto a los agricultores con genotipo RR. Por

tanto, el polimorfismo PON1 parece ser también un importante determinante de la susceptibilidad de los agricultores a la intoxicación crónica por plaguicidas.

Browne et al<sup>64</sup> estudiaron trabajadores con exposición subliminal a organofosforados y encontraron un descenso significativo de la AChE y un aumento compensatorio de la paraoxonasa como consecuencia de dicha exposición. Según estos autores, los niveles séricos de estas enzimas son el resultado de una compleja interacción entre factores genéticos (genotipos) y ambientales (exposición a agentes químicos) y que el locus ACHE/PON1 es determinante de la susceptibilidad innata a los organofosforados.

Nosotros hemos realizado diversos estudios bioquímicos en agricultores de invernadero del SE de España. En concreto, hemos observado que la utilización de organofosforados determina una menor actividad paraoxonasa en aplicadores de plaguicidas y ello independientemente de los polimorfismos genéticos de PON1 y de otros posibles factores de confusión<sup>65</sup>. Ello indica que la PON1 no es sólo un biomarcador de susceptibilidad a organofosforados sino también un biomarcador de exposición, pues los agricultores de invernadero que usan plaguicidas de forma regular tienen una actividad enzimática significativamente más baja. Además, los trabajadores que utilizaban EPIs mientras aplicaban plaguicidas presentaban una mayor actividad PON1. Este hallazgo es consistente con lo observado en intoxicaciones agudas por organofosforados, en las que se produce un descenso de hasta un 30% en la actividad paraoxonasa que posteriormente se recupera a lo largo de varias semanas<sup>66</sup>.

Un hallazgo muy interesante es que los individuos portadores del alelo PON1 192 R (metabolizadores rápidos) tienen aproximadamente 5 veces más riesgo de inhibir la

PChE más de un 25% con respecto a los que presentan el genotipo QQ, lo que sugiere que el polimorfismo PON1 se asocia a una mayor susceptibilidad a plaguicidas anticolinesterásicos<sup>19</sup>. En modelos multivariantes, el alelo PON1 192 R también se ha asociado de forma significativa a niveles más bajos de AChE y ello independientemente de variables sociodemográficas y ocupacionales. También hemos observado que los portadores del alelo PON1 192 R (esto es, los genotipos RR y QR) tienen aproximadamente 4 veces menos riesgo de haber presentado una intoxicación aguda por plaguicidas. Esto concuerda con el hecho de que la mayoría de casos de intoxicaciones agudas por organofosforados descritas por Sözmen et al<sup>66</sup> se producían en individuos con el genotipo PON1 192 QQ. Por tanto, surge la hipótesis de que la actividad PON1 pueda afectarse por otros grupos de plaguicidas, además de los organofosforados, probablemente porque muchos de ellos (carbamatos, piretroides y organoclorados) generan estrés oxidativo que puede atacar al

grupo tiólico libre de la PON1, imprescindible para su actividad catalítica<sup>67,68</sup>.

Recientemente, al estudiar diferentes enzimas implicadas en el estrés oxidativo hemos observado que los portadores del alelo PON1 192 R mostraban niveles más bajos de glutatión reductasa en el periodo de mayor exposición así como niveles más altos de catalasa, pero en este caso en el periodo basal o de menor exposición<sup>24</sup>.

Estos resultados apoyan la utilidad de estudiar la PON1 e inferir su genotipo funcional en individuos con exposición ocupacional a plaguicidas. Por tanto, debería incluirse en el protocolo de vigilancia de la salud de trabajadores expuestos a estos agentes. Sin embargo, son necesarios más estudios para determinar si la PON1 puede ser también un biomarcador útil no solo para los trabajadores sino también para la población general con exposición basal (ambiental o a través de la dieta) a plaguicidas así como a otros agentes químicos, como por ejemplo metales pesados e hidrocarburos aromáticos policíclicos.

