

LA INHIBICIÓN DE LA ACTIVIDAD COLINESTERÁSICA SANGUÍNEA COMO BIOMARCADOR DE EXPOSICIÓN A COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS. UNA REVISIÓN CRÍTICA

BLOOD CHOLINESTERASE ACTIVITY AS A BIOMARKER OF EXPOSURE TO ORGANOPHOSPHORUS COMPOUNDS AND CARBAMATES. A CRITICAL REVIEW

Enrique José Ibarra Fernández de la Vega ¹
Tomasía María Linares Fernández ²

RESUMEN

Hoy por hoy, la determinación de la actividad de la colinesterasa sanguínea es el biomarcador por excelencia de exposición ambiental a compuestos organofosforados, sulfatos y sulfonatos orgánicos, y carbamatos. Sin embargo, su determinación analítica reviste características particulares según el tipo de colinesterasa de que se trate - acetilcolinesterasa (ACE), pseudocolinesterasas (CE) o colinesterasas totales (ACE + CE)-, el medio específico en que se determine - eritrocitos, suero o plasma, o sangre total-, el principio analítico en que se fundamente el método y el sustrato determinado que se emplee en la medición de la actividad enzimática correspondiente. En cuanto al tipo de colinesterasa a determinar y al medio específico en que se determine, la actividad de la ACE en eritrocitos es, indiscutiblemente, la más apropiada por su sensibilidad analítica, precisión y especificidad, siendo el método espectrofotométrico de Ellman el más recomendado internacionalmente. Sin embargo, y por razones puramente prácticas atendiendo fundamentalmente a rapidez, sencillez y economía, la determinación de la actividad colinesterásica en sangre total se utiliza con bastante frecuencia en el monitoreo de exposición a compuestos inhibidores de la colinesterasa. Otro aspecto importante de la determinación es la forma de evaluación de los resultados de su medición, siendo la comparación con el valor individual base de cada trabajador (antes de la exposición) la referencia por excelencia, aunque, ante la ausencia de tales valores, se han de utilizar entonces los valores 'normales', obtenidos en una muestra lo más representativa posible en un territorio dado de sujetos sanos sin exposición conocida los contaminantes ambientales correspondientes.

Palabras clave: actividad colinesterásica, compuestos organofosforados, carbamatos, biomarcadores de exposición

ABSTRACT

Today, the determination of blood cholinesterase activity is the best biomarker of environmental exposure to organophosphorus compounds, organic sulfates and sulfonates, and carbamates. However, their analytical determination has particular characteristics depending on the type of cholinesterase in question - acetylcholinesterase (AChE), pseudocholinesterase (EC) or total choli-

nerase (ACE + EC)-, the specific environment where it is determined -erythrocytes, serum or plasma or whole blood-, the principle which is based analytical method and specific substrate to be used for the measurement of enzyme activity in question. The AChE activity in erythrocytes is arguably the most appropriate due to its analytical sensitivity, precision and specificity, being the Ellman's spectrophotometric method the most internationally recommended. However, for purely practical reasons fundamentally (speed, simplicity and economy), the determination of cholinesterase activity in whole blood is used quite often in the monitoring of exposure to cholinesterase inhibitor compounds. Another important aspect of this analytical determination is how to evaluate the results of its measurements, taking into account as a reference the individual value of each worker before exposure, or, in the absence of such value, the so-called 'normal values', obtained from a sample as representative as possible in a given territory of healthy subjects with no known exposure the corresponding environmental pollutants.

Keywords: cholinesterase activity, organophosphorus compounds, carbamates, biomarkers of exposure

INTRODUCCIÓN

Por su toxicidad generalmente muy alta, por la amplia y extensa gama de productos que incluye y por su también amplia aplicación hoy en día, merecen una atención diferenciada los plaguicidas organofosforados. Estos pesticidas, junto a otros fosfatos, sulfatos y sulfonatos orgánicos, así como a los carbamatos, son compuestos químicos que se caracterizan por un efecto común en el organismo: la inhibición de un grupo de enzimas llamadas colinesterasas, las cuales se dividen en dos subgrupos, que son los siguientes ^{1,2}:

