

## ÍNDICES DE CONCENTRACIÓN TÓXICA DE PLAGUICIDAS ORGANOFOSFORADOS EN MATRICES DE SALIVA HUMANA

Nicolás Valera García\* • Jorge Uzcátegui Nava\* • Reinaldo Zambrano Vergara\*\* • Ali Sulbarán Mora\* • Daniel Paredes\*\*\* • Angélica Pineda Payares\*\*\*\* • Raphael Arias\* • Fidel Echeverría\*

\*Laboratorio de Físico-Química Orgánica, Departamento de Química. \*\*Grupo Multidisciplinario de Investigaciones Odontológicas, Facultad de Odontología, \*\*\*Laboratorio de Organometálicos, Departamento de Química. \*\*\*\*Bioterio ULA, Departamento de Biología. Universidad de Los Andes, Mérida-Venezuela.  
E-mail: reizamv@gmail.com.

### RESUMEN

El desarrollo de técnicas colorimétricas para medir la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa por acción de los plaguicidas, es un mecanismo pertinente para identificar y prevenir intoxicaciones con plaguicidas en poblaciones de riesgo. El objetivo de esta investigación es identificar los índices de concentración tóxica de los plaguicidas organofosforados en saliva humana comparado los efectos producidos por estos agroquímicos a la enzima acetilcolinesterasa utilizando el método Ellman Modificado. Se determinó la actividad colinesterásica en muestras de saliva de un grupo control de 25 personas no expuestas. Las muestras fueron tratadas y procesadas para mantener condiciones de evaluación. La actividad enzimática base utilizada para la realización de los experimentos fue de 3.326 U/L. De los ensayos realizados con los diferentes compuestos fosforados se obtuvo que para estructuras químicas que poseen grupos tión (paratión entre ellos) la actividad enzimática de la acetilcolinesterasa utilizando concentraciones entre 0–20 mg/L del compuesto es de 3.321 U/L (0.15 % de inhibición). Los resultados demuestran que los plaguicidas que poseen un grupo oxón en su estructura química inhiben más rápidamente la enzima acetilcolinesterasa que los que contienen el grupo tión.

**Palabras clave:** Plaguicidas, acetilcolinesterasa, organofosforados.

### RATES OF TOXIC CONCENTRATION OF PESTICIDES ORGANOPHOSPHATES IN ARRAYS OF HUMAN SALIVA

#### ABSTRACT

The development of colorimetric techniques to measure the enzyme acetylcholinesterase inhibition by action of pesticides, is a relevant mechanism to identify and prevent poisoning with pesticides in risk populations. The objective of this research is to identify levels of toxic concentration of the organophosphate pesticides in human saliva compared the effects of these chemicals to the acetylcholinesterase enzyme through the modified Ellman method. Activity analysis in saliva samples of a group control of 25 non-exposed individuals was determined. The samples were treated and processed to maintain conditions of evaluation. The base used for the enzyme activity during the experiment was 3.326 U/L. From the various tests with different phosphorus compounds were

obtained as for chemical structures having the enzymatic activity of acetylcholinesterase thion groups (parathion) using concentrations ranging 0-20 mg/L of the compound is 3.321 U/L. This results shows that pesticides which have an oxon group in its chemical structure, inhibits the acetylcholinesterase enzyme faster than those which have a thion group.

**Key words:** Pesticides, acetylcholinesterase, organophosphates.

---

## Introducción

La acetilcolinesterasa (AChE) es una enzima esencial para el funcionamiento normal del sistema nervioso del ser humano y de otros vertebrados e insectos. En el organismo humano, la acetilcolinesterasa inactiva el químico mensajero acetilcolina el cual es normalmente activo en las uniones nerviosas musculares y glandulares así como también con sinapsis de ciertas terminaciones en el sistema nervioso central. Cuando los niveles de AChE son bajos por la excesiva inhibición, el sistema nervioso puede funcionar mal lo cual puede conducir a la muerte. La AChE hidroliza rápidamente a la acetilcolina (ACh), lo que conlleva la repolarización de la membrana o de la placa basal (en las conexiones neuromusculares) y las prepara para la llegada de un nuevo impulso. Así pues, la función normal de la ACh depende de su rápida hidrólisis por la AChE que permite la brevedad y unidad de los impulsos propagados sincrónicamente<sup>1</sup>.

