



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

INFORME DE INVESTIGACIÓN SOBRE

**“DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA EN
MUJERES DE EDAD FÉRTIL Y EMBARAZADAS EXPUESTAS A
PLAGUICIDAS”.**

Requisito previo para optar por el Título de Licenciada en Laboratorio Clínico

Autora: Cañar Robalino, Adriana Carolina

Tutora: Bqf. Tinajero Vásquez, María Fernanda

Ambato – Ecuador

Octubre 2017

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de Tutor del Trabajo de Investigación sobre el tema:

“DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL Y EMBARAZADAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS” de Adriana Carolina Cañar Robalino estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico, considero que reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador designado por el Consejo Directivo de la Facultad de Ciencias de la Salud.

Ambato, Agosto del 2017

LA TUTORA

.....

Bqf. Tinajero Vásquez, María Fernanda

AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO

Los criterios emitidos en el Informe de Investigación “**DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA EN MUJERES DE EDAD FERTIL Y EMBARAZADAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS**” como también los contenidos, ideas, análisis y conclusiones son de mi exclusiva responsabilidad, como autora de este trabajo de grado.

Ambato, Agosto 2017

LA AUTORA

.....
Cañar Robalino, Adriana Carolina

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de esta tesis o parte de ella un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi tesis con fines de difusión pública; además apruebo la reproducción de esta tesis, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

Ambato, Agosto 2017

LA AUTORA

.....

Cañar Robalino, Adriana Carolina

APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR

Los miembros del Tribunal Examinador aprueban el Informe de Investigación sobre el tema **“DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL Y EMBARAZADAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS”** de **Cañar Robalino Adriana Carolina** estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico

Ambato, Octubre del 2017

Para constancia firman

.....

PRESIDENTE/A

.....

1^{ER} VOCAL

.....

2^{DO} VOCAL

DEDICATORIA

Este trabajo de investigación primeramente se la dedico a Dios quien me dio la fe, fortaleza, salud y la esperanza quien supo guiarme por el camino del bien, darme fuerzas para seguir adelante en todos los problemas que se presentaron.

A mi familia quienes por ellos soy lo que soy.

Para mi Padre por su apoyo incondicional consejos, amor, comprensión ayuda en los momentos difíciles, por ayudarme con los recursos necesarios para poder llegar hacer una profesional ya que sin él nada de esto sería posible.

A mi Madre sabiendo que jamás existiría forma de agradecer una vida de lucha sacrificio y esfuerzo constante solo deseo que comprendas que el logro mío es tuyo.

A mi hermano por estar siempre presente.

Carolina Cañar

AGRADECIMIENTO

El presente trabajo de investigación primeramente agradecerte a ti Dios por bendecirme día a día, porque hiciste realidad este sueño anhelado, a mis padres y hermano por brindar su confianza.

También agradecer a la Universidad Técnica de Ambato por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional. A mi tutora, Bqf. María Fernanda Tinajero por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en mí que pueda terminar este trabajo.

A Alonso por todos los días y horas de felicidad por cada una de las palabras de aliento dedicadas en estos años

También me gustaría agradecer a cada uno de mis profesores por guiarme durante toda mi carrera profesional

A todas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las que me encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida.

Carolina Cañar

INDÍCE DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DEL TRABAJO DE GRADO	iii
DERECHOS DE AUTOR	iv
APROBACIÓN DEL JURADO EXAMINADOR.....	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
RESUMEN EJECUTIVO	xiii
“DETERMINATION OF ERYTHROCYTESE COLINESTERASE IN FERTILIZER AND PREGNANT WOMEN EXPOSED TO PESTICIDES”	xiv
Author: Adriana Carolina Cañar Robalino.	xiv
EXECUTIVE SUMMARY.....	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I.....	2
EL PROBLEMA	2
1.1.- TEMA:	2
1.2- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.2.1.- Contexto:	2
1.2.2.- FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	3
1.2.2.1.- PREGUNTAS DIRECTRICES	3
1.3.- JUSTIFICACIÓN	4
1.4.- OBJETIVOS	5
1.4.1.- Objetivo General	5
1.4.2.- Objetivos Específicos	5
CAPÍTULO II	6
MARCO TEÓRICO.....	6
2.1.- ESTADO DE ARTE:	6
2.2.- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	8
2.2.1. Colinesterasa eritrocitaria	8
2.2.2. Bioquímica sanguínea.....	12
2.2.3. Fotometría.....	13
2.2.4. Medición de Colinesterasa eritrocitaria	14

2.2.5. Plaguicidas	20
2.2.5. Organofosforados.....	21
2.2.6. Riesgos durante el embarazo en la exposición a plaguicidas:	24
CAPÍTULO III.....	27
3. MARCO METODOLÓGICO	27
3.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	27
3.1.1. ENFOQUE INVESTIGATIVO	27
3.1.2. MODALIDAD DE INVESTIGACIÓN	27
3.1.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN	27
3.2 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO	28
3.2.1 DELIMITACIÓN ESPACIAL	28
3.2.2 DELIMITACIÓN TEMPORAL.....	28
3.3 POBLACIÓN	28
3.3.1 MUESTRA	28
3.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	30
3.7. DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCION DE INFORMACIÓN.	32
3.8 MÉTODOS	32
3.8. ASPECTOS ÉTICOS	37
3.9. HIPÓTESIS	38
CAPÍTULO IV.....	39
4.1. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	39
4.1.1 Descriptivo de la edad de las mujeres en edad fértil.....	39
4.1.2 Rango de edades de la población.....	40
4.1.3 Condición de las mujeres embarazadas y en edad fértil	41
4.1.4 Relación entre la edad y la condición de las mujeres	42
4.1.5 Tiempo de Exposición a Plaguicidas de las mujeres	43
4.1.6 Relación de Exposición a Plaguicidas con la condición de la población	44
4.1.7 Niveles de Acetil Colinesterasa Eritrocitaria en las mujeres.....	45
4.1.8 Condición de los Niveles de Acetil Colinesterasa Eritrocitaria en las mujeres en edad Fértil.....	46
4.1.9 Relación entre la Condición y los Niveles de Acetil Colinesterasa Eritrocitaria en la población.....	47

4.1.10 Relación entre la Exposición y los niveles de Acetil Colinesterasa Eritrocitaria	48
4.1.11 Relación entre la Condición y los Niveles de Acetil Colinesterasa....	49
4.2. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS	50
4.2.1 PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS	50
4.2.2 ESTIMADOR ESTADÍSTICO	50
4.2.3 NIVEL DE SIGNIFICANCIA Y REGLA DE DECISIÓN	50
4.2.4 CÁLCULO DEL ESTIMADOR ESTADÍSTICO X^2	51
5.1. CONCLUSIONES.....	53
BIBLIOGRAFÍA	55
LINKOGRAFÍA	55
ANEXOS	62
Encuesta.....	62
Consentimiento informado	64
Fotos	66
Inserto de Colinesterasa Eritrocitaria	66

Índice de tablas

Tabla 1 Variable Independiente	30
Tabla 2 Variable Dependiente.....	31
Tabla 3 Descriptivo de la edad de las mujeres en edad fértil.....	39
Tabla 4 Rango de edades de la población	40
Tabla 5 Condición de las mujeres embarazadas y en edad fértil	41
Tabla 6 Relación entre la edad y la condición de las mujeres	42
Tabla 7 Tiempo de exposición a plaguicidas de las mujeres	43
Tabla 8 Relación de exposición a plaguicidas con la condición de la población.	44
Tabla 9 Niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres	45
Tabla 10 Condición de los niveles colinesterasa eritrocitaria en la población	46
Tabla 11 Relación entre la condición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria en la población.	47
Tabla 12 Relación entre la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria	48
Tabla 13 Relación entre la condición, la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria	49
Tabla 14 Tabla cruzada de la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres en edad fértil	51
Tabla 15 Cálculo de Chi cuadrado	52

Índice de gráficos

Gráfico 1 Descriptivo de la edad de las mujeres en edad fértil.....	39
Gráfico 2 Rango de edades de la población	40
Gráfico 3 Distribución de las mujeres en edad fértil.....	41
Gráfico 4 Relación entre la edad y la condición de las mujeres	42
Gráfico 5 Tiempo de exposición a los plaguicidas de las mujeres en edad fértil .	43
Gráfico 6 Relación entre la exposición a los plaguicidas y la condición de la población.	44
Gráfico 7 Niveles de Acetil Colinesterasa Eritrocitaria en las mujeres	45
Gráfico 8 Distribución de los niveles de Colinesterasa Eritrocitaria	46
Gráfico 9 Distribución del Niveles de Acetil Colinesterasa Eritrocitaria en la población.	47
Gráfico 10 Distribución de los niveles de Colinesterasa Eritrocitaria en relación a la exposición.....	48
Gráfico 11 Distribución del Niveles de Colinesterasa Eritrocitaria en relación a la exposición y la condición de la mujer.....	49

Índice de ilustraciones

Ilustración 1 Intoxicación Aguda y Crónica por Organofosforados (39)	26
--	----

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

“DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL Y EMBARAZADAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS”

Autora: Cañar Robalino, Adriana Carolina.

Tutora: Bqf. Tinajero Vásquez María Fernanda

Fecha: Agosto 2017

RESUMEN

El creciente uso de insecticidas organofosforados en la agricultura y en el interior de hogares y escuelas plantea un riesgo potencial para la salud. A medida que aumenta el uso de estos agentes, la exposición aguda y crónica se ha vuelto más común. La exposición de las mujeres embarazadas a los organofosforados es una entidad clínica importante debido a sus efectos en dos organismos: la madre y el feto. El Objetivo de este estudio es determinar los niveles de colinesterasa eritrocitaria en mujeres de edad fértil y embarazadas que han tenido exposición a plaguicidas. Se trató de un estudio descriptivo, que valoró mujeres en edad fértil y embarazadas que presentan exposición a organofosforados. Entre el grupo de las mujeres en edad fértil sin embarazo podemos encontrar que el 0% presenta valores bajos sin haber tendido exposición a plaguicidas, mientras que el 29.4% de las mujeres embarazadas sin exposición a plaguicidas han presentado niveles bajos, a pesar de la exposición en las mujeres en edad fértil el 24.3% presentaron niveles adecuados de colinesterasa eritrocitaria, sólo 3 de cada 10 mujeres en edad fértil con o sin condición de embarazo y que tuvieron exposición a plaguicidas presentaron niveles bajos, se debe tener en cuenta que los niveles de referencia para las mujeres gestantes son más bajos en comparación de las no embarazadas. Este estudio da evidencia de que se produce una caída en la concentración de colinesterasa sérica en mujeres embarazadas, la influencia de la disminución de la colinesterasa en el embarazo puede haber sido desproporcionadamente mayor en algunas mujeres que hayan presentado exposición a un plaguicida que las demás mujeres en edad fértil expuestas y no expuestas.

PALABRAS CLAVES:

ORGANOFOSFORADOS, EMBARAZO, COLINESTERASA

TECHNICAL UNIVERSITY OF AMBATO

FACULTY OF HEALTH SCIENCES

CAREER OF CLINICAL LABORATORY

**“DETERMINATION OF ERYTHROCYTESE COLINESTERASE IN
FERTILIZER AND PREGNANT WOMEN EXPOSED TO PESTICIDES”**

Author: Adriana Carolina Cañar Robalino

Tutora: Bqf. Tinajero María Fernanda

Date: August 2017

EXECUTIVE SUMMARY

The increasing use of organophosphate insecticides in agriculture and in the interior of homes and schools poses a potential risk to health. As the use of these agents increases, acute and chronic exposure has become more common. Exposure of pregnant women to organophosphates is an important clinical entity due to its effects on two organisms; the mother and the fetus. The objective of this study was to determine erythrocyte cholinesterase levels in women of childbearing age and pregnant women who had exposure to pesticides. It was a descriptive study, which evaluated women of childbearing age and pregnant women who exhibit exposure to organophosphates. Among the group of women of childbearing age we can find that barely e1 0% presents low values without having exposure to pesticides, whereas 29.4% of pregnant women without pesticide exposure have presented low levels, despite the exposure in women of childbearing age 24.3% had adequate levels of erythrocyte cholinesterase only 3 out of 10 women of childbearing age with or without pregnancy and who had exposure to pesticides had low levels, it should be noted that the reference levels for pregnant women are lower compared to non-pregnant women. This study gives evidence of a drop in serum cholinesterase concentration in pregnant women. The influence of decreased cholinesterase in pregnancy may have been disproportionately greater in some women who have been exposed to a pesticide than other women in fertile age exposed and unexposed.

KEYWORDS:

ORGANOPHOSPHORUS, PREGNANCY, COLINESTERASA

INTRODUCCIÓN

La exposición intra útero es el primer punto de contacto con los xenobióticos ambientales que pueden afectar el equilibrio materno-placentario-fetal. Teniendo en cuenta que los cambios fisiopatológicos maternos afectan el desarrollo intrauterino, los plaguicidas con organofosforados han sido el grupo de insecticidas más utilizado desde hace muchas décadas. Aunque constituyen herramientas esenciales en la protección de los cultivos, constituyen una fuente importante de peligro potencial para los seres humanos. La exposición puede ocurrir en tres escenarios diferentes: Exposición ocupacional, exposición ambiental para comunidades que viven en áreas con producción agrícola intensiva y exposición a la dieta de la población en general. Los efectos a largo plazo de la salud entre los trabajadores después de una exposición aguda o crónica de bajo nivel a los organofosforados se han estudiado extensamente (1).

Se ha realizado estudios sobre las alteraciones en los niveles enzimáticos de la colinesterasa después de la exposición a plaguicidas (2), también como biomarcadores de la función hepática de los agricultores que se intoxican ocupacionalmente (3), así como parámetros hematológicos (4). Además según datos epidemiológicos, puede haber un mayor riesgo de inducción de la diabetes tipo 2. (5)

Las mujeres y los niños de las familias residentes en las granjas y los que viven cerca de los sitios de aplicación y / o eliminación de pesticidas con órganos fosforados tienen un mayor riesgo de exposición a través del contacto con la piel y el agua contaminada, las plantas, los alimentos (6). Varios autores se han centrado en la salud de los niños desde el momento de su concepción en asociación con la exposición doméstica y agrícola a organofosforados durante el embarazo ya que encontraron un mayor riesgo de restricción del crecimiento (7), aborto espontáneo y defectos congénitos que resultaron en muerte fetal (8), así como el crecimiento fetal alterado y la duración de la gestación (9).

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1.- TEMA:

“DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA EN MUJERES DE EDAD FERTIL Y EMBARAZADAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS.”

1.2- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1.- Contexto:

La exposición humana a los plaguicidas es un desafío mundial en materia de salud, especialmente en los países menos desarrollados (10). De acuerdo con las estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), hubo alrededor de 3 millones de intoxicaciones humanas y 220-250 mil muertes debido a la exposición a plaguicidas por cada año en países en desarrollo (11).

En Ecuador no se tiene un registro epidemiológico de intoxicaciones por , se prevé que la incidencia y prevalencia es igual en toda la región de las Américas y el Caribe el factor común en la región es la falta de regulación del uso y la venta de pesticidas.

Tampoco se conoce el contexto de la exposición a organofosforados en el embarazo en el Ecuador, y existe escasa información a nivel global.

Aunque está bien establecido que la salud de la mujer antes y durante el embarazo ayuda a asegurar un resultado positivo en el embarazo, la información sobre los efectos bioquímicos de la exposición ambiental a los plaguicidas durante el embarazo y preconcepción son escasos. El embarazo está regulado por una compleja interacción de señales entre el feto y la madre (12), el embarazo está asociado con una disminución de la actividad de colinesterasa sérica en 60% de lo normal durante el primer trimestre, manteniéndose hasta el término del embarazo, por lo que el tiempo de acción de la succinilcolina se prolonga. Las condiciones que interfieren con la actividad de la colinesterasa sérica pueden disminuir su función y prolongar la recuperación a la succinilcolina; éstas incluyen

deshidratación, acidosis, diabetes mellitus, anormalidades electrolíticas, uso de magnesio, trimetafán e inhibidores de la colinesterasa. Se recomienda monitorizar la contracción muscular en estas pacientes para disminuir la incidencia de debilidad muscular prolongada durante la labor de parto (13).

