

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

**Posgrado en Ciencias Biológico-Agropecuarias
Especialidad en Ciencias Ambientales**



**Actividad enzimática de colinesterasas y su asociación con
parámetros bioquímicos y polimorfismos en genes de
enzimas que biotransforman plaguicidas en fumigadores
urbanos de Nayarit**

TESIS

Que para obtener el título de Maestra en Ciencias

Presenta:

Q.F.B Iris Betzaida Molina Pintor

Directora

Dra. Briscia Socorro Barrón Vivanco

Co-Directora

Dra. Yael Yvette Bernal Hernández

Xalisco, Nayarit, enero de 2017.

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Contaminación y Toxicología Ambiental de la Universidad Autónoma de Nayarit, bajo la dirección de la Dra. Briscia Socorro Barrón Vivanco y la codirección de la Dra. Yael Yvette Bernal Hernández, con el financiamiento del fondo sectorial CONACyT- SALUD-2014-1-233803.

AGRADECIMIENTOS

A mi hija Melodie, por todas las horas de ausencia que he tenido con ella; porque a pesar de todo, ella siempre me recibió con un abrazo, un te extrañé y un te amo. Hasta la fecha, me parte el corazón cuando ves la Universidad y me preguntas que sí aún vivo ahí. TE AMO hija, espero que algún día leas esto y sepas que todas esas noches, en las cuales no tenía como responderte más que llorando a tu lado tuvieron un gran fruto.

A mis padres, porque siempre he contado con su apoyo, siempre me han motivado a seguir adelante y a superarme, son un gran ejemplo a seguir. Les agradezco el gran apoyo que me han dado con mi hija durante este tiempo. Por las ocasiones en las que más que ser abuelos tuvieron que ser padres. Espero contar con su apoyo por muchísimo tiempo. LOS AMO.

A mis hermanos Rafael y Kevin, por su gran apoyo durante estos dos años. Rafael, muchas gracias por todas esas ocasiones que venias ayudarme con mis impedimentos físicos. Kevin, muchas gracias por ser más que un tío para Melodie. No sé qué hubiera hecho sin ustedes durante todo este proceso, quizás sin ustedes y mis papás me hubiera rendido muy pronto. LOS AMO HERMANOS.

A Seúl Lira, porque en dos años solo tuvimos la oportunidad de vernos aproximadamente 30 días. Agradezco enormemente el apoyo que me has demostrado siempre, por tu amor y paciencia. Siempre trate de dar lo mejor de mí para concluir este proyecto, porque quería que la distancia entre nosotros valiera la pena. Espero que los años siguientes podamos reencontrarnos como pareja y sí no llegase a ser posible, espero que sigamos siendo grandes amigos. TE AMO “And when you smile the whole world stops and stares for a while”.

A mi Tata y Nana, porque prometí visitarlos cuando terminara el proyecto, lamentablemente no alcanzo la vida para esto. Un beso y abrazo hasta cielo, espero que hasta allá se sientan orgullosos de mí.

Al posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias, por haberme dado la oportunidad de CUMPLIR MIS METAS, así como también por las atenciones que en su momento necesité.

A la Dra. Briscia. No tuve la suerte de tenerla como maestra en la carrera pero agradezco que me aceptara como estudiante sin conocerme. Le agradezco que a lo largo de estos dos años me tuvo muchísima paciencia, me demostró apoyo y me brindo diversas oportunidades para ampliar mi conocimiento. Además, en Usted más que mi tutora de tesis, me sentía con el apoyo de una amiga. Gracias por demostrarme que aun siendo madre con paciencia y dedicación podía cumplir mis metas. Gracias por presentarme este mundo tan bello, complicado y emocionante que es la investigación.

A la Dra. Yael, por estar siempre pendiente y apoyarme con mi proyecto. Porque a pesar de tener poco tiempo, siempre me daba un espacio para poder ayudarme. Y sobre todo, que sin ser madre, siempre trato de comprenderme y apoyarme de la mejor manera posible.

A las Dras. Aurora, Irma Martha y Cyndia, por sus asesorías, consejos, recomendaciones y sobre todo por la paciencia que me tuvieron tanto en clases como en seminarios.

A todo el equipo del laboratorio de Contaminación y Toxicología Ambiental: Mayrita, Sandrita, Faby y Doña Rosita por el apoyo que tuvieron durante estos dos años. Muchas gracias por todo.

A mis compañeros y amigos de laboratorio: Paco, Néstor, Carmelita, Fátima, Gil, Alma, Rigoberto, Gustavo, Pier, Mirna, Emmanuell y Poncho por todos los buenos momentos que compartimos, por el apoyo tanto académico como personal que me brindaron durante estos dos años. Espero siempre contar con su apoyo y recuerden que en mi tienen una gran amiga.

A mis amigos, por todo el apoyo que me han demostrado, por todas esas ocasiones en las cuales me escucharon y me motivaron a seguir adelante. Adrián y Bere,

ustedes son como mis angelitos de la guarda apoyándome y cuidando de mí, los quiero muchísimo. Snapo y Tamara quienes desde Alemania me animaron cuando lo necesite. A Xochilt, por no dejar que olvidara quien soy en verdad, por ayudarme a mantener la calma sin perderme en el camino y sobre todo por mantener mi corazón bailarín vivo. Paul, han pasado 15 años desde que nos hicimos amigos, ni la distancia, ni las parejas han marchitado nuestra amistad, gracias por tu apoyo, por tus regaños y por confiar en mí. Roberto, desde que entre la Universidad hasta la actualidad me has apoyado incondicionalmente Muchas gracias a todos, LOS QUIERO MUCHISIMO.

A la Red Temática de Toxicología de Plaguicidas por el apoyo brindado (CONACyT, México: #233803, #253789, #280040).

A CONACyT por la beca otorgada durante los dos años del posgrado, además del proyecto de Salud del cual formó parte esta investigación.

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a mi hija Melodie, a mis padres, a mis hermanos, a Seúl, maestros y a mis amigos, que gracias a su apoyo, he podido lograr culminar este proyecto.

“La felicidad se puede hallar hasta en los momentos más oscuros si uno recuerda encender la luz.”

J. K. Rowling

ÍNDICE

| | |
|--|------|
| RESUMEN | ix |
| ABSTRACT | xi |
| ÍNDICE DE FIGURAS | xiii |
| ÍNDICE DE TABLAS | xiv |
| LISTA DE ABREVIATURAS | xv |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1 Plaguicidas organofosforados..... | 2 |
| 1.1.1 Efectos de los POF sobre la salud humana..... | 3 |
| 1.3 Biomarcadores..... | 4 |
| 1.3.1 BuChE como biomarcador de exposición a POF..... | 4 |
| 1.3.2. AChE como biomarcador de efecto a POF..... | 5 |
| 1.3.3 Polimorfismos genéticos como biomarcadores de susceptibilidad y su relevancia en la biotransformación de plaguicidas..... | 5 |
| 1.3.3.1 Polimorfismo genético de PON1 Q192R..... | 6 |
| 1.3.3.2 Polimorfismos genéticos de los citocromos P450..... | 7 |
| 1.4 Parámetros bioquímicos y exposición a plaguicidas..... | 9 |
| 2. JUSTIFICACIÓN | 10 |
| 3. HIPÓTESIS | 11 |
| 4. OBJETIVO GENERAL | 11 |
| 4.1 Objetivos específicos..... | 11 |
| 5. MATERIALES Y MÉTODOS | 12 |

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 5.1 | Diseño de estudio..... | 12 |
| 5.2 | Recolección y procesamiento de muestras..... | 13 |
| 5.3 | Determinaciones analíticas..... | 13 |
| 5.3.1 | Actividad enzimática de BuChE..... | 13 |
| 5.3.2 | Actividad enzimática de AChE..... | 14 |
| 5.4 | Determinación de genotipos..... | 16 |
| 5.4.1 | Extracción de ADN..... | 16 |
| 5.4.2 | Determinación de los polimorfismos genéticos a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real..... | 17 |
| 5.5 | Análisis estadístico..... | 19 |
| 6. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 20 |
| 6.1 | Características generales de la población de estudio..... | 20 |
| 6.2 | Exposición a plaguicidas y actividad de colinesterasas..... | 24 |
| 6.3 | Parámetros bioquímicos, colinesterasas y nivel de exposición..... | 30 |
| 6.3.1 | Parámetros bioquímicos, BuChE y nivel de exposición..... | 33 |
| 6.3.2 | Parámetros bioquímicos, AChE y nivel de exposición..... | 39 |
| 6.4 | Polimorfismos genéticos como modificadores de la toxicidad de los POF.. | 44 |
| 6.4.1 | Genotipos y actividad de colinesterasas..... | 48 |
| 6.4.2 | Combinaciones de los genotipos de <i>PON1 Q192R</i> , <i>CYP1A2*1F</i> , <i>CYP2B6*22</i> , <i>CYP2D6*4</i> y actividad de las colinesterasas..... | 50 |
| 7. | CONCLUSIONES..... | 55 |
| 8. | PERSPECTIVAS..... | 57 |
| 9. | REFERENCIAS..... | 58 |

RESUMEN

En las últimas décadas, se ha observado un aumento en el uso de los plaguicidas de manera indiscriminada en diferentes sectores, debido a esto, surge la necesidad de evaluar los efectos adversos en poblaciones ocupacionalmente expuestas, las cuales comúnmente utilizan plaguicidas organofosforados (POF). El principal mecanismo de acción de estos compuestos, es la inhibición de las colinesterasas; butirilcolinesterasa (BuChE) y acetilcolinesterasa (AChE), asimismo, algunos estudios han reportado variaciones en algunos parámetros clínicos. La inhibición de las colinesterasas podría ser modulada por la presencia de polimorfismos genéticos de las enzimas que participan en la biotransformación de los POF como la paraoxonasa 1 (PON1) y diversos citocromos (CYP450). La presencia de algunos polimorfismos podría determinar la susceptibilidad ante la exposición a estos compuestos. En este estudio se evaluó la actividad de las enzimas BuChE y AChE, parámetros clínicos, presencia de los polimorfismos genéticos de *PON1 Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22* y *CYP2D6*4* en fumigadores urbanos del estado de Nayarit. La actividad de las colinesterasas se evaluó utilizando el método de Ellman, los parámetros clínicos fueron determinados por un laboratorio certificado y los polimorfismos a través de PCR en tiempo real. Los resultados de este estudio mostraron que la media de las actividades de BuChE (5550.8 U/L) y AChE (19.7 U/g) se encontraron dentro de los valores de referencia, sin embargo, algunos de los participantes presentaron valores por debajo de los valores normales para BuChE y AChE, 48.1 y 19.5%, respectivamente. Ambas colinesterasas mostraron correlaciones con los parámetros bioquímicos dependiendo del índice de masa corporal (IMC) de los participantes. En cuanto a los polimorfismos, los genotipos más frecuentes en la población de estudio fueron QQ (0.50) de *PON1 Q192R*, AA (0.51) de *CYP1A2*1F*, TT (0.99) de *CYP2B6*22*, y *1/*1 (0.79) de *CYP2D6*4*. No se observaron diferencias en la actividad de las colinesterasas por genotipos ni por nivel de exposición. Sin embargo, por combinaciones genotípicas, se observó en el grupo de moderada exposición una menor actividad de BuChE en los portadores de la combinación QQ/TT y una mayor actividad en los portadores de RR/TT de los

polimorfismos *PON1* Q192R/*CYP2B6**22, y en el grupo de baja exposición se observó en los portadores de la combinación AA/TT tienen una menor actividad de BuChE con respecto a los portadores de CA/TT de los polimorfismos *CYP1A2**1F/*CYP2B6**22. Los resultados obtenidos en este trabajo, sugieren que las variaciones clínicas presentes en la población de estudio, podrían estar relacionadas a la actividad de las colinesterasas, y la inhibición de éstas podrían estar asociadas además de la exposición a plaguicidas, a los polimorfismos y el IMC de los participantes.

ABSTRACT

In the last decade, there has been an increase in the indiscriminate use of pesticides in different sectors. Due to this problem, the need to assess the adverse effects of this in occupationally exposed populations, who commonly employ organophosphorus pesticides (OP), arises. The main mechanism of action of these compounds is cholinesterase inhibition, specifically butyrylcholinesterase (BuChE) and acetylcholinesterase (AChE). In addition, some studies have reported variation in some clinical parameters. Cholinesterase inhibition could be modulated by the presence of genetic polymorphisms of the enzymes involved in the biotransformation of OP, such as Paraoxonase 1 (PON1) and some cytochromes (CYP). The presence of some polymorphisms could determine susceptibility to exposure in these compounds. In this study, the activity of enzymes BuChE and AChE, clinical parameters, and the presence of the genetic polymorphisms of PON1 Q192R, CYP1A2*1F, CYP2B6*22, and CYP2D6*4 in urban fumigators of the state of Nayarit were evaluated. The activity of cholinesterases was evaluated utilizing the Ellman method; clinical parameters were determined by a certified laboratory and polymorphisms, through real-time PCR. The results of this study showed that the mean of BuChE (5550.8 U/L) and AChE (19.7 U/g) activities fell within the reference values; however, some participants presented values below the normal values for BuChE and AChE: 48.1 and 19.5%, respectively. Both cholinesterases showed correlations with biochemical parameters, depending on the participant's body mass index (BMI). In the case of polymorphisms, in the study population the most frequent genotypes were QQ (0.50) of PON1 Q192R, AA (0.51) of CYP1A2*1F, TT (0.99) of CYP2B6*22 and *1/*1 (0.79) of CYP2D6*4. No differences were observed in cholinesterase activity by genotype or exposure level. However, by genotypic combinations, the group of moderate exposure exhibited lower BuChE activity in carriers of the QQ/TT combination and higher activity in RR/TT carriers of PON1 Q192R/CYP2B6*22 polymorphisms, while the low exposure group exhibited lower BuChE activity in carriers of the AA/TT combination with respect to CA/TT carriers of CYP1A2*1F/CYP2B6*22 polymorphisms. The results obtained in this work suggest

that the clinical variations in the study population could be related to cholinesterase activity, and their inhibition could be associated with exposure to pesticides, polymorphisms and the BMI of the study participants.

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Estructura química general de los POF..... | 2 |
| Figura 2. Mecanismo de acción de los POF..... | 3 |
| Figura 3. Biotransformación de clorpirifos en animales..... | 6 |
| Figura 4. Actividad de las colinesterasas en la población de estudio..... | 25 |
| Figura 5. Actividad BuChE en fumadores y no fumadores de la población de estudio..... | 29 |
| Figura 6. Concentración de albúmina en personas con peso normal..... | 30 |
| Figura 7. Parámetros bioquímicos por nivel de exposición en personas con sobrepeso..... | 31 |
| Figura 8. Parámetros bioquímicos por nivel de exposición en personas con obesidad..... | 32 |
| Figura 9. Combinaciones genotípicas de los polimorfismos determinados en la población de estudio..... | 51 |
| Figura 10. Actividad de AChE estratificada por combinaciones genotípicas de <i>PON1Q192R/CYP2D6*4</i> en individuos con peso normal..... | 54 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1. Secuencia de oligonucleótidos y sondas TaqMan..... | 18 |
| Tabla 2. Características generales de la población de estudio..... | 21 |
| Tabla 3. Frecuencia de uso de equipo de protección personal en la población de estudio..... | 23 |
| Tabla 4. Plaguicidas utilizados por la población de estudio..... | 24 |
| Tabla 5. Actividad de colinesterasas estratificadas por IMC, sexo, edad y antigüedad laboral..... | 27 |
| Tabla 6. Correlaciones entre la actividad de BuChE y parámetros bioquímicos..... | 35 |
| Tabla 7. Correlaciones entre la actividad de BuChE y parámetros renales..... | 36 |
| Tabla 8. Correlaciones entre la actividad de BuChE y parámetros hepáticos..... | 38 |
| Tabla 9. Correlaciones entre la actividad de AChE con glucosa y parámetros lipídicos..... | 40 |
| Tabla 10. Correlaciones entre la actividad de AChE y parámetros renales..... | 41 |
| Tabla 11. Correlaciones entre la actividad de AChE y parámetros hepáticos..... | 43 |
| Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas de la población de estudio..... | 46 |
| Tabla 13. Análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg para los genotipos determinados en este estudio..... | 47 |
| Tabla 14. Actividad de colinesterasas estratificada por genotipos en la población..... | 48 |
| Tabla 15. Actividad BuChE por nivel de exposición estratificada por combinaciones genotípicas entre <i>PON1 Q192R</i> y polimorfismos de CYP450..... | 52 |
| Tabla 16. Actividad BuChE por nivel de exposición estratificada por combinaciones genotípicas de polimorfismos de CYP450..... | 53 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------------|-------------------------------------|
| ACh | Acetilcolina |
| AChE | Acetilcolinesterasa |
| ADN | Ácido desoxirribonucleico |
| BuChE | Butirilcolinesterasa |
| CB | Carbamatos |
| CYP | Citocromos |
| DTNB | Ácido 5,5-ditiobis-2-nitrobenzoico |
| EDTA | Ácido etilendiaminotetraacético |
| GGT | Gamma glutamil transferasa |
| GP | Glucógeno fosforilasa |
| HDL | Lipoproteínas de muy alta densidad |
| IC | Intervalo de confianza |
| IMC | Índice de masa corporal |
| LDL | Lipoproteínas de baja densidad |
| MG | Media geométrica |
| PCR | Reacción en cadena de la polimerasa |
| POF | Plaguicidas organofosforados |
| POC | Plaguicidas organoclorados |
| PON1 | Paraoxonasa 1 |
| TGO | Aspartato aminotransferasa |
| TGP | Alanina aminotransferasa |
| VLDL | Lipoproteínas de muy baja densidad |

1. INTRODUCCIÓN

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO), los plaguicidas son sustancias o mezclas de las mismas, producidas de manera sintética o natural; estos compuestos son destinados a prevenir, mitigar, repeler o evitar el crecimiento o desarrollo plagas, que incluyen vectores de enfermedades humanas y de animales (FAO, 2014). Estos compuestos se pueden clasificar de acuerdo a su uso en diversos sectores, tales como salud pública, comercio, uso doméstico y principalmente el sector agrícola (USEPA, 2014). También se pueden clasificar de acuerdo a su origen químico, en organofosforados (POF), carbamatos (CB), organoclorados (POC), piretroides, derivados de biperidilio, triazinas, tiocarbamatos, derivados de ácido fenoxiacético, derivados de cumarina, derivados del cloronitrofenol, compuestos organomercuriales, entre otros (Pacsí y cols., 2005).

De acuerdo a la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos de América (USEPA, por sus siglas en inglés) (2014), la principal fuente de exposición a estos compuestos es de tipo laboral; debido a la naturaleza de su trabajo, el cual involucra contacto directo con los plaguicidas, los agricultores y fumigadores son algunos de los grupos más vulnerables.

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO), en México entre el año 2009 y 2010, se usaron en promedio 4.55 toneladas de plaguicidas por cada 1000 hectáreas, y en el 2013, se emplearon 37,455 toneladas de insecticida; 31,195 toneladas de herbicidas y 42,223 toneladas de fungicidas (FAO, 2016).

El panorama histórico de morbilidad y mortalidad por intoxicación con plaguicidas en México, entre 1992 a 2012, ubicó a Nayarit dentro de los estados con mayor tasa de intoxicación por plaguicidas. En ese sentido, Nayarit ocupó el primer lugar nacional con una tasa de 75.3 en el año 1995 y al final del 2012, ocupó el segundo lugar con una tasa de 11.6 (SINAVE/DGE/SUAVE, 2013). González-Arias y cols. (2010), describieron que la zona centro y norte del estado de Nayarit, presentaban mayor actividad agrícola y comercialización de plaguicidas que el resto del estado.

Asimismo, reportaron que el 71.4% de los plaguicidas utilizados Nayarit son clasificados como la (extremadamente peligrosos) y Ib (altamente peligrosos). Además, observaron que durante el verano había un incremento en la demanda de plaguicidas, principalmente de herbicidas, mientras que, en el periodo otoño-invierno se incrementó el uso de insecticidas POF (52%), seguido de piretroides (26.4%), CB (13.2%) y POC (8.4%).

1.1 Plaguicidas organofosforados

Los POF son ésteres del ácido fosfórico o fosforotioico que contienen en su estructura un fósforo central unido a 4 oxígenos, uno de ellos unido por un doble enlace, dos cadenas cortas alifáticas (etilo o metilo) y un grupo saliente (alcoxi, fenoxi y grupos aromáticos) (Figura 1). De acuerdo a su estructura, se pueden clasificar como fosfatos, fosfonatos, fosfinatos, fosforotioatos, fosfonotioatos, fosforoditioatos, fosforotritioatos y fosforamidotioatos (Abou-Donia y Lapadula, 1990; Gupta, 2006).

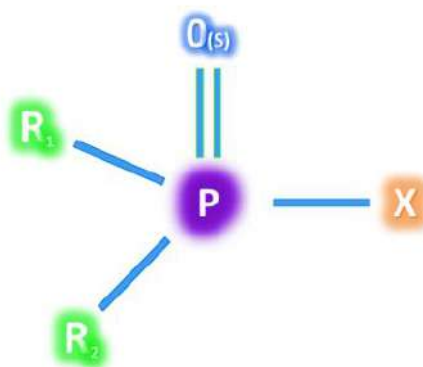


Figura 1. Estructura química general de los POF.

Los POF son ampliamente utilizados como insecticidas para el control de vectores transmisores de enfermedades, además junto con los CB son los más utilizados a nivel mundial en la agricultura (Pacsí y cols., 2005; Koureas y cols., 2014; Sunay y cols., 2015). En el ambiente se degradan por oxidación e hidrólisis, su vida media varía de días hasta 12 semanas (Ramírez y Lacasaña, 2001).

El mecanismo de acción de estos compuestos es a través de la inhibición de las enzimas acetilcolinesterasa (AChE) y butirilcolinesterasa (BuChE), por la forma activa de los POF denominada oxón (Figura 2). Estas colinesterasas son consideradas biomarcadores clásicos de la exposición a POF (Gupta, 2006).

La AChE, también conocida como colinesterasa eritrocitaria, es la responsable de la hidrólisis del neurotransmisor acetilcolina (ACh) en colina y ácido acético (Gupta, 2006). Cuando la AChE es inhibida por los POF, no es capaz de hidrolizar a la ACh, lo que provoca la acumulación del neurotransmisor en la unión sináptica y la interrupción de la transmisión normal del impulso nervioso. En el caso de la BuChE o colinesterasa sérica, se ha reportado que provee protección contra compuestos anticolinesterásicos como los POF, actuando como agente secuestrador al unirse a ellos y permitir la recuperación de la AChE (Steele y cols., 2015).