1. La acetilcolinesterasa (ACE) (acetilcolina-acetilhi-

¹ Licenciado en Química, Máster en Salud de los Trabajadores, Investigador Titular, Profesor Auxiliar. Departamento de Riesgos Químicos, Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

² Médico especialista de 2º grado en Medicina del Trabajo, Máster en Salud de los Trabajadores, Investigadora Auxiliar, Profesora Auxiliar. Instituto Nacional de Salud de los Trabajadores, La Habana, Cuba

Correspondencia:

MSc Enrique José Ibarra Fernández de la Vega
Calzada de Bejuca km 7½, N° 3035, entre Heredia y 1ª, La Esperanza, Arroyo Naranjo,
La Habana, CP 10200, Cuba
Tel.: (537) 643 4179
E-mail: eibarra@infomed.sld.cu

drolasa) (también llamada colinesterasa verdadera o específica), que es una enzima esencial con un alto grado de especificidad en cuanto al sustrato, y que está presente unida a estructuras celulares en las regiones de las sinapsis colinérgicas, la sustancia gris del sistema nervioso central, los ganglios autonómicos, las sinapsis simpáticas pre y postganglionar y las terminaciones motoras de los músculos, así como en las sinapsis postganglionar parasimpáticas y los eritrocitos. Como parte del sistema de la acetilcolina, esta enzima tiene la función fisiológica de desdoblar rápidamente la acetilcolina neurotransmisora (AC) en colina y ácido acético, y, de esta manera, inactivarla.

2. Las colinesterasas (CE) (acilcolina-acilhidrolasa) (también llamadas colinesterasas no específicas, pseudocolinesterasas, colinesterasas plasmáticas o séricas, butirilcolinesterasas y benzoilcolinesterasas), que forman un grupo de isoenzimas. Son menos específicas y están presentes en todo el organismo. Su concentración en el plasma es de 7-9 mg/L. Las colinesterasas plasmáticas difieren con relación a la especificidad por los sustratos, pH óptimo, movilidad electroforética y cinética. Se desconoce a ciencia cierta su función fisiológica. Una de sus funciones farmacológicas es la de desdoblar ciertos fármacos tales como la procaína, la succinilcolina o succinilbiscolina y el ácido acetilsalicílico, así como la de la detoxificación de fosfatos y carbamatos.

En principio, no existen diferencias entre los mecanismos de reacción enzimática de la ACE y de las CE.

La inhibición de estas enzimas puede ser reversible o irreversible, en dependencia de la reactivación que se produzca de la enzima. La acetilcolinesterasa se inhibe por una gran variedad de sustancias con estructuras químicas muy diversas, incluyendo fármacos cuya acción se basa precisamente en la inhibición reversible de la ACE, y aquellos otros en que la inhibición (reversible) es un efecto secundario a su efecto farmacológico real. Inhibidores irreversibles clásicos de estas enzimas son los fosfatos orgánicos (alquilfosfatos), de los cuales, hasta la fecha, se han sintetizado más de 2 000. De manera general, los inhibidores de las colinesterasas se agrupan, de acuerdo con su mecanismo de acción, de la forma siguiente:

1. Inhibidores prostéticos; los que reaccionan con los centros aniónicos. Se incluyen en él los compuestos que producen un efecto competitivo reversible, por ejemplo, la neostigmina.
2. Inhibidores oxidipóricos, que pueden tener efectos reversibles o irreversibles:
 - a) Carbamatos: fármacos (fisostigmina, piridostigmina) e insecticidas (carbaril, isolán). Los síntomas de la intoxicación por carbamatos son básicamente similares a los de la intoxicación por alquilfosfatos, pero la primera se apacigua rápidamente y la muerte es poco frecuente.

amente similares a los de la intoxicación por alquilfosfatos, pero la primera se apacigua rápidamente y la muerte es poco frecuente.

