

# Susceptibilidad a los insecticidas organofosforados en trabajadores de invernadero: importancia de los marcadores bioquímicos

*A. F. Hernández, A. Pla, M. A. Gómez, G. Pena, F. Gil, G. Pino y L. Rodrigo.  
Dpto. Medicina Legal y Toxicología. Universidad de Granada. Avda. Madrid, 11.  
Granada.*

## RESUMEN

*Objetivos:* Presentamos los resultados de un estudio realizado sobre 172 agricultores de invernadero de la zona de agricultura intensiva del litoral granadino, que ha adquirido especial relevancia en los últimos años, con objeto de evaluar la utilidad de determinados marcadores bioquímicos utilizados como indicadores de exposición y susceptibilidad.

*Metodología:* Hemos estudiado tres marcadores bioquímicos, concretamente el fenotipo sérico de la paraoxonasa, el fenotipo de colinesterasa y la actividad  $\beta$ -glucuronidasa mediante procedimientos espectrofotométricos en condiciones previamente estandarizadas.

*Resultados:* Los diferentes marcadores bioquímicos estudiados han permitido realizar estimaciones útiles acerca del status individual de paraoxonasa así como la importancia de déficit congénitos de colinesterasa sérica en los fumigadores ocupacionalmente expuestos a pesticidas, con objeto de poder establecer riesgos individuales debido a una especial susceptibilidad genética. Igualmente, la utilización de  $\beta$ -glucuronidasa puede constituir un nuevo marcador bioquímico capaz de reflejar exposición a determinados pesticidas (organofosforados y carbamatos).

*Conclusiones:* La exposición crónica a diferentes combinaciones de pesticidas afecta de alguna manera el normal funcionamiento de diferentes sistemas orgánicos (especialmente el Sistema Nervioso) y puede producir determinados efectos clínicos que pueden conducir a importantes complicaciones. Además, una medida sanitaria con perspectivas de futuro puede ser la determinación en plasma de diferentes biomarcadores capaces de detectar alteraciones bioquímicas precoces antes de que terminen produciendo manifestaciones clínicas.

## CARACTERÍSTICAS SOCIOLABORALES DE LA AGRICULTURA INTENSIVA EN LA COSTA SURESTE DE ESPAÑA. IMPLICACIONES TOXICAS

El gran boom de la economía de Almería de los últimos 20 años se basa fundamentalmente en la transformación que ha experimentado la agricultura, pasando de métodos de labranza tradicionales a la utilización de alta tecnología. Así, zonas que se caracterizaban por suelos de mala calidad, escasez e irregularidad de lluvias, pocos recursos hidráulicos de superficie y fuertes vientos (factores que hacían que la producción agraria fuera de secano, escasa y con poco valor) han pasado a ser, gracias a las innovaciones tecnológicas, zonas de gran riqueza con una gran productividad agrícola y un elevado incremento en su valor económico (Fernández-Soriano, 1995).

El origen de los primeros invernaderos en esta zona data del año 1957, cuando se comenzó a enarenar los terrenos de cultivo con objeto de romper la capilaridad del suelo y evitar la evaporación del agua. Así se mantenía el tempero durante más tiempo, ya que las sales están más diluidas y no se depositan en la superficie. Ante los buenos resultados obtenidos con este sistema respecto a los cultivos al aire libre, esta práctica agraria se fue ampliando y extendiendo rápidamente al resto de los regadíos de la zona (Parrón, 1994).

El éxito vino dado no sólo por ese factor geológico, sino además por la utilización de plástico, de semillas seleccionadas genéticamente y el regadío controlado. Gracias a todos estos factores, se consigue mayor precocidad en las cosechas, mayores producciones y calidad, más ahorro de agua, menor proliferación de las malas hierbas, etc, de manera que la agricultura almeriense ha pasado a ser la primera productora de productos hortofrutícolas extratempranos de España, e incluso también de Europa (Fernández-Soriano, 1995).