El envenenamiento con pesticidas compuestos por organofosforados es un problema global. La Organización Mundial de la Salud estima que un millón de envenenamientos graves involuntarios ocurren cada año, además de dos millones de casos de intentos de suicidio, con los pesticidas (14). Ecuador es uno de los países agrícolas donde los pesticidas se utilizan habitualmente para la agricultura, estos son los terceros agentes más comunes implicados en las intoxicaciones suicidas después las drogas (15). Datos demuestran que el consumo de pesticidas constituyen el 19,4% y el 19,7% de los todos los casos de intoxicaciones suicidas en el año 2006 y 2007, respectivamente (16).

1.2.2.- FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Los niveles de colinesterasa eritrocitaria se encuentran alterados en mujeres de edad fértil y embarazadas que han tenido exposición a plaguicidas?

1.2.2.1.- PREGUNTAS DIRECTRICES

¿Cómo influye el tiempo de exposición a plaguicida en los niveles de colinesterasa eritrocitaria?

¿Cuáles son los signos y síntomas que presentan las mujeres de edad fértil y embarazadas expuestas a plaguicidas?

¿Qué tipo de intoxicación presentan las mujeres en edad fértil expuestas a plaguicidas?

1.3.- JUSTIFICACIÓN

La colinesterasa es una enzima que fisiológicamente participa en múltiples reacciones en el organismo humano y que al estar alterada ocasiona anomalías en el individuo, presentando variaciones interindividuales e intraindividuales, provoca que cada individuo tenga una respuesta diferente a los cambios de los valores de la colinesterasa al estar expuesto a inhibidores de esta enzima, que podrían originar efectos adversos para las mujeres expuestas, específicamente durante el embarazo y el desarrollo fetal.

Cada vez es más claro que los eventos adversos durante el desarrollo fetal contribuyen a la morbilidad posterior en la edad adulta. Aunque Barker (17) originalmente mostró que el estrés intrauterino es suficiente para causar retraso de crecimiento intrauterino y contribuyó riesgos considerables para el desarrollo posterior de la enfermedad cardiovascular y la diabetes, los resultados más recientes sugieren que los contaminantes ambientales, fármacos y productos químicos pueden producir resultados adversos similares, sin restricción del crecimiento. Las exposiciones a los pesticidas podrían proporcionar una ruta de trastornos tardíamente emergentes, en particular, centrándose en los plaguicidas con organofosforados, que representan el 50% del uso de insecticidas en todo el mundo (18). Dado que las mujeres embarazadas suelen estar expuestas a los pesticidas en circunstancias que no provocan signos externos de intoxicación, ya que los hallazgos recientes sugieren que estas exposiciones pueden producir déficits neuroconductuales a largo plazo en niños (19), los mecanismos y las consecuencias de la exposición al parecer siguen siendo las principales preocupaciones ambientales.

Es ahí donde se tiene la importancia de estudiar la exposición de plaguicidas en las mujeres embarazadas, tiene un alto impacto ya que se puede tomar medidas a nivel de gobierno y evitar la exposición y los efectos que causa los organofosforados en los niños, también los beneficiarios serán todas las personas que se encuentran en contacto con pesticidas, sobre todo las mujeres en edad fértil que al entrar en periodo de gestación corren un grave peligro de intoxicación.

1.4.- OBJETIVOS

1.4.1.- Objetivo General

- Determinar los niveles de colinesterasa eritrocitaria en mujeres de edad fértil y embarazadas expuestas a plaguicidas.

1.4.2.- Objetivos Específicos

- Evaluar la relación entre tiempo de exposición a plaguicidas y los niveles de colinesterasa eritrocitaria.
- Identificar los signos y los síntomas en mujeres de edad fértil y embarazadas expuestas a plaguicidas
- Identificar el tipo de intoxicación que presentan las mujeres en edad fértil expuestas a plaguicidas.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1.- ESTADO DE ARTE:

Matysiak M, Kruszewski M, JodlowskaJedrych ByKapkaSkrzypczak (2007) en el estudio titulado. “Efecto de la exposición prenatal a los plaguicidas en la salud de los niños”, donde el objetivo fue resumir el estado actual de los conocimientos sobre los problemas y desavenencias de niños luego de la exposición a pesticidas de forma prenatal. Debido a la magnitud del problema, el estudio se centra en una revisión de los estudios epidemiológicos realizados en los seres humanos, a pesar de la evidencia de estudios in vitro y en animales. Parece cierto que la exposición a sustancias químicas nocivas es uno de los factores que pueden causar una disminución de la fertilidad y problemas con la concepción, mientras que la exposición durante el embarazo puede afectar el desarrollo del feto. La exposición prenatal también puede dar lugar a la aparición de cáncer infantil y los trastornos neuroconductuales. Los autores resaltan el papel de los pesticidas en el proceso de reproducción. Esto se aplica especialmente a las personas que trabajan en la agricultura, ya que podrían estar expuestos a los pesticidas (20).

Así también Jaacks L, Boyd D, Sundaram R, Grewal J, Zhang C, BuckLouis G.(2011), en el trabajo investigativo denominado: “Exposición Materna Pre-Embarazo a Contaminantes Orgánicos Persistentes y la Ganancia de Peso Gestacional: Un Estudio Prospectivo de Cohorte, mencionan que los contaminantes orgánicos persistentes (COP) han sido implicados en el desarrollo de la obesidad en adultos no embarazadas. Sin embargo, pocos estudios han explorado la asociación de los pesticidas con organofosforados con el aumento de peso gestacional (GTG), un importante predictor de riesgo futuro de obesidad en la madre y los hijos. Se estimó la asociación de la exposición pre maternas y durante el embarazo de los niveles de COP. Los datos proceden de las mujeres (18-40 años, n = 218) que participaron en un estudio de cohorte prospectivo. En resumen, un nivel pre embarazo alto de COP, se asocia con el aumento inadecuado de la ganancia de peso intraútero. La asociación entre los

organofosforados y aumento de peso durante el embarazo puede ser más compleja de lo que se pensaba, y la adiposidad antes de embarazo puede ser un importante efecto modificador de esta exposición. (21)

Además en un estudio realizado por Ni L, Shao T, Tao H, Sun Y, Yan S, Gu C, Cao H, Huang K, Tao F y Tong S.(2010) titulado: “Efecto de la ocupación de los padres y la exposición al medio ambiente durante seis meses antes del embarazo sobre la función ejecutiva de los niños en edad preescolar”, quienes examinaron el efecto del trabajo y la exposición a pesticidas durante seis meses antes de que se produzca el embarazo y su posible repercusión en la función cognitiva de los niños en edad preescolar. Se evidenció que durante seis meses antes del embarazo cuyas madres fueron expuestas a los pesticidas (OR = 6,72, IC del 95%: 2,50 a 18,07) y cuyo padre fueron expuestos en el trabajo (OR = 2,10, IC del 95%: 1,25 a 3,54) tuvieron un mayor riesgo déficit de desarrollo y función cognitiva. El desarrollo de la función ejecutiva es peor entre los niños en edad preescolar cuyos padres viven en ambiente de exposición a pesticidas (22).

Así mismo en un estudio realizado por Claudia Rodríguez, Milena Garzón, Rafael Antonio Parra Serna y Gustavo Adolfo Mojica Mejia.(2010), “Concentración de colinesterasa eritrocitaria en cultivadores de tomate en invernadero expuestos a plaguicidas organofosforados en Villa de Leyva de julio de 2007 a julio de 2008” con el objetivo determinar las concentraciones eritrocitarias de colinesterasa en trabajadores laboralmente expuestos a plaguicidas organofosforados. El estudio se realizó en 90 trabajadores ocupacionalmente expuestos, en cinco zonas de la parte baja del municipio de Villa de Leyva. Se aplicó una encuesta para recolectar información y se tomaron dos muestras de sangre para la determinación de la acetilcolinesterasa en lo que se refiere al sexo al realizar los cruces con los niveles iniciales de colinesterasa se observó que el grupo femenino tiene mayor riesgo de tener anormal la enzima por la exposición a los plaguicidas representado con un porcentaje de 36.4% (N: 8) de este grupo (OR: 2.2), es decir, que este grupo tiene 2.2 veces mayor riesgo de poseer niveles de colinesterasa anormales, considerándose así como factor de riesgo. Con los resultados reportados en el laboratorio se pudo establecer que en la

primera medida de la enzima del 100% de la muestra el 24.4% (N: 22) presentaron colinesterasa disminuida, mientras el restante 75.5% (N: 68) se encuentran dentro de los valores normales de la enzima. Conclusiones: Con este trabajo se logró reconocer la importancia de realizar proyectos con este tipo de enfoque, ya que se encontraron graves problemáticas manifestadas en los informes por parte de los trabajadores, el seguimiento, las concentraciones iniciales de la colinesterasa y las condiciones de trabajo, pues el hecho de estar en un invernadero es un factor de riesgo grave para presentar intoxicación por la exposición a los plaguicidas en mayor concentración. (23)

2.2.- FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.2.1. Colinesterasa eritrocitaria

La acetilcolinesterasa es la enzima que termina el efecto neurotransmisor de la acetilcolina y junto con la butirilcolinesterasa pertenece al grupo de enzimas denominadas colinesterasas, codificadas por genes diferentes. Dependiendo de su edición alternativa en el extremo 3' de los transcritos y de modificaciones postraduccionales se originan tres variantes de acetilcolinesterasa: la acetilcolinesterasa-R se expresa como monómeros en condiciones de estrés y neuropatológicas; la acetilcolinesterasa-E como dímeros anfifílicos que están presentes en eritrocitos y la acetilcolinesterasa-T se localiza principalmente en las sinapsis, en formas globulares como asimétricas. Adicionalmente a su función colinérgica convencional, la acetilcolinesterasa participa en procesos de desarrollo y su secuencia contiene un dominio que se presenta en proteínas de adhesión celular como la glutactina, la neurotactina, la gliotactina y las neuroliginas. Cambios en su concentración o propiedades se presentan en algunas neuropatologías como el Alzheimer, Parkinson y miastenia gravis, aunque no son su causa (24).

Este neurotransmisor ejerce su acción en diferentes regiones del sistema nervioso central así como en ganglios periféricos y en la placa neuromuscular. La neurotransmisión mediada por acetilcolina es fundamental en la función del Sistema Nervioso Central; su interrupción abrupta es letal y su pérdida gradual, se

presenta en múltiples afecciones como en la enfermedad de Alzheimer, está asociada al deterioro cognitivo progresivo, autonómico y a la deficiencia de la función neuromuscular. El efecto de la acetilcolina en la sinapsis termina por la actividad de una enzima conocida como acetilcolinesterasa (25).

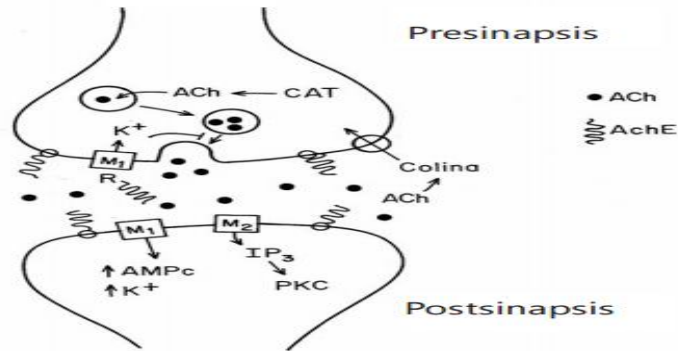


Fig. 1: Esquema de una sinapsis colinérgica (24)

La Acetilcolinesterasa hidroliza rápidamente a la acetilcolina en acetato y colina, un milisegundo después de que fue liberado, regulando la concentración de este neurotransmisor en la sinapsis. La Acetilcolinesterasa pertenece a una familia de enzimas conocidas como colinesterasas, las cuales pueden ser definidas como un grupo de esterasas de serina capaces de hidrolizar ésteres de colina, tales como la acetilcolina. Las colinesterasas de vertebrados se clasifican dependiendo de sus características bioquímicas y fisiológicas en dos grupos principales, que son codificadas por dos genes distintos: La colinesterasa verdadera o acetilcolinesterasa, hidroliza a la acetilcolina mucho más rápido que a otros ésteres de colina y es mucho menos activa sobre la butirilcolina y la colinesterasa plasmática o sérica. La Acetilcolinesterasa está unida a la membrana lista para ser liberada al espacio extracelular y su heterogeneidad está dada por varias formas moleculares de cada enzima que pueden distinguirse por el número de subunidades catalíticas, las características de solubilidad y las propiedades hidrodinámicas, lo que permite separarlas y analizarlas por cromatografía de filtración en gel o por centrifugación diferencial en gradientes continuos de sacarosa. La Acetilcolinesterasa es predominante en músculo y sistema nervioso (25).

La actividad de la colinesterasa en células rojas humanas, es altamente específica, pero no exclusiva de la acetilcolina y es llamada colinesterasa específica. La actividad de la colinesterasa presente en el plasma, hidrolisa tanto la colina como los esteres alifáticos, demostrando un rango más amplio de actividad esterolítica, conocido como pseudocolinesterasa o colinesterasa no específica. Está hidrolisa la acetilcolina lentamente, el nombre sistemático para la acetilcolinesterasa es acetilcolina acetilhidrolasa. El nombre sistemático para la colinesterasa (en plasma) es acilcolinaacilhidrolasa. La naturaleza diferente de la colinesterasa fue descubierta en 1940. La enzima plasmática es sintetizada por el hígado, y la enzima de los glóbulos rojos se sintetizada durante la eritropoyesis. La actividad de la colinesterasa es baja en niños recién nacidos y alta en hombres y mujeres adultas. La enzima está formada por un complejo grande de proteínas. Existe evidencia que está conformada por subunidades de estructura múltiple, 4 cadenas peptídicas que forman dos dímeros (26).

Debido a la cantidad de aminoácidos que la conforman, es posible encontrar muchas variaciones moleculares. Los niveles de la enzima en los glóbulos rojos están aumentados en estados hemolíticos, en talasemias, esferocitosis, hemoglobina SS y anemias hemolíticas adquiridas. Y se encuentran disminuidos en la hemoglobinuria paroxística nocturna y en recaídas de anemias megaloblásticas (se normalizan después del tratamiento). Los potentes inhibidores de la colinesterasa pueden presentar problemas toxicológicos clínicos importantes. Los insecticidas sistémicos (organofosforados, carbamatos) son un ejemplo (11). Tanto la acetilcolinesterasa del plasma como la de los eritrocitos están generalmente inhibidas, el efecto sobre la enzima del plasma es más marcado, sin embargo, sus niveles son utilizados en el diagnóstico y en la evaluación de la recuperación. La recuperación de la colinesterasa se determina mejor por la comparación de la actividad de la colinesterasa en los eritrocitos. Su potencial tóxico es variable, colinesterasa eritrocitaria versus plasmática, de tal forma que los niveles eritrocitarios pueden ser necesarios para el diagnóstico y /o monitoreo. Si se sospecha disminución de la actividad de la colinesterasa puede no estar relacionada con el efecto inhibidor de un organofosforado, por lo tanto se debe determinar nuevamente el nivel de acetilcolinesterasa intraeritrocitaria (27).

Si ambos niveles están significativamente disminuidos, los hallazgos son aquellos de los efectos tóxicos exógenos. La acetilcolinesterasa intraeritrocitaria no se encuentra normalmente en el líquido amniótico. La presencia de actividad de la acetilcolinesterasa y el aumento en los niveles de alfafetoproteína en líquido amniótico son evidencia presuntiva de un defecto del tubo neural abierto (anencefalia, espina bífida) en el feto (28).