- b) Fosfatos orgánicos (alquilfosfatos): En el presente hay unas 50 sustancias de este tipo en uso práctico. Ellas son ésteres o amidas de los ácidos fosfórico, tiofosfórico, fosfónico o fosfínico. En este grupo se incluyen insecticidas (paratión, bromofós, demetón, diclorvós, dimetoato) y mióticos (nitrostigmina). Las diferencias de toxicidad de los fosfatos se deben principalmente al hecho de que algunos ésteres se metabolizan más rápidamente en animales de sangre caliente, pero mucho menos en insectos. Además, las diferencias entre especies son importantes en las dimensiones del centro catalítico de la ACE. Algunos alquilfosfatos pueden sólo reaccionar con las colinesterasas después de metabolizarse (inhibición indirecta). La toxicidad de todos los tiofosfatos se incrementa por la oxidación del grupo P=S para formar P=O.
- c) Ésteres orgánicos del ácido sulfúrico (alquilsulfatos) y sulfonatos: Existe poca experiencia práctica con estos compuestos.

Después de la reacción con los inhibidores reversibles (carbamatos), la actividad inicial de las colinesterasas regresa en unas pocas horas. Sin embargo, con bloqueadores irreversibles (alquilfosfatos) la actividad esterásica se recupera fundamentalmente después de producirse una nueva síntesis de las enzimas (en un período de varias semanas).

La inhibición de la ACE tiene una gran importancia fisiológica, por cuanto ocasiona acumulación de acetilcolina, su sustrato fisiológico y óptimo, que actúa como un neurotransmisor en el sistema nervioso autónomo y en las terminaciones motoras. La acetilcolina libre afecta el potencial eléctrico de los nervios debido a cambios en la permeabilidad de las membranas de las terminaciones nerviosas para los iones de sodio y potasio. De esta forma, si la acetilcolina liberada no puede ser desdoblada y desactivada rápidamente por la ACE, se produce el espasmo. Se puede producir, eventualmente, parálisis de la musculatura estriada y fallo respiratorio. Por otra parte, la inhibición de las CE no es realmente de importancia fisiológica. Sin embargo, ocurre que éstas también pueden desdoblar e inactivar a la acetilcolina y, al no hacerlo por estar inhibidas sus actividades correspondientes, se produce también, por esta causa, acumulación de acetilcolina con sus respectivos efectos negativos en el organismo³.

El cuadro clínico de la intoxicación por inhibidores de la ACE se produce exclusivamente por la inhibición de la ACE en las sinapsis colinérgicas. La inhibición aguda de la ACE conduce a una acumulación de la sustancia transmisora en los tejidos. Dependiendo de la seve-

ridad de la intoxicación, las secuelas varían desde síntomas característicos de estimulación parasimpática, hasta una crisis colinérgica vegetativa, motora y nerviosa central.

Los primeros síntomas clínicos de significación ocurren sólo cuando la actividad enzimática ha disminuido a menos del 50 % de su valor inicial. Condiciones críticas de intoxicación se observan después de una disminución de la actividad acetilcolinesterásica a 20 % o menos del valor normal individual.

Después de la intoxicación con fosfatos orgánicos, se describe ocasionalmente daño persistente de los nervios sensoriales y motores. Después de la entrada al organismo de grandes cantidades de alquilfosfatos, la muerte puede ocurrir rápidamente por parálisis respiratoria central.

La exposición crónica a inhibidores de la ACE ocurre en la industria y en la agricultura. El peligro por exposición crónica es relativamente bajo, una vez que esas sustancias se hidrolizan rápidamente en el organismo y así disminuye su eficacia. Pudieran existir, sin embargo, efectos aditivos o potenciadores de exposición combinada a diferentes inhibidores de la colinesterasa. No han sido observados daños de los órganos parenquimatosos después de la exposición crónica a estas sustancias. Por otra parte, y dependiendo del grado de acumulación, se han observado efectos muscarínicos y del sistema nervioso central.

La relación entre la exposición externa (concentración del agente inhibidor de la actividad de la ACE), la exposición interna (concentración del agente o metabolito causante de la inhibición en fluidos, órganos, etc.) y el efecto (inhibición de la actividad enzimática), no sólo depende del tipo de inhibidor, sino también, y en gran medida, de la disposición individual (genética) de la persona expuesta.

Como existe la posibilidad de absorción dérmica de muchos fosfatos orgánicos, es poco posible en un caso particular establecer una correlación adecuada entre la concentración en el aire ambiental y los parámetros biológicos correspondientes.