Una imagen tomada del satélite Landsat-5 en Octubre de 1986 permitió estimar en 11.500 ha la superficie total de invernaderos. La cifra sigue creciendo a un ritmo anual de entre 500 y 1.000 ha, de manera que en 1993 las cifras estimadas superaban las 23.000 ha, lo que supone el 80% del total nacional, aunque en los últimos años esta modalidad de cultivo se ha ido extendiendo notablemente por todo el litoral sur de la Península Ibérica, especialmente la costa de Granada, Cádiz y Huelva (Parrón, 1994).

Todo este desarrollo ha ido acompañado de una gran inversión económica. A su vez, las campañas anuales entre mano de obra, plástico, abonos, semillas, etc. suponen un gran riesgo económico que no se puede dejar a expensas de las posibles plagas que puedan afectar a los cultivos. Es por ello que se utilizan de forma masiva pesticidas para la protección de los productos hortofrutícolas. La agricultura intensiva acapara un 20% del gasto nacional total de pesticidas, siendo Andalucía la región que realiza un mayor consumo de dichos productos, alrededor del 30% del total nacional.

### *Factores de exposición y toxicidad*

Las peculiares características de los invernaderos (recinto cerrado, elevada temperatura y alta humedad) favorecen la aparición de un gran número de plagas que pueden poner en riesgo las cosechas. Ello da lugar a que se utilicen una gran cantidad de pesticidas en forma de aplicaciones en muchos casos excesivas y sin los medios de protección adecuados, lo que hace que las intoxicaciones agudas por pesticidas sean muy frecuentes en las zonas de agricultura intensiva. Junto a ello hay que considerar los posibles efectos a largo plazo en la población que los maneja, por estar expuestos de forma crónica a los mismos por diferentes vías (respiratoria, cutánea e incluso digestiva).

El número medio de aplicaciones por campaña (cuyo ciclo completo suele ir de

Septiembre a Julio del año siguiente) ha variado, aunque la tendencia es creciente. Así, en 1986 era de 9, en 1987 de 14, en 1988 de 19 y actualmente está alrededor de 24. A pesar de este incremento en el número de veces que se fumiga, el número de horas dedicadas al tratamiento está más estabilizado, quizás por la sofisticación de los medios empleados para fumigar (Parrón, 1994).

Los pesticidas más usados en las zonas de agricultura intensiva fueron en un principio los organofosforados, aunque últimamente han sido desplazados por los piretroides y el organoclorado endosulfán. Asimismo, se ha incrementado el uso de fungicidas y diversas mezclas de productos, algunas de ellas preparadas comercialmente aunque la mayoría las elaboran los propios agricultores. En el Poniente almeriense, el número medio de pesticidas utilizados por campaña es de 20, distribuidos de la siguiente forma: insecticidas, 33,3%; herbicidas, 27,8%; fungicidas, 19,4%; acaricidas, 6,6%; y otros, 12,9% (Parrón, 1994).

El tiempo necesario para tratar una ha es muy variable, pudiendo oscilar desde 6 hasta 12-14 horas las necesarias para tratar una ha. También existe variabilidad en función de que el trabajador sea fumigador habitual, especialmente de empresas, o esporádico, generalmente agricultores que se dedican a todas las faenas del invernadero, incluidos los procesos de fumigación.

Todos estos factores, unidos a las elevadas temperaturas que se alcanzan dentro del invernadero, superiores en algunos momentos a los 50°C, hace que las medidas de protección sean inadecuadas cuando no nulas en la mayoría de los fumigadores. Por otro lado, la edad tan precoz a la que se comienzan a fumigar así como el elevado número de años que se dedican a esta actividad, es asimismo importante en cuanto a la toxicidad, especialmente a largo plazo. Finalmente, hay que considerar también dentro de la exposición los hábitos inadecuados, como el fumar, comer, etc. durante la fumigación.

### ***Elevada incidencia de intoxicaciones***

Las peculiaridades de la zona del Poniente Almeriense en lo referente a la agricultura intensiva y al uso de pesticidas han llevado consigo un elevado número de intoxicaciones agudas y una patología inespecífica de difícil filiación, estrechamente relacionada con las características laborales y, en particular, con la elevada exposición a productos agroquímicos.