La acetilcolinesterasa también llamada Colinesterasa de glóbulo rojo (CGR), colinesterasa eritrocítica, o (más formalmente) acetilcolina acetilhidrolasa, se encuentra principalmente en sangre y sinapsis nerviosas. La pseudocolinesterasa también conocida como colinesterasa sérica, butirilcolinesterasa, o (más formalmente) acilcolinaacilhidrolasa, se encuentra principalmente en el hígado. Ambos compuestos catalizan la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina sobrante en el espacio sináptico en colina y ácido acético, reacción necesaria para permitir que la neurona colinérgica retorne a su estado de reposo después de la activación, evitando así una activación excesiva causada por la acetilcolina, que produciría una sobre estimulación del efector y como consecuencia daño en la neurona o músculo. La acetilcolinesterasa de eritrocitos humanos es aquella enzima presente en el eritrocito, es la sustancia que cataliza a la acetilcolina. La acetilcolina es el principal neurotransmisor excitatorio en las uniones neuromusculares. (29)

Alles&Hawes(1944) fueron los primeros en señalar que con esta enzima se cataboliza el acetil colina, la relación entre la velocidad inicial de hidrólisis y la concentración de sustrato difirió para las dos enzimas. También llamaron la atención sobre ciertas diferencias de especificidad como las que se exhiben, por ejemplo hacia la acetil-fl-metilcolina. Los trabajadores posteriores han considerado las diferencias de especificidad como las más sorprendentes, y haciendo mucho del hecho de que la enzima plasmática y las colinesterasas de ciertas otras fuentes hidrolizan la tributirina y el butirato de metilo, mientras que la enzima eritrocitaria, al igual que las enzimas del tejido nervioso, los órganos eléctricos y los músculos, sólo lo hacen lentamente o (cuando se liberan de la aliesterasa acompañante) no en absoluto, se han referido a la primera enzima

como esteraso "no se especifica" o "pseudo" colinesterasa y este último como una colinesterasa "específica" o "verdadera" (25).

Un trabajo reciente de estudios de laboratorio (30), ha demostrado que el supuesto carácter "específico" de la colinesterasa eritrocítica humana se basa en una concepción errónea del rango real de especificidad de este, y que, de hecho, es capaz de hidrolizar una amplia gama de sustratos alifáticos, siempre que la configuración de la molécula de éster no sea demasiado difusa respecto a la propia acetilcolina. Por tanto, es evidente que el intervalo de especificidad no constituye por sí mismo una base válida para distinguir entre estas enzimas.

2.2.2. Bioquímica sanguínea

La disciplina se originó en el siglo IXX con el uso de simples reacciones químicas y pruebas para diversos componentes de la sangre y la orina. Desde entonces, otras técnicas se han aplicado para la medición de las enzimas, hormonas o analitos. Ahora hay muchas pruebas de sangre y análisis de orina clínicos con amplias capacidades de diagnóstico (1).

La bioquímica clínica es la rama del laboratorio en la que se usan métodos químicos y bioquímicos para el estudio de las enfermedades. Cada ensayo bioquímico debería proveer respuesta a una pregunta generada en el médico sobre el estado químico del paciente. Los resultados de los tests bioquímicos pueden ser de uso para el diagnóstico, screening y prognosis de una enfermedad así como para el seguimiento de su tratamiento (31).

Además, el laboratorio bioquímico puede estar vinculado con la investigación de las bases bioquímicas de las enfermedades y en los ensayos clínicos de nuevas drogas. Existen una amplia variedad de especialidades dentro de la bioquímica clínica y no todos los laboratorios están equipados para llevar a cabo todas las posibles pruebas. Existen valores de referencia que ayudan a tomar decisiones sin embargo este rango de referencia sólo debe ser tomado como una guía y es importante tener en cuenta que un resultado anormal no siempre indica la presencia de una enfermedad, ni un resultado normal la ausencia de ella (17).

2.2.3. Fotometría

El principio básico de la fotometría implica la medición de la cantidad de analito absorbente de luz en una solución. Esto sólo puede aplicarse, sin embargo, a las soluciones que siguen la ley de Beer Lambert. Los analitos que tienen la tendencia a absorber la luz, cuando se exponen a un haz de luz incidente, esto resulta en la reflexión de una luz de menor intensidad. La intensidad de la luz reflejada se considera entonces inversamente proporcional a la concentración del analito de interés en la solución. (32), para lo cual se debe entender los conceptos básicos de Transmitancia y Absorbancia:

Transmitancia es la cantidad de energía lumínica que atraviesa un cuerpo en determinada cantidad de tiempo (30), mientras que la transmitancia se expresa generalmente en una gama de 0 a 100%. Si la concentración de la sustancia en solución se aumentó linealmente, o si se aumenta la longitud de la trayectoria que el haz de luz tiene que atravesar, la transmitancia cae exponencialmente. Así un término absorbancia se define de manera que es directamente proporcional a la concentración de la sustancia.

Para comprender la absorbancia hay que saber que cuando un haz de luz se proyecta sobre un cuerpo traslúcido, una parte de esta luz es absorbida por el cuerpo, y el haz de luz restante atraviesa dicho cuerpo. A mayor cantidad de luz absorbida, mayor será la absorbancia del cuerpo, y menor cantidad de luz será transmitida por dicho cuerpo. La absorbancia, a una determinada longitud de onda λ , se define como (30):

$$\text{La absorbancia (A)} = \sum \log 1/T = \log$$

La absorbancia no tiene unidades, los instrumentos fotométricos convierten electrónicamente la transmitancia medida a los valores de absorbancia. Por lo tanto, gran parte de la fotometría se basa las leyes de Beer Lambert (30):

Dos leyes fundamentales rigen la práctica de la fotometría: La ley de Lambert, que establece que la disminución del poder radiante de un rayo de luz monocromática que pasa a través de un medio absorbente, es proporcional al

poder radiante del rayo, y la ley de Beer, que establece que la energía radiante de un rayo de luz monocromática disminuye en proporción directa con el incremento de la concentración de la sustancia absorbente. El principio básico de casi todos los métodos basados en la ley de Lambert-Beer, consiste en la comparación de la absorción o la transmitancia de energía radiante (a una longitud de onda determinada, por una solución que se ha de investigar), con uno o varios calibradores (soluciones de la concentración conocida del analito) (30)”.

Existen una serie de postulados, donde se indica que en la espectrofotometría se aprovecha la absorción de radiación electromagnética en la zona del ultravioleta y visible del espectro. La espectrofotometría ultravioleta - visible utiliza haz de radiación del espectro electromagnético, en el rango UV de 180 a 380 nm, y en el de la luz visible de 380 a 780 nm, por lo que es de gran utilidad para caracterizar los materiales en la región ultravioleta y visible del espectro. Existen una cantidad de estudios realizados por físicos que presentan leyes a las que se rigen la espectrofotometría como es la ley de Lambert que trata sobre la iluminancia de una superficie situada a una cierta distancia de una fuente de luz. Determina que la iluminación producida por una fuente luminosa sobre una superficie es directamente proporcional a la intensidad de la fuente y al coseno del ángulo que forma la normal a la superficie con la dirección de los rayos de luz y es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia a dicha fuente. También la Ley de Lambert - Beer que afirma que la cantidad de luz absorbida por un cuerpo depende de la concentración en la solución (33).

2.2.4. Medición de Colinesterasa eritrocitaria

La colinesterasa puede ser detectada en un varios tejidos y órganos, pero la forma más válida es en sangre por la facilidad de obtención y manejo de las muestras, la posibilidad de analizar acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa en la misma muestra sin necesidad de separar plasma y eritrocitos. Además, se evitan la baja reproducibilidad y sensibilidad que muestran las determinaciones de colinesterasa en eritrocitos (34). Los procedimientos analíticos desarrollados para la determinación de colinesterasa son muy diversos, pero los más empleados actualmente son los colorimétricos, que se basan en la detección de la tasa de

desaparición del sustrato de la enzima o de aparición del producto de la reacción. La técnica espectrofotométrica más utilizada es el método de Ellman, empleado tanto en sangre como en diversos tejidos, así como en una gran cantidad de especies animales. Es además el procedimiento que más fácilmente se adapta al uso de analizadores automáticos. Se basa en la hidrólisis del sustrato acetiltiocolina (ATCh) por la enzima colinesterasa. La tiocolina liberada reacciona con un cromóforo, el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), dando lugar como producto de reacción al ácido 5-tio-2-nitrobenzoico, compuesto de color amarillo cuyo máximo de absorbancia se encuentra entre 405 y 420 nm de longitud de onda, con un óptimo en 412 nm. La tasa de aparición del producto de la reacción es mayor conforme aumenta la actividad enzimática existente en la muestra. Una concentración elevada del cromóforo puede producir una inhibición de la enzima, por lo que la concentración recomendada de DTNB es de $0,08 \times 10^{-3}$ M (35).

Entre los mayores problemas que presenta la determinación de colinesterasa se encuentra la falta de unos parámetros analíticos estandarizados, pues los laboratorios de referencia suelen utilizar modificaciones del método de Ellman y preparar sus propios reactivos, mientras que otros prefieren emplear kits comerciales, lo que da lugar a una falta de homogeneidad en los resultados. Así, en estudios se encontraron unos coeficientes de variación (CVs) superiores a un 20% cuando se compararon resultados obtenidos por distintos laboratorios que analizaron una misma serie de muestras. Por lo tanto, los posibles cambios y modificaciones de los parámetros de medida constituyen fuentes de variación analíticas, cuyo conocimiento y control posee gran importancia para mejorar la calidad y precisión de los resultados, así como a permitir la realización de comparaciones entre laboratorios distintos. Otro problema que contribuye a la falta de homogeneidad de los resultados es el manejo inadecuado de las muestras previo a su análisis, sobre todo en lo referente a las condiciones de almacenamiento. Estos factores constituyen fuentes de variación preanalíticas, que actúan al margen de las condiciones analíticas empleadas pero que también son susceptibles de provocar cambios en los resultados, y por tanto deben ser controladas. A continuación se describirán, de forma breve y resumida, las

diversas condiciones que pueden constituir una fuente de variación, afectando a la determinación de colinesterasa mediante métodos espectrofotométricos.

Fuentes de variación preanalíticas se producen en la fase previa a la realización del análisis de la muestra, se incluyen variaciones debidas al paciente (variabilidad biológica) y a la obtención y manejo de la muestra.

La variabilidad biológica es aquella que depende de forma implícita del individuo. Puede dividirse en dos grupos: Variabilidad interindividual e intraindividual. La variabilidad interindividual se da entre individuos de una misma especie, y puede llegar a suponer hasta un 30% de la actividad colinesterasa. La variabilidad intraindividual se produce por factores relacionados con el estado fisiológico del animal, como pueden ser la edad, el sexo, el estado reproductivo y la salud del individuo. En lo referente a la edad de los animales, género y estado reproductivo, parece ser que afectan más a la actividad colinesterasa plasmática que a la eritrocitaria. Por este motivo, serían de poca importancia para los rumiantes, donde la isoenzima eritrocitaria supone el 80-90% de la actividad colinesterasa total de la sangre. Existen diferentes estudios realizados sobre el efecto que determinados estados fisiológicos de los animales pueden provocar sobre la actividad colinesterasa en sangre. Efecto de la hemólisis cuando se utiliza sangre entera para determinar la actividad colinesterasa mediante el método de Ellman, las muestras deben ser diluidas antes de ser analizadas. El objetivo de esta dilución consiste en disminuir la concentración de hemoglobina en el medio de reacción, ya que su alta concentración provoca un elevado pico de absorbancia que enmascara cualquier cambio ocurrido durante la reacción (Willig et al. 1996). Los diluyentes que se han empleado hasta ahora se pueden dividir en dos grupos: Diluyentes que provocan hemólisis de la muestra, como el agua destilada, el detergente no iónico Tritón X-100, y la saponina, y diluyentes no hemolizantes como la solución salina isotónica, tampón fosfato 0,1 M y la albúmina sérica bovina. Es preferible el empleo de diluyentes hemolizantes, ya que proporcionan mayor precisión a la determinación de colinesterasa en sangre y permiten detectar una actividad enzimática más elevada. Esto se debe a que con la hemólisis la enzima queda liberada de su unión a la membrana del eritrocito, por lo que se

consigue una mayor solubilización y una distribución más homogénea en el medio de reacción, ya que se evita la interferencia provocada por el movimiento de sedimentación de los eritrocitos. El único inconveniente que presenta el empleo de diluyentes hemolizantes consiste en que el glutatión, que se encuentra en el interior de los eritrocitos, se libera tras la hemólisis al medio de reacción. La molécula de glutatión contiene grupos sulfhidrilo que pueden reaccionar con el cromóforo dando lugar a un falso incremento en la actividad de la enzima. No obstante, este problema puede evitarse utilizando un blanco adicional compuesto por cromóforo y muestra en ausencia del sustrato.

Se emplea diferentes anticoagulantes, cuando se determina la actividad colinesterasa en muestras de sangre entera. Se han analizado cuatro anticoagulantes diferentes, heparina, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), citrato sódico y fluoruro sódico. En base a estos datos se deduce que tanto la heparina como el EDTA pueden ser utilizados para la determinación de colinesterasa en sangre entera, ya que no afectan a la actividad de la enzima. Sin embargo, se desaconseja el uso de fluoruro sódico al provocar una leve inhibición de la actividad butirilcolinesterasa. Este efecto del fluoruro sódico fue descrito en trabajos anteriores, aunque en ellos se detectó una inhibición mucho más marcada y rápida. Para la estabilidad de la enzima en muestras almacenadas normalmente se ha indicado que las muestras de sangre deben ser mantenidas en refrigeración o en hielo picado desde que son obtenidas hasta que son analizadas en el laboratorio. Estudios más recientes indican que el mantenimiento a temperatura ambiente también puede ser adecuado cuando transcurre poco tiempo desde la obtención de la muestra hasta su análisis, pero no cuando se precisa de un almacenamiento prolongado. En general, la capacidad de conservación de la colinesterasa de la sangre a largo plazo parece depender no sólo de las condiciones de almacenamiento empleadas, sino también de la especie animal.

De este modo, se ha observado que si bien la conservación a -20°C proporciona estabilidad durante más tiempo a la colinesterasa de la sangre canina y ovina, en la especie equina es preferible la refrigeración a 4°C . Algo similar a lo que ocurre con la sangre equina fue descrito para la especie bovina, indicando que las

variaciones de temperatura que se producen en el interior de los congeladores puede afectar a la estabilidad de la enzima. Como se ha visto anteriormente, la dilución de las muestras de sangre es necesaria para la determinación espectrofotométrica de la colinesterasa, por lo que la estabilidad de las muestras ya diluidas también debe tenerse en cuenta. Así por ejemplo, la sangre humana diluida y congelada resulta más estable a largo plazo que la no diluida, por lo que se ha llegado a utilizar como control de actividad colinesterasa. En la sangre de las especies canina, equina y ovina la estabilidad de la colinesterasa a -20°C resultó similar entre las muestras diluidas y no diluidas; sin embargo, a 25°C y 4°C las muestras diluidas perdieron rápidamente su actividad colinesterasa. Fuentes de variación analíticas son las que implican al propio método analítico. Entre los factores que describiremos a continuación tenemos la temperatura y pH del medio de reacción, los reactivos empleados así como la concentración y estabilidad de los mismos, y los ciclos de lectura de absorbancia.

El efecto de la temperatura de reacción al igual que en otras determinaciones enzimáticas, la actividad colinesterasa es dependiente de la temperatura, y en los mamíferos alcanza su máxima actividad entre 37°C y 40°C . La mayoría de los autores recomiendan emplear una temperatura de reacción de 37°C , ya que si se utilizan temperaturas más reducidas se produce un descenso en la actividad colinesterasa, mientras que temperaturas superiores a 40°C pueden provocar la desnaturalización de la enzima. Sin embargo, si la colinesterasa se encuentra inhibida por la acción de un inhibidor reversible (carbamatos), una temperatura de reacción de 37°C puede provocar la reactivación de la enzima, por lo que en estos casos sería recomendable realizar las determinaciones a 25°C .

Con respecto al efecto del pH del medio de reacción el pH afecta a la capacidad del centro activo de la enzima para realizar un ataque nucleofílico sobre el sustrato, y de esta forma llevar a cabo su función. Esto hace que la actividad enzimática dependa de forma directa del pH. En el caso de la colinesterasa, la actividad óptima se alcanza en un intervalo de pH que oscila entre 8,0 y 8,5. No obstante, no se aconseja emplear un valor de pH tan elevado, ya que se produce una hidrólisis espontánea de los sustratos que eleva el valor del blanco y puede

disminuir de forma notable la sensibilidad del análisis, sobre todo si el pH excede de 7,5. Así, la mayoría de los autores emplean un pH que oscila entre 7,0 y 8,0. Para la sangre canina no se describe una excesiva diferencia entre los resultados de actividad colinesterasa obtenidos a pH 7,5 y 8,0, por lo que se recomienda la utilización de un valor de pH de 7,5. Sería recomendable ampliar estos estudios para determinar el pH óptimo que se debería utilizar en función de la especie animal.