---

## BIBLIOGRAFÍA

1. Hernández A, Pla A. *Toxicidad de los plaguicidas* En Respuesta ante las intoxicaciones agudas por plaguicidas. Guillén J, Serrano JL (eds). Consejería de Salud de la Junta Andalucía, Sevilla, 2003, pp 7-27.
2. Parrón T. Efectos nocivos de la exposición continuada a plaguicidas con especial incidencia en la depresión y el suicidio en la zona del poniente almeriense. *Tesis doctoral*. Universidad de Granada, 1994.
3. Cabello T. Utilización de pesticidas en cultivos de invernaderos del sur de España y análisis de los riesgos tóxicos y medio ambientales. *Phytoma* 1996; 75: 11-19.
4. Hernández AF, Pla A, Villanueva E. *Incidencia de las intoxicaciones agudas por pesticidas en la zona sur-oriental de España. Aspectos toxicológicos*. En: Actes des IX Journées Internationales Méditerranéennes de Médecine Légale. Umani G, Giordano P (eds). Ed. Colosseum, Roma, 1990, pp 390-400.
5. Guillén-Enriquez, Serrano JL, Candau A, Camino F, Parrón T, Marín P, Gómez C. *Programa de vigilancia epidemiológica de los efectos agudos en la salud del uso de sustancias plaguicidas en Andalucía*. En: Respuesta ante las intoxicaciones agudas por plaguicidas. Guillén J, Serrano JL (eds). Consejería de Salud de la Junta Andalucía, Sevilla, 2003, pp 29-54.
6. Krieger RI, Ross JH, Thongsinthusak T. Assessing human exposures to pesticides. *Rev Environ Contam Toxicol* 1992; 128P: 1-15.
7. He F. Biological monitoring of occupational pesticides exposure. *Int Arch Occup Environ Health* 1993; 65 (1 Suppl.): S69-S76.
8. Maroni M, Jarvisalo J, La Ferla F. The WHO-UNDP epidemiological study on the health effects of exposure to organophosphorus pesticides. *Toxicol Lett* 33; 1986: 115-123.
9. Paz-y-Mino C, Bustamante G, Sanchez ME, Leone PE. Cytogenetic monitoring in a population occupationally exposed to pesticides in Ecuador. *Environ Health Perspect* 2002; 110: 1077-1080.

(continúa)