Por otro lado, en los últimos años se ha registrado un incremento continuo en el número de intoxicaciones registradas en los Servicios de Urgencias no hospitalarios de El Ejido (principal pueblo del Poniente almeriense), donde se pasa de 42 intoxicaciones agudas en 1981 a 177 en 1990, lo cual justifica aún más la importancia del tema así como la necesidad de realizar estudios de seguimiento. No obstante, hay que diferenciar entre los intoxicados asistidos en Servicios de Urgencias de la Zona, que no han requerido ingreso hospitalario, considerados leves y aquellos otros casos asistidos en el Hospital de Torrecárdenas, intoxicaciones consideradas graves. Un estudio epidemiológico previo ha puesto de manifiesto que uno de cada cuatro casos atendidos en los Servicios de Urgencia extrahospitalarios es enviado al Hospital General (Hernández *et al.* 1990).

En un trabajo retrospectivo efectuado a lo largo de 12 años (desde 1981 hasta 1992) se registraron un total de 506 casos de intoxicaciones agudas por insecticidas organofosforados que necesitaron ingreso en Unidades de Cuidados Intensivos (Martín-Rubí *et al.* 1996), con un promedio de 42 intoxicados graves al año, cifra que ha ido en aumento aunque con tendencia a estabilizarse en los últimos años. El 78% de los casos hospitalizados procedían de la zona del Poniente, mientras que el otro 22% procedía del resto de la provincia de Almería.

Las intoxicaciones accidentales constituyen el 80% de los casos, generalmente por vía cutánea y respiratoria, tratándose la mayoría de las veces de varones que trabajan en el invernadero. Además, se ha observado un descenso en el número de intoxicaciones suicidas (20% de los casos anteriormente mencionados) con respecto a un estudio anterior realizado por el mismo grupo, que lo situaban en el 38% (Yélamos *et al.* 1992).

La mortalidad de la intoxicación por insecticidas organofosforados se sitúa en el 3-4% de los casos, llegando hasta un 14% en las intoxicaciones por vía digestiva (Martín-Rubí *et al.* 1996). Esta última cifra es algo mayor que el 9% encontrado sólo unos años antes en el otro estudio publicado por el mismo grupo (Yélamos *et al.* 1992). Es decir, aunque se ha observado un descenso en la incidencia de las intoxicaciones suicidas en los últimos años, las que se producen revisten una mayor gravedad.

## **ESTUDIO DE LA UTILIDAD DE LOS MARCADORES BIOQUÍMICOS DE EXPOSICIÓN EN LA ZONA DE AGRICULTURA INTENSIVA DE LA COSTA GRANADINA**

Uno de los aspectos más importantes relacionados con la exposición crónica a compuestos organofosforados es la evaluación de la toxicidad por medio de marcadores bioquímicos que constituyen una señal de alarma previa a la aparición de las manifestaciones clínicas. Según los protocolos de la OMS (Maroni *et al.*, 1986), la monitorización biológica de trabajadores expuestos a tales productos debe basarse, al menos, en dos tipos de determinaciones: la actividad colinesterasa plasmática y eritrocitaria y la determinación de alquilfosfatos en orina. Una evaluación complementaria consistiría en determinar, además, la paraoxonasa sérica, la esterasa diana de la neuropatía (NTE) en linfocitos o plaquetas y las oxidasas de función mixta.

No obstante, la variación interindividual existente en la población no expuesta de alguna de estas actividades enzimáticas hace necesaria la realización de estudios poblacionales para detectar aquéllos individuos más susceptibles a la intoxicación por organofosforados. En este sentido, Mutch *et al.* (1992) proponen la determinación previa de cinco enzimas (colinesterasa eritrocitaria, colinesterasa plasmática, NTE en linfocitos, paraoxonasa y arilesterasa plasmática) como indicadores predictivos de susceptibilidad.