En el empleo de diferentes cromóforos el método de Ellman puede ser fácilmente utilizado para la determinación de colinesterasa en sangre entera, su uso está limitado por la similar longitud de onda de máxima absorbancia existente entre el producto de la reacción y la hemoglobina presente en la muestra. El empleo de cromóforos diferentes al DTNB tiene como objetivo la obtención de un producto de reacción entre el cromóforo y la tiocolina que posea un máximo de absorbancia alejado del espectro de la hemoglobina, y de este modo evitar su interferencia. Tal es el caso de la 2,2'-ditiodipiridina (2-PDS), cuyo producto de reacción con la tiocolina, la 2-tiopiridona, posee su máxima absorbancia a 343 nm de longitud de onda. Cuando la hemoglobina deja de suponer un inconveniente, es posible utilizar diluciones de sangre inferiores, lo que permite minimizar la reactivación de la colinesterasa. La escasa solubilidad del 2-PDS en las soluciones tamponadoras puede salvarse realizando una dilución previa del cromóforo en un volumen reducido de metanol.

SIGNIFICADO CLÍNICO

La colinesterasa es una enzima presente en el plasma y sintetizada en el hígado. Su función fisiológica no se conoce claramente, aunque se le atribuye un papel importante como regulador de la concentración de la colina en el plasma. La determinación de su actividad nos ayuda a evaluar la función hepática, detectar la exposición excesiva a pesticidas organofosforados e identificar pacientes con formas atípicas de la enzima que presentan una sensibilidad aumentada al anestésico succinilcolina. El diagnóstico clínico debe realizarse teniendo en cuenta todos los datos clínicos y de laboratorio.

2.2.5. Plaguicidas

Concepto y daño que genera en la salud

Un plaguicida es cualquier sustancia usada para matar, repeler o controlar ciertas formas de vida vegetal o animal que se consideran plagas. Los plaguicidas incluyen herbicidas para destruir malas hierbas y otra vegetación no deseada, insecticidas para controlar una amplia variedad de insectos, fungicidas usados para prevenir el crecimiento de moho y otros hongos, desinfectantes para prevenir la propagación de bacterias y compuestos usados para controlar ratones y ratas. Debido al uso generalizado de productos químicos agrícolas en la producción de alimentos, las personas están expuestas a bajos niveles de residuos de plaguicidas a través de sus dietas. Los científicos aún no tienen una clara comprensión de los efectos sobre la salud de estos residuos de plaguicidas. Otra evidencia sugiere que los niños son particularmente susceptibles a los efectos adversos de la exposición a pesticidas, incluyendo los efectos del desarrollo neurológico. Las personas también pueden estar expuestas a pesticidas usados en una variedad de entornos, incluyendo hogares, escuelas, hospitales y lugares de trabajo (36).

Los plaguicidas con organofosforados (OP), aparte de la inhibición de la colinesterasa y la presencia de efectos colinérgicos, el estrés oxidativo y la hiperglucemia ha sido reportado por muchos autores como uno de los efectos adversos en el envenenamiento por OP tanto en humanos como en animales. El estrés oxidativo inducido por organofosfato conduce a alteraciones en la función de diferentes órganos y tejidos. En la exposición subcrónica o crónica OP exposición de estrés oxidativo ha sido informado por muchos autores, como el principal mecanismo de su toxicidad. Los datos se clasificaron según estudios en animales (in vitro e in vivo) y estudios clínicos. Basándose en la bibliografía pertinente, se concluye que la determinación de los parámetros del estrés oxidativo puede ser útil para el seguimiento profesional de las personas expuestas a OP. La suplementación con antioxidantes naturales o sintéticos puede ser beneficiosa en el envenenamiento por OP, sin embargo los modelos de rata de envenenamiento por OP utilizados en esos estudios no reflejan completamente la situación clínica. Por esta razón, los ensayos clínicos son necesarios para explorar

la eficacia de estos antioxidantes en la protección contra la toxicidad de la OP (34).

2.2.5. Organofosforados

Los organofosforados son sustancias químicas producidas originalmente por la reacción de alcoholes y ácido fosfórico. Funcionan como inhibidores de la colinesterasa, afectando así la transmisión neuromuscular. Los insecticidas organofosforados, como el diazinón, el clorpirifos, el disulfotón, el azinfos-metilo y los fonofos, se han utilizado ampliamente en la agricultura y en aplicaciones domésticas como plaguicidas. Más de 25.000 marcas de plaguicidas están disponibles en los Estados Unidos, y su uso es monitoreado por la Agencia de Protección Ambiental (EPA). Diazinon se vendió en los Estados Unidos durante 48 años con 14,7 millones de libras vendidas anualmente. Fue el ingrediente más utilizado en los aerosoles de césped y jardín en los Estados Unidos. Diazinon fue encontrado bajo los nombres de marca Real Kill, Ortho y Spectracide. En el último decenio, la EPA llegó a un acuerdo con la industria de plaguicidas para poner fin a la producción de diazinon para marzo de 2001 para uso en interiores y junio de 2003 para el uso de césped y jardín. El clorpirifos (Dursban) participó en una eliminación gradual negociada en junio de 2000. Estas eliminaciones se debieron al reconocimiento del riesgo especial que representaban estas sustancias para los niños. El cuatro por ciento de los pacientes que se presentan a los centros de control de intoxicaciones informan exposición a pesticidas. De estos pacientes el 34% son niños menores de 6 años. Los agentes nerviosos tóxicos utilizados por los militares son a menudo del grupo organofosforados un ejemplo es el sarin. En previsión del uso militar de neurotoxinas organofosforados durante la Guerra del Golfo, el ejército estadounidense recibió agentes profilácticos que algunos creían que causaban algunos de los síntomas del síndrome de la Guerra del Golfo. Con la aparición del virus del Nilo Occidental en el noreste de los Estados Unidos, se han implementado programas de pulverización en grandes áreas urbanas, en particular en el Central Park de Nueva York. Existe controversia sobre los efectos a largo plazo de la exposición a niveles bajos de sustancias potencialmente neurotóxicas (37).

Existen varios agentes organofosforados que están siendo ensayados terapéuticamente. La inhibición de la colinesterasa, que en grandes dosis hace que estos agentes sean pesticidas eficaces, también puede ser útil en otras dosis para tratar la demencia. Metrifonate se ha utilizado para tratar la esquistosomiasis y está experimentando ensayos para el tratamiento de la demencia degenerativa primaria. Los organofosforados piridostigmina y fisostigmina son anticolinesterasas de carbamato que se han utilizado durante muchos años para el tratamiento de la miastenia gravis. Aunque las anticolinesterasas de corta duración son generalmente seguras, los informes de su abuso están asociados con una imagen similar a la intoxicación por pesticidas. Uno de los pacientes del autor había sido diagnosticado erróneamente como miasténico. Las dosis "terapéuticas" a largo plazo de la fisostigmina alteraron químicamente sus uniones neuromusculares hasta el punto en que debió ser destetadas lentamente del fármaco. Sung y otros han informado sobre la capacidad de estas sustancias para inducir la modulación del receptor nicotínico. Esto explica la acción de estos fármacos y puede resultar en el desarrollo de agentes más eficaces (38).

El mecanismo de acción, tanto en la especie objetivo como en la no-objetivo, es la inhibición irreversible de la acetilcolinesterasa se encuentra en los glóbulos rojos y en los receptores nicotínicos y muscarínicos del nervio, músculo y materia gris del cerebro. La acetilcolinesterasa plasmática se encuentra en la sustancia blanca del SNC, el páncreas y el corazón. Es una proteína hepática de fase aguda que a menudo está disminuida en disfunción hepática, desnutrición, enfermedad neoplásica, embarazo y procesos infecciosos, así como en el uso de estupefacientes o cocaína. La disminución de la colinesterasa plasmática da lugar a una disminución de la actividad de la colinesterasa en los sistemas nerviosos central, parasimpático y simpático.

Los organofosforados fosforilan el grupo serina hidroxilo en el sitio de acción de la acetilcolina, se unen irreversiblemente, desactivando la esterasa, dando como resultado la acumulación de acetilcolina en la placa terminal. La acumulación de acetilcolina en la unión neuromuscular provoca una despolarización persistente del músculo esquelético, lo que resulta es debilidad y fasciculaciones. En el

sistema nervioso central, la transmisión neural se interrumpe. Si este bloqueo no es invertido por un nucleófilo fuerte como la pralidoxima (2-PAM) dentro de las 24 horas, se destruyen grandes cantidades de acetilcolinesterasa. Los niveles de colinesterasa de glóbulos rojos aumentan lentamente; aproximadamente 0,5-1% al día, la neurotoxicidad tardía es producida por ciertos ésteres organofosforados clasificados como axonopáticos.

Pocos de los miles de agentes organofosforados en el mercado se han asociado con el inicio tardío de la neuropatía. En los que producen neuropatía, los efectos pueden ser el resultado de una sola dosis grande o dosis acumuladas. La neuropatía retardada inducida por ésteres de organofosforados (OPIDN) tarda al menos 10 días en desarrollarse después de una única exposición aguda. Los efectos de las dosis acumuladas ocurren durante un período de semanas después de la exposición. El examen anatomopatológico revela axonopatía distal central-periférica. Típicamente, los tractos de la médula espinal y los axones distales de las extremidades inferiores están involucrados más que las extremidades superiores. La axonopatía primaria va acompañada de desmielinización secundaria. Las fibras sensoriales y motoras están involucradas. Curiosamente, esta toxicidad tardía no es un resultado de la inhibición de la acetilcolinesterasa, sino más bien un resultado de la fosforilación de una proteína receptora, la esterasa neurotóxica, también llamada neuropatía esterasa. No se conoce el mecanismo exacto (39).

La tasa de mortalidad es generalmente baja en pacientes tratados con prontitud. La morbilidad implica la aparición tardía de neuropatía y temblor, y en grandes dosis, convulsiones y delirio. Otros efectos tardíos son menos esperados. Compston et, informaron una reducción de la formación ósea después de la exposición a organofosforados en 80 trabajadores agrícolas. Se pensó que el mecanismo de acción era la inhibición de la acetilcolinesterasa en la matriz ósea. La acetilcolinesterasa se expresa mediante osteoblastos; está presente a lo largo de líneas de cemento y en osteoide. El autor cree que la acetilcolinesterasa puede tener un papel en la regulación de las interacciones célula-matriz y en el acoplamiento de la resorción ósea y la formación (40).

Frecuentemente, los efectos acumulativos de dosis bajas de organofosforados son neuropsicológicos. Un informe conjunto del Real Colegio de Médicos y Psiquiatras del Reino Unido concluyó que una amplia gama de síntomas a menudo severos como fatiga excesiva, concentración pobre y pensamientos suicidas se reportan con mayor frecuencia en poblaciones expuestas repetidamente. Las personas expuestas a menudo tienen un estado crónico flúlike que mejora cuando la exposición cesa. Un paciente que el autor vio 3 años después de la exposición a una sola dosis alta de diazinon se dejó con deterioro cognitivo significativo y episodios de hipertonía muscular generalizada, inicialmente se pensó que era convulsivo. Se han observado efectos neuropsicológicos crónicos en el 4-9% de los pacientes expuestos en uso relacionado con la ocupación (41).

2.2.6. Riesgos durante el embarazo en la exposición a plaguicidas

Las exposiciones ambientales juegan un papel importante en la causa de la enfermedad. Se cree que el feto en desarrollo es particularmente susceptible a contaminantes ambientales. Varios estudios epidemiológicos han sugerido asociaciones entre exposiciones ambientales tales como contaminación del aire, humo ambiental del tabaco, pesticidas, disolventes, metales pesados, radiación, contaminantes del agua (subproductos de desinfección, arsénico y nitratos) y químicos (contaminantes orgánicos persistentes y compuestos perfluorados) se relacionan con malos resultados en el embarazo como la pérdida del mismo, la muerte fetal, el crecimiento fetal, el parto prematuro y las anomalías congénitas. Estos fueron descritos y evaluados recientemente en una serie de revisiones sobre la exposición al medio ambiente y los resultados del embarazo (42).

Además, ha habido un gran número de revisiones (sistemáticas) sobre exposiciones ambientales específicas y resultados del embarazo. En general, los autores han sugerido que, aunque existen pruebas que apoyan asociaciones específicas entre las exposiciones ambientales y los resultados adversos del embarazo, la evidencia de otras exposiciones ambientales es limitada. Este último puede deberse en parte al limitado número de estudios disponibles, a los resultados contradictorios de diferentes estudios, así como a los problemas

habituales en los estudios epidemiológicos de sesgo y confusión, hallazgos fortuitos y limitaciones en la evaluación de la exposición.

Una forma de abordar algunas de estas cuestiones, pero no todas, es combinando información de diversos estudios epidemiológicos y realizando análisis meta y / o agrupados para obtener estimaciones globales de resumen para una asociación entre una exposición ambiental y los resultados del embarazo y para evaluar cualquier heterogeneidad en los resultados. Esto puede conducir a una mayor comprensión y / o mejor comprensión de la asociación, mejora de la metodología y, en última instancia, a una mejor gestión del riesgo y la formulación de políticas.

Los niveles de OP maternos están estrechamente asociados con la exposición reciente a los plaguicidas; las mujeres que viven en América Latina y otras regiones que usan pesticidas para el control de plagas en la agricultura tienen niveles comparativamente más altos de OP. La exposición puede estar asociada con un déficit en el desarrollo psicomotor y de la atención de los niños que fueron expuestos intrauterina, también se habla supresión inmune y alteración endocrina, entre otros efectos. Los organofosforados y los carbamatos se han detectado típicamente en más del 90% de muestras a través de placentas, incluyendo suero materno, leche materna de las mujeres agricultoras. Los OP pueden atravesar la placenta y se detectan en el suero del cordón umbilical, meconio, placenta y líquido amniótico. Los niveles de OP son más altos en la sangre materna que en la sangre del cordón umbilical, aunque la diferencia es leve. Además, los niveles de OP en el suero materno no difieren entre los trimestres del embarazo. La leche materna también puede ser un vehículo de transferencia para OP. Los niveles de estos son mayores en la leche materna que en el suero materno y los niveles de grasa en la leche materna disminuyen durante el primer mes después del parto. Sin embargo, no está claro si los niveles de OP en suero materno cambian durante la lactancia (43).

Se debe tener en cuenta que la clasificación más sutil en relación al tiempo de evolución se lo puede determinar cómo aguda y crónica, la aguda es la definida como aquella intoxicación que luego de una exposición presenta en un periodo de tiempo menor a 1 semana sintomatología y la crónica puede ser asintomática o los

síntomas son tan sutiles que no lo relacionan con la exposición (Ilustración. 1), la mejor forma de determinarlo es con una correlación bioquímica de los niveles de la colinesterasa, los niveles no suelen modificarse en la colinesterasa eritrocitaria cuando es aguda pero si en la pseudocolinesterasa, mientras que sucede lo contrario en la exposición crónica (39).



Ilustración 1 Intoxicación Aguda y Crónica por Organofosforados (39)

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1. NIVEL Y TIPO DE INVESTIGACIÓN

3.1.1. ENFOQUE INVESTIGATIVO

El presente estudio se ejecutó con un enfoque cuali - cuantitativo, los procesos realizados se basaron en análisis de cualidades en las mujeres de edad fértil, y también se determinó la cantidad de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres expuestas a plaguicidas.

3.1.2. MODALIDAD DE INVESTIGACIÓN

De Campo: El estudio en su etapa de toma de muestras de las mujeres en edad fértil y embarazadas se realizó por parte de la investigadora en el centro de Salud de Huambalò adonde acudieron las mujeres con exposición a plaguicidas, también se procedió al levantamiento de las encuestas.

De Laboratorio: La parte analítica y post analítica se llevó a cabo en el Laboratorio Clínico ALMOLAB y se buscó la determinación de los niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres en edad fértil con y sin exposición, donde se registraron los resultados de las pruebas.

3.1.3. NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Investigación Descriptiva: A este nivel se detallaron los estadísticos de las variables obtenidas, se analizó las características poblacionales y se cuantificó los porcentajes de roturas con los resultados positivos para ambas pruebas.

Investigación Correlacional: En el estadístico de correlación se verificó la validez de la prueba mediante pruebas estadísticas y paramétricas, para la correlación estadística se empleó la prueba de Pearson y para la validez se ocupó el método paramétrico de sensibilidad y especificidad.