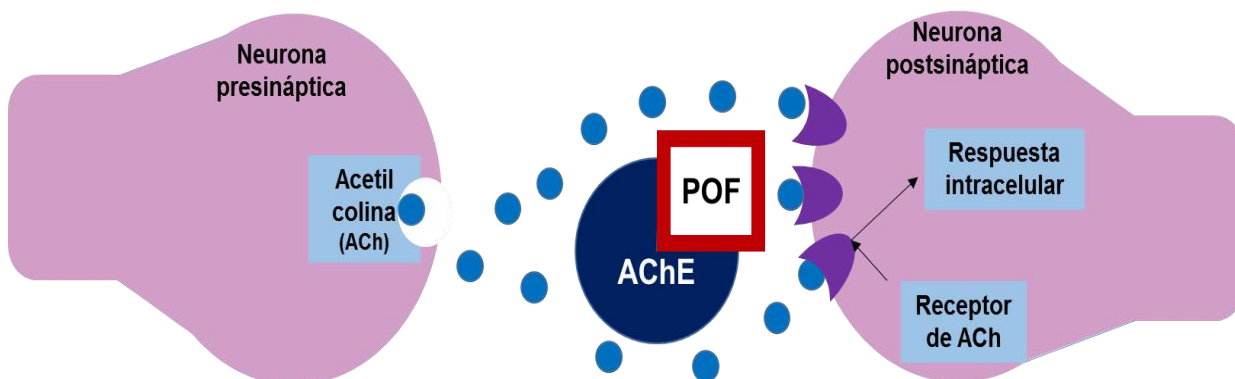


Figura 2. Mecanismo de acción de los POF.

1.1.1 Efectos de los POF sobre la salud humana

Se han clasificado dos tipos de exposición a plaguicidas: aguda (minutos u horas de exposición) y crónica (de meses hasta años). Los efectos agudos por exposición a POF se han asociado con la acumulación de ACh en las terminaciones nerviosas y la posterior sobreestimulación de los receptores muscarínicos, lo que causa incremento de la salivación, sudoración, lagrimeo, vómitos, diarrea, bajo ritmo cardíaco y desordenes visuales; y la sobreestimulación de los receptores nicotínicos, lo que deriva en contracciones musculares involuntarias y parálisis (Eleršek y Metka, 2011).

Por otro lado, la exposición crónica a plaguicidas se ha asociado con daño genotóxico, teratogénico, carcinogénico, neurotóxico, inmunotóxico, entre otros (Roldan-Tapia y cols., 2006; Blair y cols., 2009; Mostafalou y Abdollahi, 2013; Pamies y cols., 2014; Bolognesi y Holland, 2016). Estos efectos dependen de varios factores tales como el tiempo, intensidad y vía de exposición, tipo de compuesto, condiciones de trabajo, susceptibilidad genética, entre otros (Bolognesi, 2003).

1.3 Biomarcadores

Los biomarcadores son respuestas funcionales, fisiológicas o de comportamiento, que ocurren a nivel celular o molecular y que pueden estar asociadas con el desarrollo de alguna enfermedad (Arango, 2012). Se utilizan para medir la interacción entre un sistema biológico y un agente químico, físico o biológico en diferentes matrices como sangre, suero, plasma, orina, entre otras (Lock y Bonventre, 2008). Pueden ser utilizados para evaluaciones de riesgo ambiental y se clasifican en 3 grupos:

Biomarcadores de exposición: utilizados para evaluar la presencia de un xenobiótico, un metabolito o el producto de la interacción entre el xenobiótico y una molécula o célula diana (USEPA, 2016).

Biomarcadores de efecto: indicadores de los cambios en la función biológica en respuesta a la exposición a xenobióticos (OMS, 1993).

Biomarcadores de susceptibilidad genética: indican la capacidad individual inherente de un organismo para responder a la exposición a un xenobiótico, dentro de estos se encuentran los polimorfismos genéticos (Knudsen y Hansen, 2007).

1.3.1. BuChE como biomarcador de exposición a POF

La BuChE es una α -glicoproteína sintetizada en hígado y se encuentra en la mayoría de los tejidos, con excepción de los eritrocitos. Es conocida como colinesterasa sérica, plasmática, colinesterasa no específica, pseudocolinesterasa y acilcolina acilhidrolasa (Lockridge, 2015). Esta enzima ha sido descrita como un “scavenger” de compuestos, donde se incluyen algunos medicamentos y los POF, cuales se unen a través de un enlace covalente, en este proceso tanto la BuChE como los POF son

inactivados (Raveh y cols., 1993; Masson y Lockridge, 2010). La actividad de BuChE se ha utilizado ampliamente como biomarcador de exposición a compuestos anticolinesterásicos y se ha propuesto como un biomarcador más sensible que la AChE a ciertos POF incluidos clorpirifos, diazinón y malatión (Lotti, 2001; Masson y Lockridge, 2010).

1.3.2. AChE como biomarcador de efecto a POF

La AChE es una enzima que se sintetiza en tejido muscular y nervioso, está presente en eritrocitos, músculo esquelético, bazo, pulmón y terminaciones nerviosas. Es la enzima responsable de la hidrólisis del neurotransmisor ACh en la sinapsis del sistema nervioso central y periférico (Hall, 2011). Los inhibidores de la AChE se unen a ella e impiden la hidrólisis de ACh, lo cual conduce a la acumulación de ACh en la sinapsis nerviosa (Thapa y cols., 2017). La inhibición de la actividad AChE eritrocitaria se ha utilizado en estudios para indicar exposición aguda a POF y CB (Hall, 2011).

1.3.3 Polimorfismos genéticos como biomarcadores de susceptibilidad y su relevancia en la biotransformación de plaguicidas

La capacidad individual para biotransformar diversos xenobióticos como los plaguicidas, puede ser influenciada por la presencia de polimorfismos o variantes alélicas en los genes que codifican las enzimas que biotransforman estos compuestos, por lo tanto, pueden ser un factor importante en la susceptibilidad hacia los efectos adversos por exposición a plaguicidas (Simoniello y cols., 2010). Los polimorfismos genéticos se presentan como variaciones alélicas entre individuos de la misma especie. Un polimorfismo es considerado como tal, cuando la frecuencia de éste en una población es por lo menos del 1% (Checa, 2007).

Diversos estudios han propuesto la evaluación de la presencia de polimorfismos en los genes de las enzimas que biotransforman plaguicidas en poblaciones expuestas, tales como: *PON1Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22* y *CYP2D6*4* (Zukunft y cols., 2005; Davaalkham y cols., 2009; Ingelman-Sundberg y Sim, 2010; Singh y cols.,

2011a; Tian y cols., 2013; Zhuang y cols., 2014; Palatini y cols., 2015; Varela y cols., 2015).

Los oxones generados durante la biotransformación son responsables de la inhibición de las colinesterasas y a su vez, son hidrolizados por la paraoxonasa 1 (PON1) para facilitar su eliminación. Por ejemplo, el clorpirifos es biotransformado por el citocromo P450 (CYP450) CYP2D6, CYP2B6 y CYP1A2 (Mutch y cols., 1999; Eaton, 2008) y los metabolitos son hidrolizados por la PON1 a clorpirifos-oxón (Figura 3). Dado que estas enzimas son altamente polimórficas, alteraciones en la tasa de biotransformación de los POF podría impactar en la actividad de AChE y BuChE.

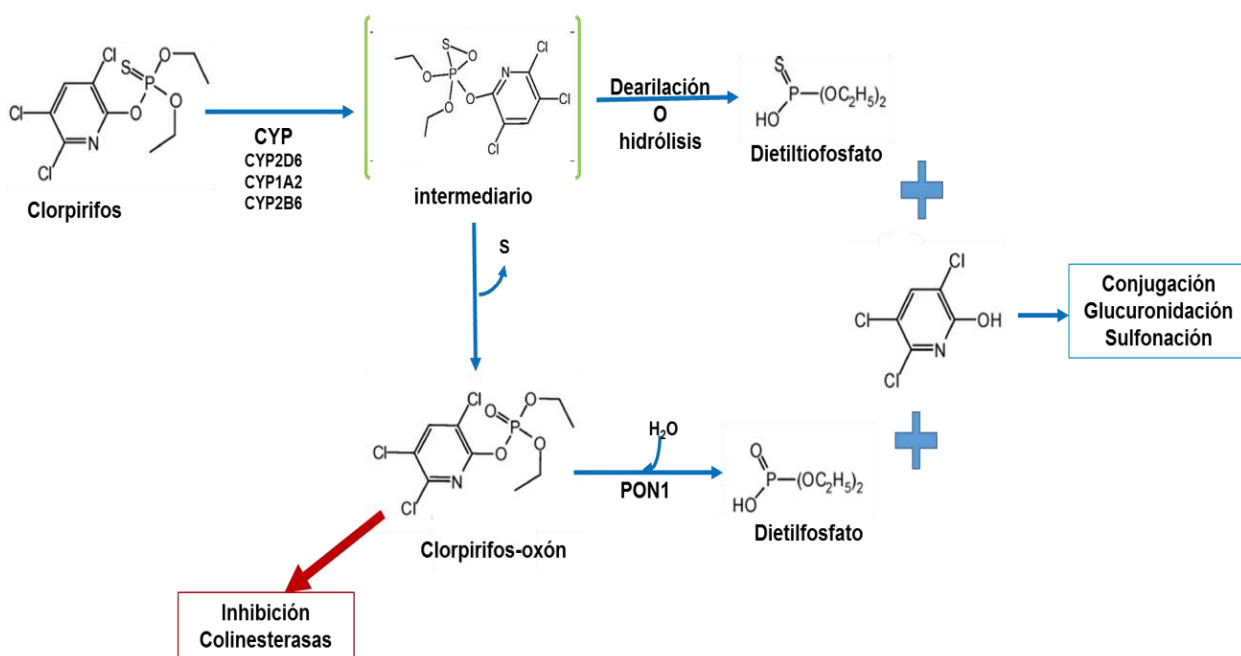


Figura 3. Biotransformación de clorpirifos en animales, imagen tomada de Eaton y cols. (2008) con modificaciones.

1.3.3.1 Polimorfismo genético de *PON1 Q192R*

La PON1 es una glucoproteína sintetizada principalmente en el hígado y una vez liberada en el torrente sanguíneo se une a lipoproteínas de alta densidad (HDL), está compuesta por 355 aminoácidos con un peso molecular de 43 kDa y se localiza en el cromosoma 7q21-22 (Hassett y cols., 1991). Esta enzima ha sido ampliamente

estudiada por su papel en la hidrólisis y desintoxicación de un gran número de POF (Wang y cols., 2011).

Se han descrito más de 200 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) en diferentes regiones del gen de *PON1* (Eom y cols., 2011). Dentro de los más estudiados, se encuentran los polimorfismos en la región codificante: leucina (L)/metionina (M) en la posición 55 y glutamina (G)/arginina (A) en la posición 192 (Leviev y cols., 2001). Éste último ha recibido más atención debido a que las dos variantes difieren en su afinidad y actividad catalítica (Li y cols., 2000). Estudios *in vitro* explican que la isoforma Q hidroliza diazinón, sarín y somán más lentamente que la isoforma R (Davies y cols., 1996). Este evento ha sido observado también en estudios epidemiológicos, en los que personas con el genotipo QQ son más susceptibles a la exposición a POF que aquellos con el genotipo RR (Akgür y cols., 2003; Lee y cols., 2003).

1.3.3.2 Polimorfismos genéticos de los citocromos P450

Los CYP450 son una súper familia de enzimas con un peso molecular entre 45 a 56 kDa, contienen en su sitio catalítico un grupo hemo. Están anclados a la membrana celular a través de una hélice de cadena N-terminal. Aproximadamente, el 90% de los CYP450 están presentes en la membrana del retículo endoplasmático liso y el resto en la membrana interna de la mitocondria; aunque también se han encontrado en algunos organelos como el aparato de Golgi, lisosomas, peroxisomas o membrana plasmática y nuclear (Chang y Kam, 1999; Tang y cols., 2001).

Los CYP450 son responsables de la oxidación de diversos xenobióticos, en humanos se han reportado 57 genes funcionales y 58 pseudogenes (Kivistö y cols., 1995; Varela y cols., 2015). Las familias CYP1, CYP2 y CYP3 representan más del 70% del contenido total de CYP450 hepáticos (Shimada y cols., 1994). Estas enzimas son altamente polimórficas por lo que se puede ver afectada la actividad de las mismas. Los fenotipos de algunas de ellas, ante ciertos xenobióticos, pueden ser clasificados como metabolizadores pobres, intermedios, extensivos o ultrarrápidos (Ingelman-Sundberg y Sim, 2010).

CYP1A2*1F

El *CYP1A2* se localiza en el cromosoma 15q24 (Ikeya y cols., 1989; Eaton y cols., 2008). Representa alrededor del 8-15% del contenido total de CYP450 en el hígado y cataliza la biotransformación de una gran variedad de compuestos (Zanger y cols., 2008). Los sustratos endógenos conocidos de esta isoforma son las prostaglandinas, estrógenos y ácido retinoico. En cuanto a los sustratos exógenos, el *CYP1A2* metaboliza un gran número de drogas como antipsicóticos, antidepresivos, cafeína, teofilina; algunos POF como clorpirifos, diazinón, paratión, entre otros (Butler y Murray, 1997; Cheung y cols., 1999; Mutch y cols., 1999; Sams y cols., 2000; Tang y cols., 2001; Buratti y cols., 2003; Foxenberg y cols., 2007; Zanger y cols., 2008; Božina y cols., 2009).

El *CYP1A2*1F* (-164 o -163 C>A) es la variante más estudiada, donde el alelo A está asociado con un incremento de la actividad enzimática (Sachse y cols., 1999; Han y cols., 2002; Zanger y cols., 2008; Djordjevic y cols., 2010; Pilgrim y cols., 2012; Tian y cols., 2013; SNPedia, 2017).

CYP2B6*22

El *CYP2B6* se localiza en el cromosoma 19q13.2, es farmacológica y toxicológicamente relevante debido a su participación en la biotransformación de diferentes drogas como antidepresivos, anestésicos, antivirales y algunos antibióticos, entre los que se encuentran rifampicina, barbitúricos, ciclofosfamida, carbamazepina y metamizol, asimismo, se encarga de la biotransformación ciertos POF como clorpirifos, paratión, diazinón, entre otros (Foxenberg y cols., 2007; Zanger y cols., 2008; Božina y cols., 2009; Povey, 2010; Ellison y cols., 2012).

El *CYP2B6*22* (-82 T>C) es un polimorfismo localizado en la caja TATA del gen, el cual aumenta la actividad transcripcional hepática al reacomodar el sitio de inicio de la transcripción, incluso en portadores heterocigotos, por lo que podría considerarse a los portadores de este alelo en general como metabolizadores ultrarrápidos (Zukunft y cols., 2005).

CYP2D6*4

El *CYP2D6* se localiza en el cromosoma 22q13.1 y se expresa principalmente en hígado y neuronas (Koch, 2004). Biotransforma del 15 a 20% de los fármacos utilizados como antiarrítmicos, antidepresivos, drogas neurolépticas, entre otros. Asimismo, participa en la biotransformación de POF como clorpirifos y diazinón (Kimura y cols., 1989). Esta isoforma es la que presenta mayor variabilidad interindividual, se han reportado al menos 74 alelos diferentes entre los que se encuentra la variante *CYP2D6*4*, la cual provoca un splicing defectuoso, que lleva a una disminución o ausencia de la actividad para biotransformar a los POF (Sams y cols., 2000).

1.4 Parámetros bioquímicos y exposición a plaguicidas

Parámetros como glucosa, proteínas séricas, albúmina, urea, creatinina, bilirrubina, fosfatasa alcalina, ácido úrico, transaminasas, colesterol, triglicéridos, HDL, VLDL y LDL son utilizados para evaluar la salud de los individuos expuestos ocupacionalmente a plaguicidas y otros xenobióticos (Moore y James, 1981; Martin y cols., 1996; Shobha y Prakash, 2000; Patil y cols. 2003; Patil y cols., 2009; Rojas-García y cols., 2011; Raafat y cols., 2012; Bernal-Hernández y cols., 2014; García-García y cols., 2016). En este sentido, en estudios poblacionales se ha reportado un incremento en la concentración de glucosa (Moore y James, 1981; Martin y cols., 1996; Shobha y Prakash, 2000; Raafat y cols., 2012) y una disminución en la concentración de colesterol y LDL (Kutty y cols., 1975; Lucić y cols., 2002; Patil y cols., 2009), alteraciones hepáticas y renales (Mohssen, 2001; Rahman y Siddiqui, 2006; Ambali y cols., 2007; Singh y cols., 2011b), así como una disminución en la concentración de albúmina (Patil y cols., 2003; Singh y cols., 2011b).

2. JUSTIFICACIÓN

Nayarit se encuentra entre los estados con mayor tasa de uso e intoxicaciones por plaguicidas, principalmente asociados con POF. Los fumigadores urbanos son un grupo constantemente expuesto a estos compuestos. Numerosos estudios han descrito los efectos de estos compuestos en poblaciones a través de diversos biomarcadores, así como variaciones en algunos parámetros bioquímicos. Por otro lado, la determinación de polimorfismos genéticos en enzimas que biotransforman plaguicidas, ha permitido identificar a los individuos más susceptibles a tales efectos. Tanto los CYP450 como la PON1 son enzimas polimórficas, por lo que las variaciones alélicas de estos polimorfismos podrían afectar la tasa de biotransformación de los plaguicidas e influir en la inhibición de las colinesterasas. Por lo anterior, en este trabajo se pretende determinar la actividad enzimática de las colinesterasas (AChE y BuChE), variaciones en parámetros bioquímicos, presencia de los polimorfismos *PON1Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22* y *CYP2D6*4* y su posible asociación con la actividad de las colinesterasas en fumigadores urbanos del estado de Nayarit. Este estudio aportará información relevante sobre la exposición ocupacional a estos compuestos y sobre individuos más susceptibles a la exposición a plaguicidas en fumigadores urbanos del estado de Nayarit.

3. HIPÓTESIS

La exposición a POF modificará la actividad de las colinesterasas (AChE y BuChE) y los parámetros bioquímicos en fumigadores urbanos del estado de Nayarit; las modificaciones de las colinesterasas serán moduladas por los polimorfismos *PON1Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22* y *CYP2D6*4*.

4. OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad de las colinesterasas, parámetros bioquímicos y los polimorfismos *PON1Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22* y *CYP2D6*4* en fumigadores urbanos del estado de Nayarit.

4.1 Objetivos específicos

- 1.-Evaluar la actividad de las colinesterasas (AChE y BuChE) en fumigadores urbanos del estado de Nayarit.
- 2.-Determinar parámetros bioquímicos de los fumigadores urbanos del estado de Nayarit.
- 3.-Determinar la asociación entre las colinesterasas y los parámetros bioquímicos en fumigadores urbanos del estado de Nayarit.
- 4.-Determinar los genotipos de *PON1Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22* y *CYP2D6*4* en fumigadores urbanos del estado de Nayarit.
- 5.-Determinar la asociación entre los genotipos de *PON1Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22*, *CYP2D6*4* y la actividad de las colinesterasas en fumigadores urbanos del estado de Nayarit.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Diseño de estudio

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y analítico en 208 participantes del estado de Nayarit. Como criterios de inclusión se consideraron que fueran fumigadores urbanos, mayores de 18 años, y como criterios de exclusión que no aceptaran participar voluntariamente en el estudio o que no se contara con su carta de consentimiento informado debidamente firmada.

A los participantes, se les informó por medio de pláticas sobre los objetivos del estudio y una vez que aceptaron participar, firmaron voluntariamente una carta de consentimiento informado y se aplicó un cuestionario estructurado a manera de entrevista para recabar información acerca de sus características generales como peso, talla, edad, dieta, nivel socioeconómico, escolaridad, hábitos nocivos como consumo de drogas, alcohol y tabaco, sintomatología asociada a la exposición, entre otros. Posteriormente se les solicitó una muestra única de sangre en ayuno.

La población de estudio se estratificó en tres grupos de acuerdo a su exposición a plaguicidas, la cual fue evaluada considerando su actividad laboral, uso de equipo de protección personal, tiempo de exposición, actividades adicionales asociadas a la exposición a plaguicidas (campo agrícola, entre otras). Mientras que, la exposición a POF se determinó a través del cuestionario y de acuerdo a la actividad BuChE, ya que constituye uno de los criterios de clasificación de la exposición a POF (Rastogi y cols., 2008; Stefanidou y cols., 2009; Xu y cols., 2010; Kumar y cols., 2010).

- Grupo de baja exposición: Individuos que trabajaban en oficina, no realizaban actividades de fumigación o trabajo en el campo. Este grupo registró una media de actividad de BuChE de 6673.3 U/L con un rango de 5524-8922 U/L.
- Grupo de moderada exposición: Individuos que realizaban actividades de abatización, algunos fumigaban ocasionalmente y además tuvieron exposición ocasional en el campo. Este grupo presentó una media de 5943.9 U/L y un rango de actividad de BuChE de 1377-9329 U/L. El principal plaguicida utilizado en este grupo fue temefos y en menor proporción clorpirifos.

- Grupo de alta exposición: Individuos que participaban en actividades de fumigación utilizando vehículos, moto mochila o bomba Hudson, algunos también fumigaban en el campo. La media de la actividad de BuChE fue 4333.2 U/L con un rango de 871-7418 U/L. Este grupo estaba expuesto principalmente a clorpirifos y deltametrina.

El proyecto fue evaluado y aprobado por la Comisión Estatal de Bioética del estado de Nayarit, con número de registro CBN/01/2017.

5.2 Recolección y procesamiento de muestras

Se obtuvieron 20 mL de sangre por punción venosa en tubos con y sin EDTA, de los cuales, una parte fue empleada para la determinación de parámetros bioquímicos: biometría hemática, perfil lipídico, perfil hepático y renal. A partir de los tubos con EDTA se evaluó la actividad AChE y se determinaron los polimorfismos genéticos, mientras que, en los tubos sin anticoagulante se obtuvo el suero para medir la actividad BuChE. Los análisis bioquímicos se realizaron en un laboratorio certificado.

5.3 Determinaciones analíticas

5.3.1 Actividad enzimática de BuChE

Reactivos

- Buffer de fosfatos ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$) (0.1 M, pH 7.4)
- DTNB (10 mM)
- Yoduro de S-butiriltiocolina (63.2 mM)

Fundamento

Se basa en la hidrólisis del sustrato butiriltiocolina por la enzima BuChE. La tiocolina liberada reacciona con un cromóforo, el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), el cual se une a la tiocolina liberada y produce al ácido 5-tio-2-nitrobenzoico (NTB), compuesto de color amarillo con una absorbancia óptima a 405 nm (Ellman y cols., 1961).

Procedimiento

El método utilizado fue el de Ellman y cols. (1961) con modificaciones. Se mezclaron 3 mL de buffer de fosfatos (0.1 M a pH 7.4), 0.1 mL de DTNB (10 mM) y 0.01 mL de suero. La mezcla se incubó a 37 °C por 10 minutos, posteriormente se agregaron 0.05 mL de yoduro de S-butiriltiocolina (63.2 mM). El cambio de absorbancia fue monitoreado a 405 nm cada minuto, durante cuatro minutos desde el tiempo 0, en un espectrofotómetro Spectronic Genesys 10Bio (Wisconsin, USA). Finalmente, la actividad de BuChE se reportó en U/L.