La utilización de pesticidas conlleva inevitablemente la exposición a pequeñas cantidades de los mismos que pueden oscilar desde niveles indetectables hasta otros fácilmente medibles utilizando determinaciones analíticas sensibles de fácil disponibilidad. El que este tipo de exposiciones sea de mayor o menor importancia biológica depende de la duración de la exposición, dosis y reactividad biológica (Krieger, 1992). En este sentido, diferentes estudios han establecido la necesidad de practicar y desarrollar técnicas de monitorización biológica para evaluar la exposición y predecir los riesgos sanitarios de los trabajadores ocupacionalmente expuestos a pesticidas.

En la evaluación de la exposición a pesticidas se han utilizado dos tipos de determinaciones: actividades enzimáticas en sangre y niveles de pesticidas y/o sus metabolitos en fluidos biológicos (orina o sangre). Sin embargo, debido a la inexistencia de una adecuada relación dosis-respuesta o dosis-efecto, la mayoría de estas determinaciones sólo se pueden utilizar como indicadores biológicos de exposición para confirmar la exposición o para estimar la dosis interna (He, 1993). Algunos grupos de sustancias, como los pesticidas están aún lejos de las posibilidades de monitorización biológica, debido a un gran desconocimiento científico, de ahí que aún sea necesario realizar un gran esfuerzo investigador (Angerer, 1996).

En este trabajo, presentamos un ejemplo de biomarcadores considerados como indicadores de exposición, efectos y susceptibilidad, los cuales pueden proporcionar

indicaciones válidas de efectos bioquímicos precoces que podrían preceder a la sintomatología clínica. En este sentido, el objetivo ha sido identificar y validar marcadores periféricos, determinados en sangre o plasma, que podrían reflejar lo que está sucediendo en otros tejidos, principalmente en las dianas neuroquímicas. El mejor ejemplo de este tipo de estrategia se encuentra en el campo de los pesticidas anticolinesterásicos.

Se ha argumentado que las diferencias interindividuales en la actividad de la colinesterasa y paraoxonasa pueden desarrollar cierto papel en las variaciones de susceptibilidad del hombre a los efectos tóxicos de los pesticidas, principalmente de los organofosforados. Ambas actividades enzimáticas exhiben grandes variaciones en la población general y están reguladas mediante control genético.

En este sentido, hemos diseñado un estudio que abarca un ciclo anual de fumigación para medir y evaluar la exposición de trabajadores en situaciones donde existe exposición simultánea a múltiples pesticidas. En este estudio tomaron parte 172 trabajadores de invernadero con diferente perfil de exposición a pesticidas y al menos 5 años de experiencia como fumigadores en la zona de agricultura intensiva de la costa granadina de Carchuna junto a 42 controles. Las determinaciones analíticas se efectuaron antes del comienzo del ciclo de fumigación, en el momento de máxima exposición y al final del ciclo de fumigación. Los biomarcadores estudiados en esta población fueron los siguientes:

### 1. Paraoxonasa

Muchos estudios han indicado la existencia de un polimorfismo genético de la paraoxonasa en la población general que es determinante de su actividad. Este polimorfismo se debe a la sustitución de un aminoácido en el centro activo del enzima, dando lugar a isoenzimas de alta y baja actividad. La comparación de los fenotipos séricos de esta actividad esterásica y el análisis del ADN codificante han mostrado que el aminoácido en posición 191 es el que determina del fenotipo sérico en cada individuo. Todos los sujetos con fenotipo A presentan glutamina en la posición 191, mientras que los del fenotipo B presentan arginina en dicha posición. Por su parte, los heterocigotos (AB) pueden presentar cualquiera de estos dos aminoácidos (La Du *et al.*, 1993).

El sistema de la paraoxonasa probablemente aporta escasa protección frente a una intoxicación aguda, en la que existe una alta exposición; sin embargo, en exposiciones repetidas a bajas dosis presentaría la ventaja de un sistema catalítico frente al más limitado sistema estequiométrico representado por la colinesterasa en los tejidos diana (Weber, 1995). Sin embargo, la paraoxonasa no es del todo útil como marcador de biosusceptibilidad, ya que no todos los compuestos organofosforados (o sus metabolitos activos) son hidrolizados por dicho enzima (Costa y Manzo, 1995).