Los compuestos organofosforados reaccionan con la enzima de manera similar a la acetilcolina es decir, inhiben competitivamente la actividad colinesterásica comportándose como sustancias anticolinesterásicas permitiendo así que la acetilcolina siga ejerciendo su actividad<sup>2</sup>. La enzima acetilcolinesterasa es la responsable de la destrucción y terminación de la actividad biológica del neurotransmisor acetilcolina y al estar esta enzima inhibida se acumula acetilcolina en el espacio sináptico alterando el funcionamiento normal del impul-

so nervioso. La acumulación de acetilcolina se produce en las uniones colinérgicas neuroefectoras (efectos muscarínicos), en las uniones mioneurales del esqueleto y los ganglios autónomos (efectos nicotínicos) así como en el sistema nervioso central<sup>2</sup>. Las intoxicaciones debidas a plaguicidas inhibidores de la acetilcolinesterasa se presentan principalmente entre los individuos directamente expuestos a tales productos, es decir, entre los trabajadores agrícolas, expendedores de agroquímicos y los obreros de las plantas manufactureras, por lo cual la exposición a estas sustancias también es un problema de salud ocupacional. El uso dado a este tipo de plaguicidas ha sido múltiple y variado. La agricultura es la actividad que más utiliza este tipo de compuestos, consumiendo el 85% de la producción mundial. Este tipo de compuestos se usan con el fin de controlar las diversas plagas que merman la cantidad y calidad en las cosechas de alimentos y de otros vegetales<sup>3</sup>. En los campos agrícolas venezolanos, los plaguicidas organofosforados son ampliamente utilizados en las actividades agrícolas. La actividad laboral como fuente de exposición a plaguicidas organofosforados es importante en trabajadores del sector agrícola del país y sus familias, como también en los trabajadores que los fabrican y transportan. El nivel de exposición y la probabilidad de intoxicaciones agudas en estos grupos humanos son sustancialmente mayores por el contacto continuo y estrecho con los plaguicidas organofosforados en estu-

dio. El uso indiscriminado de plaguicidas en la agricultura en general, y en particular del Páramo Merideño, ha provocado un aumento en la tasa de morbilidad y mortalidad por enfermedades en la población más expuesta<sup>4</sup>. Lo que es más grave aún, no existe un mecanismo de control, prevención y diagnóstico precoz de intoxicaciones por parte del sistema regional de salud aun cuando Mérida es uno de los estados de Venezuela con mayor porcentaje de intoxicados<sup>5</sup>.

La presente investigación tiene como objetivo fundamental identificar los índices de concentración tóxica de los plaguicidas organofosforados en saliva humana comparado los efectos producidos por estos agroquímicos a la enzima acetilcolinesterasa. Él mismo es relevante ya que nos permitirá desarrollar instrumentos y métodos de medición de uso común en la población agrícola previniendo afecciones neurológicas y de salud en general a nivel del organismo humano. Los plaguicidas organofosforados que se usarán en la presente investigación se agrupan como tiones, oxones, organofosforados con estructura química similar a la de colina y organofosforados con centro quiral para estudiar el efecto de asimetría. Las técnicas de laboratorio utilizadas para la biomonitorización de los plaguicidas organofosforados y carbamatos o sus metabolitos son diversas. La cromatografía de gases ha sido una de las técnicas más utilizadas en la monitorización de estos compuestos en el ambiente y también en matrices biológicas como sangre y orina<sup>6</sup>. Por otra parte, la espectrofotometría de UV-Vis se usa para estudiar la actividad de la enzima acetilcolinesterasa por vía húmeda por acción de los plaguicidas organofosforados.

## **Materiales y métodos**

### **Reactivos y Equipos**

Soluciones de ácido 5,5'-ditio-bis-(ácido 2-nitrobenzoico) (DTNB) (Sigma-Aldrich

99 %) 10 mM, acetiltiocolina (Sigma-Aldrich 99 %) 40 mM y buffer fosfato (fosfato ácido de potasio, Riedel de Haën, 99 %), fosfato diácido de potasio (Riedel de Haën, 99 %) y cloruro de sodio (J.T. Baker, 99.75).