3.2 SELECCIÓN DEL ÁREA O ÁMBITO DE ESTUDIO

3.2.1 DELIMITACIÓN ESPACIAL

El presente estudio se llevó a cabo en el centro de Salud Tipo B de Huambaló

3.2.2 DELIMITACIÓN TEMPORAL

La investigación se dio en un tiempo de 9 meses, donde se destinó 5 meses en la elaboración del proyecto y la planificación y 4 en la ejecución, el periodo inició en noviembre del 2016 hasta agosto del 2017.

3.3 POBLACIÓN

La población del estudio fueron mujeres en edades fértiles y embarazadas que hayan tenido exposición a los plaguicidas.

3.3.1 MUESTRA

La estimación de la muestra se logró empleando la siguiente fórmula de muestreo simple no aleatorizado:

$$n = \frac{N * \sigma^2 * Z^2}{(N - 1) + e^2 + \sigma^2 * Z^2}$$

Dónde:

n = Tamaño de la muestra (x)

N = Tamaño de la población (134302 mujeres en edad fértil de Tungurahua según último censo de población y vivienda del 2010)

σ = Desviación estándar de la población (0.5)

Z = Valor obtenido mediante niveles de confianza (1.96)

e = Limite aceptable de error muestral (0.05)

$$n = \frac{134302 * 0,5^2 * 1,96^2}{[(134302 - 1) * 0,05^2] + [0,5^2 * 1,96^2]}$$

$$n = \frac{128.9}{1.29}$$

$$n = 99$$

Al tratarse de un periodo de 6 meses se toma como muestra 48 pacientes.

3.3.2 CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Para la participación de cualquier mujer en edad fértil y embarazada debían cumplir los siguientes criterios:

Criterios de Inclusión:

- Otorgar el consentimiento informado previamente diseñado por la investigadora en donde consta todos los datos de filiación de la mujer si existe o no la exposición a los pesticidas, los aspectos éticos que se abordan sobre los posibles riesgos de la investigación.
- Edad entre 14 y 50 años de edad.
- Ser residentes de la Provincia de Tungurahua.
- Estar en periodo de gestación

Criterios de Exclusión:

- Paciente que tenga alguna de las siguientes patologías; miastenia gravis, hipotiroidismo, anemia, enfermedades del colágeno como Lupus y Sd. antifosfolipídico.
- Mujeres gestantes que al momento se encuentren con alguna comorbilidad grave como diabetes, trastornos hipertensivos del embarazo, riesgo de parto pre término o aborto, o su propia condición sea de vulnerabilidad.
- Mujeres que tengan tratamiento farmacológico como uso de anticonceptivos, anticonvulsivantes, antidepresivos o ansiolíticos.

3.6. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLE INDEPENDIENTE: Exposición a plaguicidas

Tabla 1 Variable Independiente

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORÍAS	INDICADORES	ÍTEMS BÁSICOS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
Es aquella exposición o contacto con sustancias que cuyo fin tienen controlar, atenuar o eliminar plagas, el alto grado de toxicidad de los OP en los mamíferos se debe a su capacidad para inhibir la enzima precursora de acetilcolina, lo que produce alteraciones a nivel de los receptores muscarínicos y nicotínicos del SNC.	<ul style="list-style-type: none"> Intoxicación <p>Aguda</p> <p>Crónica</p>	<p>Colinesterasa Plasmática</p> <p>Colinesterasa Eritrocitaria</p>	¿Qué tiempo lleva de contacto el paciente con el organofosforado?	<p>Observación</p> <p>Entrevista</p>	Cuestionario

Elaborado por: Cañar Carolina

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLE DEPENDIENTE: Colinesterasa eritrocitaria

Tabla 2 Variable Dependiente

CONCEPTUALIZACIÓN	CATEGORÍAS	INDICADORES	ÍTEMS BÁSICOS	TÉCNICAS	INSTRUMENTOS
<p>Colinesterasa verdadera (AChE) es una enzima cuya función es la hidrólisis de la acetilcolina en la placa motora principal. Se la encuentra en las terminaciones nerviosas de los nervios colinérgicos y dentro de los eritrocitos.</p>	<p>Análisis de Colinesterasa Eritrocitaria</p>	<p>Valor de referencia: Mujeres en edad fértil 4400-8200U/l Mujeres embarazadas 2400 a 8200 U/l</p>	<p>¿Cuáles son los valores de Colinesterasa Eritrocitaria en las mujeres en edad fértil y embarazadas expuestas a OP?</p>	<p>Observación: Espectrofotometría</p>	<p>Cuestionario</p>

Elaborado por: Cañar Carolina

3.7. DESCRIPCIÓN DE LA INTERVENCIÓN Y PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCION DE INFORMACIÓN.

Al tratarse de un estudio observacional transversal para correlacionar los niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres de edad fértil con o sin embarazo se procedió de la siguiente manera:

Realizar un oficio dirigido al Director del Hospital Básico Pelileo para obtener el permiso pertinente para la realización del proyecto.

Identificar la población

Buscar un laboratorio en donde realizar la colinesterasa eritrocitaria

En el proceso de reclutamiento se les solicitó el consentimiento informado y se llenó la encuesta con la finalidad de conseguir algunos datos de filiación.

ANÁLISIS DE MUESTRAS DE SANGRE

Se recolecto las muestras de sangre mediante punción venosa en un tubos de tapa roja y lila, los pacientes no necesitan estar en ayunas, todos los tubos utilizados son codificados con los datos del paciente.

3.8 MÉTODOS

TOMA DE MUESTRA SANGUÍNEA

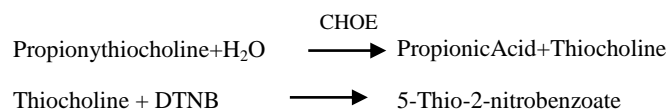
Se debe tomar las precauciones universales mínimas con todo paciente a ser atendido que garanticen la seguridad flebotomista.

- a) Recolección: obtener la muestra de la manera usual.
- Preparación del material e identificación y rotulación correcta del paciente.
 - Ubicar el torniquete por encima del sitio que se va a punzar para que la vena sea más visible.
 - Localizar la vena mediante inspección y desinfectar el área que se va a punzar con el algodón y el alcohol.

- Se realiza la venopunción, penetrando la piel en ángulo de 15 grados, con el bisel de la aguja hacia arriba, siguiendo la dirección de la vena. Introducir la aguja con suavidad.
- Retirar el torniquete.
- Colocar una torunda de algodón sobre el punto de punción, y ejercer presión sobre la zona.
- Colocar una banda adhesiva.

PRINCIPIO DEL METODO

Las reacciones implicadas en el ensayo de colinesterasa son las siguientes:



La colinesterasa hidroliza el propioniltiocolina (PTC) para formar la tiocolina que reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) para producir el 5-tio-2-nitrobenzoato.

COMPOSICIÓN DEL REACTIVO

El reactivo de colinesterasa (PTC), cuando se reconstituye está formado por:

- Propioniltiocolina 4 mM.
- DTNB 0,4 mM.

ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

El reactivo en refrigeración es estable hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Una vez reconstituido el reactivo es estable 6 horas a temperatura ambiente (15-30°C) o durante 3 días (2-8°C).

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

ACTIVIDAD TOTAL DE LA COLINESTERASA

Reconstituir el reactivo de colinesterasa (PTC) con agua desionizada. Después de la adición de agua, tapar el vial y mezclar inmediatamente varias veces.

INHIBIDOR DE DIBUCAINA

Reconstituir un frasco de reactivo de colinesterasa (PTC) con dibucaine solution, en lugar de agua desionizada.

INHIBIDOR DE FLUORURO

Reconstituya un frasco de reactivo de colinesterasa (PTC) con solución de fluoruro, en lugar de agua desionizada.

El reactivo debe desecharse si:

La humedad ha penetrado en el vial y se han producido aglomeraciones.

RECOGIDA Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

La actividad de la colinesterasa es estable en suero no diluido durante 2 semanas (2-8°C) y hasta 3 meses (-20°C). El suero debe retirarse del coágulo rápidamente. El EDTA no inhibe la actividad de la colinesterasa.

La preparación de la muestra para la medición de la actividad de la colinesterasa en sangre completa es la siguiente. Colocar sangre en tubos que contengan EDTA como anticoagulante, mezclar bien la sangre entera, se elimina una alícuota de sangre para la determinación del hematocrito, preparar el hemolizado de sangre mezclando 0,1 mL de sangre con 1,9 mL de agua destilada, mezclar hasta que se complete la hemólisis, centrifugar la sangre restante para obtener plasma transparente, determine las actividades de la colinesterasa en el plasma y el hemolizado. Las muestras para la actividad de la colinesterasa hemolizada son estables durante 8 horas cuando se almacenan (2-8°C).

SUSTANCIAS INTERFERENCIALES

No se deben utilizar muestras de suero hemolizada. También se sabe que ciertos fármacos y otras sustancias afectan la actividad de la colinesterasa.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO SUMINISTRADOS

1. Espectrofotómetro, con compartimiento controlado por temperatura, capaz de medir con precisión a una absorbancia de 405 nm
2. Tubos de ensayo con propiedades ópticas adecuadas para su utilización
3. Dispositivos de pipeteo para la entrega exacta de los volúmenes requeridos para el ensayo
4. Temporizador
5. Soluciones de dibucaina y sodio fluoruro

PROCEDIMIENTO MANUAL

1. Reconstituir el reactivo según las instrucciones.
2. Pipetee 1,0 mL de reactivo en tubos apropiados y deje que se equilibren (30°C) o (37°C).
3. Llevar a cero el espectrofotómetro con agua destilada
4. Añadir 10 µL de muestra (suero, plasma o hemolizado). Mezclar bien.
5. Después de 15 segundos, mida la absorbancia (A1). Después de 30 segundos, mida la absorbancia (A2).
6. Calcular el ΔA por 30 segundos restando A1 de A2, multiplique por 2 para obtener ΔA por minuto.
7. Calcular la actividad de la colinesterasa (U/L) de la muestra y multiplique $\Delta A / \text{min.} * 7426$.

VOLUMENES ALTERNOS

La actividad de la colinesterasa también se puede determinar usando 10 µL de muestra y 3 mL de reactivo. Deben utilizarse diferentes factores de calibración

Si los volúmenes de muestra y reactivo son diferentes de los volúmenes requeridos en los procedimientos.

CÁLCULOS

$$\text{Cholinesterase Activity (U/L)} = \frac{\Delta A/\text{min.} \times TV \times 1000}{13.6 \times LP \times SV}$$

$\Delta A/\text{min.}$ = Absorbance change per min.
TV = Total Volume (1.01 mL)
SV = Sample Volume (0.01 mL)
13.6 = Millimolar absorptivity of DTNB
LP = Light path (1 cm)
1000 = Conversion of units per mL to Units per Liter

$$\text{Cholinesterase Activity (U/L)} = \frac{\Delta A/\text{min.} \times TV \times 1000}{13.6 \times 1.0 \times 0.01}$$

NOTA: La preparación del hemolizado implica una dilución de 20 veces la muestra, por lo tanto, la actividad de colinesterasa en hemolizado calculada por la fórmula anterior debe multiplicarse por 20 para compensar la dilución.

CALIBRACIÓN

El procedimiento se calibra por medio de la absorción milimolar del ácido 5-tio-2-nitrobenzoico, que es de 13.6 a una absorbancia de 405 nm. El límite superior de linealidad de acuerdo con este procedimiento es de 8.000 U/L con una relación de muestra a reactivo de 1:100.

CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda que se incluyan valores altos y bajos de colinesterasa en cada conjunto de ensayos.

Para el control de calidad puede utilizarse material de control comercialmente disponible con valores establecidos de colinesterasa.

Factor de conversión de la temperatura para el suero humano:

<u>AssayTemp.</u>	<u>DesiredTemp</u>		
	<u>25</u>	<u>30</u>	<u>37</u>
25	1.00	1.20	1.55
30	0.83	1.00	1.29
37	0.65	0.77	1.00

VALORES DE REFERENCIA

El rango esperado de actividad de la colinesterasa sérica (30°C) fue determinado de la siguiente manera. (44):

Serum	3100–7700U/L
Plasma	1700–4100U/L
WholeBlood	3300–5500U/L
Erythrocytes	4400–8200U/L
Pregnancy	2400 – 6000 U/L

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los procesos y análisis estadísticos se realizaron con el programa SPSS v.22 y se empleó un método no paramétrico para determinar la diferencia entre el proceso de gestación con exposición y de edad fértil con exposición. En el análisis descriptivo las variables cuantitativas se representaron con medidas de tendencia central y para describir las variables cualitativas se utilizó porcentajes.

3.8. ASPECTOS ÉTICOS

Todos los datos de interés como los objetivos, alcances, posibles riesgos y beneficios fueron planteados en el consentimiento informado entregado y socializado antes de la aceptación de los participantes.

Los procedimientos para garantizar aspectos éticos en esta investigación con sujetos humanos son los siguientes aspectos:

- Los beneficios y los riesgos conocidos o inconvenientes para los sujetos envueltos en el estudio se detallara y serán explicados en el consentimiento informado.
- La descripción precisa de la información a ser entregada a los sujetos del estudio y cuando será comunicada oralmente o por escrito de dicha información incluirá los objetivos y propósitos del estudio, cualquier procedimiento experimental, cualquier riesgo conocido a corto o largo plazo, posibles molestias; beneficios anticipados de los procedimientos aplicados; duración del estudio; métodos alternativos disponibles para la extracción de la muestra; la decisión de continuar con el estudio y la libertad que tienen los sujetos de retirarse del estudio en cualquier momento que deseen.

Con la información personal de los sujetos se mantendrá confidencial. Los hallazgos de la investigación serán reportados y entregados a los sujetos envueltos en el estudio u otros interesados, si revelar datos de filiación.

3.9. HIPÓTESIS

H1: Los niveles de colinesterasa eritrocitaria se encuentran alterados en mujeres embarazadas y de edad fértil expuestas a plaguicidas.

H0: Los niveles de colinesterasa eritrocitaria no se encuentran alterados en mujeres embarazadas y de edad fértil expuestas a plaguicidas.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

4.1. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1.1 Descriptivo de la edad de las mujeres en edad fértil

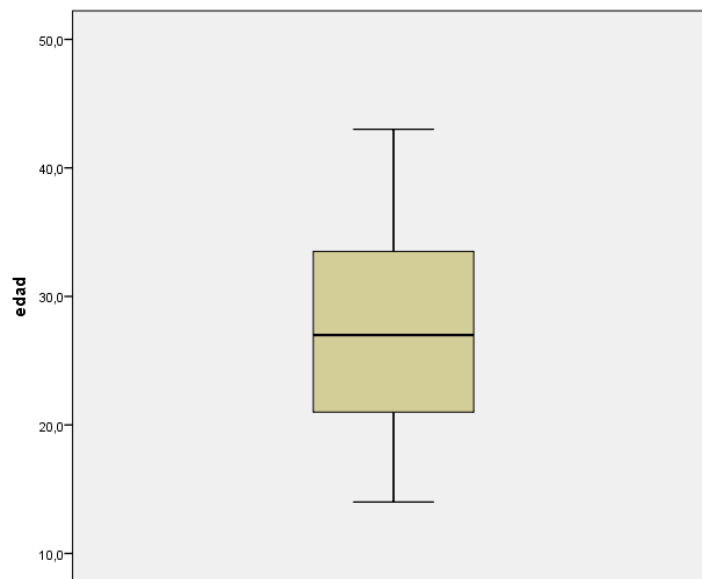
Tabla 3 Descriptivo de la edad de las mujeres en edad fértil

Descriptivo de la edad					
	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
Edad	108	14,0	43,0	27,528	7,5733

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Datos tomados de la encuesta

Gráfico 1 Descriptivo de la edad de las mujeres en edad fértil



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

La edad media de la población fue de $27,52 \pm 7,57$ años, la mujer con menor edad que participó en el estudio fue de 14 años, mientras que la de mayor edad fue de 43 años. Se evidencia que la distribución de la edad en esta población es de tipo normal ya que la distribución es simétrica, uniforme y no presenta datos aberrantes, ya que el 95% de la población se encuentra entre 20 y 35 años.