Hemos utilizado el cociente de actividad paraoxonasa en presencia de CINA 1 M dividido por la actividad arilesterasa para identificar los fenotipos séricos individuales. Este biomarcador sirve para determinar si un determinado fenotipo puede estar relacionado con algún importante riesgo sanitario (como por ejemplo, una mayor incidencia de signos clínicos o alteraciones bioquímicas). Los fenotipos individuales encontrados fueron los siguientes: tipo A,  $1,72 \pm 0,26$ ; (n= 84); tipo AB,  $6,43 \pm 1,20$  (n= 74), y tipo B,  $11,68 \pm 1,80$  (n= 14) (media  $\pm$  S.D.). La distribución génica para el alelo de baja actividad (A) fue de 0,71 y para el de alta actividad (B) de 0,29. Por tanto, el 50% de esta población es homocigota para el alelo de baja actividad, el 8% homocigota para el de alta actividad y el 42% heterocigota. Estos resultados son comparables a los obtenidos por otros estudios (La Du *et al.*, 1993; Williams *et al* 1993).

La variación polimórfica en la actividad paraoxonasa sérica puede afectar el meta-

bolismo de los organofosforados en individuos en riesgo de exposición y, por tanto, incrementar el riesgo de intoxicación crónica por organofosforados, en el sentido de que altos niveles de paraoxonasa sérica protegen frente a la intoxicación por insecticidas organofosforados cuyos metabolitos activos sean sustratos de este enzima.

## 2. Colinesterasa

La deficiencia congénita de colinesterasa sérica es una causa potencial conocida de reacción prolongada a agentes bloqueante neuromusculares tales como la succinilcolina (Jensen *et al.*, 1995). Pensamos que puede ser útil incorporar este biomarcador a los controles sanitarios de los trabajadores de invernadero con el propósito de monitorizar a aquellos que aplican insecticidas anticolinesterásicos (organofosforados y carbamatos), especialmente para detectar a los que son más susceptibles por presentar una baja actividad enzimática o una deficiencia congénita de la colinesterasa sérica.

En este estudio determinamos la prevalencia del déficit congénito en la colinesterasa sérica en la población de trabajadores de invernadero con objeto de averiguar si aquellos que lo presentaban eran candidatos a un mayor riesgo tras la exposición a pesticidas. No obstante, es importante aclarar que la acetilcolinesterasa (tanto en eritrocitos como en el tejido nervioso) tiene un control genético distinto que la colinesterasa sérica, que se sintetiza en el hígado. Por tanto, el déficit congénito de la colinesterasa sérica no constituye un riesgo específico frente a la toxicidad de los organofosforados o carbamatos, la cual ocurre a nivel de los neuroreceptores. Sin embargo, estos individuos podrían tener un riesgo algo más elevado debido a un peor potencial estequiométrico.

La actividad colinesterasa sérica (ChE) se determinó espectrofotométricamente a 240 nm utilizando benzoilcolina como sustrato. El fenotipo de ChE se obtuvo mediante la inhibición diferencial de dicho enzima frente a dibucaína y fluoruro sódico. Todos los trabajadores fueron evaluados para el déficit congénito de ChE antes de comenzar el ciclo de fumigación con objeto de evitar interferencias debidas a la exposición. De los 136 individuos en que se pudo determinar este parámetro, el 86,8% tenían el fenotipo usual (UU o US) mientras que el otro 13,2% presentaban los fenotipos UA, UF y FF. Cinco individuos (3,7%) de la muestra eran heterocigotos para la deficiencia pero ninguno resultó ser homocigoto. 51 individuos (37,5%) tenían medidas basales de la ChE por debajo del límite de referencia para el fenotipo UU (esto es, 650-1450 U/l) y sólo 8 estaban por debajo del límite inferior del fenotipo US (455 U/l). Sólo estos últimos individuos podrían presentar un riesgo relativamente mayor que el resto de la población, debido a una desventaja estequiométrica. Los estudios realizados en Europa y Norteamérica indican una prevalencia del déficit congénito de la colinesterasa sérica de aproximadamente un 4% para la población general (Rosemann y Gus, 1997). Sin embargo, nosotros no encontramos ninguna variante atípica o silente en la población estudiada, por lo que podremos asumir que ningún individuo presenta un riesgo especial de carácter congénito, de ahí que se pueda descartar de forma razonable una susceptibilidad genética en base a la colinesterasa plasmática.