Espectrofotómetro de UV-Vis (Perkin Elmer. Lambda 2, equipada con una lámpara UVS 54)

Micropipetas marca Huawei de 0.001 ml de apreciación

### **Recolección y preservación de las muestras**

Para el presente estudio se tomaron muestras de saliva de 25 personas con edades comprendidas entre 19 y 27 años, del sexo masculino que se consideraron no expuestas a los plaguicidas por no estar vinculados a la producción, uso o distribución de los mismos. Las personas eran estudiantes de la Facultad de Ciencias que se ofrecieron como voluntarios. El método para la toma de muestras se realizó por obtención de saliva total o entera. Las muestras se recolectaron por esputo sin estimulación en un envase colector de orina sellado y esterilizado<sup>5,7</sup>. Una vez recolectada la muestra, se cierra el envase y se refrigera en un baño de agua-hielo-sal para su transporte desde el sitio de recolección para luego ser conservada en un refrigerador a una temperatura de -10 °C hasta el momento de su uso en el experimento. En este caso el volumen de saliva recolectado varía entre los 10 y los 20 ml. Luego de preservadas las muestras, estas se descongelan hasta que alcanzan la temperatura ambiente. Posteriormente, se centrifuga la muestra a 4000 rpm durante 10 minutos<sup>7,8</sup>. Para los análisis subsiguientes se usa el sobrenadante.

### **Determinación de la actividad colinesterásica en matrices de saliva humana**

La determinación de la actividad de la enzima acetilcolinesterasas se realizó por el

Método Ellman modificado<sup>7</sup>. Este método se basa en la medida de la actividad de acetilcolinesterasa usando como sustrato ésteres de colina, tal como la acetiltiocolina. La tiocolina que se genera por hidrólisis enzimática reacciona con el ácido 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoico (DTNB) formando un anión de color

amarillo el cual puede ser medido espectrofotométricamente a 405 nm. Para el análisis de las muestras de saliva se escogieron a 25 personas no expuestas a plaguicidas organofosforados (grupo control). En la Tabla 1 se denotan las condiciones para el análisis de las muestras de saliva humana.

**Tabla 1.** Condiciones de análisis establecidas para determinar la actividad de la enzima AChE en saliva humana.

Parámetro	Condición
Temperatura	Ambiente
pH	Buffer fosfato 7.4
Fuerza osmótica	0.155 M (0,9% NaCl)
Concentración de DTNB	0.25 mM
Concentración de ATC	0.1 mM
Volumen de la muestra	1 ml de saliva centrifugada

En el análisis de las muestras de saliva se procedió de la manera siguiente: Inicialmente se preparan soluciones de DTNB 10 mM, acetiltiocolina 40 mM y buffer fosfato (fosfato ácido de potasio, fosfato diácido de potasio) y cloruro de sodio ajustando el a pH 7.44. Para llevar a cabo la determinación de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa en las muestras saliva de personas no expuestas se añade en estricto orden en un tubo de ensayo, 1 ml de la muestra de saliva previamente centrifugada, 0,9 ml de buffer fosfato pH 7.44. Seguidamente se le añaden 0.05 ml de indicador DTNB 10 mM y 0.05 ml del sustrato acetiltiocolina 40 mM, obteniéndose un volumen final de 2 ml, se deja reaccionar la mezcla por algunos segundos y se mide la absorbancia en el espectrofotómetro de UV-Vis cada 60 segundos por 300 segundos<sup>5,6</sup>.

Los plaguicidas organofosforados utilizados en la presente investigación fueron:

paratión (0.0; 0.5 ; 10.0 ; 20.0 ; 30.0 ; 40.0 ; 50.0 ; 60.0 ppm), paraoxón (0.0 ; 0.1 ; 0.2; 0.3 ; 0.4 ; 0.5; 1.0 ; 2.0 ppm), malatión (0.0 ; 1.0 ; 2.0 ; 3.0 ; 4.0 ; 5.0 ; 6.0 ; 7.0 ppm), fenitrotión (0.0 ; 0.5 ; 0.8 ; 1.0 ; 5.0 ; 20.0 ppm), fentión (0.0 ; 1.0 ; 5.0 ; 10.0 ; 20.0 ; 30.0 ; 40.0 ; 50.0 ppm) y disulfotón sulfóxido (0.0 ; 0.5 ; 1.0 ; 1.5 ; 2.0 ; 2.5 ; 3.0 ; 3.5 ppm).

### **Estudio de dependencia de la concentración de 6 plaguicidas organofosforados en la reacción de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa.**

Después de obtenida la actividad colinesterásica de las personas no expuestas a los plaguicidas organofosforados, se realizó el ensayo de inhibición de la enzima presente en la saliva partiendo de un pool de saliva que se midió anteriormente. Posteriormente a esto, se añade en estricto orden en un tubo de en-

sayo, 1 ml de saliva previamente tratada, se le añaden diversos volúmenes de los compuestos fosforados a estudiar obteniendo las concentraciones dentro de la muestra en el volumen final de 2 ml, se deja reaccionar por 10 minutos en un baño termostatzado (Kottermann) a 37 °C, seguidamente se le añaden volúmenes variables de buffer fosfato pH 7,44 (dependiendo de los volúmenes de plaguicidas organofosforados utilizados  $V_{\text{buffer}} = 0,9 \text{ ml} - V_{\text{Ops}}$ ), 0.05 ml de indicador DTNB 10 mM y por último 0.05 ml del sustrato acetiltiocolina 40 mM; se deja reaccionar la mezcla durante unos segundos y se mide en un espectrofotómetro UV-Vis cada 60 segundos durante 300 segundos<sup>7,8</sup>.