4.1.2 Rango de edades de la población

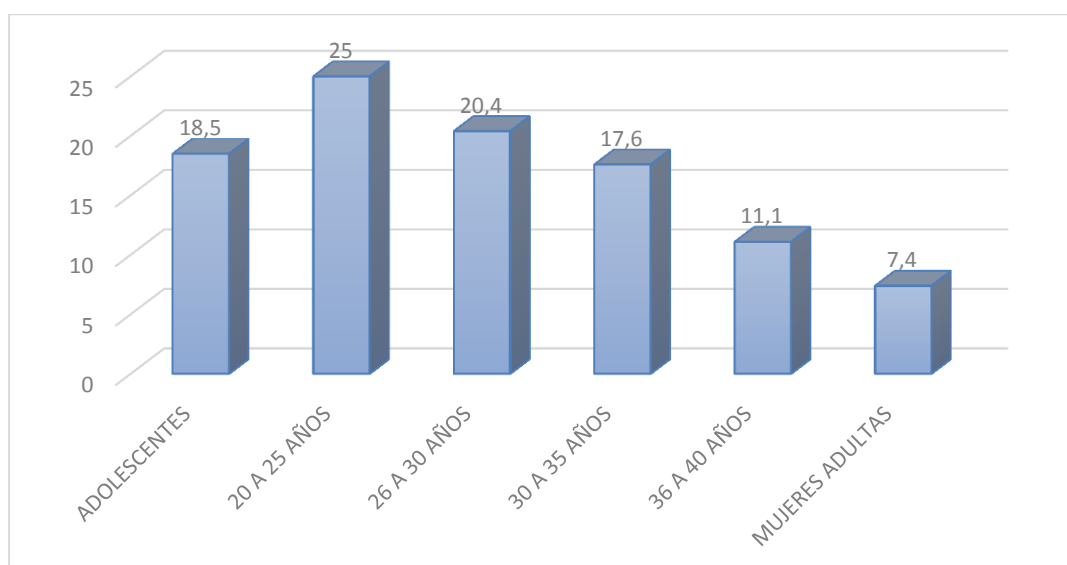
Tabla 4 Rango de edades de la población

RANGO DE EDADES		
GRUPO ETARIO	Frecuencia	Porcentaje
ADOLESCENTES	20	18,5
DE 20 A 25 AÑOS	27	25
26 A 30 AÑOS	22	20,4
30 A 35 AÑOS	19	17,6
36 A 40 AÑOS	12	11,1
MADRES ADULTAS	8	7,4
Total	108	100

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Datos tomados de la encuesta

Gráfico 2 Rango de edades de la población



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El grupo con más mujeres fue de 20 a 25 años de edad con el 25% (n=27), seguido de las mujeres de 26 a 30 años con el 20,4% (n=22), el grupo con menos población fue de las mujeres adultas con el 7,4% (n=8), las adolescentes ocupan un 18,5% de la población estudiada (n=20), la distribución del histograma es normal ya que se dibuja claramente una curva normal o acampanada como la teoría de Gaus.

4.1.3 Condición de las mujeres embarazadas y en edad fértil

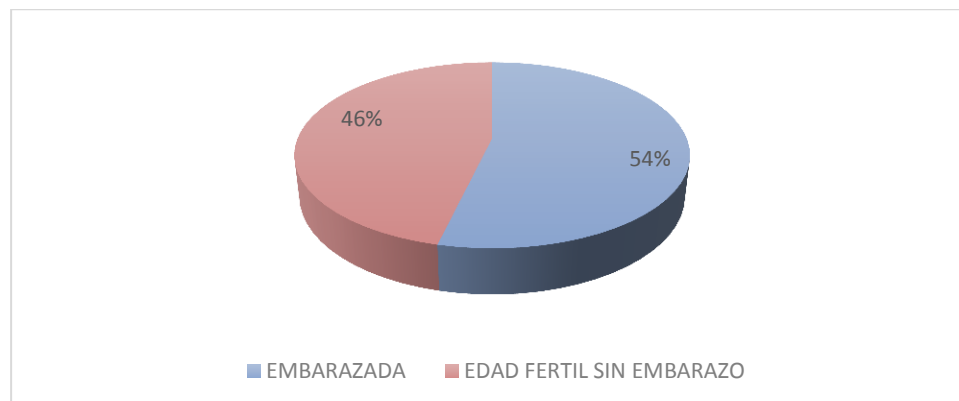
Tabla 5 Condición de las mujeres embarazadas y en edad fértil

CONDICIÓN DE LAS MUJERES		
	Frecuencia	Porcentaje
EMBARAZADA	58	53,7
EDAD FERTIL SIN EMBARAZO	50	46,3
Total	108	100,0

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Encuesta

Gráfico 3 Distribución de las mujeres en edad fértil



Elaborado por: Cañar Carolina Fuente: Registro de resultados de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

La condición más frecuente entre las mujeres fue el embarazo con el 54% (n=58). La distribución de la muestra fue equitativa con tan solo 8 casos de diferencia, lo que demuestra que el grado de aleatorización es adecuado para la finalidad del estudio, lo que con lleva a asegurar la calidad del mismo.

4.1.4 Relación entre la edad y la condición de las mujeres

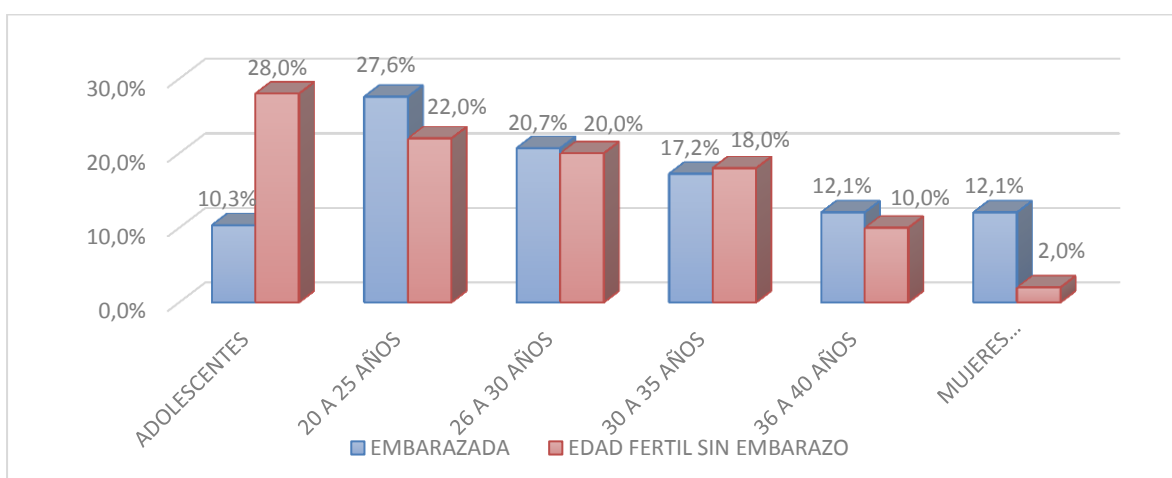
Tabla 6 Relación entre la edad y la condición de las mujeres

GRUPO DE EDADES		CONDICIÓN		Total
		EMBARAZADA	EDAD FERTIL SIN EMBARAZO	
ADOLESCENTES	Recuento	6	14	20
	% dentro de condición	10,3%	28,0%	18,5%
20 A 25 AÑOS	Recuento	16	11	27
	% dentro de condición	27,6%	22,0%	25,0%
26 A 30 AÑOS	Recuento	12	10	22
	% dentro de condición	20,7%	20,0%	20,4%
30 A 35 AÑOS	Recuento	10	9	19
	% dentro de condición	17,2%	18,0%	17,6%
36 A 40 AÑOS	Recuento	7	5	12
	% dentro de condición	12,1%	10,0%	11,1%
MADRES ADULTAS	Recuento	7	1	8
	% dentro de condición	12,1%	2,0%	7,4%
TOTAL	Recuento	58	50	108
	% dentro de condición	100,0%	100,0%	100,0%

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Encuesta

Gráfico 4 Relación entre la edad y la condición de las mujeres



Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Encuesta

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Como se evidencia en el grafico la prevalencia de mujeres embarazadas oscila en un rango de edad de 20 a 25 años con un 27% (n=16) mientras que en las mujeres en edad fértil la mayor población a ser estudiada son las mujeres adolescentes con un 28%(n=14), las mujeres embarazadas con menor población se encuentran en el 10% (n=6) y las mujeres en edad fértil con menor población son las mujeres adultas 2% (n=1).

4.1.5 Tiempo de exposición a plaguicidas de las mujeres

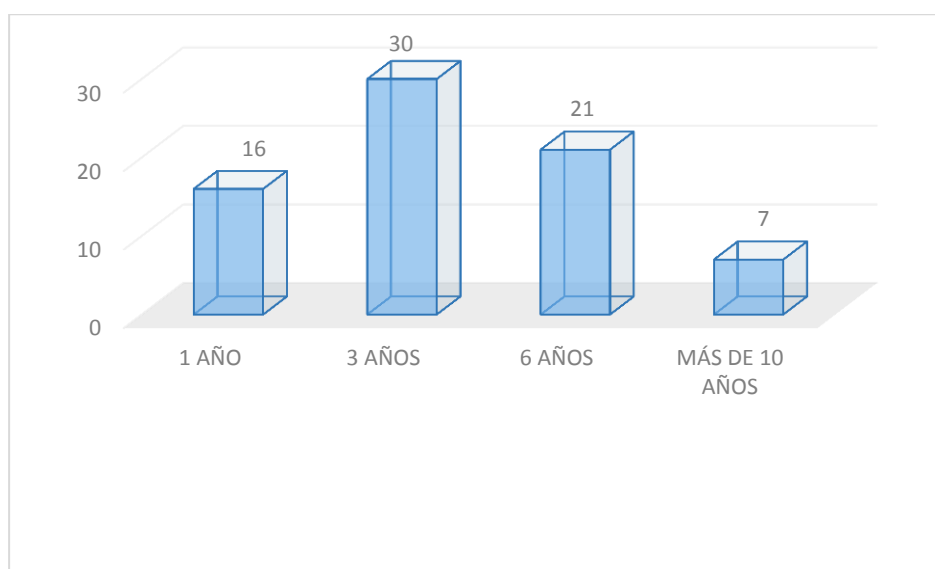
Tabla 7 Tiempo de exposición a plaguicidas de las mujeres

TIEMPO DE EXPOSICIÓN	FRECUENCIA	PORCENTAJE
1 AÑO	16	22%
3 AÑOS	30	41%
6 AÑOS	21	28%
MÁS DE 10 AÑOS	7	9%
Total	74	100%

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Encuesta

Gráfico 5 Tiempo de exposición a los plaguicidas de las mujeres en edad fértil



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Se puede observar que del total de mujeres expuestas (n=74) el mayor tiempo de exposición fue más de 10 años con el 9% (n=7), el menor tiempo de exposición es de 1 año con el 92 % (n=16), el grupo con mayor casos de exposición es de 3 años con 41%(n=30),un grupo considerable es el de 6 años de exposición ya que tiene un 28.0%(n=21), esto también cumple con un patrón de distribución normal, y se denota las mujeres con exposición tienen un promedio entre 3 y 6 años de exposición a los plaguicidas.

4.1.6 Relación de exposición a plaguicidas con la condición de la población

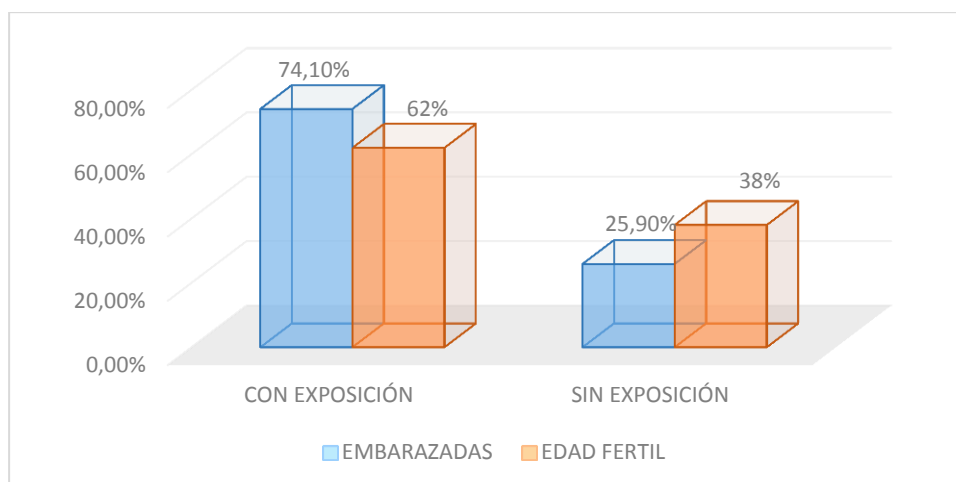
Tabla 8 Relación de exposición a plaguicidas con la condición de la población.

			condición		Total
			EMBARAZADA	EDAD FERTIL SIN EMBARAZO	
Exposición	SIN EXPOSICIÓN	Recuento	15	19	34
		% dentro de condición	25.9%	38,0%	31.5%
	CON EXPOSICIÓN	Recuento	43	31	74
		% dentro de condición	74.1%	62,0%	68.5%
Total		Recuento	58	50	108
		% dentro de condición	100,0%	100,0%	100,0%

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Encuesta

Gráfico 6 Relación entre la exposición a los plaguicidas y la condición de la población.



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Del total de mujeres embarazadas el 25.9 % no tenían exposición a los plaguicidas (n=15) y se observa que el 74,1% de las mujeres que estaban embarazadas tenían exposición a los plaguicidas (n=43), se ha integrado al estudio 50 mujeres en edad fértil, de las cuales 31 correspondiente al 62.0% presentaron exposición, este hecho marca que la mayoría de las mujeres en el estudio se encontraban expuestas a plaguicidas.

4.1.7 Niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres

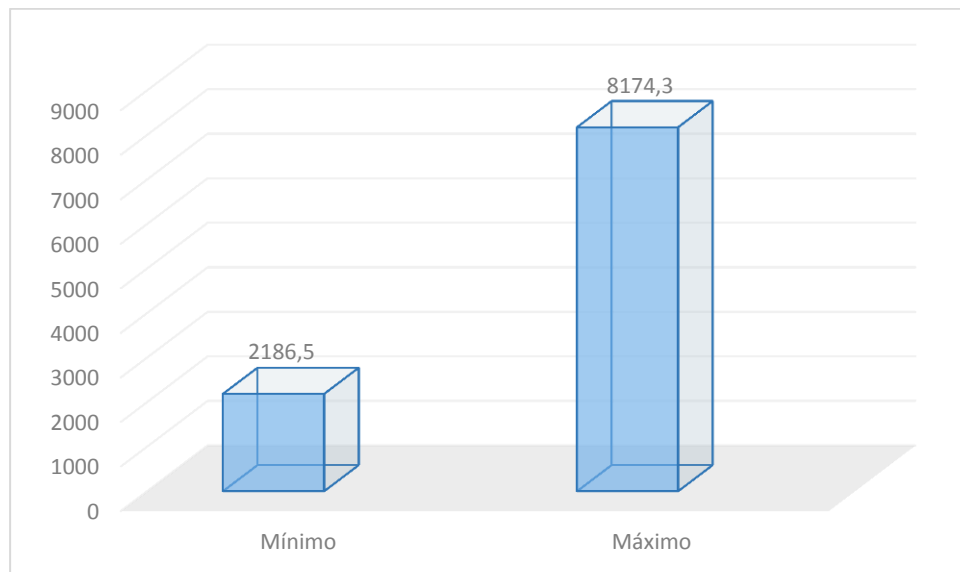
Tabla 9 Niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres

	N	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar
A. C- Eritrocitaria	108	2186,5	8174,3	4864,9	1397,0996
	108				

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Registro de resultados de laboratorio

Gráfico 7 Niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El Nivel medio de colinesterasa eritrocitaria total en las mujeres en edad fértil fue de $4664,06 \pm 782,02$ UI/L, se presentó un nivel mínimo de 2352 UI/L y un máximo de 5974UI/L, se identifica una distribución normal en la población de estudio, ya que no se presentan datos aberrantes y lo esperado es que los valores de normalidad sean los más frecuentes en la población de estudio como se ha determinado.