La actividad BuChE se calculó con las siguientes formulas:

$$\frac{\Delta \text{Abs}}{\text{min}} = \frac{[(\text{abs1}-\text{abs0})+(\text{abs2}-\text{abs1})+(\text{abs3}-\text{abs2})+(\text{abs4}-\text{abs3})]}{4}$$

$$\text{BuChE } \frac{\text{U}}{\text{L}} = \left(\frac{\text{Vol. total}}{(\text{E})(\text{cm})(\text{Vol. Muestra})} \right) \left(\frac{1 \times 10^6 \mu\text{mol}}{1 \text{ mol}} \right) \left(\frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \right) \left(\frac{\Delta \text{Abs}}{\text{min}} \right)$$

Dónde:

Vol. total = Volumen final de la reacción = 3.16 mL

E = $10.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (coeficiente de extinción molar del DTNB)

cm = Ancho de la celda = 1 cm

Vol. de la muestra (suero) = 0.01 mL

5.3.2 Actividad enzimática de AChE

Reactivos

- Buffer de fosfatos ($\text{Na}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$) (0.1 M, pH 7.4)
- DTNB (10 mM)
- Etopropazina (6 mM)
- Yoduro de acetiltiocolina (28.3 mM)
- Tritón X-100 (0.03%)

Fundamento

La tiocolina liberada reacciona con un cromóforo, el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB), para generar 5-tio-2-nitrobenzoico (TNB), un complejo de color amarillo con una absorbancia óptima a 412 nm. Debido a que la hemoglobina interfiere con la absorción a 412 nm, la actividad de AChE se midió a 436 nm para reducir esta interferencia y se utilizó etopropazina para asegurar la medición específica de AChE. Finalmente, la actividad de AChE se corrigió por hemoglobina y se reportó en U/g de Hb. La hemoglobina para corregir la actividad de AChE fue determinada en un laboratorio clínico certificado.

Procedimiento

La técnica fue determinada por el método de Ellman y cols. (1961) con modificaciones. Las muestras fueron diluidas 1:100 con tritón X-100. Posteriormente, se mezclaron 500 µL de la dilución con 1 mL de buffer de fosfatos (0.1 M a pH 7.4), 0.05 mL de DTNB (10 mM) y 0.005 mL de etopropazina (6 mM). La mezcla se incubó a 37 °C por 10 minutos y se le agregó 0.025 mL de yoduro de acetiltiocolina (28.3 mM). El cambio de absorbancia fue monitoreado en un espectrofotómetro Spectronic Genesys 10Bio (Wisconsin, USA) a 436 nm cada minuto, durante tres minutos desde el tiempo cero.

La actividad de AChE se calculó con las siguientes fórmulas:

$$\frac{\Delta \text{Abs}}{\text{min}} = \frac{[(\text{abs1}-\text{abs0})+(\text{abs2}-\text{abs1})+(\text{abs3}-\text{abs2})]}{3}$$

$$\text{AChE } \frac{\text{U}}{\text{mL}} = \left(\frac{\text{Vol. total}}{(\text{E})(\text{cm})(\text{Vol. Muestra})} \right) \left(\frac{1 \times 10^6 \mu\text{mol}}{1 \text{ mol}} \right) \left(\frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \right) \left(\frac{\Delta \text{Abs}}{\text{min}} \right)$$

Actividad enzimática corregida por hemoglobina

$$\text{AChE U/g de Hb} = \frac{\text{AChE en U/mL}}{\left(\frac{\text{Hb en g/dL}}{100}\right)}$$

Dónde:

Vol. total = Volumen final de la reacción = 1.58 mL

E = $10.6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (coeficiente de extinción molar del DTNB)

cm = Ancho de la celda = 1 cm

vol. de la muestra (hemolizado) = 0.5 mL.

5.4 Determinación de genotipos

5.4.1 Extracción de ADN

Reactivos

- Kit High Pure PCR Template Preparation de Roche ®
- Agua inyectable
- Isopropanol, grado biología molecular Sigma Aldrich ®

Fundamento

Para extraer los ácidos nucleicos del material biológico, se provoca una lisis celular, se inactivan las nucleasas celulares y se separan los ácidos nucleicos de los restos celulares. El procedimiento de lisis debe ser suficientemente fuerte para romper los tejidos y suficientemente suave para preservar el ácido nucleico. Los ácidos nucleicos se unen selectivamente a una fibra de vidrio pre-empaquetada en una mini columna y se realizan lavados por centrifugación para eliminar otros componentes celulares adheridos a la columna.

Procedimiento

Se añadieron 20 µL de proteinasa K a 200 µL de sangre completa y 200 µL de buffer de unión; la mezcla se incubó a 70 °C por 10 minutos. Posteriormente, se agregaron 100 µL de isopropanol y se mezcló en vórtex, la mezcla se cambió a un tubo

recolector con filtro, se centrifugó a 8200 rpm durante un minuto y se cambió a otro tubo colector. Se añadieron 500 µL de buffer de inhibición, se centrifugó a 8200 rpm por un minuto y se cambió nuevamente el tubo recolector. Se añadieron 500 µL de buffer de lavado, se centrifugó a 8200 rpm por un minuto y se eliminó el sobrenadante. El lavado fue repetido cinco veces, en el último lavado el tubo con filtro se cambió a un tubo eppendorf nuevo y estéril, se centrifugó a 13500 rpm por 10 segundos para colectar el ADN y se añadieron 200 µL de buffer de elución (precalentado a 70 °C). Se centrifugó a 8200 rpm durante un minuto y el ADN obtenido se conservó a 4 °C hasta su uso. La determinación de la concentración y pureza del ADN se realizó en un NanoDrop 2000c a 260 y 280 nm.

5.4.2 Determinación de los polimorfismos genéticos a través de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real

Reactivos

- Sondas TaqMan® Applied Biosystems ®
- Agua inyectable
- Universal PCR Master Mix Applied Biosystem ®

Fundamento

Una sonda TaqMan® es un oligonucleótido cuya secuencia es complementaria a la región central del amplicón. Presenta en el extremo 5´ una marca fluorescente (reportero) y en el extremo 3´ un quencher o apagador, cuando estas dos moléculas se encuentran unidas por la sonda, toda la fluorescencia emitida por el reportero es absorbida por el apagador, por lo que la fluorescencia global observada es igual a cero, a este fenómeno se le conoce como Förster (o Fluorescent) Resonant Energy Transfer (FRET). Las sondas TaqMan tienen una temperatura mayor que los primers, durante la etapa de alineación, la primera en unirse a la secuencia específica es la sonda y posteriormente los primers. Cuando la ADN polimerasa se une al extremo 3´ del primer inicia la elongación, en su paso se encuentra con la sonda y la degrada dada su actividad exonucleasa 5´ - 3´. Al ser degradada, libera al reportero del apagador lo que suprime el fenómeno FRET. Dado que la fluorescencia emitida es

proporcional a la cantidad de sonda degradada, y esta a su vez es proporcional a la cantidad de templado generado, este sistema permite visualizar el incremento de amplicón a lo largo de la reacción de PCR (Logan y cols., 2009).

Procedimiento

Los polimorfismos se determinaron mediante PCR en Tiempo Real en un equipo StepOne™ 2.1 Software de Applied Biosystems utilizando el sistema TaqMan® Universal PCR Master Mix. Para llevar a cabo la reacción se utilizó una placa de 48 pozos, a la cual se añadieron 5 µL de Universal PCR Master Mix, 2.75 µL de agua inyectable, 0.25 µL de Sondas TaqMan® y 2 µL de ADN, para obtener un volumen final de la reacción de 10 µL. Las sondas estaban marcadas con los reporteros fluorescentes FAM/VIC. Las condiciones de amplificación fueron: temperatura inicial de 50 °C por 2 minutos, 95 °C por 10 minutos y 40 ciclos de 95 °C por 15 segundos y 60 °C por 1 minuto. Al finalizar la reacción, la determinación de genotipos se llevó a cabo por discriminación alélica. La secuencia de oligonucleótidos y sondas se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Secuencia de oligonucleótidos y sondas TaqMan.

| Número de acceso | Polimorfismo | Sonda TaqMan | Cambio de base |
|-------------------------|---------------------|---|-----------------------|
| rs662 | PON1 Q192R | TAAACCCAAATACATCTCCCAGGAT[C/T] GTAAGTAGGGGTCAAGAAAATAGTG | 192 G>A |
| rs3892097 | CYP2D6*4 | AGACCGTTGGGGCGAAAGGGGCGTC[C/ T]TGGGGGTGGGAGATGCGGGTAAGGG | 1846 G>A |
| rs762551 | CYP1A2*1F | CCTGCTACAGCAACTGGAGTTCAGC[A/ G]TGCCGCCGGGCGTGAAAGTCGACCT | -163 C>A |
| rs34223104 | CYP2B6*22 | AGGAGGTGGGGAATGGATGAAATTT[C/T]ATAACAGGGTGCAGAGGCAGGGTCA | -82 T>C |

5.5 Análisis estadístico

Las características generales de la población, así como el estilo de vida, alimentación, hábitos nocivos, horas de trabajo semanal, entre otros, fueron analizadas descriptivamente en promedios, medias y porcentajes. Las medias y los intervalos de confianza (IC) fueron calculados para la actividad de colinesterasas y parámetros bioquímicos por nivel de exposición e índice de masa corporal (IMC). Se utilizó la prueba de Kolmogorov–Smirnov para evaluar la distribución normal de las variables dependientes. Cuando los datos siguieron una distribución normal, se utilizó las pruebas de ANOVA y Bonferroni, mientras que, las pruebas de U Mann-Whitney y Kruskal-Wallis fueron utilizadas cuando los datos seguían una distribución no normal. En el caso de los polimorfismos, se determinó el equilibrio con la Ley de Hardy-Weinberg, frecuencias genotípicas y alélicas con la prueba de Ji^2 . Se determinaron además coeficientes de correlación y análisis bivariados para evaluar asociaciones entre las colinesterasas, parámetros bioquímicos y polimorfismos. La significancia estadística se consideró como $p < 0.05$. Para llevar a cabo los análisis estadísticos se utilizaron los paquetes estadísticos STATA versión 11.1 (Stata Corp LP, College Station, Texas, USA) y GraphPad Prism 6.0 (GraphPad Software, Inc).

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Características generales de la población de estudio

Entre agosto y septiembre del 2015, fueron colectadas muestras de 208 participantes, que de acuerdo a la estratificación descrita en el apartado de materiales y métodos, quedaron distribuidos de la siguiente manera: baja exposición $n=22$, moderada exposición $n=126$ y alta exposición $n=60$. Del total de los participantes, el 66.8% fueron hombres y 33.2% mujeres, con una media geométrica de edad de 36.2 años y 36.4 años, respectivamente. Respecto al IMC, el 18.3% de los participantes presentó peso normal, 34.6% sobrepeso y 47.1% presentó algún grado de obesidad de acuerdo a la clasificación de la OMS (2000). El sobrepeso y la obesidad están vinculados principalmente, a enfermedades cardiovasculares (OMS, 2000), este dato es preocupante, ya que esta condición podría tener implicaciones negativas en la salud de los participantes, aunado al daño por la exposición ocupacional a POF. En la Tabla 2 se describen las características generales de la población por grado de exposición.

En promedio los participantes trabajan 6 días por semana, con una jornada laboral de 7.4 horas al día; el 62% tenían una antigüedad entre 4 a 48 años, mientras que, el 38% tenían menos de 4 años laborando (Tabla 2). Es importante, considerar este tipo de información al analizar los datos, ya que podrían influir en la interpretación de los resultados obtenidos. Asimismo, se observaron dos tipos de situaciones laborales: trabajadores por contrato o temporales (47.8%) y trabajadores de base (52.1%).

Respecto a los hábitos nocivos, el 22.1% de los participantes refirieron ser fumadores activos, 77.9% fumadores pasivos, asimismo el 86.5% de la población consume bebidas alcohólicas y el 5.8% refirió haber consumido algún tipo de droga (Tabla 2). Al respecto, en otras poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas, también se ha observado la tendencia de consumir alcohol, en algunos casos, esto es atribuido a las condiciones climatológicas, debido a que la actividad al

aire libre en zonas con alta humedad promueve el consumo de bebidas alcohólicas (Martínez-Valenzuela y cols., 2009; Hernández y cols., 2013; Sharma y cols., 2013). Sin embargo, es importante considerar que el consumo de alcohol y el hábito de fumar son factores de riesgo adicionales a la exposición ocupacional, por lo que podrían influir negativamente en la salud de los fumigadores.

Tabla 2. Características generales de la población de estudio

| Características | Grupo de baja exposición n=22 | Exposición moderada n=126 | Exposición alta n=60 | P |
|---|--|--------------------------------------|---------------------------------|------------------|
| Edad* MG(rango) | 34.9 (20-68) | 37.3 (20-67) | 34.7 (20-27) | 0.16 |
| Sexo n (%) | | | | |
| Mujer | 5 (23.7) | 49 (38.9) | 15 (25.0) | 0.09 |
| Hombre | 17 (77.3) | 77 (61.1) | 45 (75.0) | |
| IMC**MG(rango) | 28.2 (20.1-39.9) | 29.5 (19.0-45.5) | 28.9 (20.4-54.4) | 0.23 |
| Peso normal n (%) | 5 (22.7) | 18 (14.3) | 15 (25.0) | <0.001 |
| Sobrepeso n (%) | 8 (36.6) | 43 (34.1) | 21 (35.0) | <0.001 |
| Obesidad n (%) | 9 (40.9) | 65 (51.6) | 24 (40.0) | <0.001 |
| Horas de trabajo por día *MG(rango) | 7.5 (3.2-17.5) | 7.2 (6.9-7.5) | 7.3 (6.8-7.8) | 0.60 |
| Fumadores activos n (%) | 8 (36.3) | 18 (15.1) | 19 (31.7) | 0.01 |
| Fumadores pasivos n (%) | 21 (95.5) | 90 (73.8) | 50 (84.8) | 0.03 |
| Consumo de alcohol n (%) | 20 (90.9) | 105 (83.3) | 55 (91.7) | 0.22 |
| Consumo de drogas n (%) | --- | 7 (5.6) | 5 (8.3) | 0.35 |
| Años de estudio* MG(rango) | 14.8 (9-19) | 11.5 (5-19) | 11.5 (8-19) | <0.001 |
| Uso de equipo de protección personal n (%) | N/A | 25 (25.5) | 17 (28.81) | 0.93 |

* Los valores se presentan como medias geométricas (MG) y los valores de $p < 0.05$ fueron obtenidos por la prueba de Kruskal-Wallis. Las variables categóricas se presentan como frecuencias y los valores de $p < 0.05$ fueron obtenidos por la prueba de χ^2 . * Rangos de acuerdo e acuerdo a la OMS: bajo peso (≤ 18.5 kg/m²), peso normal ($> 18.5 - \leq 24.9$ kg/m²), sobrepeso ($> 24.9 - \leq 29.9$ kg/m²) y obesidad (≥ 30 kg/m²). N/A: No aplica.

Por otro lado, se observó que el grupo de baja exposición tiene en promedio más años de estudios (14.8 años), respecto a los grupos de moderada y alta exposición (ambos de 11.5 años). En cuanto al uso de equipo de protección personal, solo el 25.5% del grupo moderadamente expuesto y el 28.3% del grupo altamente expuesto

informaron haber utilizado algún tipo de equipo de protección personal, el cual consistió básicamente de sombrero o gorra, con una frecuencia del 71% en el grupo de exposición moderada y 72.4% en el grupo de exposición alta (Tabla 3), los cuales no son suficientes para una protección adecuada. En poblaciones de agricultores ocupacionalmente expuestos, se ha reportado que los participantes con menor nivel educativo no acostumbran usar equipo de protección personal comparado con los de mayor nivel educativo (Suybros y cols., 2012; Jallow y cols., 2017).

Con base a los resultados observados, es posible sugerir que los trabajadores tienen poco conocimiento acerca del riesgo a la salud relacionado con su actividad laboral, y que la falta de conocimiento pudiera estar asociada a su bajo nivel de estudios.

En cuanto a los plaguicidas más utilizados por la población de estudio, se encuentran los POF (63.3%), piretroides (29.8%) y CB (3.8%). De acuerdo a la clasificación de la OMS en el 2000, estos compuestos son clasificados como extremadamente peligrosos (Ia), altamente peligrosos (Ib) y moderadamente peligrosos (II) (Tabla 4). Esta tendencia coincide con la información descrita por González-Arias y cols. (2010), quienes observaron que los plaguicidas más vendidos y utilizados en el estado de Nayarit son los POF (52%), seguido de piretroides (26.4%) y CB (13.2%).

Tabla 3. Frecuencia de uso de equipo de protección personal en la población de estudio

| Equipo | Exposición moderada | | | | Exposición alta | | | | p |
|---------------------|---------------------|-----------|-------------|-----------|-----------------|-----------|-------------|-----------|------|
| | Nunca | Raramente | Muy seguido | Siempre | Nunca | Raramente | Muy seguido | Siempre | |
| Overol | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | n (%) | 0.39 |
| | 90 (95.7) | 1 (1.0) | - | 3 (3.2) | 56 (98.2) | 1 (1.8) | - | - | |
| Sombrero o gorra | 19 (20.4) | 3 (3.2) | 5 (5.4) | 66 (71.0) | 12 (20.7) | 3 (5.2) | 1 (1.7) | 42 (72.4) | 0.91 |
| Cubreboca | 55 (59.1) | 15 (16.3) | 4 (4.3) | 19 (20.4) | 33 (55.9) | 11 (18.6) | 6 (10.2) | 9 (15.3) | 0.88 |
| Guantes | 81 (86.1) | 7 (7.5) | | 6 (6.4) | 52 (89.7) | - | 1 (1.7) | 5 (8.6) | 0.61 |
| Botas | 77 (81.9) | 2 (2.1) | 3 (3.2) | 12 (12.8) | 52 (89.7) | 1 (1.7) | - | 5 (8.6) | 0.20 |
| Lentes de seguridad | 72 (78.3) | 11 (11.9) | 3 (3.3) | 6 (6.5) | 44 (75.8) | 5 (8.6) | 1 (1.7) | 8 (13.8) | 0.59 |
| Otros | 45 (93.8) | - | - | 3 (6.2) | 32 (84.2) | - | - | 6 (15.8) | 0.15 |

Los valores se presentan como frecuencias y los valores de $p < 0.05$ fueron obtenidos por la prueba de Ji^2

Tabla 4. Plaguicidas utilizados por la población de estudio

| Plaguicidas | Uso (%) | Clasificación OMS* |
|--------------------------|---------------|--------------------|
| Organofosforados | 63.3%* | |
| Temefos | 151 (52.9)** | III |
| Clorpirifos | 100 (35.1)** | II |
| Malatión | 20 (7.1)** | III |
| Paratión | 10 (3.5)** | Ia |
| Metamidofos | 3 (1.1)** | Ib |
| Acefato | 1 (0.3)** | III |
| Piretroides | 29.8%* | |
| Deltametrina | 76 (56.7)** | II |
| Lambdacialotrina | 31 (23.1)** | II |
| Permetrina-esbioaletrina | 20 (14.9)** | III |
| Fenotrina | 4 (3.0)** | II |
| Cipermetrina | 2 (1.5)** | II |
| Bifentrina | 1 (0.7)** | II |
| Carbamatos | 3.8%* | |
| Bendiocarb | 11 (64.7)** | II |
| Propoxur | 5 (29.4)** | III |
| Carbofurano | 1 (5.8)** | Ib |
| Otros | 3.1 %* | |

*Porcentaje de participantes que usa los plaguicidas considerando los grupos químicos (POF, piretroides, CB, otros) **Porcentaje de participantes que usa los plaguicidas en cada uno de los grupos químicos. Clasificación de la OMS: clase Ia (extremadamente peligrosos); clase Ib (altamente peligrosos); clase II (moderadamente peligroso); clase III (ligeramente peligroso) (OMS, 2009).

6.2 Exposición a plaguicidas y actividad de colinesterasas

La media de la actividad de BuChE fue de 5550.8 U/L (IC 95% 5334.3-5767.5), la cual se encuentra dentro de los valores considerados como normales de acuerdo a Randox Laboratories-Antrim, U.K (5400-13200 U/L), sin embargo, el 48.1% de los individuos expuestos, mostraron valores por debajo de los valores mínimos considerados como normales. De acuerdo al grupo de exposición, la media de BuChE para el grupo de baja exposición fue 6673.3 U/L, 5944.0 U/L para el de exposición moderada y 4333.2 U/L en el grupo altamente expuesto (Figura 4a).

Respecto a la actividad de AChE, la media geométrica de la actividad fue 19.7 U/g Hb (IC 95% 19.2-20.2), la cual estuvo dentro de los valores de referencia determinados previamente por nuestro grupo de trabajo (17-45 U/g Hb). No obstante, el 12.5% de la población total mostraron valores por debajo de los valores considerados como normales. En el grupo de baja exposición se observó una actividad de 18.8 U/g Hb, 19.4 U/g Hb en el grupo de exposición moderada y de 20.5 U/g Hb en el grupo altamente expuesto (Figura 4b).

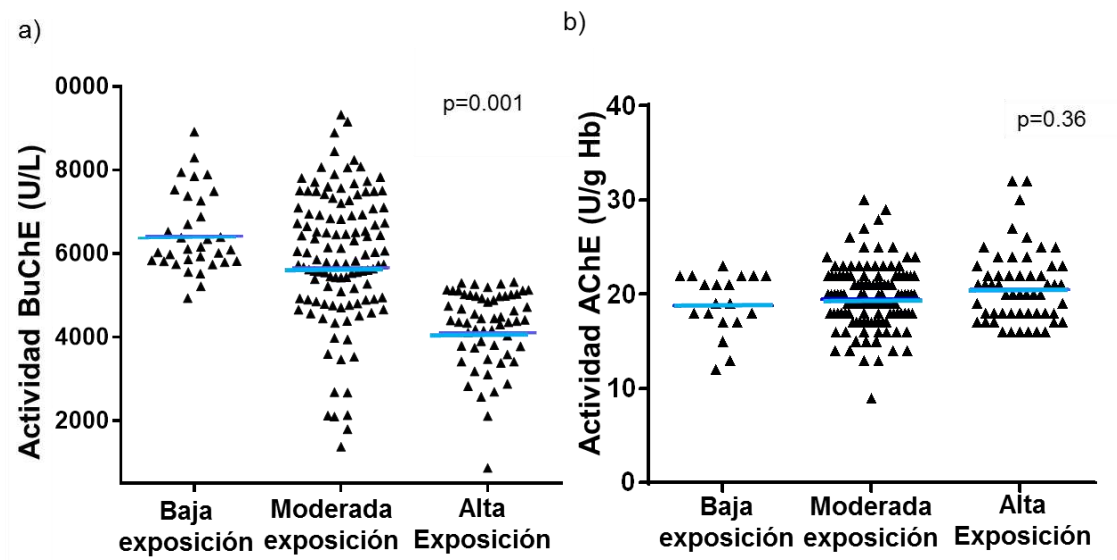


Figura 4. Actividad de las colinesterasas en la población de estudio. a) Actividad BuChE y b) Actividad AChE. Para BuChE el valor de p fue obtenida por ANOVA y para AChE por la prueba de Kruskal-Wallis.