## Resultados

### Actividad colinesterásica en saliva humana de personas no expuestas a plaguicidas organofosforados.

Se determinó la actividad colinesterásica de un grupo control de 25 personas no expuestas a plaguicidas organofosforados, obteniéndose una actividad media de  $3.326 \pm 0.886$  U/L de enzima. También se obtuvieron los diversos parámetros estadísticos (Tabla 2) para un número de donantes  $n = 25$ . Esto indica una gran variabilidad en los resultados obtenidos debido a las diferencias existentes entre las actividades enzimáticas que posee cada ser humano en relación a la edad o sexo, por lo tanto se espera este tipo de comportamiento en los resultados obtenidos<sup>7,8</sup>.

**Tabla 2.** Parámetros estadísticos descriptivos de los valores de actividad de la enzima acetilcolinesterasa obtenidos.

Parámetros estadísticos	Población Control
*Número de muestras	25
Valor Promedio (U/L)	3.3
Valor Mínimo (U/L)	2.0
Valor Máximo (U/L)	5.0
Desviación Estándar (U/L)	0.9
Varianza (U/L)	0.7
Coefficiente de Variación	0.3

U/L: Unidades de enzima/ Litros de saliva

### Estudio de dependencia de la concentración de 6 plaguicidas organofosforados en la reacción de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa.

#### 1. Efecto del grupo tión y oxón.

Se determinó la actividad colinesterásica en muestras de saliva inoculadas con los plaguicidas paratión y paraoxón a diferentes concentraciones. En la tabla 3 se observa que

a concentraciones muy bajas el paraoxón (0.5 mg/L) es un inhibidor bastante efectivo de la enzima acetilcolinesterasa, debido a que la actividad de la enzima disminuye 99.1% respecto a la actividad enzimática inicial, por otra parte, el paratión a dicha concentración, no modifica la actividad de la enzima respecto a la actividad inicial ( $3.326 \pm 0.886$  U/L). Al aumentar la concentración de am-

bos plaguicidas, se observa que la actividad enzimática es 0 % para la interacción con paraoxón, indicando la inhibición completa de la enzima a concentraciones mayores a 0.5 mg/L de este compuesto, mientras que la disminución de la actividad enzimática con paratión solamente es notable para concen-

traciones mayores de 20 mg/L. No se observa disminución a concentraciones entre 1 mg/L y 10 mg/L; a partir de 20 mg/L la actividad enzimática comienza a disminuir. A 60 mg/L de paratión, la actividad enzimática es  $1.646 \pm 0.014$  U/L, aproximadamente el 50 % de inhibición de la enzima.

**Tabla 3.** Datos de actividad colinesterásica del paratión y el paraoxón a diferentes concentraciones.

Paratión			Paraoxón		
Concentración (mg/L)	Actividad (U/L)	Desviación Estándar (U/L)	Concentración (mg/L)	Actividad (U/L)	Desviación Estándar (U/L)
0,0	3,3	0,9	0,0	3,3	0,9
0,5	3,3	0,9	0,10	0,91	0,01
10,00	3,36	0,02	0,20	0,74	0,01
20,00	3,23	0,01	0,30	0,44	0,01
30,00	2,95	0,01	0,40	0,26	0,01
40,00	1,89	0,01	0,50	0,03	0,02
50,00	2,02	0,02	1,00	0,00	0,00
60,00	1,65	0,01	2,00	0,00	0,00

## 2. Efecto de grupos semejantes a la colina.

Se determinaron las actividades colinesterásicas a diferentes concentraciones de tres plaguicidas organofosforados con estructuras

semejantes al sustrato natural de la enzima acetilcolinesterasa, (acetilcolina) como lo son el fenitrotión, el fentión y el disulfotón sulfóxido (Tabla 4).

**Tabla 4.** Datos de actividad colinesterásica del fentión, fenitrotión y disulfotón sulfóxido a diferentes concentraciones.