## BIBLIOGRAFÍA (continuación)

10. Lucero L, Pastor S, Suárez S, Durbán R, Gómez C, Parrón T, Creus A, Marcos R. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat Res* 2000; 464: 255-262
11. Parrón T, Hernández AF, Pla A, Villanueva E. Clinical and biochemical changes in greenhouse sprayers chronically exposed to pesticides. *Hum Exp Toxicol* 1996; 15: 957-963.
12. Hernández AF, Gómez MA, Pérez V, García-Lario JV, Pena G, Gil F, Lopez O, Rodrigo L, Pino G, Pla A. Influence of exposure to pesticides on serum components and enzyme activities of cytotoxicity among intensive agriculture farmers. *Environ Res* 2006; 102: 70-76.
13. Ruiz A. *Toxicidad crónica por plaguicidas en trabajadores de invernadero de la zona básica de salud de Níjar (Almería)*. Tesis doctoral. Universidad de Granada, 1997.
14. Nakagawa M, Kobayashi H, Katsuya M. Effect of organophosphates pesticides on the activities of lecithin-cholesterol acyltransferase and cholinesterase in rat serum. *Chem Pharm Bull* 1982; 30: 214-218.
15. Kreiss K, Zack MM, Kimbrough RD. Cross-sectional study of a community with exceptional exposure to DDT. *JAMA* 1981; 245: 1926-1930.
16. Guzelian PS, Vranian G, Boyland JJ, Chon WJ, Blaak RV. Liver structure and function in patients poisoned with chlordecone. *Gastroenterology* 1980; 78: 206-213.
17. Srivastava AK, Gupta BN, Mathur AK, Mathur N, Mahendra PN, Bharti RS. The clinical and biochemical study of pesticide sprayers. *Human Exp Toxicol* 1991; 10: 279-283.
18. Gómez Vidal MA. Riesgos sobre la salud derivados de la exposición crónica a plaguicidas: importancia de los marcadores bioquímicos. *Tesis doctoral*. Universidad de Granada, 2000.
19. Hernández AF, Gómez MA, Pena G, Gil F, Rodrigo L, Villanueva E, Pla A.. Effect of long-term exposure to pesticides on plasma esterases from plastic greenhouse workers. *J Toxicol Environ Health A* 2004; 67: 1095-1108.
20. Kossmann S, Magner-Krezel Z, Sobieraj R, Szwed Z. The assessment of nephrotoxic effect of organophosphorus pesticides based on the determination of the activity of some selected enzymes in urine. *Przegl Lek* 1997; 54: 707-711.
21. Al-Qarawi AA, Adam SE. Effects of malathion plus superphosphate or urea on Najdi sheep. *Vet Hum Toxicol* 2003; 45: 3-6.
22. Bhatnagar VK, Saigal S, Singh SP, Khemani LD, Malviya AN. Survey amongst workers in pesticide factories. *Toxicol Lett* 1982; 10: 129-132.
23. Panemangalore M, Dowla HA, Byers ME. Occupational exposure to agricultural chemicals: effect on the activities of some enzymes in the blood of farm workers. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72: 84-88.
24. López Guarnido O. Influencia de la exposición crónica a plaguicidas sobre diversos marcadores bioquímicos (esterasas y enzimas antioxidantes) en trabajadores de invernadero de la costa oriental de Andalucía". *Tesis doctoral*. Universidad de Granada. 2005.
25. Jaga K, Dharmani C. Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides. *Rev Panam Salud Publica* 2003; 14: 171-185.
26. Goldfrank LR, Flomenbaum NE, Lewin NA, Weisman RS, Howland MA. *Goldfrank's Toxicologic Emergencies*. Prentice-Hall International Inc, London. 1990.
27. Gallo MA, Lawryk NJ. *Organic phosphorus pesticides*. En: Hayes WJ Jr, Laws ER Jr (eds) *Handbook of Pesticide Toxicology*. London, Academic Press, 1991; 2: 917-1123.
28. Hernández AF. *Plaguicidas. Medicina del Trabajo*. Gil F (ed), Masson, Barcelona, 2005, pp 821-837.
29. Ohayo-Mitoko GJ, Kromhout H, Simwa JM, Boleij JS, Heederik D. Self reported symptoms and inhibition of acetylcholinesterase activity among Kenyan agricultural workers. *Occup Environ Med* 2000; 57:195-200.
30. Srivastava AK, Gupta BN, Bihari V, Mathur N, Srivastava LP, Pangtey BS, Bharti RS, Kumar P. Clinical, biochemical and neurobehavioural studies of workers engaged in the manufacture of quinalphos. *Food Chem Toxicol* 2000; 38: 65-69.
31. Richter ED, Chuwers P, Levy Y, Gordon M, Grauer F, Marzouk J, Levy S, Barron S, Gruener N. Health effects from exposure to organophosphate pesticides in workers and residents in Israel. *Isr J Med Sci* 1992; 28: 584-598.
32. Ballantyne B, Marrs CT. *Clinical and experimental toxicology of organophosphates and carbamates*. London, Butterworth Heinemann, 1992.
33. Mason HJ. The recovery of plasma cholinesterase and erythrocyte acetylcholinesterase activity in workers after over-exposure to dichlorvos. *Occup Med (Lond)* 2000; 50: 343-347.
34. Álvarez E, Aurrekoetxea JJ, Santa Marina L, Marzana I. Exposición a plaguicidas organofosforados en trabajadores de invernaderos del país Vasco. *Med Clin (Barc)* 1993; 101: 681-683.
35. Saiyed HN, Sadhu HG, Bhatnagar VK, Dewan A, Venkaiah K, Kashyap SK. Cardiac toxicity following short-term exposure to methomyl in spraymen and rabbits. *Hum Exp Toxicol* 1992; 11: 93-97.