Además, en la evaluación de los síntomas clínicos, particularmente cuando son productos usados en la agricultura, debe tenerse en cuenta que los preparados comerciales contienen aditivos tales como disolventes y emulsificantes, cuyos efectos pueden ser clínicamente más importantes.

LA ACTIVIDAD COLINESTERÁSICA EN EL MONITOREO BIOLÓGICO DE EXPOSICIÓN A COMPUESTOS ORGANOFOSFORADOS Y CARBAMATOS

La inhibición de la actividad de la ACE en las neuronas como resultado de la exposición a los ésteres de los ácidos fosfórico, sulfúrico y sulfónico, y a los car-

bamatos, representa un parámetro real de estrés toxicológico. Sin embargo, la determinación de esa inhibición a nivel neuronal es prácticamente imposible, pero puede realizarse indirectamente a través de la medición de la actividad de la ACE en los eritrocitos. Ésta ofrece una medición directa del daño ocasionado, independientemente del tipo de sustancia química inhibidora de la ACE, y ha demostrado ser el indicador más apropiado para los fines del monitoreo biológico de exposición^{4,5}.

Por otra parte, la determinación de la actividad de las CE en el plasma es un indicador de posible inhibición de la ACE, pero no tiene significación diagnóstica importante en la medicina ocupacional preventiva. En la práctica, el uso de la actividad de la colinesterasa sérica como evidencia de exposición a fosfatos orgánicos, está limitada por el intervalo de normalidad considerablemente amplio que presenta. No obstante, tanto la actividad de la ACE como la de las CE, son muy constantes por muchos años. En el caso de las CE, se han descrito casos de personas con actividad pseudocolinesterásica hereditaria cuyos valores son prácticamente de cero. Adicionalmente, en muchas enfermedades, en particular cuando el parénquima hepático se daña, la actividad de las CE está por debajo de lo normal; en otras, en cambio, puede estar incrementada. Además, todas las formas de colinesterasa pueden ser inhibidas no sólo por las sustancias de referencia, sino también, en mayor o menor grado, por diferentes fármacos (fisostigmina, prostigmina, etc.). También en el caso particular de las pseudocolinesterasas, su actividad está sujeta a un abrupto gradiente diario, de forma tal que, aun en personas no expuestas, los valores matinales individuales son generalmente mayores que los vespertinos correspondientes. Una síntesis insuficiente de proteínas en el parénquima hepático puede disminuir en un 30-40 % la actividad de las CE en el plasma o suero. Éstas son las razones fundamentales por las que se recomienda utilizar específicamente la determinación de la actividad de la ACE en eritrocitos en la exposición crónica a los inhibidores de las colinesterasas.

Sin embargo, no puede descartarse totalmente el empleo de la determinación de la actividad colinesterásica en sangre total en el control biológico de la exposición a compuestos organofosforados y carbamatos, pues, a pesar de no ser el biomarcador más acertado por todas las razones antes expuestas, éste, de hecho, además de responder también significativamente a la exposición, tiene ventajas objetivas importantes sobre la determinación de la ACE eritrocitaria, sobre todo desde el punto de vista práctico en la toma de muestras y en su procesamiento analítico. Por supuesto, de decidirse utilizar la determinación de la actividad colinesterásica en sangre total, habrá que tomar muy en consideración sus características particulares en cuanto a los principales factores de variación conocidos, además de la exposición am-

biental a los inhibidores colinesterásicos, que pueden afectar los valores de este biomarcador.

En la determinación de la actividad colinesterásica (tanto en la de la ACE como de las CE) para evaluar exposición a compuestos inhibidores de este conjunto de enzimas, es importante conocer el valor normal individual, es decir, antes de someter al sujeto a la exposición. Como existen fluctuaciones interindividuales relativamente altas, el valor individual de referencia debe determinarse lo más tempranamente posible. Después de la exposición, debe realizarse otra medición. Esta actividad se ha de expresar entonces como un por ciento del valor de referencia individual. Ésta es la metodología que se recomienda utilizar universalmente para evaluar la exposición a las sustancias de referencia mediante la determinación de la actividad colinesterásica sanguínea¹⁻⁵.