## 3. $\beta$ -glucuronidasa

Últimamente, se ha sugerido que la liberación de  $\beta$ -glucuronidasa desde microsomas hepáticos es el marcador más sensible y rápido para detectar la intoxicación por insecticidas anticolinesterasas, es decir, organofosforados y carbamatos. Satoh (1991) demostró que la  $\beta$ -glucuronidasa se encuentra estabilizada en las vesículas microsomales hepáticas con una proteína accesoria, llamada egasina, que resulta ser idéntica a una de las isoenzimas de las carboxilesterasas. Así pues, los compuestos organofosforados y carbamatos causan una rápida disociación del complejo  $\beta$ -glucuronidasa/egasina, que se sigue de una rápida y masiva secreción de  $\beta$ -glucuronidasa microsomal al torrente sanguíneo.

Subgrupo	Ciclo de fumigación				
	Inicio	Inicio (15 días después)	Máxima Fumigación	Final	Signifi- cación
1. Varones alta exposición (n=23)	115 ± 56	119 ± 50	123 ± 42	100 ± 46	NS
2. Varones exposición intermedia (n=20)	107 ± 57	116 ± 67	111 ± 41	93 ± 60	NS
3. Varones baja exposición (n=22)	121 ± 54	127 ± 66	115 ± 34	94 ± 47	NS
4. Mujeres fumigadoras (n=27)	66 ± 25	83 ± 21	73 ± 21	52 ± 20	0,001
5. Mujeres no fumigadoras (n=22)	72 ± 29	87 ± 27	85 ± 20	70 ± 23	NS
TOTAL (n=114)	95 ± 50	105 ± 51	100 ± 37	80 ± 45	0,001

Tabla 1. Resultados de la actividad  $\beta$ -glucuronidasa en plasma de fumigadores de invernadero a lo largo de un ciclo de fumigación.

Unidades: U/l

Para evaluar la importancia y utilidad de este biomarcador, determinamos la actividad  $\beta$ -glucuronidasa en el plasma de la población de trabajadores de invernadero a lo largo de todo el ciclo de fumigación. Los resultados obtenidos se expresan en la Tabla 1. Considerando los sujetos globalmente se observaron diferencias significativas entre los niveles existentes antes del comienzo del ciclo de fumigación con respecto a los del momento de máxima fumigación y final del ciclo ( $p < 0,05$ ), lo cual no se ajusta del todo con el incremento esperado a mitad del ciclo de fumigación, cuando los trabajadores están más expuestos a pesticidas. Esto sugiere que la exposición a pesticidas organofosforados y/o carbamatos en nuestra población de estudio no es tan importante como pensábamos inicialmente o, alternativamente, alguna variable de confusión puede haber sesgado nuestros resultados. Por otro lado, no es fácil interpretar los resultados de final del ciclo de fumigación, cuando se obtuvieron los valores absolutos más bajos y que teóricamente deberían ser del mismo orden de magnitud que a comienzos del ciclo de fumigación. Probablemente, la determinación del patrón electroforético de  $\beta$ -glucuronidasa sérica constituya un marcador más sensible de la exposición a insecticidas anticolinesterásicos.