4.1.8 Condición de los niveles de colinesterasa eritrocitaria en la población

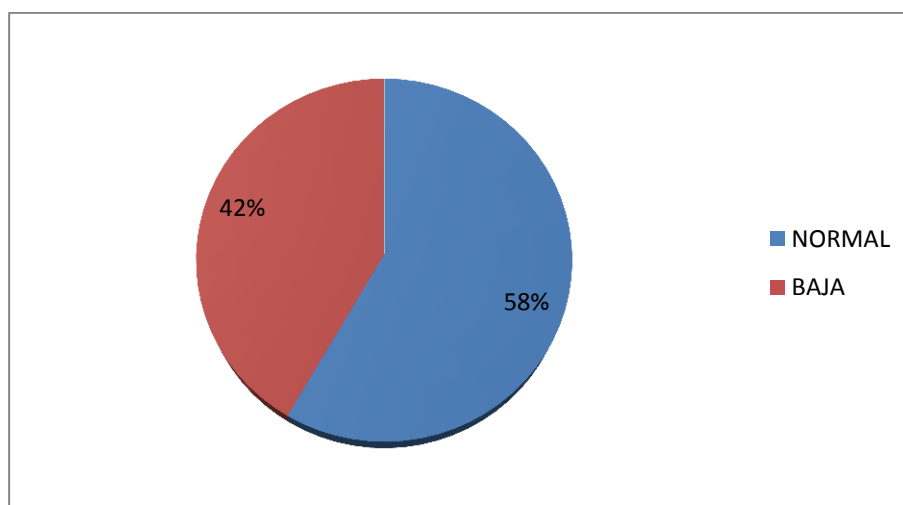
Tabla 10 Condición de los niveles colinesterasa eritrocitaria en la población

	Frecuencia	Porcentaje
NORMAL	63	58%
BAJA	45	42%
Total	108	100%

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Registro de resultados de laboratorio

Gráfico 8 Distribución de los niveles de colinesterasa eritrocitaria



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Como se evidencia en el gráfico y tomando en cuenta que los valores de referencia de colinesterasa eritrocitaria son de 4400- 8200 U/L se obtuvo que la mayor parte de la población se encontraba dentro de los valores normales con un 58% (n=63) mientras que el 42% presentaron niveles bajos (n=45). Los niveles bajos de colinesterasa eritrocitaria se encuentran bajos en las mujeres embarazadas y en aquellas que han tenido exposición a los plaguicidas compuestos de órganos fosforados que probablemente corresponden en su mayoría al 42 % de esta población.

4.1.9 Relación entre la condición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria en la población

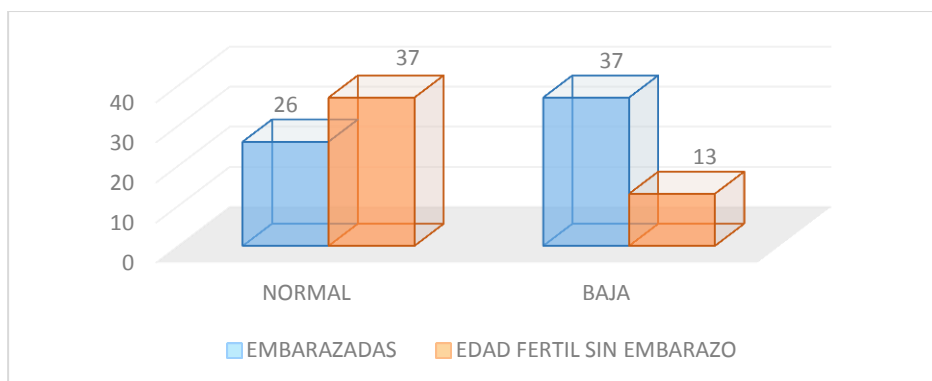
Tabla 11 Relación entre la condición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria en la población.

CONDICION DE COLINESTERASA VERDADERA * condición					
			Condición		Total
			EMBARAZADA	EDAD FERTIL SIN EMBARAZO	
CONDICION DE COLINESTERASA VERDADERA	NIVEL NORMAL	Recuento	26	37	63
		% dentro de condición	41,3%	58,7%	100,0%
	BAJO NIVEL	Recuento	32	13	45
		% dentro de condición	71,1%	28,9%	100,0%
Total		Recuento	58	50	108
		% dentro de condición	53,7%	46,3%	100,0%

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Registro de resultados de laboratorio

Gráfico 9 Distribución del niveles de colinesterasa eritrocitaria en la población.



Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Registro de resultados de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

La mayoría de las mujeres embarazadas se encuentran con niveles bajos de colinesterasa eritrocitaria con el 71.1% de los casos (n=32), también se ha identificado un grupo de mujeres sin condición de embarazo que presentan niveles bajos con el 28.9% (n=13); cabe destacar que el embarazo es una condición que disminuye los niveles de dicha enzima

4.1.10 Relación entre la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria

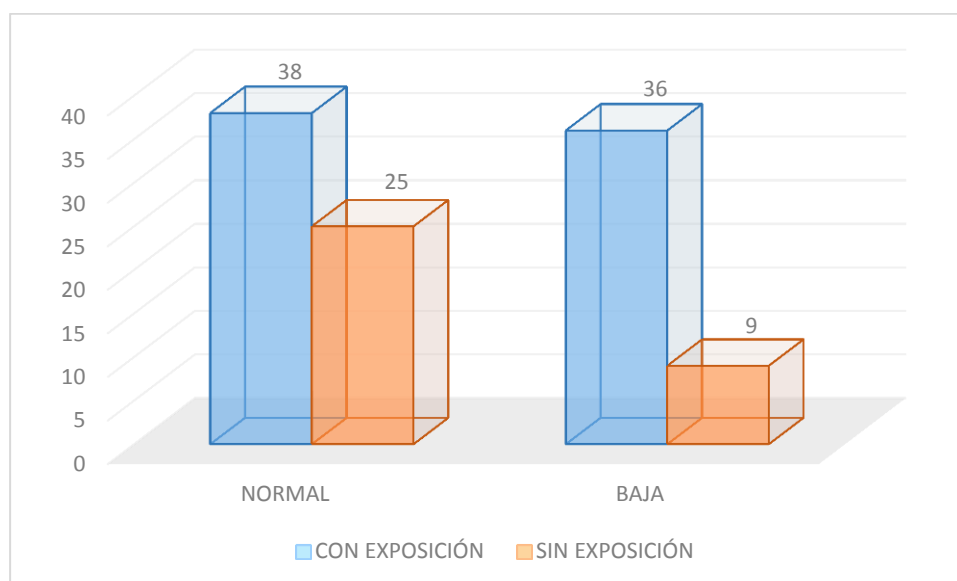
Tabla 12 Relación entre la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria

			exposición		Total
			SIN EXPOSICION	CON EXPOSICION	
CONDICION DE COLINESTERASA VERDADERA	NIVEL NORMAL	Recuento	25	38	63
		% dentro de exposición	73,5%	51,4%	58,3%
	BAJO NIVEL	Recuento	9	36	45
		% dentro de exposición	26,5%	48,6%	41,7%
Total		Recuento	34	74	108
		% dentro de exposición	100%	100%	100,0%

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Registro de resultados de laboratorio

Gráfico 10 Distribución de los niveles de colinesterasa eritrocitaria en relación a la exposición



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El 48.6% de las mujeres con exposición a plaguicidas presenta niveles bajos de colinesterasa eritrocitaria, también se denota que el 73.5% de las personas no expuestas a plaguicidas han presentado niveles normales de la enzima; los niveles bajos de la de (CHE eritroc) en las mujeres con exposición se deben a la inhibición de la enzima que produce fisiopatológicamente la intoxicación.

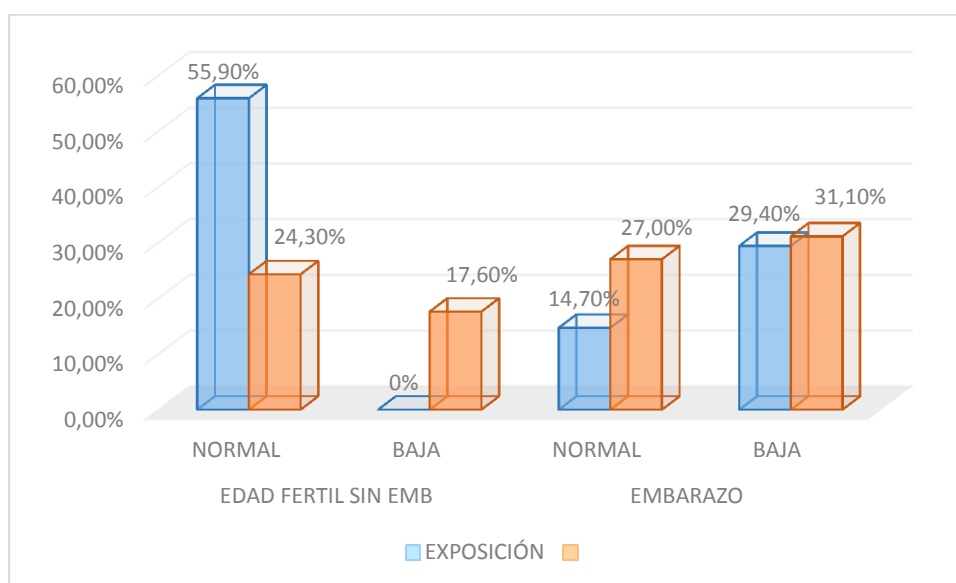
4.1.11 Relación entre la condición, la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria

Tabla 13 Relación entre la condición, la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria

COMPARACIÓN		EXPOSICIÓN			
MUJERES:	NIVEL DE ECHE	SIN EXPOSICIÓN		CON EXPOSICIÓN	
		Recuento	% del N de columna	Recuento	% del N de columna
EDAD FERTIL SIN EMB	NORMAL	19	55.9 %	18	24.3%
	BAJA	0	0 %	13	17.6 %
EMBARAZO	NORMAL	5	14.7 %	20	27.0 %
	BAJA	10	29.4 %	23	31.1 %

Elaborado por: Cañar Carolina **Fuente:** Registro de resultados de laboratorio

Gráfico 11 Distribución del niveles de colinesterasa eritrocitaria en relación a la exposición la condición de la mujer



Elaborado por: Cañar Carolina

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Entre el grupo de las mujeres en edad fértil, podemos encontrar que ninguna presenta valores bajos sin haber tenido exposición a plaguicidas, mientras que el 29.4% de las mujeres embarazadas sin exposición a plaguicidas han presentado niveles bajos, a pesar de la exposición en las mujeres en edad fértil el 24.3% presentaron niveles adecuados de HChE, solo 3 de cada 10 mujeres en edad fértil con o sin condición de embarazo y que tuvieron exposición a plaguicidas presentaron niveles bajos, se debe tener en cuenta que los niveles de referencia para las mujeres gestantes son más bajos en comparación de las no embarazadas

4.2. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Para la comprobación de la hipótesis planteada se utilizó el programa estadístico SPSS, empleando el método de Chi Cuadrado(X^2) debido a que relacione los resultados cuantitativos con los cualitativos.

4.2.1 PLANTEAMIENTO DE LA HIPÓTESIS

HIPOTESIS ALTERNATIVA (H1): Los niveles de colinesterasa eritrocitaria se encuentran alterados en mujeres embarazadas y de edad fértil expuestas a plaguicidas.

HIPOTESIS NULA (H0): Los niveles de colinesterasa eritrocitaria no se encuentran alterados en mujeres embarazadas y de edad fértil expuestas a plaguicidas.

4.2.2 ESTIMADOR ESTADÍSTICO

$$X^2 = \sum \frac{[(O-E)^2]}{E}$$

Dónde:

X^2 : estadístico Chi-cuadrado

O: frecuencia observada

E: frecuencia esperada

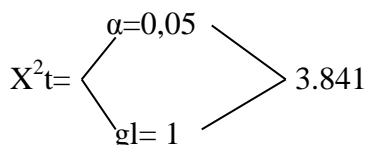
Σ : sumatoria

4.2.3 NIVEL DE SIGNIFICANCIA Y REGLA DE DECISIÓN

Para obtener los grados de libertad referentes al estudio, se tiene en cuenta el número de filas y columnas de acuerdo al polígono de frecuencias observadas.

$$\alpha = 0,05$$

$$GL = (NC-1) (NF-1) \longrightarrow (2-1) (2-1) = 1$$



Se acepta la hipótesis nula si el valor a calcularse de X^2 es menor al valor de X^2 tabular = 3.84

4.2.4 CÁLCULO DEL ESTIMADOR ESTADÍSTICO X^2

Tabla 14 Tabla cruzada de la exposición y los niveles de colinesterasa eritrocitaria en las mujeres en edad fértil

			Exposición		TOTAL
			SIN EXPOSICIÓN	CON EXPOSICIÓN	
CONDICION DE de (CHE eritroc)	NORMAL	RECUESTO	25	38	63
		% Dentro de condición de (CHE eritroc)	39,7%	60,3%	100,0%
	BAJO	RECUESTO	9	36	45
		% Dentro de condición de de (CHE eritroc)	20,0%	80,0%	100,0%
	Total	RECUESTO	34	74	108
		% Dentro de condición de de (CHE eritroc)	31,5%	68,5%	100,0%

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Registro de resultados de laboratorio

Tabla 15 Cálculo de Chi cuadrado

CHI CUADRADO					
	Valor	Df	Sig. Asintótica (2 caras)	Exact Sig. (2 lados)	Sig exacto. (1 cara)
Chi-cuadrado de Pearson	4,714 ^a	1	,030		
Corrección de continuidad	3,846	1	,050		
Índice de probabilidad	4,875	1	,027		
Prueba Exacta de Fisher				,036	,024
Asociación lineal por lineal	4,671	1	,031		
N de casos válidos	108				

Elaborado por: Cañar Carolina

Fuente: Registro de resultados de laboratorio

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

Se encontró asociación significativa entre la exposición y los niveles bajos de Colinesterasa eritrocitaria, también se encuentra relación entre la condición de embarazo y los niveles bajos de la enzima ($x=0,16$ y $p=0,04$) se acepta la hipótesis alterna de que la exposición a plaguicidas en cualquier condición de las mujeres en edad fértil puede disminuir los niveles de colinesterasa eritrocitaria, no se pudo determinar si existe correlación entre la exposición y el embarazo ya que los niveles de colinesterasa se pueden encontrar bajos por la misma condición, además en el estudio no se contó con muchos casos de mujeres embarazadas con exposición.

CAPITULO V

5.1. CONCLUSIONES

- Se determinó los niveles de colinesterasa eritrocitaria en mujeres de edad fértil expuestas a plaguicidas y encontramos que el 24.3% presentaron niveles normales, mientras que el 17.6% presentaron niveles bajos. En las mujeres embarazadas expuestas a plaguicidas los niveles de colinesterasa eritrocitaria fueron normales en un 27.0%, las gestantes presentan valores bajos en un 31.1% se debe tener en cuenta que los niveles de referencia para las mujeres gestantes son más bajos en comparación de las no embarazadas
- Se evaluó la relación entre tiempo de exposición a plaguicidas y los niveles de colinesterasa eritrocitaria y encontramos que entre mayor tiempo de exposición a plaguicidas los valores de colinesterasa eritrocitaria son más bajos, denotando intoxicación.
- Los signos y los síntomas que presentan las mujeres embarazadas y en edad fértil expuestas a plaguicidas son dolor de cabeza, náusea y vómito, los mismos que directamente no se pueden relacionar con una intoxicación por su condición en el caso de las mujeres gestantes.
- Este estudio da evidencia de que se produce una caída en la concentración de colinesterasa sérica en mujeres embarazadas. Las posibles razones de la caída de la colinesterasa son difíciles de evaluar. Este análisis reveló que la actividad de la colinesterasa podría ser útil para corroborar la información de exposición a los pesticidas, incluso en mujeres cuya colinesterasa se esperaba que fuera baja como resultado de cambios metabólicos y fisiológicos que ocurren durante el embarazo.
- Además, es probable que las mujeres encuestadas tuvieran un sesgo en su notificación a la duración de la exposición debido a su creencia basal de que los pesticidas son inocuos, independientemente de estas limitaciones del estudio, la tendencia muestra intoxicación por pesticidas y se acentúa más en las mujeres embarazadas.
- En consonancia con las expectativas, las mujeres que informaron cualquier tipo de exposiciones a plaguicidas tendieron a tener una menor actividad de colinesterasa eritrocitaria que las mujeres que informaron no haber tenido alguna exposición.