Los valores de las mediciones pueden variar en hasta un 30 % de los valores de referencia individuales como resultado de fluctuaciones fisiológicas o del ritmo circadiano. Sin embargo, inhibiciones más allá del 30 % pueden atribuirse con un grado relativamente alto de certeza al contacto con inhibidores de la colinesterasa. Se acepta generalmente como índice biológico de exposición el 70 % del valor de referencia individual de la actividad colinesterásica. En el caso de trabajadores que muestren una inhibición mayor que la recomendada, deberán ser controlados por determinaciones repetidas de la actividad de la colinesterasa, por ejemplo, después de un intervalo de recuperación de, al menos, 16 horas. Se recomienda adicionalmente que las nuevas determinaciones se realicen a la misma hora del día, para eliminar así la influencia de las fluctuaciones diarias³.

El intervalo de fluctuación para las CE es considerablemente mayor que para la ACE. Como contraste, la sensibilidad diagnóstica de la ACE es mayor. Por otro lado, la determinación de la actividad de la ACE puede ser utilizada también para el diagnóstico diferencial de la enfermedad hepática, ya que la biosíntesis de la ACE tiene lugar precisamente en el hígado.

MÉTODOS DE ENSAYO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD COLINESTERÁSICA SANGUÍNEA

Los métodos analíticos que se han empleado históricamente y los que se emplean actualmente para determinar la actividad colinesterásica, tanto en eritrocitos, como en suero o plasma y sangre total, son muchos y muy variados⁶⁻²⁴. Como habíamos hecho referencia con anterioridad, las determinaciones más preciadas (y de las que solo nos ocuparemos en lo adelante) de la actividad enzimática como biomarcadores de exposición a inhibidores de la colinesterasa, son hoy las que nos permiten medir, en primer lugar, la actividad ACE eritrocitaria, y en segundo, la de las colinesterasas totales (ACE + CE) en sangre total. Por su diversidad manifiesta en cuanto a

los principios analíticos y a los tipos y concentraciones de los sustratos específicos utilizados, los métodos de ensayo para determinar la actividad colinesterásica sanguínea difieren sensiblemente unos de otros, lo que ha propiciado que sea difícil de reconocer universalmente hoy a un método en particular como de referencia. No obstante, y de manera general, la Organización Mundial de la Salud recomienda el método descrito originalmente por Ellman et al en 1961^{1,3,7}, consistente en una determinación espectrofotométrica basada en la hidrólisis de la acetilcolina y la medición fotométrica del compuesto formado por el tiol correspondiente y disolución reactiva de DTNB [ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico)], también conocida como reactivo de Ellman. Basados en el principio original de este método, se han desarrollado posteriormente otras muchas variantes, que le han impuesto al procedimiento, entre otras ventajas, mayor sensibilidad analítica, precisión, reproducibilidad, sencillez y economía en su realización^{4,6,8,13,16,17}. En Cuba, en particular, hemos estado utilizando desde finales de la década de los años 60 del pasado siglo y hasta el presente, un método titrimétrico visual para determinar la actividad colinesterásica en sangre total²³. Este método tiene entre sus múltiples ventajas con respecto a muchos otros referidos hoy en la literatura universal, su sencillez manifiesta y economía en cuanto a recursos necesarios para su desarrollo, característica *sui generis* que ha permitido su empleo en los laboratorios de prácticamente todos los centros de higiene y epidemiología del país para el control de la exposición de los trabajadores a pesticidas organofosforados y carbamatos.

VALORES DE REFERENCIA DE LA ACTIVIDAD COLINESTERÁSICA SANGUÍNEA

Como ya fue expresado anteriormente y con suficiente claridad, la mejor medida de la exposición a los compuestos organofosforados y a los carbamatos, es, hoy por hoy, el grado de inhibición de la ACE en eritrocitos, tomándose los valores obtenidos inmediatamente después de la exposición, y, como referencia, los valores 'normales' individuales, es decir, los anteriores a la exposición. En la práctica diaria del monitoreo de la exposición ocupacional a compuestos organofosforados y a carbamatos, sin embargo, se observa con mucha frecuencia la imposibilidad práctica de contar con tales valores 'normales' individuales, una vez que, lamentablemente, muchos trabajadores de los que se van a exponer a pesticidas organofosforados y a carbamatos, no son sometidos previamente a un examen médico preempleo como debiera, y mucho menos a un análisis de su actividad colinesterásica sanguínea. Por consiguiente, no tendría ningún sentido práctico realizarle la determinación a este trabajador inmediatamente después de la exposición si no se cuenta con su valor base individual. No obstante, ante tal disyuntiva práctica y desgraciada-