Fentión			Fenitrotión			Disulfotón Sulfóxido		
Conc. (mg/L)	Activ. (U/L)	Desv. Est. (U/L)	Conc. (mg/L)	Activ. (U/L)	Desv Est. (U/L)	Conc. (mg/L)	Activ. (U/L)	Desv. Est. (U/L)
0,0	3,3	0,9	0,0	3,3	0,9	0,0	3,3	0,9
1,0	3,3	0,9	0,50	2,98	0,01	0,50	2,06	0,02
5,0	3,3	0,9	0,80	2,88	0,01	1,00	1,52	0,02
10,00	2,78	0,01	1,00	2,84	0,01	1,50	1,24	0,02
20,00	2,90	0,02	5,00	2,80	0,01	2,00	0,95	0,01
30,00	2,73	0,02	20,000	2,104	0,004	2,50	0,75	0,03
40,00	2,55	0,01				3,00	0,73	0,02
50,00	2,67	0,02				3,50	0,16	0,02

Con respecto a la actividad enzimática cuando el fenitrotión interactúa con la enzima acetilcolinesterasa, se puede observar que a concentraciones bajas (0.5 mg/L y 0.8 mg/L) la actividad de la enzima disminuye muy poco  $2.982 \pm 0.005$  U/L y  $2.881 \pm 0.008$  U/L respectivamente. A medida que la concentración aumenta hasta 20 mg/L la actividad enzimática disminuye hasta  $2.104 \pm 0.004$  U/L. Para el caso del fentión se puede observar una disminución baja de la actividad enzimática a concentraciones altas. A 10 mg/L la actividad enzimática se mantiene estable, no sufre cambios con respecto a la actividad inicial. A una concentración de 20 mg/L de fentión se observa una leve disminución, mientras que a 50 mg/L la disminución de la actividad de la enzima llega hasta los  $2.021 \pm 0.022$  U/L. Por último, cuando interactúa la enzima acetilcolinesterasa con el compuesto fosforado disulfotón sulfóxido se puede observar que para este plaguicida a concentraciones bajas la disminución en la

actividad no es tan leve como en el caso del fenitrotión, ya que a una concentración de 0.5 mg/L la actividad de la enzima cuando esta interacciona con este compuesto es de  $2.060 \pm 0.023$  U/L. Al aumentar la concentración de este plaguicida progresivamente se puede observar (Tabla 4), que la actividad va decayendo más abruptamente hasta llegar a una concentración de 4 mg/L en la cual la actividad de la enzima alcanza los  $0.038$  U/L  $\pm 0.009$  U/L. Un comportamiento de todos estos resultados obtenidos pueden ser observados en las figura 1.a y 1.b en la cual se puede mostrar el decaimiento abrupto en la actividad de la enzima cuando esta reacciona con el disulfotón sulfóxido a concentraciones bajas, contrariamente a lo que sucede con el fentión y el fenitrotión en los que se observa que el decaimiento en el fenitrotión es mucho más leve que en el disulfotón sulfóxido pero mayor que en el fentión quien no ejerce un efecto inhibitorio importante sobre la enzima acetilcolinesterasa.