BuChE y AChE pertenecen a la familia serina hidrolasa y son inhibidas por los POF (Lockridge, 2010). En el caso de la BuChE, se ha reportado que tiene mayor sensibilidad en la evaluación de la exposición a diferentes tipos de POF, como clorpirifos, diazinón y malatión (Lotti, 2001; Masson y Lockridge, 2010). Estudios en poblaciones ocupacionalmente expuestas como agricultores, floricultores y jornaleros indígenas expuestos principalmente a POF y CB coinciden con la utilidad de BuChE como biomarcador de exposición (Miranda-Contreras y cols., 2013; Bernal-Hernández y cols., 2014; Aroonvilairat y cols., 2015; Singleton y cols., 2015; Ismail y

cols., 2017). No obstante, a pesar de los reportes de su baja sensibilidad respecto a BuChE, la determinación de la actividad AChE es considerada en el diagnóstico de exposiciones por compuestos anticolinesterásicos (Santi y cols., 2011).

En este sentido, se han reportado estudios en poblaciones ocupacionalmente expuestas a diversos plaguicidas como POF, CB, piretroides, entre otros; en los que se ha observado una menor actividad de AChE respecto a grupos no expuestos (Hernández y cols., 2005; Jintana y cols., 2009; Singh y cols., 2011b;; Lozano-Paniagua y cols., 2016) y una inhibición de más del 15% en la actividad de la enzima en diferentes poblaciones ocupacionalmente expuestas (López y cols., 2007; Naravaneni y Jamil, 2007; Simoniello y cols., 2010; Pasiani y cols., 2012). Contrario a lo anterior, los resultados de este trabajo, así como estudios previos en poblaciones de agricultores, jornaleros indígenas y fumigadores expuestos principalmente a POF, no mostraron diferencias en la actividad de AChE por exposición a estos compuestos (Bernal-Hernández y cols., 2014; Aroonvilairat y cols., 2015; Singleton y cols., 2015; Ismail y cols., 2017).

Por otro lado, ambas colinesterasas fueron analizadas de acuerdo al IMC, sexo, edad y antigüedad laboral. En el caso de la BuChE, no se observaron diferencias significativas, mientras que, para AChE, se observó un aumento marginal de la actividad de acuerdo a la edad (Tabla 5).

Tabla 5. Actividad de colinesterasas estratificadas por IMC, sexo, edad y antigüedad laboral

| | BuChE U/L M (IC 95%) | p | AChE U/g de Hb MG (IC 95%) | p |
|---------------------------|-----------------------------|----------|-----------------------------------|-------------|
| IMC | | | | |
| Peso normal | 5237.32 (4758.9-5715.8) | 0.36 | 19.6 (18.5-20.7) | 0.44 |
| Sobrepeso | 5548.39 (5185.5-5911.3) | | 20.1 (19.3-21.0) | |
| Obesidad | 5672.11 (5340.2-6004.1) | | 19.3 (18.6-20.09) | |
| Sexo | | | | |
| Mujeres | 5654.8 (5383.3-5926.3) | 0.51 | 19.8 (18.7-20.9) | 0.52 |
| Hombres | 5499.2 (5202.7-5795.6) | | 19.6 (19.1-20.1) | |
| Edad | | | | |
| 20-30 años | 5414.4 (4950.0-5878.9) | 0.47 | 18.8 (17.8-19.9) | 0.08 |
| 31-37 años | 5692.8 (5380.2-6005.5) | | 19.6 (18.7-20.4) | |
| 38-68 años | 5426.6 (5019.4-5833.8) | | 20.2 (19.1-21.4) | |
| Antigüedad laboral | | | | |
| 0-4.1 años | 5399.2 (5031.0-5767.3) | 0.29 | 20.2(19.3-21.1) | 0.28 |
| >4.1 años | 5640.1 (5370.4-5909.8) | | 19.3 (18.8-19.9) | |

M: media; MG; media geométrica; IC, intervalo de confianza. Los valores de p se obtuvieron a través de ANOVA, Bonferroni para BuChE y Kruskal-Wallis para AChE.

En poblaciones sanas no expuestas se ha reportado que factores como sexo, edad, IMC, uso de drogas, tabaco y actividad física, podrían modificar la actividad de estas enzimas (Kutty 1980; Lepage y cols., 1985; Fairbrother y cols., 1989; Zimmer y cols., 2012; Sato y cols., 2014; Vallianou y cols., 2014; Worek y cols., 2016). En el caso de BuChE, en poblaciones no expuestas a plaguicidas se han reportado diferencias de la actividad por IMC (Lepage y cols., 1985; Sato y cols., 2014), y a pesar de que su función fisiológica no ha sido establecida, los resultados en modelos animales indican que BuChE podría tener un rol en la regulación del metabolismo lipídico, sin embargo, el mecanismo no está completamente establecido (Lassiter y Brimijoin, 2008; Vallianou y cols., 2014; Peris-Sampedro y cols., 2015a, 2015b).

En otros casos, la información en la literatura es controversial, por ejemplo, en el caso del sexo, algunos estudios han reportado mayores niveles tanto de BuChE como de AChE en hombres en comparación a las mujeres (Lepage y cols., 1985; Brock y Brock 1993; Carmona-Fonseca y cols., 2000; Carmona-Fonseca, 2007; Zimmer y cols., 2012; Worek y cols., 2016), sin embargo, también hay estudios que observaron lo contrario (Simoniello y cols., 2010; Bernal-Hernández y cols., 2014). Asimismo, diferentes estudios en poblaciones expuestas a agentes neurotóxicos, como los POF, han descrito tanto un incremento como una disminución de las colinesterasas de acuerdo a la edad (Karlsen, 1981; Henao y cols, 1990; Henao y Corey., 1991; Carmona-Fonseca, 2007). Tales inconsistencias pueden deberse a causas muy particulares, una de ellas puede ser el tipo de plaguicida al que los individuos están expuestos, el grado de exposición, el tiempo de exposición, raza, entre otras.

Por otro lado, aunque no se encontraron diferencias significativas en las colinesterasas entre los trabajadores respecto a la antigüedad laboral (menos de 4.1 años versus mayor a 4.1 años) (Tabla 5), un análisis de acuerdo a su situación laboral, mostró en los trabajadores de base, una menor actividad de AChE (19.86 U/g Hb) en aquellas personas con una antigüedad mayor a 4 años, respecto a los trabajadores de base de menor antigüedad laboral (22.70 U/g Hb) ($p=0.03$). Contrario a esto, Pasioni y cols. (2012), en una población de Brasil expuesta a POF y CB, no observaron relación entre la antigüedad laboral y la actividad AChE y sugieren que podría deberse a que el 44.6% de su población utilizaba el equipo de protección personal completo. En el caso de los participantes del presente trabajo, el uso de equipo de protección personal utilizado es insuficiente y de acuerdo a estos resultados, podría tener un impacto en la actividad de AChE a largo plazo.

En el caso particular de los hábitos nocivos, se observó una menor actividad de BuChE en los fumadores activos respecto a los no fumadores (Figura 5). Al respecto, Araoud y cols. (2011), observaron en una población ocupacionalmente expuesta a plaguicidas de Sahel, región de Túnez, que los fumadores tenían baja actividad de BuChE respecto a los no fumadores.

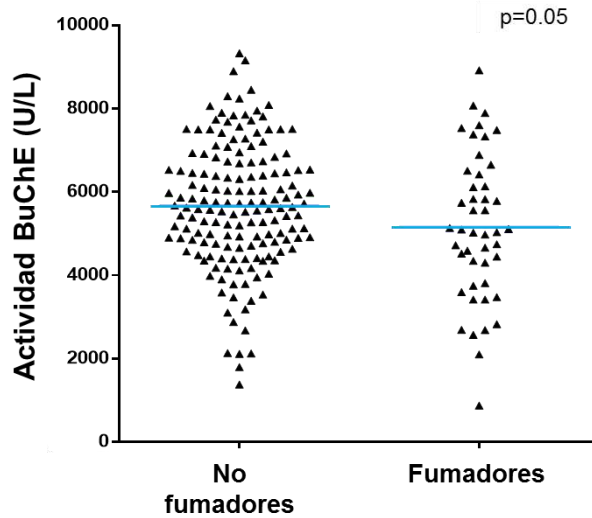


Figura 5. Actividad BuChE en fumadores y no fumadores de la población de estudio. El valor de p se obtuvo por la prueba de t-Student.

Respecto a AChE, no se observaron diferencias en la actividad con respecto al hábito de fumar (datos no mostrados), sin embargo, Wang y cols. (2009) reportaron menor actividad de AChE en un grupo de fumadores, esta diferencia podría estar asociada a la nicotina, principal alcaloide del tabaco, ya que al ser un ligando específico de los receptores colinérgicos nicotínicos, estimula la liberación de acetilcolina en las terminales nerviosas colinérgicas, lo que provoca el reclutamiento de la enzima. Mabrouk y cols., (2011), sugieren que en el caso de BuChE pudiera estar ocurriendo el mismo mecanismo, sin embargo, serían necesarios estudios más detallados para poder elucidar el comportamiento de BuChE en individuos fumadores.

Debido a lo anterior, es necesario conocer y considerar aquellos factores que pueden influir en la actividad de las colinesterasas para hacer un análisis más acertado en poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas.

6.3 Parámetros bioquímicos, colinesterasas y nivel de exposición

Diversos estudios han asociado a la BuChE con obesidad, adiposidad, diabetes mellitus tipo-2 y contenido de grasa hepática (Kutty y cols., 1981; Abbott y cols., 1993; Alcântara y cols., 2002; Calderon-Margalit y cols., 2006; Santarpia y cols., 2013). En este sentido, BuChE ha sido relacionada con el metabolismo de lípidos, así como con el contenido de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de baja densidad (LDL), lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y lípidos totales (Cucuianu y cols., 2002; Valle y cols., 2006). A pesar de que la naturaleza de esta relación no ha sido establecida, los resultados en modelos animales indican que BuChE podría tener un rol en la regulación del metabolismo lipídico (Vallianou y cols., 2014). Con base en esto, y dado que el 81.7% de la población presenta sobrepeso o algún grado de obesidad, la población además de analizarse por nivel de exposición se analizó por clasificación del IMC de acuerdo a la OMS (peso normal, sobrepeso y obesidad).

En el grupo de peso normal se observó una menor concentración de albúmina en el grupo de alta exposición respecto al de moderada exposición (Figura 6).

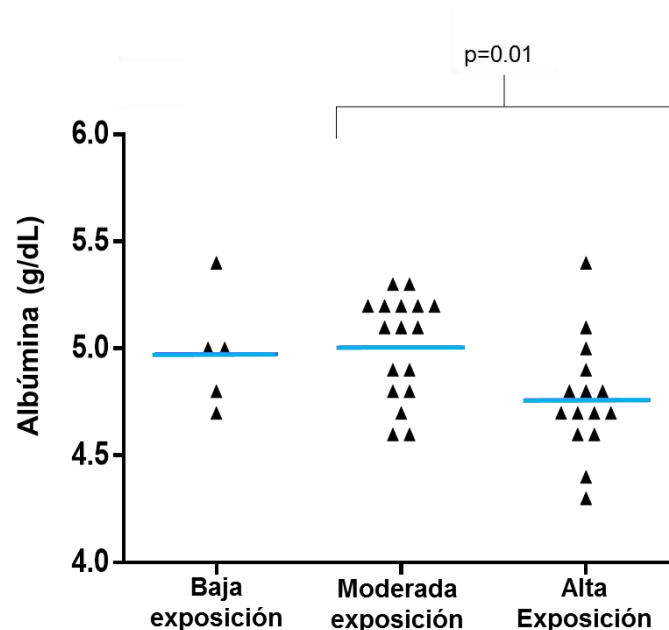


Figura 6. Concentración de albúmina en personas con peso normal. Los valores de p fueron obtenidos con las pruebas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney, ajustadas a $\alpha \leq 0.0167$, equivalente a $p \leq 0.05$.

En los participantes con sobrepeso se observaron menores niveles de creatinina en el grupo de exposición moderada respecto al de alta exposición y una menor concentración de colesterol, LDL e índice aterogénico al aumentar el grado de exposición (Figura 7).

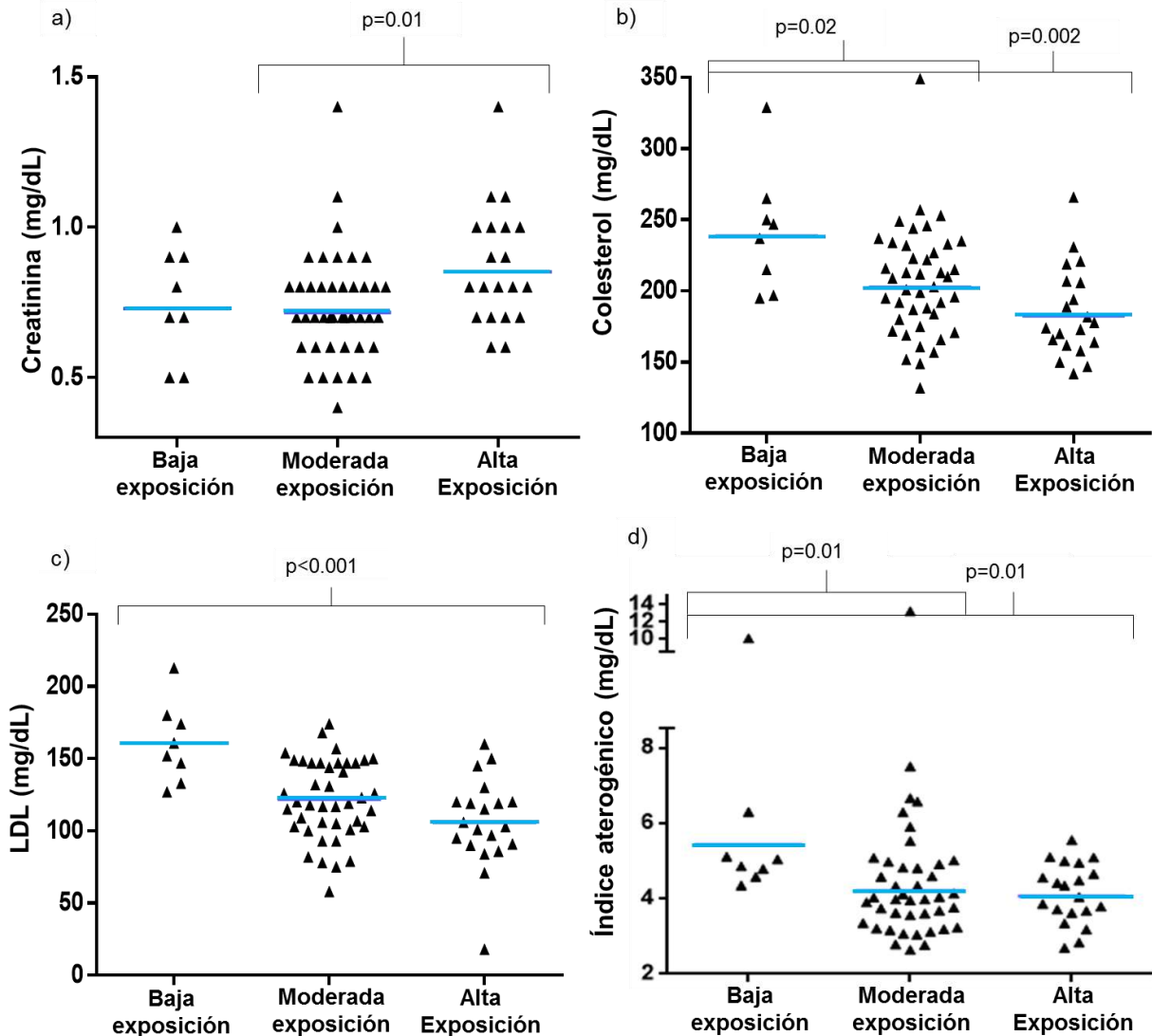


Figura 7. Parámetros bioquímicos por nivel de exposición en personas con sobrepeso. a) Creatinina, b) Colesterol, c) LDL, d) Índice aterogénico. Los valores de p fueron obtenidos con las pruebas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney, ajustadas a $\alpha \leq 0.0167$, equivalente a $p \leq 0.05$.

Mientras que, en los participantes con obesidad, se observó una mayor concentración de glucosa en el grupo de exposición moderada respecto al de baja

exposición y una menor concentración de creatinina y albúmina en el grupo de exposición moderada respecto al de baja exposición (Figura 8).

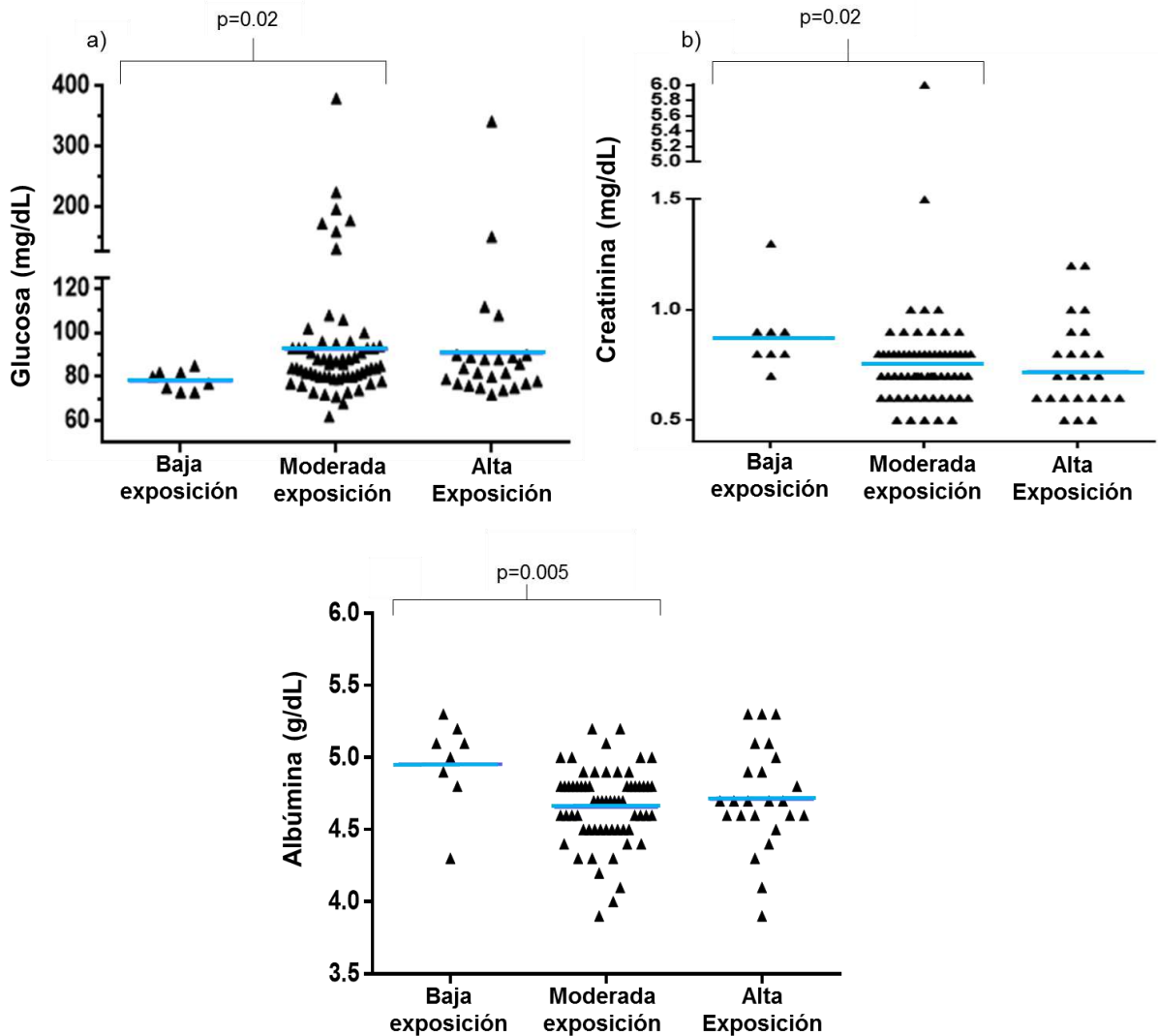


Figura 8. Parámetros bioquímicos por nivel de exposición en personas con obesidad. a) Glucosa, b) Creatinina y c) Albúmina. Los valores de p fueron obtenidos con las pruebas de Kruskal Wallis y Mann-Whitney, ajustadas a $\alpha \leq 0.0167$, equivalente a $p \leq 0.05$.

Actualmente, es escasa la literatura referente al análisis de parámetros bioquímicos en poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas, más aún considerando el IMC de los individuos. En este sentido, en el caso de la albúmina, Singh y col. (2011b), observaron en una población de la India ocupacionalmente expuesta a

plaguicidas, menores niveles de albúmina respecto a individuos no expuestos. La albúmina se ha considerado como un “scavenger” de POF al contribuir con la detoxificación de éstos (Ding y cols., 2008), ya que se ha observado que cuando la concentración de POF en suero es alta, éstos se unen a albúmina (Li y cols., 2008). Por lo que en algunos estudios se ha considerado como un marcador de exposición a plaguicidas (Peeples y cols., 2005; Ding y cols., 2008; Li y cols., 2008; Van der Schans y cols., 2013).

Por otro lado, concentraciones mayores de creatinina han sido observadas en poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas respecto a los grupos no expuestos, las cuales han sido asociadas con daño renal, puesto que la creatinina es un residuo del metabolismo de proteínas y es un indicador de la función renal (Garba y cols., 2007). Al respecto, Toe y cols. (2012), en Burkina Faso, observaron una alta prevalencia de disfunción hepática y renal en usuarios frecuentes de plaguicidas.

6.3.1 Parámetros bioquímicos, BuChE y nivel de exposición

a) Parámetros lipídicos y glucosa

Los resultados de los análisis de correlación entre BuChE y parámetros lipídicos y glucosa, de acuerdo al grado de exposición se muestran en la Tabla 6.

En el grupo de baja exposición, los individuos con peso normal presentaron una correlación negativa marginal de BuChE con glucosa. En los participantes con sobrepeso se observaron correlaciones positivas con triglicéridos, VLDL, índice aterogénico y lípidos totales y de tipo marginal con colesterol.

Respecto al grupo de moderada exposición, en los participantes con peso normal se observó una correlación marginal positiva de BuChE con triglicéridos. En los individuos con sobrepeso se observaron correlaciones positivas con colesterol, triglicéridos, VLDL e índice aterogénico y de tipo marginal con LDL y lípidos totales. En los participantes con obesidad, solo se observó una correlación positiva de tipo marginal con colesterol.

Mientras que, en el grupo de alta exposición solo se observó una correlación positiva de BuChE con índice aterogénico y correlaciones marginales con triglicéridos, VLDL y HDL en las personas con peso normal. Adicionalmente, un análisis de regresión lineal mostró una asociación entre BuChE con VLDL ($\beta=56.87$, $p=0.003$), colesterol ($\beta=16.86$, $p<0.001$) y lípidos totales ($\beta=-2.78$, $p=0.02$) en los individuos con sobrepeso del grupo de exposición moderada.