mente bastante frecuente en la práctica higiénico sanitaria, es necesario valorar la posibilidad y factibilidad de encontrar otro valor referencial a tomar en consideración al evaluar la actividad colinesterásica sanguínea después de concluida la exposición del trabajador. Esta otra alternativa, por demás viable en la práctica, es empleando los valores de referencia de la actividad colinesterásica sanguínea en la población 'normal' no expuesta a tales tipos de compuestos nocivos.

Sin embargo, la estimación de los valores 'normales' de la actividad colinesterasa sanguínea no es una tarea nada fácil, empezando por el hecho de que lo primero que hay que definir desde un principio es qué tipo específico de actividad colinesterásica se va a medir y el medio particular en que se va a realizar el ensayo, es decir, si se va a determinar la actividad acetilcolinesterásica (ACE) en eritrocitos, las pseudocolinesterasas (CE) en suero o plasma, o las colinesterasas totales (ACE + CE) en sangre total.

En segundo lugar, deberá definirse también con prioridad el método particular de ensayo a emplear, pues no es lo mismo utilizar, por ejemplo, el método espectrofotométrico original de Ellman o alguna otra variante basada en el mismo principio, que otros, digamos, basados en el método electrométrico original de Michel^{14,19,25}.

En el campo de la Salud ocupacional, al igual que en cualquier otra de las disciplinas particulares adscritas a las ciencias médicas, el concepto de 'valores normales' para diferentes biomarcadores de salud, tiene una importancia trascendental, con características muy particulares cuando se trata de biomarcadores específicos de exposición ambiental/ocupacional a sustancias quimiotoxicas²⁶.

En principio, los marcadores biológicos de exposición a sustancias químicas deben ser, por definición, suficientemente específicos, es decir, que sus valores solo se muevan significativamente producto de la exposición ambiental al contaminante dado. Sin embargo, en la realidad diaria la inmensa mayoría de estos biomarcadores que se emplean hoy en día carecen, lamentablemente, de suficiente especificidad analítica, y su efectividad en el control y la prevención de posibles intoxicaciones ocupacionales por sustancias nocivas, será entonces proporcional a su grado de especificidad. No obstante, ante tal situación, lo importante no es precisamente desechar desde un principio un biomarcador biológico de exposición a tal o más cual sustancia química por el simple hecho de que también sus valores se puedan ver afectados por alguna otra causa o razón ajena a la exposición de referencia. Contrariamente, lo que debemos hacer es, desde un primer momento, determinar todas las posibles causas de variación del bioindicador bajo estudio y, a continuación, valorar el peso específico de cada factor de variación en la eficiencia (o ineficiencia) del biomarcador de exposición de que se trate. He aquí,

entonces, que debemos proceder a estimar los llamados 'valores normales'.

En el caso particular de la actividad de la ACE eritrocitaria, hoy conocemos que ésta decrece, además de ante la presencia de compuestos organofosforados, sulfatos y sulfonatos orgánicos, y carbamatos, en estados fisiopatológicos de leucemia y neoplasias, mientras que aumenta por policitemia, talasemia y otras discrasias hemáticas congénitas^{27,28}. En la actividad de la ACE eritrocitaria, el sexo no se reporta como factor significativo de variación. Además, las variaciones intraindividuales de este biomarcador en sujetos sanos oscilan entre un 3 y un 7 %, mientras que las interindividuales entre 10 y 18 %.