Sin embargo, si dividimos la muestra total de 114 individuos (todos los que completaron el ciclo de fumigación) en varios subgrupos de acuerdo a la intensidad de exposición y sexo, obtenemos 5 subgrupos:

- \* *Subgrupo 1*: varones de alta exposición (n= 23). Son aquéllos que fumigan más de 30 marjales de extensión de invernadero (18 marjales equivalen a 1 ha);
- \* *Subgrupo 2*: varones de exposición intermedia (n= 20), que fumigan una extensión de invernadero entre 18 y 30 marjales.
- \* *Subgrupo 3*: varones de baja exposición (n= 22), fumigan una extensión inferior a 18 marjales.
- \* *Subgrupo 4*: mujeres fumigadoras (n= 27), compuesto por mujeres que ayudan en todas las tareas agrícolas en el invernadero, incluyendo el proceso de fumigación.
- \* *Subgrupo 5*: compuesto por mujeres (n= 19) que trabajan en el invernadero en diferentes tareas pero que no fumigan ni ayudan en los procesos de fumigación, aunque entran o salen del invernadero independientemente de que éste haya sido recientemente fumigado o no.

Si examinamos los valores de  $\beta$ -glucuronidasa de acuerdo a esta clasificación (Tabla 1), se observa que el subgrupo 1, en teoría el de mayor exposición a diferentes pesticidas, se ajusta mejor a la hipótesis inicial relativa a la utilidad de este parámetro bioquímico como marcador de exposición frente a insecticidas anticolinesterásicos, dado que ofrece valores más altos en el momento de máxima fumigación del ciclo, aunque las únicas diferencias estadísticamente significativas se encontraron sólo entre este momento del ciclo y final del mismo, cuando los valores absolutos de esta actividad enzimática fueron más bajos.

Estos hallazgos son algo difíciles de interpretar a menos que consideremos las estadísticas de intoxicación de otros años (Hernández *et al.*, 1990). Estas cifras muestran que

la mayoría de los casos se producen entre los meses de agosto y noviembre, coincidiendo por tanto con el periodo de mayor exposición a pesticidas. Prácticamente no se observan casos en los meses de marzo y abril, justo cuando finaliza el ciclo corto de fumigación, que es el que hemos seguido en este estudio, que comienza en septiembre y finaliza en marzo. Estos dos hechos deben, pues, ponerse en relación, ya que los valores absolutos más bajos de actividad  $\beta$ -glucuronidasa se obtuvieron a final del ciclo de fumigación, coincidiendo por tanto con el periodo en que se observan menos intoxicaciones y que podríamos considerar como reflejo indirecto de una menor exposición a pesticidas. Por el contrario, las dos determinaciones basales efectuadas en agosto (esto es, antes del comienzo del ciclo de fumigación y separadas entre sí 15 días, como recomienda la OMS) arrojaron un valor absoluto de actividad mayor que al final del ciclo, lo cual podría relacionarse con el hecho de que incluso en agosto se observan casos de intoxicación, reflejo de que realmente existe exposición a pesticidas en esta época en la que, al menos teóricamente, no están utilizando pesticidas aunque es posible que en este momento los fumigadores estén procediendo a la dilución o mezcla de los productos para tenerlos listos y utilizarlos en el mes de septiembre, cuando comienza la nueva temporada agrícola. A pesar de las indicaciones de que este marcador puede ser de utilidad, presenta además una serie de desventajas como es la elevada variabilidad interindividual (reflejada en las altas desviaciones estándar), y un elevado costo.

La determinación de las colinesterasas (tanto eritrocitaria como plasmática) en estos individuos debería ser tenida en cuenta también, ya que en principio se puede esperar una correlación inversa entre el comportamiento de ambas actividades esterásicas. Esto es, debería comprobarse si en realidad el subgrupo 1 (fumigadores de alta exposición), con un incremento de la  $\beta$ -glucuronidasa a mitad del ciclo de fumigación (cuando hay mayor exposición a pesticidas), presentan también un descenso de la actividad colinesterasa que indirectamente reflejaría una mayor exposición a pesticidas anticolinesterásicos. También sería interesante determinar si el subgrupo 5, en teoría el de menor exposición, donde no se observaron diferencias a todo lo largo del ciclo de fumigación tampoco presenta alteraciones de la actividad colinesterasa. Este tipo de correlaciones son objeto de un estudio que actualmente están llevando a cabo los autores.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido financiado por el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS-96/0232).