En la literatura son limitados los estudios que reportan correlaciones entre la actividad de BuChE con parámetros lipídicos y glucosa, tanto en estudios en animales como en poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas. En este sentido, Lucić y cols. (2002), observaron un aumento en la concentración de colesterol y LDL y una disminución de BuChE en ratas tratadas con dos dosis de diclorvos. Asimismo, estudios en ratas y ratones expuestos a clorpirifos mostraron un aumento de peso (Lassiter y Brimijoin, 2008; Peris-Sampedro y cols., 2015b) y un incremento de acil grelina (Peris-Sampedro y cols., 2015). Mientras que, en humanos, Kutty y cols. (1975), reportaron una disminución de la actividad de BuChE, LDL y colesterol en un paciente intoxicado con POF. Además Patil y cols. (2009), en una población de la India reportaron baja concentración de BuChE, colesterol y altos niveles de glucosa en individuos expuestos a plaguicidas.

Tabla 6. Correlaciones entre la actividad de BuChE y parámetros bioquímicos

| Grupos por IMC | Glucosa (mg/dL) | Colesterol (mg/dL) | Triglicéridos (mg/dL) | VLDL (mg/dL) | HDL (mg/dL) | Índice aterogénico (mg/dL) | LDL (mg/dL) | Lípidos totales (mg/dL) |
|-----------------------------------|-----------------|--------------------|-----------------------|---------------|---------------|----------------------------|--------------|-------------------------|
| <u>Baja exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.86* | -0.63 | 0.59 | 0.58 | -0.38 | 0.28 | -0.69 | 0.32 |
| Sobrepeso | 0.59 | 0.69* | 0.76** | 0.73** | -0.49 | 0.75** | 0.58 | 0.76** |
| Obesidad | 0.31 | 0.02 | -0.26 | -0.27 | -0.35 | 0.28 | 0.15 | -0.14 |
| <u>Moderada exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.04 | 0.15 | 0.45* | 0.29 | -0.05 | 0.28 | 0.08 | 0.39 |
| Sobrepeso | 0.32 | 0.42** | 0.40** | 0.52** | -0.26 | 0.43** | 0.26* | 0.28* |
| Obesidad | 0.04 | 0.21* | 0.20 | 0.21 | 0.04 | 0.11 | 0.13 | 0.22* |
| <u>Alta exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | 0.41 | 0.26 | 0.47* | 0.47* | -0.47* | 0.62** | 0.39 | 0.41 |
| Sobrepeso | <0.01 | 0.11 | 0.30 | 0.33 | 0.29 | -0.30 | -0.13 | 0.28 |
| Obesidad | 0.15 | -0.12 | -0.12 | 0.05 | -0.03 | -0.11 | -0.11 | -0.14 |

Los valores de p fueron obtenidos con la prueba de correlación de Pearson. *0.05<p<0.1; **p<0.05.

b) Parámetros renales

En cuanto a los parámetros de función renal, en el grupo de baja exposición, se observó una correlación positiva con creatinina en los participantes de peso normal, mientras que, en los de sobrepeso se observaron correlaciones positivas con urea y nitrógeno ureico en sangre (BUN). En el caso del grupo de moderada exposición se observó una correlación positiva con ácido úrico en los participantes con sobrepeso. Por otro lado, en el grupo de alta exposición, se observó una correlación negativa con ácido úrico en los participantes con obesidad (Tabla 7).

Tabla 7. Correlaciones entre la actividad de BuChE y parámetros renales

| Grupos por IMC | Urea (mg/dL) | BUN (mg/dL) | Creatinina (mg/dL) | Ácido Úrico (mg/dL) |
|-----------------------------------|---------------|---------------|--------------------|---------------------|
| <u>Baja exposición</u> | | | | |
| Normal | -0.13 | -0.13 | 0.98** | 0.30 |
| Sobrepeso | 0.80** | 0.80** | 0.29 | 0.11 |
| Obesidad | 0.29 | 0.29 | -0.18 | 0.59 |
| <u>Moderada exposición</u> | | | | |
| Normal | -0.13 | -0.13 | -0.001 | -0.01 |
| Sobrepeso | -0.07 | -0.06 | 0.12 | 0.33** |
| Obesidad | -0.21 | -0.21 | -0.004 | 0.13 |
| <u>Alta exposición</u> | | | | |
| Normal | -0.16 | 0.001 | 0.03 | 0.09 |
| Sobrepeso | -0.34 | -0.34 | -0.14 | 0.16 |
| Obesidad | -0.32 | -0.32 | -0.34 | -0.43** |

Los valores de p fueron obtenidos con la prueba de correlación de Pearson. *0.05<p<0.1; **p<0.05.

Alteraciones en los parámetros como BUN, urea y ácido úrico, han sido asociados con desarrollo de enfermedades renales crónicas, favorecidas con el síndrome metabólico, dislipidemias, hipertensión y diabetes tipo II (Kutzing y Firestein, 2008;

Johnson y cols., 2013; Navarro y Ardiles, 2015). Referente a la exposición a POF, se han reportado alteraciones en éstos parámetros (Al-Sarar y cols., 2009; Singh y cols., 2011b), sin embargo, no correlacionados directamente con la actividad de BuChE.

c) Actividad BuChE y parámetros hepáticos

En cuanto a los parámetros de función hepática, en el grupo de baja exposición se observó una correlación positiva marginal con fosfatasa alcalina en los individuos con sobrepeso. En el grupo de moderada exposición, los individuos con peso normal mostraron correlaciones negativas con aspartato aminotransferasa (TGO) y alanina aminotransferasa (TGP), y de tipo marginal negativa con fosfatasa alcalina y positiva con gamma glutamil transferasa (GGT); mientras que, en los individuos con sobrepeso se observaron correlaciones positivas con albúmina y proteínas séricas (incluyen albúmina y globulina). Por otro lado, en el grupo de alta exposición en los individuos con peso normal se observó una correlación positiva marginal con proteínas séricas, mientras que, en los individuos con sobrepeso se observó una correlación negativa de tipo marginal con fosfatasa alcalina (Tabla 8).

La actividad de BuChE ha sido considerada como un indicador convencional de la función hepática (Burnett, 1960; Al-Kassab y Vijayakumar, 1995; Meng y cols., 2013; Pavo y cols., 2017), mientras que, la obesidad se ha asociado con un mayor riesgo de padecer alguna enfermedad hepática por depósito de grasa (Miquilena Colina y García Monzón, 2010), asimismo, la acumulación de grasa en el hígado suele acompañarse de un aumento de las enzimas hepáticas, principalmente TGP y TGO (Gutiérrez-Cota y cols., 2013), las cuales, de acuerdo a Araoud y cols. (2013), podrían estar correlacionadas con la actividad de BuChE, dependiendo de las diferentes condiciones hepáticas como colestasis, hepatitis y cirrosis.

Tabla 8. Correlaciones entre la actividad de BuChE y parámetros hepáticos

| Grupos por IMC | TGO (UI/L) | TGP (UI/L) | Fosfatasa alcalina (UI/L) | GGT (UI/L) | Bilirrubina total (mg/dL) | Bilirrubina indirecta (mg/dL) | Proteínas séricas (g/dL) | Albúmina (g/dL) |
|-----------------------------------|----------------|----------------|---------------------------|--------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------|
| <u>Baja exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.07 | -0.53 | 0.46 | -0.10 | 0.71 | 0.65 | 0.18 | 0.48 |
| Sobrepeso | 0.05 | 0.16 | 0.66* | 0.33 | 0.32 | 0.50 | 0.27 | -0.27 |
| Obesidad | -0.26 | -0.22 | -0.03 | -0.21 | 0.16 | 0.18 | 0.22 | 0.51 |
| <u>Moderada exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.54** | -0.64** | -0.47* | 0.47* | 0.10 | 0.15 | -0.32 | 0.23 |
| Sobrepeso | 0.23 | 0.23 | 0.21 | 0.22 | 0.05 | 0.01 | 0.35** | 0.46** |
| Obesidad | -0.01 | 0.02 | 0.01 | 0.09 | 0.16 | 0.12 | 0.22* | 0.18 |
| <u>Alta exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.03 | 0.25 | 0.07 | -0.06 | 0.30 | 0.36 | 0.45* | 0.22 |
| Sobrepeso | 0.09 | 0.13 | -0.40* | 0.30 | 0.02 | 0.17 | 0.08 | -0.18 |
| Obesidad | 0.09 | 0.03 | -0.23 | -0.07 | -0.14 | -0.09 | -0.30 | -0.18 |

Los valores de p fueron obtenidos con la prueba de correlación de Pearson. *0.05<p<0.1; **p<0.05.

6.3.2 Parámetros bioquímicos, AChE y nivel de exposición

a) Parámetros lipídicos y glucosa

En el grupo de baja exposición, se observó una correlación negativa marginal entre la AChE y glucosa en los individuos con obesidad. Mientras que, en el grupo de exposición moderada se observaron correlaciones negativas marginales con triglicéridos y VLDL, y de tipo positiva, también marginal, con LDL en los participantes con sobrepeso. En el caso del grupo de alta exposición con sobrepeso, se observó una correlación negativa marginal con HDL y en los individuos con obesidad, se observaron correlaciones negativas con glucosa, triglicéridos y VLDL (Tabla 9).

Las correlaciones negativas observadas entre AChE y glucosa en individuos con obesidad, hasta el momento, no han sido reportados en estudios, sin embargo, estudios en poblaciones ocupacionalmente expuestas a POF, han reportado que la exposición a estos compuestos aumenta el riesgo de padecer diabetes de tipo II, debido a que los POF estimulan la glucogenólisis y gluconeogénesis, lo que propicia la hiperglicemia (Moore y James, 1981; Martin Rubi y cols., 1996; Shobha y Prakash, 2000; Raafat y cols.,2012).

En cuanto a las correlaciones entre AChE y los parámetros lipídicos, se observaron variaciones en los grupos de moderada y alta exposición en los participantes con sobrepeso y obesidad. Estas observaciones, tampoco han sido reportadas previamente en poblaciones humanas, sin embargo, un estudio en roedores mostró que la inhibición inducida de la AChE en ayuno, incrementaba la acumulación de triglicéridos (Yokota y cols., 2014)

Tabla 9. Correlaciones entre la actividad de AChE con glucosa y parámetros lipídicos

| Grupos por IMC | Glucosa (mg/dL) | Colesterol (mg/dL) | Triglicéridos (mg/dL) | VLDL (mg/dL) | HDL (mg/dL) | Índice aterogénico (mg/dL) | LDL (mg/dL) | Lípidos totales (mg/dL) |
|-----------------------------------|-----------------|--------------------|-----------------------|----------------|---------------|----------------------------|--------------|-------------------------|
| <u>Baja exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | 0.32 | 0.527 | -0.11 | 0.08 | 0.53 | -0.74 | -0.05 | 0.26 |
| Sobrepeso | -0.70 | 0.116 | 0.23 | 0.23 | 0.12 | 0.35 | 0.26 | 0.12 |
| Obesidad | -0.63* | 0.31 | 0.35 | 0.39 | -0.04 | 0.47 | 0.31 | 0.49 |
| <u>Moderada exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | 0.30 | 0.20 | 0.02 | 0.03 | 0.43 | -0.03 | 0.09 | 0.31 |
| Sobrepeso | 0.01 | 0.16 | -0.28* | -0.27* | 0.16 | -0.06 | 0.26* | -0.10 |
| Obesidad | 0.07 | <0.01 | 0.16 | 0.16 | 0.05 | -0.06 | -0.13 | 0.11 |
| <u>Alta exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | 0.42 | 0.09 | 0.32 | 0.33 | -0.05 | 0.10 | -0.01 | 0.30 |
| Sobrepeso | 0.28 | -0.29 | -0.24 | -0.37 | -0.43* | 0.13 | -0.26 | -0.25 |
| Obesidad | -0.48** | -0.26 | -0.47** | -0.48** | 0.31 | -0.06 | 0.23 | -0.19 |

Los valores de p fueron obtenidos con la prueba de correlación de Spearman. *0.05<p<0.1; **p<0.05.

b) Parámetros renales

No se observaron correlaciones en los grupos de baja y moderada exposición. Sin embargo, en el grupo de alta exposición, en los individuos de peso normal se observó una correlación negativa marginal con BUN. En las personas con sobrepeso se encontraron correlaciones positivas marginales con urea y BUN, así como una correlación negativa con ácido úrico. Mientras que, en los individuos con obesidad se observó una correlación negativa marginal con creatinina (Tabla 10).

Tabla 10. Correlaciones entre la actividad de AChE y parámetros renales

| Grupos por IMC | Urea (mg/dL) | BUN (mg/dL) | Creatinina (mg/dL) | Ácido úrico (mg/dL) |
|-----------------------------------|--------------|----------------|--------------------|---------------------|
| <u>Baja exposición</u> | | | | |
| Normal | 0.21 | 0.21 | -0.11 | 0.63 |
| Sobrepeso | 0.63 | 0.63 | 0.44 | 0.06 |
| Obesidad | 0.32 | 0.32 | 0.60 | 0.20 |
| <u>Moderada exposición</u> | | | | |
| Normal | 0.24 | 0.24 | -0.08 | -0.19 |
| Sobrepeso | 0.20 | 0.20 | 0.08 | 0.18 |
| Obesidad | 0.16 | 0.16 | -0.06 | -0.14 |
| <u>Alta exposición</u> | | | | |
| Normal | -0.42 | -0.68** | 0.26 | 0.07 |
| Sobrepeso | 0.41* | 0.41* | -0.09 | -0.43* |
| Obesidad | -0.09 | -0.09 | -0.41* | -0.34 |

Los valores de p fueron obtenidos con la prueba de correlación de Spearman. *0.05<p<0.1; **p<0.05.

Estudios en poblaciones ocupacionalmente expuestas a POF han descrito alteraciones en los parámetros de función renal a través del incremento de la concentración de urea, creatinina y ácido úrico, así como la disminución de la

actividad de AChE en individuos expuestos a POF (Al-Sarar y cols., 2009; Singh y cols., 2011b). Sobre la base de lo anterior, podría suponerse que la inhibición de AChE, promueve el incremento de urea, BUN, creatinina y ácido úrico, lo que conduciría a un daño renal, sin embargo, en la población de este estudio se observaron correlaciones tanto positivas como negativas de acuerdo al IMC. En este sentido, el daño renal producto de la exposición a POF podría modularse dependiendo del IMC en los individuos de esta población.

c) Parámetros hepáticos

En el grupo de baja exposición se observó una correlación negativa marginal entre AChE y albúmina en individuos con sobrepeso. En el grupo de moderada exposición una correlación negativa marginal con GGT en las personas con sobrepeso. Mientras que, en el grupo de alta exposición, se observaron correlaciones negativas con proteínas séricas y albumina, y de tipo marginal con bilirrubina total en los individuos con sobrepeso. En los participantes obesos se observaron correlaciones negativas con bilirrubina total e indirecta y de tipo marginal con fosfatasa alcalina (Tabla 11).

El sobrepeso y la obesidad han sido relacionados con el incremento de enzimas hepáticas como TGP y GGT, así como con el desarrollo de la resistencia a la insulina (Gray y cols., 2013). Alteraciones en estas enzimas también han sido descritas en poblaciones expuestas a POF, al respecto, Ismail y cols. (2010), observaron correlaciones negativas entre la actividad AChE y las transaminasas en adolescentes y niños ocupacionalmente expuestos plaguicidas. De acuerdo a lo observado en los individuos del presente trabajo, la inhibición de AChE por los POF, podría estar relacionada con alteraciones de los parámetros de funcionamiento hepático.

Tabla 11. Correlaciones entre la actividad de AChE y parámetros hepáticos

| Grupos por IMC | TGO (UI/L) | TGP (UI/L) | Fosfatasa Alcalina (UI/L) | GGT (UI/L) | Bilirrubina total (mg/dL) | Bilirrubina indirecta (mg/dL) | Proteínas séricas (g/dL) | Albúmina (g/dL) |
|-----------------------------------|------------|------------|---------------------------|---------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------|
| <u>Baja exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.16 | -0.46 | -0.43 | 0.05 | 0.05 | -0.16 | 0.68 | -0.08 |
| Sobrepeso | 0.61 | 0.13 | 0.06 | -0.35 | -0.12 | -0.09 | 0.09 | -0.83** |
| Obesidad | 0.29 | 0.43 | -0.16 | -0.04 | 0.20 | 0.33 | 0.51 | 0.13 |
| <u>Moderada exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.34 | 0.26 | -0.25 | 0.08 | 0.02 | 0.10 | 0.40 | 0.14 |
| Sobrepeso | -0.06 | -0.19 | -0.21 | -0.26* | -0.16 | -0.19 | -0.18 | <0.01 |
| Obesidad | 0.15 | 0.10 | 0.06 | 0.12 | -0.12 | -0.16 | -0.17 | -0.15 |
| <u>Alta exposición</u> | | | | | | | | |
| Normal | -0.15 | 0.33 | -0.03 | 0.16 | -0.47 | -0.37 | 0.05 | 0.03 |
| Sobrepeso | -0.27 | 0.09 | 0.21 | 0.06 | -0.42* | -0.28 | -0.49** | -0.68** |
| Obesidad | -0.33 | -0.27 | -0.41* | -0.26 | -0.45** | -0.43** | <0.01 | -0.31 |

Los valores de p fueron obtenidos con la prueba de correlación de Spearman. *0.05<p<0.1; **p<0.05.

Por otro lado, se ha propuesto que la unión de la albúmina y los POF podría reducir la toxicidad al limitar su acceso a los objetivos funcionales en el cerebro y músculo (Qiao y cols., 2001; Tarhoni y cols., 2008). En relación a esto, en el grupo de individuos altamente expuestos de este estudio, la concentración de albúmina fue significativamente más baja (4.75 g/dL) cuando la actividad de AChE estuvo por arriba de la media geométrica. Caso contrario, cuando la actividad de AChE estuvo por debajo de la media, la concentración de la albúmina fue mayor (4.91 g/dL). Con base en lo anterior, es posible que la correlación negativa entre la AChE y la albúmina observada en la población se deba, en parte, a la capacidad de “scavenger” de esta enzima hacia los POF.

Los resultados observados en el análisis de los parámetros bioquímicos en este estudio y de acuerdo a lo reportado en la literatura, sugieren que las variaciones en los diferentes parámetros podrían estar asociadas a la actividad de las colinesterasas, las cuales podrían depender del grado de exposición a plaguicidas, así como del IMC de los participantes.

6.4 Polimorfismos genéticos como modificadores de la toxicidad de los POF

PON1 Q192R

Las frecuencias genotípicas observadas para *PON1 Q192R* en este trabajo fueron para QQ: 0.27, QR: 0.50 y RR: 0.23. Tanto en la población de estudio como en otras poblaciones mexicanas ocupacionalmente expuestas, el genotipo con mayor frecuencia fue el heterocigoto QR, a excepción de un estudio en jornaleros indígenas en Nayarit (Bernal-Hernández y cols., 2014), en el cual el homocigoto RR fue el de mayor frecuencia genotípica (Tabla 12). Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas de las frecuencias genotípicas entre las poblaciones. Así también, de los grupos de moderada y alta exposición, el 24.6% de los participantes presentaron el genotipo QQ, el cual es sustrato dependiente y ha sido asociado con una mayor susceptibilidad a la exposición a clorpirifos respecto a aquellos con el genotipo RR (Davies y cols., 1996; Akgür y cols., 2003; Lee y cols., 2003).

CYP1A2*1F

Las frecuencias genotípicas observadas para *CYP1A2*1F* fueron para CC: 0.08, CA: 0.41 y AA: 0.51 (Tabla 12). Anteriormente, este genotipo fue descrito para otras poblaciones mexicanas ocupacionalmente expuestas, donde el genotipo más frecuente, al igual que en este estudio fue el AA, a excepción de los Taraumaras y Coras, donde el más frecuente fue el genotipo CA (Lazalde-Ramos, 2012). Es importante señalar que el 51% de los individuos de los grupos de moderada y alta exposición presentaron el genotipo AA, el cual, ha sido asociado con un incremento de la actividad enzimática (Sachse y cols., 1999; Han y cols., 2002; Zanger y cols., 2008; Djordjevic y cols., 2010; Pilgrim y cols., 2012; Tian y cols., 2013), y de éstos, el 19% presentó el genotipo de mayor susceptibilidad de *PON1 Q192R* (QQ).

CYP2B6*22

En el caso del polimorfismo *CYP2B6*22*, los genotipos encontrados fueron para TT: 0.99 y TC: 0.01, CC no fue observado. Hasta donde es nuestro conocimiento, no hay estudios reportados de este polimorfismo en poblaciones mexicanas, sin embargo, en poblaciones hispánica, afroamericana, asiática y surafricana coinciden con lo observado en la población de estudio (Tabla 12). El genotipo CC no ha sido reportado en poblaciones ocupacionalmente expuestas, el cual está asociado con un aumento en los niveles de expresión de la enzima (Zukunft y cols., 2005).

CYP2D6*4

Las frecuencias genotípicas observadas para *CYP2D6*4* en este estudio fueron las siguientes: *1/*1: 0.79, *1/*4: 0.20 y *4/*4: 0.01. Estas frecuencias genotípicas han sido descritas en poblaciones de Durango y Nayarit, también expuestas a plaguicidas. Tanto en esas poblaciones como en la de éste estudio, el genotipo de mayor frecuencia fue el *1/*1 (Tabla 12). Además, en los grupos de moderada y alta exposición, el 2.8% son portadores del genotipo *4/*4, el cual transcribe una proteína de actividad enzimática nula (Sams y cols., 2000).