En cambio, en la actividad de las CE en suero o plasma los factores de variación son muchos más. Por ejemplo, en hombres los valores son un 10-15 % mayores que en mujeres, hay una correlación positiva de este indicador con el peso corporal y con el nivel de colesterol sérico, sus valores decrecen en las mujeres durante la menstruación y el embarazo, y son muchos más los estados fisiopatológicos que afectan los niveles de la actividad de las CE (los disminuyen las hepatopatías, uremia, cáncer, insuficiencia cardíaca y reacciones alérgicas, mientras que los incrementan el hipertiroidismo y otros estados de ritmo metabólico. Adicionalmente, las variaciones interindividuales de este biomarcador en personas sanas son de un 15-25 %, bastante mayores que las de la actividad de la ACE eritrocitaria^{27,28}.

Como podrá apreciarse en consecuencia, si el método que aplicamos en el monitoreo biológico de la exposición a agentes anticolinesterásicos es el de determinación de las colinesterasas totales (ACE + CE) en sangre total, entonces tendremos que tener en cuenta, al tratar de establecer 'valores normales' en la población supuestamente sana y no expuesta a inhibidores de la colinesterasa, toda una gama relativamente grande de otras posibles causas de variación ajenas a la exposición propia al agente químico ambiental. Hay que tomar en cuenta, además, si la persona en estudio está tomando determinados tipos de medicamentos que pudieran alterar sus niveles de actividad colinesterásica, pues se conoce que muchos de ellos pueden afectar los valores de este indicador sanguíneo.

CONCLUSIONES

Indiscutiblemente, hoy por hoy, la determinación de la actividad colinesterásica es el biomarcador de elección ante la exposición ambiental a agentes inhibidores de la colinesterasa tales como los alquilfosfatos, los sulfatos y sulfonatos orgánicos, y los carbamatos. Sin embargo, la determinación más susceptible a la exposición, la más precisa y la más específica, es, sin dudas, la de la actividad de la ACE en eritrocitos, aunque por razones prácticas –tomando en consideración, por ejem-