## REFERENCIAS

- Angerer, J. y Gundel, J. 1996. Biomonitoring and occupational medicine. Possibilities and limitations. *Ann Ist Super Sanita*, **32**: 199-206.
- Costa, L. G. y Manzo, L. 1995. Biochemical markers of neurotoxicity: research strategies and epidemiological applications. *Toxicol Lett*, **77**: 137-144.
- Fernández Soriano, M. A. 1995. *Estudio epidemiológico y analítico sobre la exposición ambiental a pesticidas y su repercusión materno-fetal durante el embarazo y parto*. Servicio de Publicaciones, Universidad de Granada.
- He, F. 1993. Biological monitoring of occupational pesticides exposure. *Int Arch Occup Environ Health*, **65** (1 Suppl): S69-S76.
- Hernández, A. F., Pla, A. y Villanueva, E. 1990. Incidencia de las intoxicaciones agudas por pesticidas en la zona sur-oriental de España. Aspectos toxicológicos. En: «*Actes des IX Journées Internationales Méditerranéennes de Médecine Légale*». G. Umami, P. Giordano (eds). Collana di studi di Medicina Legale science criminologiche e sociali, no 6. Ed. Colosseum, Roma, pp 390-400.



- Jensen, F. S., Skovgaard, L. T. y Viby-Mogensen, J. 1995. Identification of human plasma cholinesterase variants in 6.688 individuals using biochemical analysis. *Acta Anaesthesiol Scand*, **39**: 157-162.
- Krieger, R. I., Ross, J. H. y Thongsinthusak, T. 1992. Assessing human exposures to pesticides. *Rev Environ Contam Toxicol*, **128P**: 1-15.
- La Du, B. N., Adkins, S., Kuo, C. L. y Lipsig, D. 1993. Studies on human serum paraoxonase-arylesterase. *Chem-Biol Interact*, **87**: 25-34.
- Maroni, M., Jarvisalo, J. y La Ferla, F. 1986. The WHO-UNDP epidemiological study on the health effects of exposure to organophosphorus pesticides. *Toxicol Lett*, **33**: 115-123.
- Martín Rubí, J. C., Yélamos, F., Laynez, F., Córdoba, J., Díez, F., Lardelli, A., Blanco, J. L. y Vicente Rull, J. R. 1996. Intoxicaciones por insecticidas organofosforados. Estudio de 506 casos. *Rev Clín Esp*, **196**: 145-149.
- Mutch, E., Blain, P. G. y Williams, F. M. 1992. Interindividual variations in enzymes controlling organophosphate toxicity in man. *Hum Exp Toxicol*, **11**: 109-116.
- Parrón, T. 1994. *Efectos nocivos de la exposición continuada a plaguicidas con especial incidencia en la depresión y el suicidio en la zona del poniente almeriense*. Servicio de Publicaciones, Universidad de Granada.
- Rosemann, K. D. y Guss, P. S. 1997. Prevalence of congenital deficiency in serum cholinesterase. *Arch Environ Health* 1997; **52**: 42-44.
- Satoh, T. 1991. Release of liver microsomal  $\beta$ -glucuronidase from hepatocytes in vitro and in vivo by organophosphates and hepatotoxic agents. *J Toxicol Sci*, **16** (Suppl 1): 133-142.
- Weber, W. W. 1995. Influence of heredity on human sensitivity to environmental chemicals. *Environ Molec Mutag*, **25** (Suppl 26): 102-114.
- Williams, F. M., Mutch, E. y Blain, P. G. 1993. Paraoxonase distribution in caucasian males. *Chem-Biol Interact*, **87**: 155-60.
- Yélamos, F., Díez, F., Martín, C., Blanco, J. L., García, M. J., Lardelli, A. y Peña, J. F. 1992. Intoxicaciones agudas por insecticidas organofosforados en la provincia de Almería. Estudio de 187 casos. *Med Clín (Barc)*, **98**: 681-684.