Tabla 12. Frecuencias genotípicas y alélicas de la población de estudio

| Población | | | Genotipos | | | Alelos | |
|--|--------------------------|------------|--------------|--------------|--------------|-------------|-------------|
| | | | PON1 Q192R | | | | |
| <i>Mexicana</i> | | <i>N</i> | QQ | QR | RR | Q | R |
| Rojas-García y cols., 2005 | Ciudad de México | 214 | 0.27 | 0.44 | 0.29 | 0.51 | 0.49 |
| Gamboa y cols., 2008 | Ciudad de México | 155 | 0.26 | 0.57 | 0.16 | 0.55 | 0.45 |
| López-Flores y cols., 2009 | Morelos y Edo. De México | 169 | 0.16 | 0.47 | 0.37 | 0.40 | 0.60 |
| Martínez-Salazar y cols., 2011 | Morelos y Edo. De México | 63 | 0.31 | 0.36 | 0.33 | 0.48 | 0.52 |
| Bernal-Hernández y cols., 2014 | Huicholes de Nayarit | 62 | 0.20 | 0.42 | 0.48 | 0.41 | 0.59 |
| García-González y cols., 2016 | Yucatán | 151 | 0.22 | 0.48 | 0.30 | 0.46 | 0.54 |
| Este trabajo | Nayarit | 205 | 0.27 | 0.50 | 0.23 | 0.52 | 0.48 |
| Población | | | CYP1A2*1F | | | | |
| <i>Mexicana</i> | | <i>N</i> | CC | CA | AA | C | A |
| Lazalde Ramos, 2012 | Mexicaneros | 78 | 0.02 | 0.39 | 0.59 | 0.22 | 0.78 |
| | Seris | 38 | 0 | 0.16 | 0.84 | 0.08 | 0.92 |
| | Guarijíos | 30 | 0.06 | 0.27 | 0.67 | 0.20 | 0.80 |
| | Mayos | 88 | 0.02 | 0.34 | 0.64 | 0.19 | 0.81 |
| | Huicholes | 196 | 0.10 | 0.38 | 0.58 | 0.29 | 0.71 |
| | Tarahumaras | 146 | 0.19 | 0.55 | 0.26 | 0.47 | 0.53 |
| | Coras | 158 | 0.15 | 0.48 | 0.37 | 0.39 | 0.61 |
| Este trabajo | Nayarit | 173 | 0.08 | 0.41 | 0.51 | 0.29 | 0.71 |
| <i>Francesa</i> | | | | | | | |
| Dereure y cols., 2003 | Sur de Francia | 49 | 0.06 | 0.54 | 0.39 | 0.33 | 0.77 |
| <i>Española</i> | | | | | | | |
| Fontanellas y cols., 2010 | Españoles | 102 | 0.03 | 0.49 | 0.48 | 0.28 | 0.72 |
| <i>Americana</i> | | | | | | | |
| Wickliffe y cols., 2011 | New York | 66 | 0.06 | 0.39 | 0.55 | 0.25 | 0.75 |
| Población | | | CYP2B6*22 | | | | |
| | | <i>N</i> | TT | TC | CC | T | C |
| www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP | Sub-Saharan Africana | 24 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | Hispánica | 42 | 0.95 | 0.05 | 0 | 0.98 | 0.02 |
| | Europea | 42 | 0.95 | 0.05 | 0 | 0.98 | 0.02 |
| | Africana Americana | 30 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| | Asiática | 48 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 |
| Este trabajo | Nayarit | 198 | 0.99 | 0.01 | 0 | 0.99 | 0.01 |
| Población | | | CYP2D6*4 | | | | |
| <i>Mexicana</i> | | <i>N</i> | *1/*1 | *1/*4 | *4/*4 | *1 | *4 |
| Sosa-Macías y cols., 2006 | Durango | 110 | 0.74 | 0.17 | 0.04 | 0.87 | 0.13 |
| | Tepehuano de Durango | 88 | 0.99 | 0.01 | 0.00 | 0.99 | 0.01 |
| Bañuelos- Alanis y cols., 2007 | Menonitas de Durango | 21 | 0.57 | 0.33 | 0.05 | 0.79 | 0.21 |
| Bernal-Hernández, 2014 | Huicholes de Nayarit | 62 | 0.88 | 0.11 | 0.03 | | |
| Este trabajo | Nayarit | 199 | 0.79 | 0.20 | 0.01 | 0.89 | 0.11 |

Las frecuencias genotípicas observadas en este estudio, se encuentran en equilibrio genético con la Ley de Hardy-Weinberg (Tabla 13), lo que señala que en la población de estudio no hubo selección, no se crearon nuevos alelos o se convirtieron de un alelo en otro (no mutación), no hubo flujo genético (no migración de la población), la población de estudio fue lo suficientemente grande como para que los errores de muestreo y otros efectos aleatorios no influyeran en las frecuencias encontradas y que los individuos de esta población se aparearon al azar (Klug y Cumming, 2006).

Tabla 13. Análisis de equilibrio de Hardy-Weinberg para los genotipos determinados en este estudio

| PON1 Q192R n=205 | | | |
|-------------------------|-------------------|------------------|---|
| Genotipos | Observados | Esperados | $X^2=0.42$ X^2 valor de $p=0.51^*$ |
| QQ | 53 | 53.3 | |
| QR | 107 | 102.3 | |
| RR | 45 | 47.3 | |
| Q=0.52 | | R=0.48 | |
| CYP12*1F n=173 | | | |
| Genotipos | Observados | Esperados | $X^2=0$ X^2 valor de $p=0.95^*$ |
| CC | 14 | 14.2 | |
| CA | 71 | 70.7 | |
| AA | 88 | 88.2 | |
| C=0.29 | | A=0.71 | |
| CYP2B6*22 n=198 | | | |
| Genotipos | Observados | Esperados | $X^2=0$ X^2 valor de $p=0.94^*$ |
| TT | 196 | 196 | |
| TC | 2 | 2 | |
| CC | 0 | 0 | |
| T=0.99 | | C=0.01 | |
| CYP2D6*4 n=199 | | | |
| Genotipos | Observados | Esperados | $X^2=0$ X^2 valor de $p=0.08^*$ |
| *1/*1 | 5 | 2.5 | |
| *1/*4 | 35 | 39.9 | |
| *4/*4 | 159 | 156.5 | |
| *1=0.11 | | *4=0.89 | |

El análisis estadístico se llevó a cabo con la prueba de X^2 de Pearson. Si $*p > 0.05$, entonces es consistente con Ley de Hardy-Weinberg.

6.4.1 Genotipos y actividad de colinesterasas

Las actividades de AChE y BuChE fueron analizadas de acuerdo a los genotipos de *PON1Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22* y *CYP2D6*4*, sin embargo, no se observaron diferencias en la actividad de las colinesterasas por genotipo (Tabla 14).

Tabla 14. Actividad de colinesterasas estratificada por genotipos en la población

| Genotipo | BuChE U/L M (IC 95%) | p | AChE U/gr de Hb MG (IC 95%) | p |
|--------------------------|----------------------------|------|-----------------------------------|------|
| <i>PON1 Q192R</i> | | | | |
| QQ | 5377.5 (4948.7-5806.4) | 0.65 | 19.5 (18.6-20.4) | 0.63 |
| QR | 5612.3 (5307.1-5917.4) | | 19.8 (19.0-20.5) | |
| RR | 5608.7 (5139.0-6078.3) | | 19.5 (18.6-20.5) | |
| <i>CYP1A2*1F</i> | | | | |
| CC | 5349.9 (4644.8-6054.9) | 0.81 | 20.1 (18.3-22.1) | 0.91 |
| CA | 5640.0 (5309.4-5970.6) | | 19.8 (18.9-20.6) | |
| AA | 5566.0 (5203.4-5928.6) | | 19.8 (19.1-20.5) | |
| <i>CYP2B6*22</i> | | | | |
| TT | 5566.8 (5348.7-5784.8) | 0.87 | 19.7 (19.2-20.2) | 0.27 |
| TC | 5820.5 (3158.6-8482.5) | | 16.1 | |
| CC | --- | | --- | |
| <i>CYP2D6*4</i> | | | | |
| *1/*1 | 5525.6 (5290.4-5760.9) | 0.93 | 19.7 (19.2-20.3) | 0.48 |
| *1/*4 | 5613.0 (4970.1-6255.9) | | 19.7 (18.4-21.1) | |
| *4/*4 | 5376.2 (3637.6-7114.9) | | 18.3 (15.3-21.7) | |

M: media; MG; media geométrica; IC, intervalo de confianza. Los valores de p de BuChE fueron obtenidos por el análisis de varianza One-way y T de Student. Los valores de p de AChE fueron obtenidos por la prueba Kruskal-Kawallis y U de Man-Whitney.

La implicación de las diferentes formas alélicas de *PON1 Q192R* en la biotransformación de compuestos es complicada, ya que algunos POF son hidrolizados con gran eficiencia catalítica por *PON1 192R* con respecto a *PON1 192Q* y viceversa (Albers y cols., 2010). En la población de estudio, uno de los principales POF utilizados fue clorpirifos, y el oxón de éste, es hidrolizado más eficientemente por *PON1 192R* (Furlong y cols., 1998). En este sentido, numerosos estudios han reportado diferencias en la actividad de colinesterasas de acuerdo al genotipo de *PON1 Q192R*. Por ejemplo, se ha reportado una disminución significativa de la actividad de BuChE en portadores del genotipo QQ en poblaciones expuestas a POF (Sözmen y cols., 2002; Lee y cols., 2003). Así también, Hofmann y cols. (2009), reportaron una inhibición significativa de la actividad de BuChE en los portadores del genotipo QQ en una población expuesta mayormente a clorpirifos. En contraste, Albers y cols. (2010), en una población de manufactureros de clorpirifos, no encontraron evidencias de que la actividad de BuChE fuera influenciada por los genotipos de *PON1 Q192R*. Asimismo, Bernal-Hernández y cols. (2014), tan poco observaron asociaciones entre el polimorfismo *PON1 Q192R* y la actividad de las colinesterasas en una población de jornaleros indígenas.

En el caso particular de AChE, Lozano-Paniagua y cols. (2016), en una población ocupacionalmente expuesta del sureste de España, observaron una menor actividad de AChE en los portadores del genotipo RR, este resultado es consistente con lo reportado por Hernández y cols. (2005), en una población también del sureste de España. Sin embargo, es contrario a lo observado en la población de este estudio, que es consistente con el estudio de Bernal-Hernández y cols. (2014) en jornaleros indígenas.

En el caso de los citocromos, el *CYP1A2*1F* ha sido determinado en una población mexicana expuesta a POF y se reportó que los homocigotos AA tenían una mayor tendencia de presentar efectos de tipo neurológico por exposición a POF respecto a los heterocigotos y homocigotos de la forma silvestre (Sánchez-Guerra y cols., 2007). En el caso del *CYP2D6*4*, estudios en poblaciones ocupacionalmente expuestas han

reportado que los diferentes genotipos del *CYP2D6* se encuentran asociados con daño al ADN y con el riesgo de padecer Parkinson, sin embargo, no se ha observado asociación con *CYP2D6*4*, debido probablemente a la baja frecuencia genotípica de éste en las poblaciones estudiadas (Elbaz y cols., 2004; Singh, y cols., 2011a).

6.4.2 Combinaciones de los genotipos de *PON1 Q192R*, *CYP1A2*1F*, *CYP2B6*22*, *CYP2D6*4* y actividad de las colinesterasas

Los genotipos asociados con mayor susceptibilidad a POF se encuentran en diferentes porcentajes en los individuos (*PON1 Q192R* QQ 27%, *CYP1A2*1F* AA 51% y *CYP2D6*4* *4*4 1%). Mientras que, las combinaciones genotípicas más frecuentes en la población de estudio, independientemente de la susceptibilidad, fueron: QR/*1*1 de *PON1 Q192R/CYP2D6*4*; QR/AA de *PON1 Q192R/CYP1A2*1F*; QR/TT de *PON1 Q192R/CYP2B6*22*; AA/TT de *CYP1A2*1F/CYP2B6*22*; *1/*1/TT de *CYP2D6*4/CYP2B6*22*; y *1*1/AA de *CYP2D6*4/CYP1A2*1F* (Figura 9), sin embargo, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las frecuencias de las distintas combinaciones de genotipos y la actividad.

En cuanto a la actividad BuChE por nivel de exposición, estratificada por combinaciones genotípicas, se observó en el grupo de alta exposición, una mayor actividad de BuChE en los portadores de la combinación QR/CA y una menor actividad en los portadores de RR/CA de los genotipos de *PON1 Q192R/CYP1A2*1F*, sin embargo, esta diferencia fue estadísticamente marginal (Tabla 15). En el grupo de moderada exposición se observó una mayor actividad en los portadores de la combinación RR/TT y una menor actividad en los portadores de la combinación QQ/TT de los genotipos de *PON1 Q192R/CYP2B6*22* (Tabla 15).

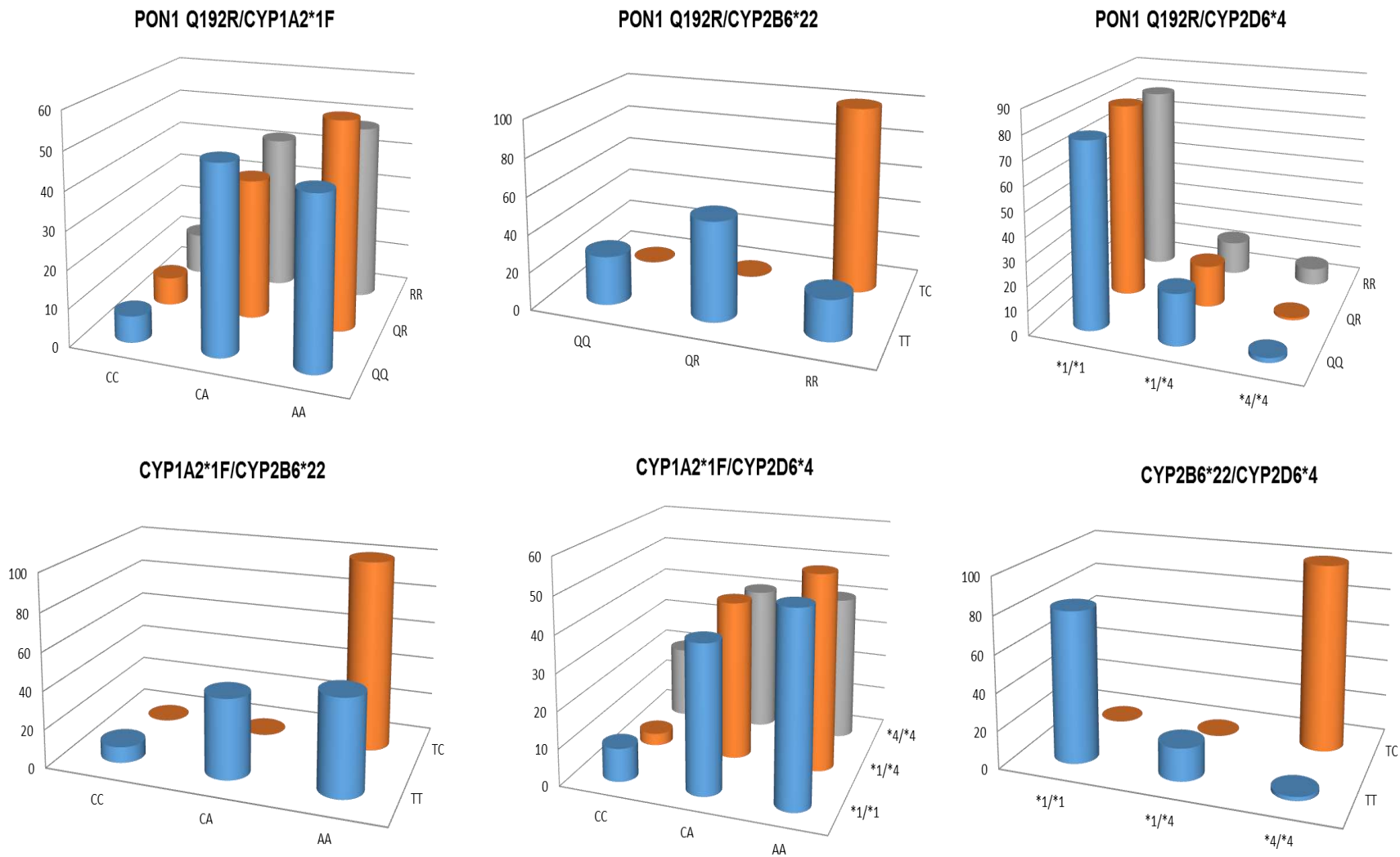


Figura 9. Combinaciones genóticas de los polimorfismos determinados en la población de estudio

Tabla 15. Actividad BuChE por nivel de exposición estratificada por combinaciones genotípicas entre *PON1 Q192R* y polimorfismos de *CYP450*

| Combinación genotípica | Baja exposición | Moderada exposición | Alta exposición |
|------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| <i>PON1 Q192R/CYP1A2*1F</i> | | | |
| QQ/CA | 7371.5 | 6134.7 (5417.7-6851.7) | 4480.7 (3726.0-5235.3) |
| QQ/AA | 6291 (5125.8-7456.2) | 5541.2 (4403.6-6678.8) | 4577.8 (2928.2-6227.4) |
| QR/CA | 6715 (4952.4-8477.6) | 5900.5 (5261.8-6539.2) | 5208.571 (4168.5-6248.7) |
| QR/AA | 6933 | 5962.8 (5346.2-6579.4) | 4233.8 (3856.0-4611.5) |
| RR/CA | 6610.3 (5106.8-8113.7) | 5641.333 (4719.5-6563.2) | 3923.8 (3221.3-4626.3) |
| RR/AA | 6593 (3655.1-9530.9) | 6355.5 (4965.9-7745.0) | 4104.7 (1279.8-6929.6) |
| p | 0.12 | 0.15 | 0.08 |
| <i>PON1 Q192R/CYP2B6*22</i> | | | |
| QQ/TT | 6476.9 (5789.7-7164.1) | 5738 (5143.4-6332.6) | 4488.1 (3933.8-5042.4) |
| QR/TT | 6968.1 (5772.6-8163.6) | 5960.8 (5578.2-6343.3) | 4482.6 (4111.8-4853.3) |
| RR/TT | 6698.3 (5639.1-7757.5) | 6030.1 (5363.5-6696.7) | 4156.154 (3715.8-4596.5) |
| p | 0.16 | 0.02 | 0.83 |
| <i>PON1 Q192R/CYP2D6*4</i> | | | |
| QQ/*1/*1 | 6280.1 (5675.8-6884.5) | 5668.0 (4941.5-6394.4) | 4457.7 (3867.4-5047.9) |
| QR/*1/*1 | 6642.5 (5534.7-7750.3) | 5841.2 (5430.8-6251.7) | 4500.64 (4096.9-4904.4) |
| QR/*1/*4 | -- | 6420.6 (5360.9-7480.3) | 4079.25 (2795.9-5362.6) |
| RR/*1/*1 | 6864.8 (5588.0-8141.6) | 6086.0 (5336.5-6835.4) | 4250.8 (3646.3-4855.2) |
| p | 0.47 | 0.17 | 0.63 |

M: media; MG; media geométrica; IC, intervalo de confianza. Los análisis de BuChE fueron obtenidos por la prueba de ANOVA ($p < 0.05$).

Mientras que, en el grupo de baja exposición, se observó una mayor actividad en los portadores de CA/TT y una menor en los portadores de AA/TT en la combinación de los genotipos de *CYP1A2*1F/CYP2B6*22*. Así también se observó una diferencia estadísticamente marginal en la combinación de los genotipos de *CYP1A2*1F/CYP2D6*4*, donde la mayor actividad se observó en la combinación CA/*1*1 y la menor en AA/*1*1 (Tabla 16).

Tabla 16. Actividad BuChE por nivel de exposición estratificada por combinaciones genotípicas de polimorfismos de CYP450

| Combinación genotípica | Baja exposición | Exposición moderada | Alta exposición |
|-----------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
| <i>CYP1A2*1F/CYP2B6*22</i> | | | |
| CC/TT | -- | 5779 (4774.9-6783.1) | 4577.4 (3929.1-5225.7) |
| CA/TT | 6814.3 (6208.6-7420.1) | 5880.2 (5455.6-6304.8) | 4590.7 (4117.8-5063.6) |
| AA/TT | 6597.4 (5680.0-7514.7) | 5942.7 (5437.0-6448.4) | 4289.3 (3918.3-4660.2) |
| p | 0.04 | 0.10 | 0.62 |
| <i>CYP1A2*1F/CYP2D6*4</i> | | | |
| CC/*1/*1 | -- | 5968 (4653.8-7282.2) | 4577.4 (3929.1-5225.7) |
| CA/*1/*1 | 6768 (6075.9-7460.1) | 5777.2 (5280.0-6274.5) | 4789.3 (4168.2-5410.5) |
| AA/*1/*1 | 6626.5 (5727.1-7525.9) | 5900.5 (5364.0-6436.9) | 4273.6 (3886.9-4660.4) |
| CA/*1/*4 | 6976.5 | 6597.3 (5535.2-7659.3) | 4106.5 (3167.3-5045.7) |
| AA/*1/*4 | -- | 6086.1 (4568.3-7603.9) | 4307.2 (2925.4-5688.9) |
| p | 0.08 | 0.21 | 0.59 |
| <i>CYP2B6*22/CYP2D6*4</i> | | | |
| TT/*1/*1 | 6594.7 (6129.2-7060.2) | 5859.5 (5540.2-6178.9) | 4465.8 (4183.8-4747.8) |
| TT/*1/*4 | 6976.5 | 6370.2 (5648.4-7092.1) | 4226.9 (3480.0-4973.7) |
| p | 0.24 | 0.67 | 0.11 |

M: media; MG; media geométrica; IC, intervalo de confianza. Los análisis de BuChE fueron obtenidos por la prueba de T de Student y ANOVA.

Respecto a la actividad de AChE, no se encontraron diferencias por combinación de genotipos, sin embargo, al estratificar por IMC se observó en los individuos con peso normal una mayor actividad en los portadores de la combinación RR/*1*1 de *PON1 Q192R/CYP2D6*4*, respecto a la combinación QQ/*1*1 (Figura 11). Los portadores de la combinación QQ/*1*1 representan el 4% de la población de estudio, de los cuales, el 50% pertenecen al grupo de alta exposición. Estos resultados sugieren que los individuos con peso normal portadores de esta combinación genotípica podrían ser más susceptibles a la exposición a POF, sin embargo, son necesarios análisis más robustos, donde el número de participantes sea mayor.

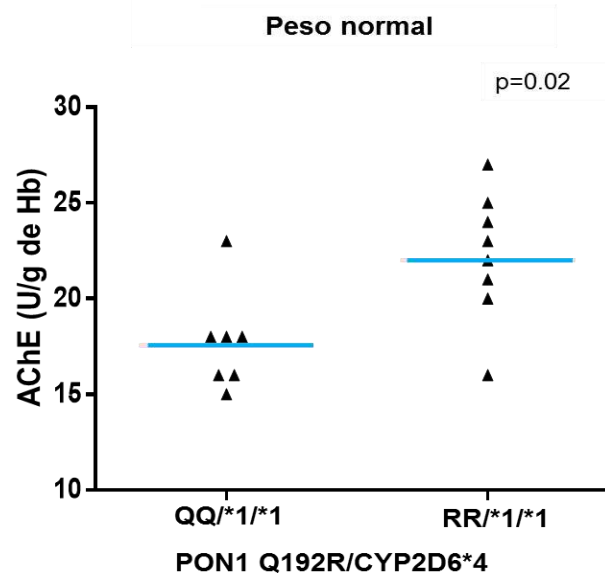


Figura 11. Actividad de AChE estratificada por combinaciones genotípicas de *PON1Q192R/CYP2D6*4* en individuos con peso normal. Los análisis fueron obtenidos con la prueba de Mann-Whitney ($p < 0.05$).

Existen factores internos como la especie, edad, sexo, estado hormonal, entre otros, que pueden influenciar la biotransformación de un xenobiótico (Ionescu y Cair., 2005). Debido a lo anterior, es posible sugerir que en los individuos de este estudio, la modulación de la inhibición de las colinesterasas podría deberse además de la exposición a plaguicidas, a la presencia de polimorfismos genéticos y el IMC de los individuos.