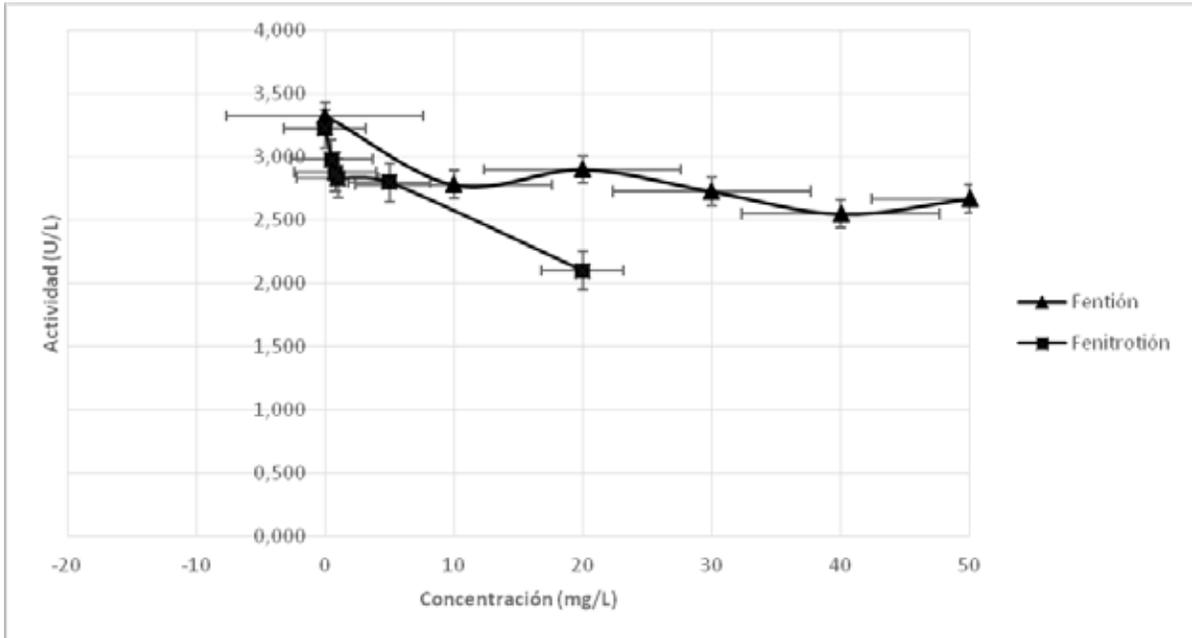


Figura 1 a. Actividad de la enzima acetilcolinesterasa inhibida con fentión y fenitrotión.

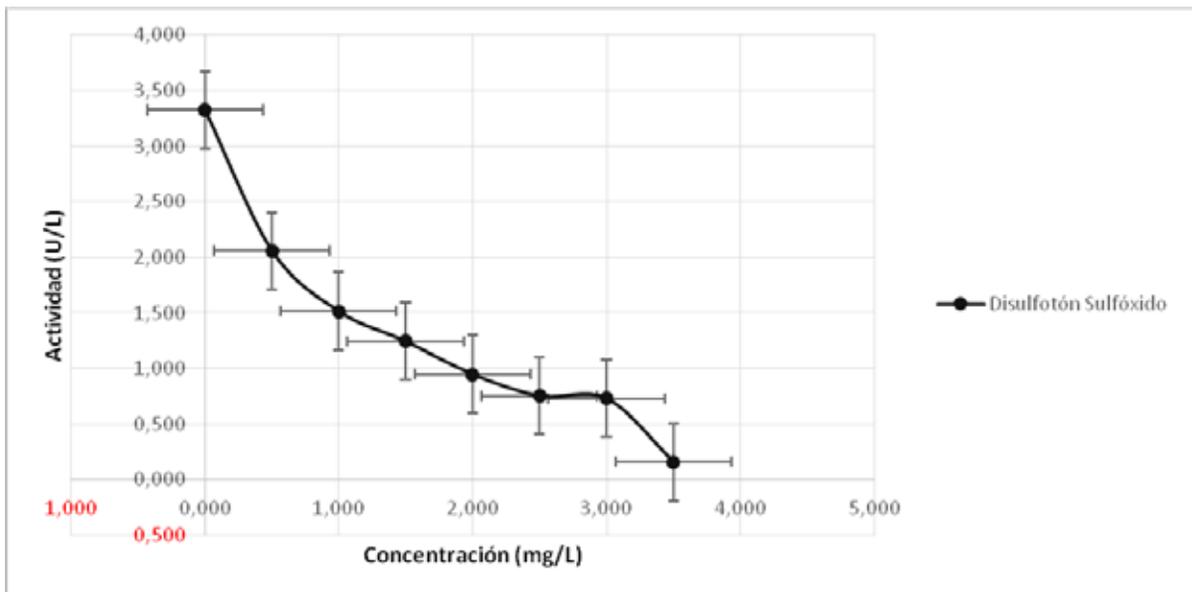


Figura 1 b. Actividad de la enzima acetilcolinesterasa inhibida con disulfotón sulfóxido.

### 3. Efecto de asimetría.

Por último, se estudió el efecto ejercido por el compuesto fosforado malatión sobre la actividad de la enzima acetilcolinesterasa, para este ensayo se utilizaron concentraciones entre 1 – 7 mg/L del plaguicida en cuestión. En

la tabla 5 se observa de la actividad colinesterásica producida por la reacción de la enzima acetilcolinesterasa con el malatión, donde se puede notar que dicho compuesto provoca una disminución pronunciada en la actividad de la enzima.