---

## BIBLIOGRAFÍA (continuación)

36. More PR, Vadlamudi VP, Degloorkar NM, Rajurkar SR. Health monitoring of farm labourers engaged in MIPC 50 WP field sprays. *J Environ Biol* 2003; 24: 205-209.
37. Gomes J, Lloyd O, Revitt DM, Norman JN. Erythrocyte cholinesterase activity levels in desert farm workers. *Occup Med (Oxf)* 1997; 47: 90-94.
38. Gomes J, Lloyd O, Revitt MD, Basha M. Morbidity among farm workers in a desert country in relation to long-term exposure to pesticides. *Scand J Work Environ Health* 1998; 24: 213-219.
39. Hruska AJ, Corriols M. The impact of training in integrated pest management among Nicaraguan maize farmers: increased net returns and reduced health risk. *Int J Occup Environ Health* 2002; 8: 191-200.
40. Lander F, Pike E, Hinke K, Nielsen JB. Anti-cholinesterase agents uptake during cultivation of greenhouse flowers. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992; 22: 159-162.
41. Lander F, Hinke K. Indoor application of anti-cholinesterase agents and the influence of personal protection on uptake. *Arch Environ Contam Toxicol* 1992; 22: 163-166.
42. Soares W, Almeida RM, Moro S. Rural work and risk factors associated with pesticide use in Minas Gerais, Brazil. *Cad Saude Publica* 2003; 19: 1117-1127.
43. Gomes J, Lloyd OL, Revitt DM. The influence of personal protection, environmental hygiene and exposure to pesticides on the health of immigrant farm workers in a desert country. *Int Arch Occup Environ Health* 1999; 72: 40-45.
44. Clarke EE, Levy LS, Spurgeon A, Calvert IA. The problems associated with pesticide use by irrigation workers in Ghana. *Occup Med (Lond)* 1997; 47: 301-308.
45. Wang CL, Chuang HY, Chang CY, Liu ST, Wu MT, Ho CK. An unusual case of organophosphate intoxication of a worker in a plastic bottle recycling plant: an important reminder. *Environ Health Perspect* 2000; 108: 1103-1105
46. Lewalter J, Leng G. Consideration of individual susceptibility in adverse pesticide effects. *Toxicol Lett* 1999; 107: 131-144.
47. Li B, Sedlacek M, Manoharan I, Boopathy R, Duysen EG, Masson P, Lockridge O. Butyrylcholinesterase, paraoxonase, and albumin esterase, but no carboxylesterase, are present in human plasma. *Biochem Pharmacol* 2005; 70: 1673-1684.
48. Simeon-Rudolf V, Kovarik Z, Skrinjaric-Spoljar M, Evans RT. An explanation for the different inhibitory characteristics of human serum butyrylcholinesterase phenotypes deriving from inhibition of atypical heterozygotes. *Chem-Biol Interact* 1999; 119-120: 159-164.
49. Lockridge O, Masson P. Pesticides and susceptible populations: people with butyrylcholinesterase genetic variants may be at risk. *Neurotoxicology* 2000; 21: 113- 26.
50. Rosenmann KD, Guss PS. Prevalence of congenital deficiency in serum cholinesterase. *Arch Environ Health* 1997; 52: 42-44
51. Hernández AF, Gonzalvo MC, Gil F, Rodrigo L, Villanueva E, Pla A. Distribution profiles of paraoxonase and cholinesterase phenotypes in a Spanish population. *Chem Biol Interact* 1999; 119-120: 201-209.
52. Mackness MI, Arrol S, Durrington PN. Paraoxonase prevents accumulation of lipoperoxides in low-density lipoprotein. *FEBS Lett* 1991; 286: 152-154.
53. Draganov DI, Stetson PL, Watson CE, Billecke SS, La Du BN. Rabbit serum paraoxonase 3 (PON3) is a high density lipoprotein-associated lactonase and protects low density lipoprotein against oxidation. *J Biol Chem* 2000; 275: 33435-33442.
54. Geldmacher-Von Mallinckrodt M, Diepgen TL. 1988. The human serum paraoxonase polymorphism and specificity. *Toxicol Environ Chem* 1988; 18: 79-196.
55. Eckerson HW, Wyte CM, La Du BN. The human serum paraoxonase/ arylesterase polymorphism. *Am J Human Genet* 1983; 35: 1126-1138.
56. Humbert R, Adler DA, Distèche CM, Hassett C, Omiecinski CJ, Furlong CE. The molecular basis of the human serum paraoxonase activity polymorphism. *Nat Genet.* 1993; 3: 73-76.
57. Williams FM, Mutch E, Blain PG. Paraoxonase distribution in Caucasian males. *Chem Biol Interact.* 1993; 87: 155-160.
58. Richter RJ, Furlong CE. Determination of paraoxonase (PON1) status requires more than genotyping. *Pharmacogenetics* 1999; 9: 745-753.
59. Jarvik GP, Jampsa R, Richter RJ, Carlson CS, Rieder MJ, Nickerson DA, Furlong CE. Novel paraoxonase (PON1) non-sense and missense mutations predicted by functional genomic assay of PON1 status. *Pharmacogenetics* 2003; 13: 291-295.
60. Costa LG, Vitalone A, Cole TB, Furlong CE. Modulation of paraoxonase (PON1) activity. *Biochem Pharmacol* 2005; 69: 541-550.
61. Furlong CE, Li WF, Richter RJ, Shih DM, Lusi AJ, Alleva E, Costa LG. Genetic and temporal determinants of pesticide sensitivity: role of paraoxonase (PON1). *Neurotoxicology* 2000; 21: 91-100
62. Costa LG, Cole, TB, Furlong CE. Polymorphisms of paraoxonase (PON1) and their significance in clinical toxicology of organophosphates. *J Toxicol Clin Toxicol* 2003; 41: 37-45.