7. CONCLUSIONES

1. La media de la actividad BuChE (5550.8 U/L) se encontró dentro de los valores considerados como normales (5400-13200 U/L), sin embargo, el 48.1% de los participantes mostraron actividades por debajo de los valores considerados como normales.
2. La media de la actividad AChE (19.7 U/g Hb) se encontró dentro de los valores considerados como normales (17-45 U/g Hb), sin embargo, el 12.5% de la población presentó una actividad AChE por debajo de los valores considerados como normales.
3. No se encontraron diferencias en la actividad de AChE entre los grupos de estudio. Sin embargo, se observó una menor actividad AChE en los trabajadores de base con más de 4 años de antigüedad.
4. Fueron observadas correlaciones entre las colinesterasas (BuChE y AChE) con los parámetros de glucosa, colesterol, VLDL, LDL, HDL, triglicéridos, lípidos totales, índice aterogénico, creatinina, urea, BUN, ácido úrico, bilirrubinas, TGP, TGP, fosfatasa alcalina, GGT, proteínas séricas y albúmina, los cuales dependieron del IMC de los participantes.
5. Los genotipos más frecuentes en la población de estudio fueron para *PON1* Q192R: QQ (0.50); para *CYP1A2**1F: AA (0.51), para *CYP2B6**22: TT (0.99) y para *CYP2D6**4: *1*1 (0.79).
6. El 51% de la población moderada y altamente expuesta es portadora del genotipo de mayor susceptibilidad del *CYP1A2**1F (AA) y de éstos, el 19% presentó el genotipo de mayor susceptibilidad de *PON1* Q192R (QQ).

7. Se observó una menor actividad AChE en portadores de la combinación genotípica QQ/*1*1 de *PON1 Q192R/CYP2D6*4* respecto a los portadores de RR/*1*1 en participantes con peso normal.

8. De acuerdo a los resultados de este estudio, se sugiere que la modulación de la inhibición de las colinesterasas podría deberse además de la exposición a plaguicidas, a la presencia de polimorfismos genéticos y al IMC de los individuos.

8. PERSPECTIVAS

1. Determinar genotipos de BuChE para tener un escenario más completo sobre su evaluación en población expuesta a plaguicidas y su papel en el metabolismo de lípidos.
2. Incluir en este tipo de estudios un biomarcador de exposición a POF más específico, como la determinación de alquilfosfatos.
3. Diseñar estudios para poder elucidar el comportamiento de BuChE en individuos fumadores.
4. Considerar las condiciones de sobrepeso y obesidad en el diseño y análisis de resultados en estudios de poblaciones expuestas a xenobióticos en general.
5. Monitorear colinesterasas y parámetros clínicos en individuos ocupacionalmente expuestos y no expuestos a plaguicidas que decidan seguir un régimen para bajar de peso para evaluar los posibles cambios en éstas variables.
6. Implementar talleres de educación continua acerca del uso, manejo y efectos por exposición a plaguicidas para disminuir el riesgo de los efectos asociados a la exposición a éstos compuestos.

9. REFERENCIAS

- Abbott C A., Mackness M I., Kumar S., Olukoga A O., Gordon C., Arrol S., Bhatnagar D., Boulton A J., Durrington P N. (1993). Relationship between serum butyrylcholinesterase activity, hypertriglyceridaemia and insulin sensitivity in diabetes mellitus. *Clinical science* 85(1): 77-81.
- Abou-Donia M B., Lapadula D M. (1990). Mechanisms of organophosphorus ester-induced delayed neurotoxicity: type I and type II. *Annual review of pharmacology and toxicology* 30: 405-440.
- Akgür S A., Öztürk P., Solak I., Moral A R., Ege B. (2003). Human serum paraoxonase (PON1) activity in acute organophosphorous insecticide poisoning. *Practical radiation oncology* 133(1-2): 136-140.
- Albers J W., Garabrant D H., Berent S., Richardson R J. (2010). Paraoxonase status and plasma butyrylcholinesterase activity in chlorpyrifos manufacturing workers. *Journal of exposure science & environmental epidemiology*. Nature Publishing Group 20(1):79-89.
- Alcântara V M., Chautard-Freire-Maia E A., Scartezini M., Cerci M S., Braun-Prado K., Picheth G. (2002). Butyrylcholinesterase activity and risk factors for coronary artery disease. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 62(5): 399-404.
- Al-Kassab A S., Vijayakumar E. (1995). Profile of serum cholinesterase in systemic sepsis syndrome (septic shock) in intensive care unit patients. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 33(1):11-14.
- Al-Sarar A S., Abo Bakr Y., Al-Erimah G S., Hussein H I., Bayoumi A E. (2009). Hematological and Biochemical Alterations in Occupationally Pesticides-Exposed Workers of Riyadh Municipality, Kingdom of Saudi Arabia. *Research Journal of Environmental Toxicology* 3(4): 179-185.
- Ambali S., Akanbi D., Igbokwe N., Shittu M., Kawu M., Ayo J. (2007). Evaluation of subchronic chlorpyrifos poisoning on hematological and serum biochemical changes in mice and protective effect of vitamin C. *The Journal of Toxicological Sciences* 3232(22): 111-120.

- Arango S. (2012). Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 30: 75-82.
- Araoud M., Mhenni H., Hellara I., Hellara O., Neffati F., Douki W., Mili M., Saffar H., Najjar M F., (2013). Plasma cholinesterase activity in hepatic diseases. *Annales De Biologie Clinique* 71(3):293-298.
- Araoud M., Neffati F., Douki W., Hfaiedh H B., Akrouf M., Najjar M F., Kenani A. (2011). Factors influencing plasma butyrylcholinesterase activity in agricultural workers. *Annales De Biologie Clinique (Paris)* 69(2):159-166.
- Aroonvilairat S., Kespichayawattana W., Sornprachum T., Chaisuriya P., Siwadune T., Ratanabanangkoon K. (2015). Effect of Pesticide Exposure on Immunological, Hematological and Biochemical Parameters in Thai Orchid Farmers-A Cross-Sectional Study. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(6): 5846-5861.
- Bañuelos- Alanis E R., Lares I., Martha A., Macías S., Bradley F., Ramos B L. (2007) Polimorfismo del CYP2D6 origen caucásico del estado de Durango, México. *Investigación en Salud*, IX (2) 100-103.
- Bernal-Hernández Y Y., Medina-Díaz I M., Barrón-Vivanco B S., Robledo-Marengo M de L., Girón-Pérez M I., Pérez-Herrera N E., Quintanilla-Vega B., Cerda-Flores R., Rojas-García A E. (2014). Paraoxonase 1 and Its Relationship With Pesticide Biomarkers in Indigenous Mexican Farmworkers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 56(3): 281-290.
- Blair A., Freeman L B. (2009). Epidemiologic Studies of Cancer in Agricultural Populations: Observations and Future Directions. *Journal of Agromedicine* 14(2): 125-131.
- Bolognesi C. (2003). Genotoxicity of pesticides: A review of human biomonitoring studies. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 543(3): 251-272.
- Bolognesi C., Holland N. (2016). The use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for monitoring pesticide-exposed populations. *Mutation Research* 770(Pt A): 183-203.
- Božina N., Bradamante V., Lovrić M. (2009). Genetic Polymorphism of Metabolic Enzymes P450 (CYP) as a Susceptibility Factor for Drug Response, Toxicity,

- and Cancer Risk. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 60(2): 217-242.
- Brock A., Brock V. (1993). Factors affecting inter-individual variation in human plasma cholinesterase activity: body weight, height, sex, genetic polymorphism and age. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 24:93-99.
- Buratti F M., Volpe M T., Meneguz A., Vittozzi L., Testai E. (2003). CYP-specific bioactivation of four organophosphorothioate pesticides by human liver microsomes. *Toxicology and Applied Pharmacology* 186(3):143-154.
- Burnett W. (1960). An assessment of the value of serum cholinesterase as a liver function test and in the diagnosis of jaundice. *Gut* 1:294-302.
- Butler A M., Murray M. (1997). Biotransformation of parathion in human liver: participation of CYP3A4 and its inactivation during microsomal parathion oxidation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 280(2):966-973.
- Calderon-Margalit R., Adler B., Abramson J H., Gofin J., Kark J D. (2006). Butyrylcholinesterase activity, cardiovascular risk factors, and mortality in middle-aged and elderly men and women in Jerusalem. *Clinical Chemistry* 52(5): 845-852.
- Carmona-Fonseca J, Henao S, Garcés R. (2000). Valores de referencia de actividad colinesterásica sanguínea en población laboral activa no expuesta a plaguicidas inhibidores de colinesterasa. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública (Medellín)* 18 (2): 55-72.
- Carmona-Fonseca J. (2007). Correlación y conversión entre los valores de actividad de la colinesterasa plasmática medida por tres técnicas diferentes. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública* 22(1): 35-40.
- Chang G W M., Kam P C A. (1999). The physiological and pharmacological roles of cytochrome P450 isoenzymes. *Anaesthesia* 54(1):42-50.
- Checa C M A. (2007). Polimorfismos genéticos: Importancia y aplicaciones. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias* 20(3): 213-221.

- Cheung Y L., Kerr A C., McFadyen M C E., Melvin W T., Murray G I. (1999). Differential expression of CYP1A1, CYP1A2, CYP1B1 in human kidney tumours. *Cancer Letters* 139(2):199-205.
- Cucuianu M., Nistor T., Hâncu N., Orbai P., Muscurel C S I. (2002). Serum cholinesterase activity correlates with serum insulin, C-peptide and free fatty acids levels in patients with type 2 diabetes. *Romanian Journal of Internal Medicine* 40: 43-51.
- Davaalkham J., Hayashida T., Tsuchiya K., Gatanaga H., Nyamkhuu D., Oka S. (2009). Allele and genotype frequencies of Cytochrome P450 2B6 gene in a Mongolian population. *Drug Metabolism and Disposition* 37(10):1991-1993.
- Davies H G., Richter R J., Keifer M., Broomfield C A., Sowalla J., Furlong C E. (1996). The effect of the human serum paraoxonase polymorphism is reversed with diazoxon, soman and sarín. *Nature Genetics* 14(3):334-336.
- Dereure O., Aguilar-Martínez P., Bessis D., Blanc F., Larrey D., Guillot B., Schved J F., Guilhou J J. (2003). No Significant Association between CYP1A2 Polymorphism and Porphyria Cutanea Tarda. *Acta Dermato-Venereologica* 84(3):254-255.
- Ding S J., Carr J., Carlson J E., Tong L., Xue W., Li Y., Schopfer L M., Li B., Nachon F., Asojo O., Thompson C M., Hinrichs S H., Masson P., Lockridge O. (2008). Five tyrosines and two serines in human albumin are labeled by the organophosphorus agent FP-biotin. *Chemical Research in Toxicology* 21(9):1787-1794.
- Djordjevic N., Ghotbi R., Jankovic S., Aklillu E. (2010). Induction of CYP1A2 by heavy coffee consumption is associated with the CYP1A2 -163C>A polymorphism. *European Journal of Clinical Pharmacology* 66(7): 697-703.
- Eason C., O'Halloran. (2002). Biomarkers in toxicology versus ecological risk assessment. *Toxicology* 181-182: 517-521.
- Eaton D L., Daroff R B., Atrup H., Bridges J., Costa L G., Coyle J., Mckhann G., Mobley W C., Neubert D., Schulte-hermann R., Spencer P S. (2008). Review of the Toxicology of Chlorpyrifos With an Emphasis on Human Exposure and Neurodevelopment. *Critical Reviews in Toxicology* 38 (2):1-125.

- Elbaz A., Levecque C., Clavel J., Vidal J S., Richard F., Amouyel P., Alperovitch A., Chartier-Harlin M C., Tzourio C. (2004). CYP2D6 Polymorphism, Pesticide Exposure, and Parkinson's Disease. *Annals of Neurology* 55(3): 430-434.
- Eleršek T., Metka F. (2011). Organophosphorus Pesticides - Mechanisms Of Their Toxicity. National Institute of Biology Slovenia: 243-260.
- Ellison C A., Tian Y., Knaak J B., Kostyniak P J., Olson J R. (2012). Human hepatic cytochrome P450-specific metabolism of the organophosphorus pesticides methyl parathion and diazinón. *Drug Metabolism and Disposition* 40(1):1-5.
- Ellman G L., Courtney K D., Andres V., Featherstone R M. (1961). A new rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology* 7(2): 88-90.
- Eom S Y., Kim Y S., Lee C J., Lee C H., Kim Y D., Kim H. (2011). Effects of Intronic and Exonic Polymorphisms of Paraoxonase 1 (PON1) Gene on Serum PON1 Activity in a Korean Population. *Journal of Korean Medical Science* 26(6): 720-725.
- Fairbrother A., Wagner S L., Welch S., Smith B B. (1989). Influence of menstrual cycle on serum cholinesterase. *Environmental Research* 49:181-189.
- FAO. (2014). Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas.
- FAO. (2016). Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Estadísticas (consultado en julio 2016: <http://faostat3.fao.org/download/R/RP/S>)
- Fontanellas A., Martínez-Fresno M., Garrido-Astray M C., Perucho T., Morán-Jiménez M J., García-Bravo M., Méndez M., Poblete-Gutiérrez P., Frank J., Henriques-Gil N., de Salamanca R E. (2010). Smoking but not homozygosity for CYP1A2 g-163A allelic variant leads to earlier disease onset in patients with sporadic porphyria cutanea tarda. *Experimental Dermatology* 19(8):e326-e328.
- Foxenberg R J., McGarrigle B P., Knaak J B., Kostyniak P J., Olson J R. (2007). Human hepatic cytochrome P450-specific metabolism of parathion and chlorpyrifos. *Drug Metabolism and Disposition* 35(2): 189-193.
- Furlong C E., Li W F., Costa L G., Richter R J., Shih D M., Lusk A J. (1998). Genetically determined susceptibility to organophosphorus insecticides and

- nerve agents: developing a mouse model for the human PON1 polymorphism. *Neurotoxicology* 19(4-5): 645-650.
- Gamboa R., Regalado J C., Huesca-Gómez C., Posadas-Romero C., Paris J V., Vargas-Alarcón G., Pérez-Méndez Ó. (2008). Actividades paraoxonasa y arilesterasa bajas en sujetos mexicanos con enfermedad arterial coronaria. *Archivos de Cardiología de México* 78(4): 360-368.
- Garba SH, Adelaiye A B, Mshelia LY. (2007). Histopathological and biochemical changes in the rats kidney following exposure to a pyrethroid based mosquito coil. *Journal of applied sciences research*3: 1788–1793.
- García-García C R., Parrón T., Requena M., Alarcón R., Tsatsakis A M., Hernández A F. (2016). Occupational pesticide exposure and adverse health effects at the clinical, hematological and biochemical level. *Life Sciences*. Elsevier Inc 145: 274-283.
- García-González I., Mendoza-Alcocer R., Pérez-Mendoza G J., Rubí-Castellanos R., González-Herrera L. (2016). Distribution of genetic variants of oxidative stress metabolism genes: Paraoxonase 1 (PON1) and Glutathione S-transferase (GSTM1/GSTT1) in a population from Southeastern Mexico. *Annals of Human Biology* 43(6):554-562.
- González-Arias C A., Robledo-Marenco M de L., Medina-Díaz I M., Velázquez-Fernández, J B., Girón-Pérez M I., Quintanilla-Vega B., Ostrosky-Wegman P., Pérez-Herrera N E., Rojas-García A Elizabeth. (2010). Patrón de uso y venta de plaguicidas en Nayarit, México. *Revista internacional de contaminación ambiental* 26(3): 221-228.
- Gray B., Muhlhausler B S., Davies P S W., Vitetta, L. (2013). Liver enzymes but not free fatty acid levels predict markers of insulin sensitivity in overweight and obese, nondiabetic adults. *Nutrition Research* 33(10): 781-788.
- Gupta, R. (2006). *Toxicology of Organophosphate and Carbamate Compounds* Academic Press, San Diego, Estados Unidos.
- Gutiérrez-Cota F., Avendaño-Reyes J M., González-Altamirano J., Marín-Fragoso M E., Aceves A., Campos E., García-Flores E., Flores-Rendón Á R., Jaramillo-

- Ramírez H J. (2013). Alteraciones hepáticas en el paciente con obesidad mórbida sometido a cirugía bariátrica. *Medicina Interna de México* 29 (1).
- Hall E J. (2011). *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. Editorial Elsevier. Barcelona, España.
- Han X M., Ouyang D S., Chen X P., Shu Y., Jiang C H., Tan Z R., Zhou H H. (2002). Inducibility of CYP1A2 by omeprazole in vivo related to the genetic polymorphism of CYP1A2. *British Journal of Clinical Pharmacology* 54(5): 540-543.
- Hassett C., Richter R J., Humbert R., Chapline C., Crabb J W., Omiecinski C J., Furlong C E. (1991). Characterization of cDNA clones encoding rabbit and human serum paraoxonase: The mature protein retains its signal sequence. *Biochemistry* 30(42):10141-10149.
- Henao S., Corey G. (1991). *Plaguicidas inhibidores de las colinesterasas*. Metepec, México: Environmental Careers Organization, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud (Serie Vigilancia No. 11).
- Henao S., Zapata F M., Restrepo M P., Marín L E., Ramírez H., Corrales R. (1990). *Actividad colinesterásica en menores trabajadores, 1989-1990*. Antioquia, Colombia. Medellín: Instituto de Seguros Sociales y Universidad de Antioquia.
- Hernández A F., Lacasaña M., Gil F., Rodríguez-Barranco M., Pla A., López-Guarnido O. (2013). Evaluation of pesticide-induced oxidative stress from a gene-environmental interaction perspective. *Toxicology* (307): 95-102.
- Hernández A F., López O., Rodrigo L., Gil F., Pena G., Serrano J L., Parrón T., Alvarez J C., Lorente J A., Pla A. (2005). Changes in erythrocyte enzymes in humans long-term exposed to pesticides: influence of several markers of individual susceptibility. *Toxicology Letters* 59:13-21.
- Hofmann J N., Keifer M C., Furlong C E., De Roos A J., Farin F M., Fenske R A., van Belle G., Checkoway H. (2009). Serum cholinesterase inhibition in relation to paraoxonase-1 (PON1) status among organophosphate-Exposed agricultural pesticide handlers. *Environmental Health Perspectives* 117(9): 1402-1408.
- Ikeya K., Jaiswal K., Owens R., Jones J E., Nebert D W., Kimura S. (1989). Human CYP1A2: sequence, gene structure, comparison with the mouse and rat

- orthologous gene, and differences in liver 1A2 mRNA expression. *Molecular Endocrinology* 3(9):1399-1408.
- Ingelman-Sundberg M., Sim S C. (2010). Intronic polymorphisms of cytochromes P450. *Human genomics* 4(6): 402-405.
- Ionescu C., Caira M R. (2005). Factors that Influence drug biotransformation. En: *Drug biotransformation*. Editorial Springer. Dordrecht, Holanda.
- Ismail A A., Rohlman D S., Rasoul G M A., Salem M E A., Hendy O M. (2010). Clinical and biochemical parameters of children and adolescents applying pesticides. *The International Journal of Occupational and Environmental Medicine* 1(3):132-43.
- Ismail A A., Wang K., Olson J R., Bonner M R., Hendy O., Abdel Rasoul G., Rohlman D S. (2017). The impact of repeated organophosphorus pesticide exposure on biomarkers and neurobehavioral outcomes among adolescent pesticide applicators. *Journal of Toxicology and Environmental Health A* 80(10-12): 542-555.
- Jallow M F A., Awadh D G., Albaho M S., Devi V Y., Thomas B M. (2017). Pesticide knowledge and safety practices among farm workers in Kuwait: Results of a survey. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 14(4). pii: E340.
- Jintana S., Sming K., Krongtong Y., Thanyachai S. (2009). Cholinesterase activity, pesticide exposure and health impact in a population exposed to organophosphates. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 82(7):833-842.
- Johnson R J., Nakagawa T., Sanchez-Lozada L G., Shafiu M., Sundaram S., Le M., Ishimoto T., Sautin Y Y., Lanaspa M A. (2013). Sugar, uric acid, and the etiology of diabetes and obesity. *Diabetes* 62:3307-15.
- Karlsen R L., Sterri S., Lyngaas S., Fonnum F. (1981). Reference values for erythrocyte acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activities in children, implications for organophosphate intoxication. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation* 41(3):301-302.

- Kimura S., Umeno M., Skoda R C., Meyer U A., Gonzalez F J. (1989). The human debrisoquine 4-hydroxylase (CYP2D) locus: sequence and identification of the polymorphic CYP2D6 gene, a related gene, and a pseudogene. *American journal of human genetics* 45(6): 889-904.
- Kivistö K T., Kroemer H K., Eichelbaum M. (1995). The role of human cytochrome P450 enzymes in the metabolism of anticancer agents: implications for drug interactions. *British Journal of Clinical Pharmacology* 40(6): 523-530.
- Klug W S., Cumming M R., (2006). *Conceptos de Genética*. Editorial Pearson, Madrid, España.
- Knudsen L E., Hansen A M. (2007). Biomarkers of intermediate endpoints in environmental and occupational health. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 210 (3-4): 461-170.
- Koch W H. (2004). Technology platforms for pharmacogenomic diagnostic assays. *Nature Reviews Drug Discovery* 3(9):749-761.
- Koureas M., Tsakalof A., Tzatzarakis M., Vakonaki E., Tsatsakis A., Hadjichristodoulou C. (2014). Biomonitoring of organophosphate exposure of pesticide sprayers and comparison of exposure levels with other population groups in Thessaly (Greece). *Occupational and Environmental Medicine* (71): 126-133.
- Kumar S V., Fareedullah M D., Sudhakar Y., Venkateswarlu B., Kumar E A. (2010). Current review on organophosphorus poisoning. *Archives of Applied Science Research* 2:199-215.
- Kutty K M. (1980). Biological function of cholinesterase. *Clinical Biochemistry* 13:239-243.
- Kutty K M., Jacob J C., Hutton C J., Davis P J., Peterson S C. (1975). Serum beta -- Lipoproteins: Studies In a Patient and In Guinea Pigs After the Ingestion of Organophosphorus Compounds. *Clinical Biochemistry* 8: 379-383.
- Kutty K M., Jain R., Huang S., Kean K. (1981). Serum pseudocholinesterase: high density lipoprotein cholesterol ratio as an index of risk for cardiovascular disease *Clinica Chimica Acta*, 115(1): 55-61.