**Tabla 5.** Datos de actividad colinesterásica del malatión a diferentes concentraciones.

Malatión		
Concentración (mg/L)	Actividad (U/L)	Desviación Estándar (U/L)
0,0	3,3	0,9
1,00	2,12	0,01
2,00	1,53	0,01
3,00	1,26	0,01
4,00	1,06	0,02
5,00	0,97	0,02
6,00	0,82	0,01
7,00	0,65	0,01

La actividad colinesterásica comienza a disminuir al hacer reaccionar la enzima con el plaguicida a una concentración de 1 mg/L, donde se puede observar (tabla 5) que dicha actividad decae de  $3.326 \pm 0,886$  U/L a una actividad de  $2.115 \pm 0,011$  U/L. Durante el aumento de las concentraciones del plaguicida, la actividad de la enzima fue decayendo hasta llegar a los 7 mg/L de plaguicida, obteniéndose una actividad de  $0.653 \pm 0.016$  U/L.

### Discusión

Los resultados demuestran que los plaguicidas con grupos oxón (-P=O) en sus estructuras (paraoxón) inhiben más fuertemente la actividad de la enzima acetilcolinesterasa,

respecto a aquellos que poseen un grupo tión (-P=S) en su estructura química (paratión). Los organofosforados del tipo oxón interaccionan más fuertemente con el -OH del aminoácido serina en el centro activo de la acetilcolinesterasa, formando un intermediario estable con un enlace covalente P-O que no es hidrolizado. Esta fuerte unión química inhibe la actividad catalítica de la enzima en forma prácticamente irreversible a bajas concentraciones de paraoxón. Por otro lado, los compuestos tiónicos no ejercen un efecto inhibitorio grande de la acetilcolinesterasa a bajas concentraciones. Sin embargo, a concentraciones relativamente altas ejercen acción inhibitoria de la enzima acetilcolinesterasa. Al comparar el efecto ejer-

cido por el paratión y el paraoxón sobre la enzima, se puede deducir claramente que la pobre capacidad electrónica que posee el azufre, genera que un plaguicida organofosforado con estas características estructurales reaccione muy débilmente con la acetilcolinesterasa<sup>8</sup>. Por lo tanto, con esta clase de organofosforados la enzima se mantiene activa durante más tiempo. En consecuencia, el paraoxón reacciona muy fácilmente con la acetilcolinesterasa, mientras que la concentración requerida para el paratión es superior. Claramente, el paraoxón resulta ser más tóxico que el paratión.

Por otra parte, los plaguicidas organofosforados con similitud estructural con el sustrato natural de la enzima acetilcolinesterasa (acetilcolina) que se estudiaron (disulfotón sulfóxido, fenitrotión, fentión), demostraron ser menos tóxicos que paraoxón o paratión. Entre ellos, disulfotón sulfóxido posee una gran capacidad inhibitoria a concentraciones muy bajas, mientras que fenitrotión y fentión muestran capacidad inhibitoria nula a concentraciones bajas. Esta capacidad de reacción con la enzima acetilcolinesterasa es debido a que el disulfotón sulfóxido posee una cabeza catiónica (grupo sulfóxido) sustituyente del compuesto fosforado, que puede enlazar con el sitio aniónico de la enzima acetilcolinesterasa; y consecuentemente, el grupo fosforil se puede aproximar apropiadamente para recibir el ataque nucleofílico del oxígeno del resto de serina de la enzima<sup>8</sup>. Estas diferencias se deben a que el disulfotón sulfóxido posee en su estructura un grupo sulfóxido (cabeza catiónica) la cual puede enlazar fácilmente con el sitio aniónico de la enzima facilitando el ataque nucleofílico sobre el átomo de fósforo del compuesto<sup>8</sup> mientras los otros dos compuestos demuestran ser inhibidores pobres de la enzima acetilcolinesterasa en humanos pero son buenos inhibidores de la enzima en insectos, debido a que la distancia entre el sitio aniónico y el sitio activo de la enzima

en los humanos es más corto, por lo tanto la distancia para que pueda acomodar el átomo de fósforo para el ataque nucleofílico del oxígeno de la serina de la enzima no es la apropiada y la reacción entre la enzima y estos dos compuestos es muy débil<sup>8</sup>.

Los compuestos con carbonos asimétricos dentro de sus estructuras son fuertes inhibidores de la acetilcolinesterasa en comparación a plaguicidas organofosforados que no poseen esta característica. La fracción asimétrica del succinato en el malatión lo convierte en un compuesto estereoespecífico hacia las esterasas, esto posiblemente es el responsable de la alta toxicidad del isómero d-malatión en mamíferos<sup>8</sup>. Este efecto, se debe a que el malatión posee grupos carbonilos atractores de electrones, deja al átomo de fósforo central desprotegido pudiendo reaccionar con la enzima más fácilmente, sumado al efecto producido por el carbono quiral existente en su estructura química<sup>8</sup>.