plo, elementos tales como sencillez, rapidez y economía se pueda preferir en ocasiones la de determinación de la de ACE + CE en sangre total. Por otra parte, es recomendable en cualquiera de los dos casos anteriores, el método de Ellman, dada su confiabilidad manifiesta histórica e internacionalmente. También en ambos casos, siempre que sea posible en la práctica, los valores de referencia a utilizar en la valoración de la exposición, deberán ser los valores individuales de base de cada trabajador (previos a toda posible exposición). De no ser factible, entonces se deberá proceder a estimar los 'valores normales' en una muestra lo más representativa posible de la población sana del territorio en cuestión y sin exposición conocida a los agentes químicos de referencia, precisando muy cuidadosamente lo que se va a considerar como 'sujeto sano' en esa estimación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Organización Internacional del Trabajo. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo. Ginebra: OIT; 1998. p. 27.20-27.22.
2. Acetylcholinesterase inhibitors. En: Greim H, Lehnert G, eds. Biological exposure values for occupational toxicants and carcinogens. V. 2. Weinheim: VCH Verlagsgesellschaft mbH; 1995.
3. World Health Organization. IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental health criteria 63. Organophosphorus insecticides: a general introduction. Geneva: WHO; 1986.
4. World Health Organization. Biological monitoring of chemical exposure in the workplace. Guidelines. V. 1. Geneva: WHO; 1996.
5. World Health Organization. IPCS International Programme on Chemical Safety. Environmental health criteria 6: Carbamate pesticides: a general introduction. Geneva: WHO; 1986.
6. George PM, Abernethy MH. Improved Ellman procedure for erythrocyte cholinesterase. Clin Chem. 1983;29(2):365-8.
7. Ellman GL, Courtney KD, Andres V, Featherstone RM. A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem Pharmacol. 1961;7:88-95.
8. Worek F, Mast U, Kiderlen D, Diepold C, Eyer P. Improved determination of acetylcholinesterase activity in human whole blood. Clin Chim Acta. 1999; 288(1-2):73-90.
9. Reiner E, Bosak A, Simeon-Rudolf V. Activity of cholinesterases in human whole blood measured with acetylthiocholine as substrate and ethopropazine as selective inhibitor of plasma butyrylcholinesterase. Arh Hig Rada Toksikol. 2004;55(1):1-4.
10. Bellino M, Ficarra M, Frontali N, Ghezzi F, Guarcini AM, Orecchio F, Serpietri LA, Traina ME. A quick and simple method for the routine determination of acetyl- and butyrylcholinesterase in blood. Br J Ind Med. 1978;35(2):161-7.
11. Bissbort SH, Vermaak WJ, Elias J, Bester MJ, Dhatt GS, Pum JK. Novel test and its automation for the determination of erythrocyte acetylcholinesterase and its application to organophosphate exposure. Clin Chim Acta. 2001;303(1-2):139-45.
12. Augustinsson KB, Eriksson H, Faijersson Y. A new approach to determining cholinesterase activities in samples of whole blood. Clin Chim Acta. 1978;16; 89(2):239-52.
13. Oliveira-Silva JJ, Alves SR, Inacio AF, Meyer A, Sarcinelli PN, Mattos RC, Ferreira MF, Cunha JC, Moreira JC. Cholinesterase activities determination in frozen blood samples: an improvement to the occupational monitoring in developing countries. Hum Exp Toxicol. 2000;19(3):173-7.
14. Barengi L, Ceriotti F, Luzzana M, Ripamonti M, Mosca A, Bonini PA. Measurement of erythrocyte acetylcholinesterase and plasma cholinesterase activity by a differential pH technique. Ann Clin Biochem. 1986;23(Pt 5):538-45.
15. Harlin KS, Ross PF. Enzymatic-spectrophotometric method for determination of cholinesterase activity in whole blood: collaborative study. J Assoc Off Anal Chem. 1990;73(4):616-9.
16. Lewis PJ, Lowing RK, Gompertz D. Automated discrete kinetic method for erythrocyte acetylcholinesterase and plasma cholinesterase. Clin Chem. 1981;27(6):926-9.
17. Reiner E, Sinko G, Skrinjaric-Spoljar M, Simeon-Rudolf V. Comparison of protocols for measuring activities of human blood cholinesterases by the Ellman method. Arh Hig Rada Toksikol. 2000;51(1): 13-8.
18. Da Silva ES, Midio AF, Garcia EG. A field method for the determination of whole blood cholinesterase. Med Lav. 1994;85(3):249-54.
19. Ahmed OAH, Mohammad FK. A simplified electrometric technique for rapid measurement of human blood cholinesterase activity. The Internet Journal of Toxicology. 2005;2(1) [Citado 11 May 2007] [11 p.]. Disponible en: <http://www.ispub.com/ostia/index.php?xmlFilePath=journals/ijto/vol2n1/che.xml>.
20. Technical Bulletin. Occupational and Environmental Health. Red blood cell-cholinesterase testing and quality assurance. Washington: Headquarters, Department of the Army; 2001.
21. Birman S. Determination of acetylcholinesterase activity by a chemoluminescence assay with the natural substrate. Biochem J. 1985;225:825-8.
22. Thetkathuek A, Keifer M, Fungladda W, Kaewkungwal J, Padungtod C, Wilson B, Mankhetkorn S. Spectrophotometric determination of plasma and red blood cell cholinesterase activity of 53 fruit

- farm workers pre- and postexposed chlorpyrifos for one fruit crop. *Chem Pharm Bull.* 2005;53(4):422-4.
23. Comité Estatal de Normalización. Sistema de Normas de Protección e Higiene del Trabajo. Determinación de colinesterasa en sangre total. Análisis químico. NRSP 115:1983. La Habana: CEN; 1983.
24. Serum cholinesterase activity. En: Keip TJ, Crable JV, eds. *Methods for biological monitoring. A manual for assessing human exposure to hazardous substances.* 1st ed. Washington: American Public Health Association; 1988.
25. Michel HO. An electrometric method for determination of red blood cell and plasma cholinesterase activity. *J Lab Clin Med* 1949;34:1564-1568.
26. Ibarra EJ. *Ambiente químico y salud en el trabajo.* La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2007.
27. Augustinsson KB. The normal variation of human blood cholinesterase activity. *Acta Physiol Scand.* 1955;35:40-52.
28. Gage JC. The significance of blood cholinesterase activity measurements. *Residue Rev.* 1967;18:159-67.
-

Recibido: 31 de octubre de 2011 **Aprobado:** 3 de agosto de 2012