- Kutzing M K., Firestein B L. (2008). Altered uric acid levels and disease states. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 324(1):1-7.
- Lassiter T L., Brimijoin S. (2008). Rats gain excess weight after developmental exposure to the organophosphorothionate pesticide, chlorpyrifos. *Neurotoxicology and Teratology*, 30(2):125-130.
- Lazalde Ramos B P. (2012). Polimorfismos de relevancia farmacogenética de las Familias CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19 y CYP3A4 en población indígena del Noroeste de México.
- Lee B W., London L., Paulauskis J., Myers J., Christiani D C. (2003). Association between human paraoxonase gene polymorphism and chronic symptoms in pesticide-exposed workers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 45(2):118-122.
- Lepage L., Schiele F., Gueguen R., Slest G. (1985). Total cholinesterase in plasma: biological variations and reference limits. *Clinical Chemistry* 31:546-550.
- Leviev I., Deakin S., James R W. (2001). Decreased stability of the M54 isoform of paraoxonase as a contributory factor to variations in human serum paraoxonase concentrations. *Journal of Lipid Research* 42(4):528-535.
- Li B., Nachon F., Froment M T., Verdier L., Debouzy J C., Brasme B., Gillon E., Schopfer L M., Lockridge O., Masson P. (2008). Binding and hydrolysis of soman by human serum albumin. *Chemical Research in Toxicology* 21: 421-431.
- Li W F., Costa L G., Richter R J., Hagen T., Shih D M., Tward A., Lusic A J., Furlong C E. (2000). Catalytic efficiency determines the in-vivo efficacy of PON1 for detoxifying organophosphorus compounds. *Pharmacogenetics* 10(9):767-779.
- Lock E A., Bonventre J V. (2008). Biomarkers in translation; past, present and future. *Toxicology* 245(3):163-166.
- Lockridge O. (2015). Review of human butyrylcholinesterase structure, function, genetic variants, history of use in the clinic, and potential therapeutic uses. *Pharmacology and Therapeutics* 148: 34-46.
- Logan J., Edwards K., Saunders N. (2009). Real-Time PCR: current technology and applications, *RealTime PCR Current Technology and Applications*.

- López O., Hernández A F., Rodrigo L., Gil F., Pena G., Serrano J L., Parrón T., Villanueva E., Pla A. (2007). Changes in antioxidant enzymes in humans with long-term exposure to pesticides. *Toxicology Letters* 171: 146-153.
- López-Flores I., Lacasaña M., Blanco-Muñoz J., Aguilar-Garduño C., Sanchez-Villegas P., Pérez-Méndez O A., Gamboa-Ávila R. (2009). Relationship between human paraoxonase-1 activity and PON1 polymorphisms in Mexican workers exposed to organophosphate pesticides. *Toxicology Letters* 188(2):84-90.
- Lotti M. (2001). Clinical Toxicology of Anticholinesterase Agents in Humans', in *Handbook of pesticide toxicology*: 1040-1085.
- Lozano-Paniagua D., Gómez-Martín A., Gil F., Parrón T., Alarcón R., Requena M., Lacasaña M., Hernández A F. (2016). Activity and determinants of cholinesterases and paraoxonase-1 in blood of workers exposed to non-cholinesterase inhibiting pesticides. *Chemico-Biological Interactions* 259(Pt B):160-167.
- Lucić A., Bradamante V., Radić B., Peraica M., Domijan A M., Fuchs R., Stavljenić-Rukavina A. (2002). The effect of dichlorvos treatment on butyrylcholinesterase activity and lipid metabolism in rats. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology* 53(4): 275-281.
- Martin Rubi J C., Yelamos Rodriguez F., Laynez Bretones F., Cordoba Escamez J., Diez Garcia F., Lardelli Claret A., Blanco Coronado J L., Vicente Rull J R. (1996). Poisoning caused by organophosphate insecticides. Study of 506 cases. *Revista Clínica Española* 196(3):145-149.
- Martínez-Salazar M F., Sa A., Garcí S., Monroy-noyola A (2011). Relationship between the paraoxonase (PON1) L55M and Q192R polymorphisms and obesity in a Mexican population : a pilot study. *Genes nutrition* 6: 361-368.
- Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S., Calderón-Segura M E., Félix-Gastélum R., Álvarez-Torres A. (2009). Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. *Environment International*. Elsevier Ltd 35(8): 1155-1159.

- Masson P., Lockridge O. (2010). Butyrylcholinesterase for protection from organophosphorus poisons: Catalytic complexities and hysteretic behavior. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 494(2): 107-120.
- Meng F., Yin X., Ma X., Guo X., Jin B., Li H. (2013). Assessment of the value of serum cholinesterase as a liver function test for cirrhotic patients. *Biomedical Reports* 1(2), 265–268.
- Miquilena Colina M E., García Monzón C. (2010). Obesidad y enfermedad hepática', *Gastroenterología y Hepatología* 33(8): 591-604.
- Miranda-Contreras L., Gómez-Pérez R., Rojas G., Cruz I., Berrueta L., Salmen S., Colmenares M., Barreto S., Balza A., Zavala L., Morales Y., Molina Y., Valeri L., Contreras C A., Osuna J. (2013). Occupational exposure to Organophosphate and carbamate pesticides affects sperms chromatin integrity and reproductive hormone levels among Venezuelan farm workers. *Journal of Occupational Health Psychology* (55): 195-203.
- Mohssen M. (2001). Biochemical and Histopathological Changes in Serum Creatinine and Kidney Induced by Inhalation of Thimet (Phorate) in Male Swiss Albino Mouse, *Mus musculus*. *Environmental Research* 87(1): 31-36.
- Moore P G., James O F. (1981). Acute pancreatitis induced by acute organophosphate poisoning?. *Postgraduate Medical Journal* 57(672): 660-662.
- Mostafalou S., Abdollahi M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology* (268): 157-177.
- Mutch E., Blain P G., Williams F M. (1999). The role of metabolism in determining susceptibility to parathion toxicity in man. *Toxicology Letters* 107(1-3): 177-187.
- Naravaneni R., Jamil K. (2007). Determination of AChE levels and genotoxic effects in farmers occupationally exposed to pesticides. *Human & Experimental Toxicology* (26): 723-731.
- Navarro G., Ardiles L. (2015). Association between obesity and chronic renal disease. *Revista médica de Chile* 143(1): 77-84.

- NBCI. (2016). Short genetic variations. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/SNP
Última revisión: 24/01/18
- OMS. (1993). International Programme on Chemical Safety. Biomarkers and Risk Assessment: Concepts and Principles. Disponible en: <http://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc155.htm> Última revisión: 10/04/17
- OMS. (2010). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/44271> Última revisión: 24/01/18
- Pacsi C., Sánchez R., Cataño H., Huguet R., Carranza E. (2005). Actividad de la colinesterasa plasmática y sintomatología presente en fumigadores del Valle de Mala, expuestos a plaguicidas anticolinesterásicos. *Ciencia e investigación UNMSM* 8(2): 81-86.
- Palatini P., Benetti E., Mos L., Garavelli G., Mazzer A., Cozzio S., Fania C., Casiglia E. (2015). Association of coffee consumption and CYP1A2 polymorphism with risk of impaired fasting glucose in hypertensive patients. *European Journal of Epidemiology* 30(3): 209-217.
- Pamies D., Sogorb M A., Fabbri M., Gribaldo L., Collotta A., Scelfo B., Vilanova E., Harris G., Bal-Price A. (2014). Genomic and phenotypic alterations of the neuronal-like cells derived from human embryonal carcinoma stem cells (NT2) caused by exposure to organophosphorus compounds paraoxon and mipafox. *International Journal of Molecular Sciences* 15(1):905-926.
- Pasiani J O., Torres P., Silva J R., Diniz B Z., Caldas E D. (2012). Knowledge, Attitudes, Practices and Biomonitoring of Farmers and Residents Exposed to Pesticides in Brazil. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 9(9): 3051-3068.
- Patil J A., Patil A J., Sontakke A V., Govindwar S P. (2009). Occupational pesticides exposure of sprayers of grape gardens in western Maharashtra (India): effects on liver and kidney function. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology* 20(4): 335-355.

- Patil J A., Patil A. J., Govindwar S P. (2003). Biochemical effects of pesticides on sprayers of grape garden. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 18(2): 16-22.
- Pavo N., Raderer M., Goliasch G., Wurm R., Strunk G., Cho A., Novak J F., Gisslinger H., Steger G G., Hejna M., Köstler W., Zöchbauer-Müller S., Marosi C., Kornek G., Auerbach L., Schneider S T., Parschalk B., Scheithauer W., Pirker R., Kiesewetter B., Pacher R., Zielinski C., Hülsmann M. (2017). Subclinical involvement of the liver is associated with prognosis in treatment naïve cancer patients. *Oncotarget* 8:81250-81260.
- Peeples E S, Schopfer L M, Duysen E G, Spaulding R, Voelker T, Thompson C M, Oksana Lockridge O. (2005). Albumin, a New Biomarker of Organophosphorus Toxicant Exposure, Identified by Mass Spectrometry. *Toxicological sciences* 83: 303–312.
- Peris-Sampedro F, Basaure P, Reverte I, Cabré M, Domingo J L, Colomina M T. (2015a). Chronic exposure to chlorpyrifos triggered body weight increase and memory impairment depending on human apoE polymorphisms in a targeted replacement mouse model. *Physiology & Behavior* 144: 37–45.
- Peris-Sampedro F., Cabré M., Basaure P., Reverte I., Domingo J L., Teresa Colomina M. (2015b). Adulthood dietary exposure to a common pesticide leads to an obese-like phenotype and a diabetic profile in apoE3 mice. *Environmental Research* 142: 169-176.
- Pilgrim J L., Ruiz Y., Gesteira A., Cruz R., Gerostamoulos D., Carracedo A., Drummer O H. (2012). Characterization of single nucleotide polymorphisms of cytochrome P450 in an Australian deceased simple. *Current Drug Metabolism* 13(5): 679-692.
- Povey A C. (2010). Gene-environmental interactions and organophosphate toxicity. *Toxicology* 278(3): 294-304.
- Qiao D., Seidler F J., Slotkin T A. (2001). Developmental neurotoxicity of chlorpyrifos modeled in vitro: Comparative effects of metabolites and other cholinesterase inhibitors on DNA synthesis in PC12 and C6 cells. *Environmental Health Perspectives* 109(9): 909-913.

- Raafat N., Abass M. A., Salem H M. (2012). Malathion exposure and insulin resistance among a group of farmers in Al-Sharkia governorate. *Clinical Biochemistry* 45(18): 1591-1595.
- Rahman M F., Siddiqui M K J. (2006). Hematological and Clinical Chemistry Changes Induced by Subchronic Dosing of a Novel Phosphorothionate (RPR-V) in Wistar Male and Female Rats. *Drug and Chemical Toxicology* 29(1): 95-110.
- Ramírez J A., Lacasaña M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales* 4(2): 67-75.
- Rastogi SK., Vipul K., Singh L., Kesavachandran L C., Jyoti M., Siddiqui K., Mathur N., Bharti R S. (2008). Monitoring of plasma butyrylcholinesterase activity and hematological parameters in pesticide sprayers. *Indian Journal of Occupational and Environmental Medicine* 12: 29-32.
- Raveh L., Grunwald J., Marcus D., Papier Y., Cohen E., Ashani Y. (1993). Human butyrylcholinesterase as a general prophylactic antidote for nerve agent toxicity. In vitro and in vivo quantitative characterization. *Biochemical Pharmacology* 45(12): 2465-2474.
- Rojas-Garcia A E., Medina-Diaz I M., Robledo-Marengo Mde L., Barron-Vivanco B S., Giron-Perez M I., Velazquez-Fernandez J B., Gonzalez-Arias C A., Albores-Medina A., Quintanilla-Vega B., Ostrosky-Wegman P., Rojas-Garcia M C., Perez-Herrera N E., Lopez-Flores J F. (2011). Hematological, biochemical effects, and self-reported symptoms in pesticide retailers. *Journal of Occupational and Environmental Medicine* 53(5): 517-521.
- Rojas-García A E., Solís-Heredia M J., Piña-Guzmán B., Vega L., López-Carrillo L., Quintanilla-Vega, B. (2005). Genetic polymorphisms and activity of PON1 in a Mexican population. *Toxicology and Applied Pharmacology* 205(3): 282-189.
- Roldan-Tapia L., Nieto-Escamez F A., del Aguila E M., Laynez F., Parron T., Sanchez-Santed F. (2006). Neuropsychological sequelae from acute poisoning and long-term exposure to carbamate and organophosphate pesticides. *Neurotoxicol Teratol* 28(6): 694-703.

- Sachse C., Brockmoller J., Bauer S., Roots I. (1999). Functional significance of a C to A polymorphism in intron 1 of the cytochrome P4501A2 (CYP1A2) gene tested with caffeine. *British Journal of Clinical Pharmacology* 47(4): 445-449.
- SamMabrouk H., Mechria H., Mechri A., Rahali H., Douki W., Gaha L., Fadhel Najjar M. (2011). Butyrylcholinesterase activity in schizophrenic patients. *Annales De Biologie Clinique* 69(6): 647-52
- Sams C., Mason H J., Rawbone R. (2000). Evidence for the activation of organophosphate pesticides by cytochromes P450 3A4 and 2D6 in human liver microsomes. *Toxicology Letters* 116(3): 217-221.
- Sánchez-Guerra M A., Elizondo-Azuela G., Pérez-Herrera N., Borja-Aburto V., Quintanilla-Vega B. (2007). Participation of CYP1A2*1F Polymorphism in the Susceptibility of Neurological Effects by Organophosphate Pesticide Exposure. *Epidemiology* 18 (5): 146
- Santarpia L., Grandone I., Contaldo F., Pasanisi F. (2013). Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literatura. *Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle* 4(1): 31-39.
- Santi A., Menezes C F., Duarte M M., Leitemperger J., Lópes T., Loro V L. (2011). Oxidative stress biomarkers and acetylcholinesterase activity in human erythrocytes exposed to clomazone (in vitro). *Interdisciplinary Toxicology* (4): 149-153.
- Sato K K., Hayashi T., Maeda I., Koh H., Harita N., Uehara S., Onishi Y., Oue K., Nakamura Y., Endo G., Kambe H., Fukuda K. (2014). Serum butyrylcholinesterase and the risk of future type 2 diabetes: the Kansai Healthcare Study. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism (Oxf)* 80(3): 362-367.
- Sharma R., Upadhyay G., Siddiqi N., Sharma B. (2013). Pesticides-induced biochemical alterations in occupational North Indian suburban population. *Human and Experimental Toxicology* 32(11):1213-1227.
- Shimada T., Yamazaki H., Mimura M., Inui Y., Guengerich F P. (1994). Interindividual Variations in Human Liver Cytochrome-P-450 Enzymes Involved in the Oxidation of Drugs, Carcinogens and Toxic-Chemicals - Studies With Liver-

- Microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* (1): 414-423.
- Shobha T R., Prakash O. (2000). Glycosuria in Organophosphate and Carbamate Poisoning', *Journal of Association of Physicians of India. The Journal of the Association of Physicians of India* 48(12): 1197-1199.
- Simoniello M F., Kleinsorge E C., Scagnetti J A., Mastandrea C., Grigolato R A., Paonessa A M., Carballo M A. (2010). Biomarkers of cellular reaction to pesticide exposure in a rural population. *Biomarkers* 15(1): 52-60.
- SINAVE/DGE/SUAVE. (2013). Boletín epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Sistema Único de Información. Panorama histórico de morbilidad y mortalidad por intoxicación por plaguicidas en México 1995-2012. Número 33-35. Vol.30. Disponible en: <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx> Última revisión: 16/11/14.
- Singh S., Kumar V., Thakur S., Banerjee B D., Chandna S., Rautela R. S., Grover S S., Rawat D S., Pasha S T., Jain S K., Ichhpujani R L., Rai A. (2011b). DNA damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 31(2): 278-285.
- Singh S., Kumar V., Vashisht K., Singh P., Banerjee B D., Rautela R S., Grover S S., Rawat D S., Pasha S T., Jain S K., Rai A. (2011a). Role of genetic polymorphisms of CYP1A1, CYP3A5, CYP2C9, CYP2D6, and PON1 in the modulation of DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides. *Toxicology and Applied Pharmacology* 257(1): 84-92.
- Singleton S T., Lein P J., Dadson O A., McGarrigle B P., Farahat F M., Farahat T., Bonner M R., Fenske R A., Galvin, K., Lasarev M R., Anger W K., Rohlman D S., Olson J R. (2015). Longitudinal assessment of occupational exposure to the organophosphorous insecticides chlorpyrifos and profenofos in Egyptian cotton field workers. *International Journal of Hygiene and Environmental Health* 218(2): 203-211.
- SNPedia. (2017). Disponible en: <https://www.snpedia.com/index.php/Rs762551> Última revisión: 23/11/17

- Sosa-Macías M., Elizondo G., Flores-Pérez C., Flores-Pérez J., Bradley-Alvarez F., Alanis-Bañuelos R. E., Lares-Asseff I. (2006). CYP2D6 genotype and phenotype in Amerindians of Tepehuano origin and Mestizos of Durango, Mexico. *The Journal of Clinical Pharmacology* 46(5): 527-536.
- Sözmen E Y., Mackness B., Sözmen B., Durrington P., Girgin F. K., Aslan L., Mackness M. (2002). Effect of organophosphate intoxication on human serum paraoxonase. *Human and Experimental Toxicology* 21(5): 247-252.
- Steele L., Lockridge O., Gerkovich M M., Cook M R., Sastre A. (2015). Buryrylcholinesterase genotype and enzyme activity in relation to Gulf War illness: preliminary evidence of gene-exposure interaction from a case-control study of 1911 Gulf War veterans. *Environmental Health* (14): 1-10.
- Stefanidou M., Athanaselis S., Spiliopoulou H. (2009). Butyrylcholinesterase: biomarker for exposure to organophosphorus insecticides. *Journal of Internal Medicine* 39: 57-60.
- Sunay S Z., Kayaaltı Z., Bayrak T., Söylemezoğlu T. (2015). Effect of paraoxonase 1 192 Q/R polymorphism on paraoxonase and acetylcholinesterase enzyme activities in a Turkish population exposed to organophosphate. *Toxicology and Industrial Health* 31(12): 1061-1068.
- Suybros N., Thetkathuek A., Meepradit P., Daniell W., Jaidee W. (2012). Factors affecting cholinesterase level among insecticide-exposed vegetable farmers in prek balatchheng, cambodia : a case study. *Journal of Agromedicine* 19(4): 337-345.
- Tang J., Cao Y., Rose R L., Brimfield A A., Dai D., Goldstein J A., Hodgson E. (2001). Metabolism of chlorpyrifos by human cytochrome P450 isoforms and human, mouse, and rat liver microsomes. *Drug Metab Dispos* 29(0090–9556): 1201-1204.
- Tarhoni M H., Lister T., Ray D E., Carter W G. (2008). Albumin binding as a potential biomarker of exposure to moderately low levels of organophosphorus pesticides, *Biomarkers* 13(4): 343-363.
- Thapa S., Lv M., Xu, H. (2017). Acetylcholinesterase: A Primary Target for Drugs and Insecticides. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* 17(17):1665-1676.

- Tian Z., Li Y L., Zhao L., Zhang C L. (2013). Role of CYP1A2*1F polymorphism in cancer risk: Evidence from a meta-analysis of 46 case-control studies. *Gene* 524(2): 168-174.
- Timbrell J. (1998). Biomarkers in toxicology. *Toxicology* 129: 1-12.
- Toe A M., Ilboudo S., Ouedraogo M., Guissou PI. (2012). Biological alterations and self-reported symptoms among insecticides-exposed workers in Burkina Faso. *Interdisciplinary Toxicology* 5: 42-46.
- USEPA. (2014). Plaguicidas. Disponible en: <http://www.epa.gov/espanol/saludhispana/pesticidas.html> Última revisión: 10/04/17
- USEPA. (2016). Pesticide Science and Assessing Pesticide Risks. Defining Pesticide Biomarkers. Disponible en: <https://www.epa.gov/pesticide-science-and-assessing-pesticide-risks/defining-pesticide-biomarkers> Última revisión: 10/04/17
- Valle A., O'Connor D T., Taylor P., Zhu G., Montgomery G W., Slagboom P E., Martin N G., Whitfield J B. (2006). Butyrylcholinesterase: Association with the metabolic syndrome and identification of 2 gene loci affecting activity. *Clinical Chemistry* 52(6): 1014-1020.
- Vallianou N G., Evangelopoulos A A., Bountziouka V., Bonou M S., Katsagoni C., Vogiatzakis E D., Avgerinos P C., Barbetseas J., Panagiotakos D B. (2014). Association of butyrylcholinesterase with cardiometabolic risk factors among apparently healthy adults. *Journal of Cardiovascular Medicine* 15: 377-383.
- Van der Schans M J, Hulst A G, van der Riet D, van Oeveren, Noort D, Benschop H P, Dishovsky C. (2013). New tools in diagnosis and biomonitoring of intoxications with organophosphorothioates: Case studies with chlorpyrifos and diazinón. *Chemico-Biological Interactions* 203: 96-102.
- Varela N., Quiñones L A., Stojanova J., Garay J., Cáceres D., Cespedes S., Sasso J., Miranda C. (2015). Characterization of the CYP2D6 drug metabolizing phenotypes of the Chilean mestizo population through polymorphism analyses. *Pharmacological Research* 101: 124-129.

- Wang N N., Yuan L., Dai H., Han Z K., Zhao M. (2011). Effect of PON1 on dichlorvos toxicokinetics. *Emergency Medicine Journal* 28(4): 313-315.
- Wang Y., Ge X., Xu X F., Wang X J. (2009). Acetylcholinesterase inhibitor is a potentially useful therapeutic agent for nicotine-induced periodontal disease. *Medical Hypotheses* (4): 604-605.
- WHO. (2000) Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report Series 894. Geneva: World Health Organization.
- Wickliffe J K., Abdel-Rahman S Z., Lee C., Kormos-Hallberg C., Sood G., Rondelli C M., Grady J J., Desnick R J., Anderson K E. (2011). CYP1A2*1F and GSTM1 alleles are associated with susceptibility to porphyria cutanea tarda. *Molecular Medicine* 17(3-4):241-247.
- Worek F., Schilha M., Neumaier K., Aurbek N., Wille T., Thiermann H., Kehe K. (2016). On-site analysis of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity with the ChE check mobile test kit-Determination of reference values and their relevance for diagnosis of exposure to organophosphorus compounds. *Toxicology Letters* 249: 22-8.
- Xu C., Zhang X G., Yang X., He Y Z. (2010). The diagnostic value of butyrylcholinesterase in acute organophosphorus pesticide poisoning. *Zhongguo Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 22(4): 193-196.
- Yokota S I., Nakamura K., Ando M., Kamei H., Hakuno F., Takahashi S I., Shibata S. (2014). Acetylcholinesterase (AChE) inhibition aggravates fasting-induced triglyceride accumulation in the mouse liver. *FEBS Open Bio* 4: 905-914.
- Zanger U M., Turpeinen M., Klein K., Schwab, M. (2008). Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 392(6): 1093-1108.
- Zhuang X M., Wei X., Tan Y., Xiao W., Bin Yang H Y., Xie J W., Lu C., Li H. (2014). Contribution of carboxylesterase and cytochrome P450 to the bioactivation and detoxification of isocarbophos and its enantiomers in human liver microsomes. *Toxicological Sciences* 140(1): 40-48.

Zimmer K R., Lencina C L., Zimmer A R., Thiesen F V. (2012). Influence of physical exercise and gender on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity in human blood samples. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 22(3): 279-286.

Zukunft J., Lang T., Richter T., Hirsch-Ernst K I., Nussler A K., Klein K., Schwab M., Eichelbaum M., Zanger U M. (2005). A natural CYP2B6 TATA box polymorphism (-82T--> C) leading to enhanced transcription and relocation of the transcriptional start site. *Molecular Pharmacology* 67(5): 1772-1778.