Estos resultados demuestran que es posible hacer una determinación de la actividad colinesterásica de personas expuestas a plaguicidas organofosforados, esta metodología puede ser utilizada para monitorear la actividad enzimática en personas expuestas a este tipo de compuestos (agricultores)<sup>4</sup>.

De los resultados obtenidos de la dependencia de la concentración en la reacción de inhibición de la enzima acetilcolinesterasa en saliva humana por plaguicidas organofosforados no se tienen referencias sobre estudios en este campo, si sobre resultados obtenidos en la toxicocinética que de algunos plaguicidas organofosforados en otras matrices como la sangre, donde se estudia la dependencia del tiempo de exposición a distintos compuestos fosforados y su efecto sobre la enzima acetilcolinesterasa<sup>9,10,11</sup>.

## Conclusiones

Los resultados obtenidos en este estudio, demuestran que las diferentes estructuras

químicas de los compuestos organofosforados inciden en el decaimiento de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa. Así, se puede hacer una clasificación del índice de toxicidad de estos compuestos dependiendo de la concentración en que estos se encuentren y de su estructura química. Los compuestos fosforados más tóxicos según su estructura química son los oxones (paraoxón) por su reacción a muy bajas concentraciones, luego están los grupos que poseen una cabeza catiónica en su estructura, ya que reaccionan con la enzima a concentra-

ciones moderadamente bajas, los compuestos con grupos asimétricos en su estructura también reaccionan con la enzima a concentraciones moderadamente bajas; por último están los plaguicidas organofosforados con grupos tión (fentión, fenitrotión y paratión) los cuales reaccionan con la enzima a concentraciones muy altas, su toxicidad depende básicamente de otros grupos en su estructura química que puedan atenuar el efecto ejercido por el grupo tión, en el caso en estudio un grupo 3-metil (fenitrotión y fentión).

## Referencias

1. Fishel F. Pesticidas y Colinesterasa [Internet]. Extensión IFAS, Universidad de Florida. 2015 sep. [Citado 2016 ene]. Doc. PI242. Disponible en: <https://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/PI/PI24200.pdf>
2. González G. Intoxicación por plaguicidas: Casuística del Hospital Universitario del Caribe y de la Clínica Universitaria San Juan de Dios de Cartagena. Universidad Nacional de Colombia [Internet]. 2011 oct [Citado 2016 ene]. Disponible en <https://bdigital.unal.edu.co/4258>.
3. Fukuto, R. Mechanism of action of organophosphorus and carbamate insecticides. *Environmental Health Perspectives*. 1990; 87 (1):245–254.
4. Uzcátegui J, González S, Zambrano R, Pereira A. Validación de un método analítico para determinar la enzima acetilcolinesterasa (ACHE) en saliva humana de poblaciones expuestas a plaguicidas organofosforados y carbamatos. *Revista Odontológica de Los Andes*. 2013; 8(2): 5-15.
5. Uzcátegui J. Suelos y ríos sucumben por exceso de plaguicidas [Internet]. Publicado por diario Frontera. 2005 sep. 16 [Citado 2016 ene]. Disponible en: <http://www.diariofrontera.com>
6. Ramírez J, Lacasaña M. Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Arch Prev Riesgos Labor*. 2001; 4(2): 67–75.
7. González S. Validación de un método analítico para la determinación de plaguicidas organofosforados y carbamatos en muestras de saliva de la comunidad El Paramito de Timotes, Municipio Miranda, estado Mérida. [Trabajo de Grado]. [Mérida, Edo Mérida]: Universidad de Los Andes; 2008. 89 p.
8. Morifusa E. *Organophosphorus pesticides: Organic and Biological Chemistry*. Cuarta Edición. CRC Press Inc; 1974: 123–160.
9. Coban A, Carr R, Chambers H, Willeford K, Chambers J. Comparison of inhibition kinetics of several organophosphates, including some nerve agent surrogates, using human erythrocyte and rat and mouse brain acetylcholinesterase. *Toxicology Letters*. 2016; 248: 39–45.
10. Herkert, N; Freud, G, Kunz U, Thiermann H, Worek F. Comparative kinetics of organophosphates and oximes with erythrocyte, muscle and brain acetylcholinesterase. *Toxicology Letters*. 2012; 209: 173–178.
11. Mertens, M; Bierwisch, A. *Toxicology Letters* [Internet]. 2015 [Citado 2016 ene]. Disponible en <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.toxlet.2015.10.012>.

Recibido: 27-12-2015 / Aceptado: 21-04-2016