- La influencia de la disminución de la colinesterasa en el embarazo puede haber sido desproporcionadamente mayor en algunas mujeres que hayan presentado exposición a un plaguicida que las demás mujeres en edad fértil expuesta y no expuesta.
- Se identificó que el tipo de intoxicación que presentan las mujeres embarazadas expuestas a plaguicidas es crónica en base al tiempo de exposición que en el estudio fue mayor a tres años.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Fernández PL, Velázquez. Farmacología Básica y Clínica. 3rd ed. (27)
Panamericana EM, editor. Ed. Médica Panamericana: Panamericana; 2016.
2. Jiménez M, Kuhn G. Toxicología fundamental. 2nd ed. Santos EDD, editor.; (34)
2009.
3. Menéndez-Díez F. Higiene industrial. Manual para la formación del (35)
especialista. 1st ed. Nova L, editor.; 2008.
4. Pea-Martinez A, Perez-Hernandez T, Maheca de Cifuentes M. Temas de (31)
salud ocupacional : intoxicacion aguda con plaguicidas organofosforados :
diagnostico y tratamiento. 4th ed.: Andi; 2015.

LINKOGRAFÍA

5. Abou-Donia MB. Organophosphorus ester-induced chronic neurotoxicity. (39)
Arch Environ Health. 2003 Aug. 58(8):484-97.
6. Adams J, et al.. The Cholinesterases Of Human Blood. Biochimica Et (25)
Biophysica Acta. 2016; 3(358).
7. Alavanja MC, Hoppin JA, Kamel F. Health effects of chronic pesticide (41)
exposure: cancer and neurotoxicity. Annu Rev Public Health. 2004. 25:155-
97. .
8. Aylward LL, Hays SM, Kirman CR, et al. Relationships of chemical (42)
concentrations in maternal and cord blood: a review of available data. J
Toxicol Env Heal B. 2014;17:175–203.
9. Barker D. Los orígenes del desarrollo de la enfermedad de adultos. Eur J (17)
Epidemiol. 2003;(18 : 733-736).

10. Carmona-Fonseca J. Valores de Colinesterasas en Trabajadoras activas (44)
Embarazadas, Menstruantes, Usuarias De Anticonceptivos o Menopáusicas.
REVISTA COLOMBIANA DE OBSTETRICIA Y GINECOLOGÍA.
2003;(53(3) 146-156).

11. Casida J, Quistad G. Toxicología organofosforados: aspectos de seguridad de
los objetivos secundarios nonacetylcholinesterase. Chem Res Toxicol. (18)
2004;(17 : 983-998.).

12. Compston JE, Vedi S, Stephen AB, et al. Reduced bone formation after (40)
exposure to organophosphates. Lancet. 1999 Nov 20. 354(9192):1791-2. .

13. Curtis L. Organophosphate antagonism of the androgen receptor. Toxicol Sc. (29)
2001;(60, 1–2).

14. Debost-Legrand A, et al.. Prenatal exposure to persistent organic pollutants (45)
and organophosphate pesticides, and markers of glucose metabolism at birth.
Environ Res. 2016;(146: 207-17. doi: 10.1016 / j.envres.2016.01.005.).

15. Del Prado-Lu J. Pesticide exposure, risk factors and health problems among (26)
cutflower farmers: a cross sectional study. J Occupat Med Toxicol. 2007;(2–
9).

16. Dinham, B. The Pesticide Hazard, A Global Health and Environmental Audit. (46)
Zed Books: London & New Jersey 1993, p. 39. .

17. Eskenazi B, et al.. Toxicidad de los plaguicidas y el cerebro en desarrollo. (19)
Clin Pharmacol básica Toxicology. 2008;(102 : 228-236).

18. Garry V, Harkins M, Erickson L, LongSimpson L, Holland S, Burroughs B.
Birth defects, season of conception, and sex of children born to pesticide (28)
applicators living in the Red River Valley of Minnesota, USA. Environ

Health Perspect. 2002;(Suppl 3:441-9).

19. Gbaruko B, Ogwo E, Igwe J, Yu H. Organophosphate induced chronic neurotoxicity: Health, environmental and risk exposure issues in developing nations of the World. *Afr J Biotechnol.* 2009;(8 (20), 5137–5141). (6)
20. Gunnell D, Eddleston M, Phillips M, Konradsen F. The global distribution of fatal pesticide self-poisoning: Systematic review. *BMC Public Health.* 2007;(7:357). (14)
21. Harley K, et al.. Association of organophosphate pesticide exposure and paraoxonase with birth outcome in Mexican-American women. *Plos ONE.* 2011;(6 (8), e23923). (9)
22. Hernández A, Gómez A, Pérez V, García-Lario J, Pena G, Gil F, et al. Influence of exposure to pesticides on serum components and enzyme activities of cytotoxicity among intensive agriculture farmers. *Environ Res.* 2006;(102, 70–76). (3)
23. Iglesias Almanza NR, Guirola de la Parra J, Pérez Assef H, Fernández Gutiérrez R, Herrera Collado R. Trastornos de la coagulación en el embarazo. *MedCiego [revista en Internet].* 1996 [citado 17 Mar 2010];2(1):[aprox. 17p]. (13)
Disponibile en: <http://bvs.sld.c.> .
24. Jaacks L, Boyd D, Sundaram R, Grewal J, Zhang C, Buck-Louis G. Pre-Pregnancy Maternal Exposure to Persistent Organic Pollutants and Gestational Weight Gain: A Prospective Cohort Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2016; 9(13): p. E905. (21)
25. Jaga K, Dharmani C. Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticides. *Pan American journal of public health.* 2003;(14(3):171-85). (10)

26. Kwong T. Organophosphate pesticides: biochemistry and clinical toxicology. (11)
Therapeutic drug monitoring. 2002;(24(1):144-9.).
27. Levario-Carrillo M, Ostrosky-Wegman M, Amato D, Ostrosky-Wegman P, (7)
González-Horta C, Corona Y, et al. Relation between pesticide exposure and
intrauterine growth retardation. Chemosphere. 2004;(55 (10), 1421–1427).
28. Lotti M, Becker CE, Aminoff MJ. Organophosphate polyneuropathy:
pathogenesis and prevention. Neurology. 1984 May. 34(5):658-62. [Online]. (37)
29. Mantovani A, Maranghi F, La Rocca C, Tiboni G, Clementi M. The role of (1)
toxicology to characterize biomarkers for agrochemicals with potential
endocrine activities. Reprod Toxicol. 2008;(26 (1), 1–7).
30. Matysiak M, Kruszewski M, Jodlowska-Jedrych B, Kapka-Skrzypczak L. (20)
Effect of Prenatal Exposure to Pesticides on Children's Health. J Environ
Pathol Toxicol Oncol. 2016; 4(35): p. 375-386.
31. Mendelson C. Minireview: fetal-maternal hormonal signaling in pregnancy (12)
and labor. Mol Endocrinol. 2009;(23 (7), 947–954).
32. Mitro S, et al.. Cumulative Chemical Exposures During Pregnancy and Early (43)
Development. Curr Environ Health Rep. 2015;(2(4): 367–378.).
33. National Crime Records Bureau. Ministry of Home Affairs, Government of
India. 2010. (16)
34. National Institutes of Health. Pesticides. [Online].; 2017 [cited 2017 april.
Available from: <https://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pesticides/>. (36)
35. Ni L, Shao T, Tao H, Sun Y, Yan S, Gu C, et al. Effect of parents' (22)
occupational and life environment exposure during six months before

pregnancy on executive function of preschool children. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 2016; 2(50).

- 36.** Prem-Raj S. Biochemistry class note. [Online].; 2015 [cited 2017 april 2. (32)
Available from:
<http://edusanjalbiochemist.blogspot.com/2015/12/photometry-principle-applications-and.html>.
- 37.** Rastogi SK,SVK, Kesavachandran C, Jyoti- Siddiqui M, Mathur N, Bharti R. (4)
Monitoring of plasma butyrylcholinesterase activity and hematological parameters in pesticide sprayers. *Indian J Occup Environ Med*. 2008;(12 (1), 29).
- 38.** Recio R, Ocampo-Gómez G, Morán-Martínez J, Borja-Aburto V, López- (2)
Cervantes M, Uribe M, et al. Pesticide exposure alters follicle-stimulating hormone levels in Mexican agricultural workers. *Environ Health Perspect*. 2005;(113, 1160–1163.).
- 39.** Rezg R, et al. Malathion exposure modulates hypothalamic gene expression (5)
and induces dyslipidemia in Wistar rats. *Food Chem Toxicol*. 2010;(48 (6), 1473–1477).
- 40.** Rodriguez C, Garzón M, Parra Serna RA, Mojica Mejia A. concentracion de (23)
colinesterasa eritrocitaria en cultivadores de tomate en invernadero expuestos a plaguicidas organofosforados en villa de leyva de julio de 2007 a julio de 2008. *Salud Historia Sanidad*. 2010 Agosto; 5(1).
- 41.** Sánchez-Chávez , G , Salceda R. Enzimas Polifuncionales: El Caso De La (24)
Acetilcolinesterasa*. *REB*. 2008; 2(27): p. 44-51.
- 42.** Simoni R, et al.. Probably the most important instrument ever developed (33)
towards the advancement of bioscience. *Journal Of Biological Chemistry*.

2003; 278(49).

43. Srivastava A, Peshin S, Kaleekal T, Gupta S. An epidemiological study of poisoning cases reported to the National Poisons Information Centre, All India Institute of Medical Sciences, New Delhi. *Hum Exp Toxicol.* 2005;(24:279–85). (15)
44. Sung JJ, Kim SJ, Lee HB, et al. Anticholinesterase induces nicotinic receptor modulation. *Muscle Nerve.* 1998 Sep. 21(9):1135-44. [Online]. (38)
45. Thomas D, Petitti D, Goldhaber M, Swan S, Rappaport E, Hertz-Picciotto I. Reproductive outcomes in relation to malathion spraying in the San Francisco Bay Area, 1981-1982. *Epidemiology.* 1992;(3 (1), 32–39). (8)
46. Whittaker A. The specificity of the plasma enzyme and its relation to the erythrocyte cholinesterase. *Biochimica et Biophysica Acta.* 2010; 4(358-366). (30)

BASE DE DATOS UTA

47. SCOPUS Pérez,Juan; Olivera,Martha; Ruiz, María; Villar,David; Giraldo,Carlos. SCOPUS. [Online].; 2012 [cited 2017 Agosto 22. Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84865800751&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=colinesterasa&st2=&sid=c565e1f924f836a3835099fb00327216&sot=b&sdt=b&sl=28&s=TITLE-ABS-KEY%28colinesterasa%29&relpos=2&citeCnt=0&searchTerm=> (47)
48. 48. SCOPUS Vázquez, de Alba; Muñoz, Ena; Such,Ronda; Bonet,Almenar; Ferrer, Graells. SCOPUS. [Online].; 2000 [cited 2017 Agosto 22. Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-0034220815&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=colinesterasa&st2=&sid=c565e1f924f836a3835099fb00327216&sot=b&sdt=b&sl=28&s=TITLE-ABS-> (48)

KEY%28colinesterasa%29&relpos=16&citeCnt=0&searchTerm=

- 49.** SCOPUS McDermott, C; Gray, S. SCOPUS. [Online].; 2012 [cited 2017 Agosto 22. Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84859711747&origin=resultslist&zone=contextBox>.
- 50.** SCOPUS Maia, A; Pérez López, M; Soler Rodríguez, F. SCOPUS. [Online].; 2012 [cited 2017 Agosto 22. Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-84934270269&origin=resultslist&zone=contextBox>.
- 51.** SCOPUS Carmona,Fonseca. SCOPUS. [Online].; 2007 [cited 2017 Agosto 22. Available from: <https://www.scopus.com/record/display.uri?eid=2-s2.0-35549006708&origin=resultslist&sort=plf-f&src=s&st1=colinesterasa&nlo=&nlr=&nls=&sid=7f644be364338cd44ddbc4023bddd896&sot=b&sdt=sisr&sl=28&s=TITLE-ABS-KEY%28colinesterasa%29&ref=%28cholinesterase%29&rel>

ANEXOS

Encuesta



UNIVERSIDAD TECNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLINICO



INTRUCCIONES:

- Señalar una de las alternativas de cada una de la preguntas presentadas.
- La información que usted consigne en la encuesta es de carácter confidencial, y será utilizado exclusivamente como referente en el desarrollo de la investigación

DATOS PERSONALES

NOMBRE	EDAD
OCUPACION	LUGAR DE RESIDENCIA
ESTADO CIVIL	

1. ¿Tipos de Plaguicidas que ocupan?

1.1 Organofosforados: (paration, diclorvos, diazinon, fenitroion, fention, malation, metil)

Siempre A veces Casi nunca Nunca

1.2 Carbamatos: (aldicarb, propoxur, benomyl, carbaryl, carburan)

Siempre A veces Casi nunca Nunca

2. ¿Se ha informado sobre el riesgo del uso de pesticidas?

Siempre A veces Casi nunca Nunca

3. ¿Cada que tiempo fumiga sus cultivos?

Siempre A veces Casi nunca Nunca

4. ¿Ocupa mascarilla, guantes, gafas u overoles al estar expuesta a plaguicidas?

Siempre A veces Casi nunca Nunca

5. ¿Después de ocupar pesticidas se asean y cambian de ropa?

Siempre A veces Casi nunca Nunca

6. ¿Durante el embarazo tuvo contacto con plaguicidas?

Siempre A veces Casi nunca Nunca

7. ¿Alguna vez algún tipo de plaguicida ha causado alguna reacción alérgica?

Siempre A veces Casi nunca Nunca

8. ¿Los recipientes de plaguicidas los elimina en lugares especiales?

- Siempre A veces Casi nunca Nunca

9. ¿Después de fumigar los cultivos usted espera un tiempo para ingresar al área donde se fumigó?

- Siempre A veces Casi nunca Nunca

10. ¿Al estar expuesta a plaguicidas usted ha presentado dolor de cabeza, dolor intestinal ardor de los ojos o algún problema dermatológico?

- Siempre A veces Casi nunca Nunca

11. ¿Qué tiempo está usted expuesta a plaguicidas ?

- 1 año 3 años 6 años más de 10 años

12. ¿Se ha realizado un examen de Colinesterasa Eritrocitaria?

- Siempre A veces Casi nunca Nunca

Consentimiento informado



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**



DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA REALIZACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN: “DETERMINACIÓN DE COLINESTERASA ERITROCITARIA EN MUJERES DE EDAD FÉRTIL Y EMBARAZADAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS”

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

ADRIANA CAROLINA CAÑAR ROBALINO

INSTITUCIÓN DONDE SE REALIZARÁ EL ESTUDIO:

LABORATORIO CLÍNICO ALMOLAB
LABORATORIO CLÍNICO UTA-LAB.

El propósito de esta ficha de consentimiento informado es brindar a los participantes de esta investigación una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por Adriana Carolina Cañar Robalino. Estudiante de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Técnica de Ambato. El objetivo de la investigación es determinar los niveles de Colinesterasa Eritrocitaria en mujeres de edad fértil y embarazadas expuestas a plaguicidas.

La participación en este estudio es estrictamente voluntaria.

La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación.

Sus nombres serán codificados por lo tanto será estrictamente confidencial.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él.

Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma. Desde ya agradecemos su participación.

Acepto participar voluntariamente en la investigación, conducida por Adriana Carolina Cañar Robalino.

He sido informado(a) que el objetivo de esta investigación es determinar los niveles de Colinesterasa Eritrocitaria en mujeres de edad fértil y embarazadas expuestas a plaguicidas.

Reconozco que la información que yo provea en el curso de esta investigación es estrictamente confidencial y no será usada para ningún otro propósito fuera de los de este estudio si mi consentimiento He sido informado de que puedo hacer preguntas sobre el proyecto en cualquier momento y que puedo retirarme del mismo cuando a sí lo decida, sin que esto acarree perjuicio alguno para mi persona.

Detener preguntas sobre mi participación en este estudio, puedo contactar a Adriana Cañar al teléfono 0979093705

Entiendo que una copia de esta ficha de consentimiento me será entregada ,y que puedo pedir información sobre los resultados de este estudio cuando éste haya concluido.

Nombre del Participante

Firma del Participante

Fecha

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

Fotos



Equipo utilizado para Colinesterasa Eritrocitaria



Aplicación de la encuesta



Toma de muestras mujeres embarazadas



Reunión de la población



Toma de muestras a las mujeres en edad fértil



Toma de muestra mujeres