(continúa)

---

## BIBLIOGRAFÍA (continuación)

63. Lee BW, London L, Paulauskis J, Myers J, Christiani DC. Association between human paraoxonase gene polymorphism and chronic symptoms in pesticide-exposed workers. *J Occup Environ Med* 2003; 45: 118-122.
64. Browne RO, Moyal-Segal LB, Zumsteg D, David Y, Kofman O, Berger A, Soreq H, Friedman A. Coding region paraoxonase polymorphisms dictate accentuated neuronal reactions in chronic, sub-threshold pesticide exposure. *FASEB J* 2006 20:1733-1735.
65. Hernández AF, Mackness B, Rodrigo L, López O, Pla A, Gil F, Durrington PN, Pena G, Parrón T, Serrano JL, Mackness MI. Paraoxonase activity and genetic polymorphisms in greenhouse workers with long term pesticide exposure. *Human Exp Toxicol* 2003; 22: 565-574
66. Sözmen EY, Mackness B, Sözmen B, Durrington P, Girgin FK, Aslan L, Mackness M. Effect of organophosphate intoxications on human serum paraoxonase. *Hum Exp Toxicol* 2002; 21: 247-252.
67. Banerjee BD, Seth V, Bhattacharya A, Pasha ST, Chakraborty AK. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol Lett* 1999; 107: 33-47.
68. Aviram M, Rosenblat M, Billecke S, Eroglu J, Sorenson R, Bisgaier CL, Newton RS, La Du B. Human serum paraoxonase (PON 1) is inactivated by oxidized low density lipoprotein and preserved by antioxidants. *Free Radical Biol Med* 1999; 26: 892-904.



“Montañas”. 1921.  
Martirós Sarián.  
Galería Tretiakov.