

VIII CONGRESO INTERNACIONAL de INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN

CON ÉNFASIS EN: EDUCACIÓN - CIENCIAS DE LA SALUD
CIENCIAS ADMINISTRATIVAS - CIENCIAS SOCIALES

Consideraciones Pre analíticas en la
Determinación de la acetilcolinesterasa para la
identificación de intoxicaciones por plaguicidas
carbamatos y organofosforados



EXPOSITOR

VIII CONGRESO INTERNACIONAL INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN

CON ÉNFASIS EN: EDUCACIÓN - CIENCIAS DE LA SALUD
CIENCIAS ADMINISTRATIVAS - CIENCIAS SOCIALES



Títulos Académicos:

Bioquímica Farmacéutica

Magister en Gerencia en Salud para el Desarrollo Local

Mater en Ciencia y Tecnología Química

Especialidad Química Analítica.

Trayectoria Laboral:

Actualmente Docente en la Universidad Politécnica Salesiana

MSP- Coordinación Zonal 6, responsable de Salud Ambiental en

Manejo de Desechos infecciosos

Manejo adecuado de Plaguicidas

Vigilancia Sanitaria

INTRODUCCIÓN

- Que son los Plaguicidas
- Intoxicaciones por plaguicidas
- Realidad de la problemática en Ecuador.



MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PLAGUICIDAS INHIBIDORES DE LA COLINESTERASA (ORGANOFOSOFORADOS Y CARBAMATOS)

Reaccionan con la enzima de manera similar a la acetilcolina

(inhiben competitivamente la actividad colinesterásica.)

Organofosforados:

inhibidores irreversibles.

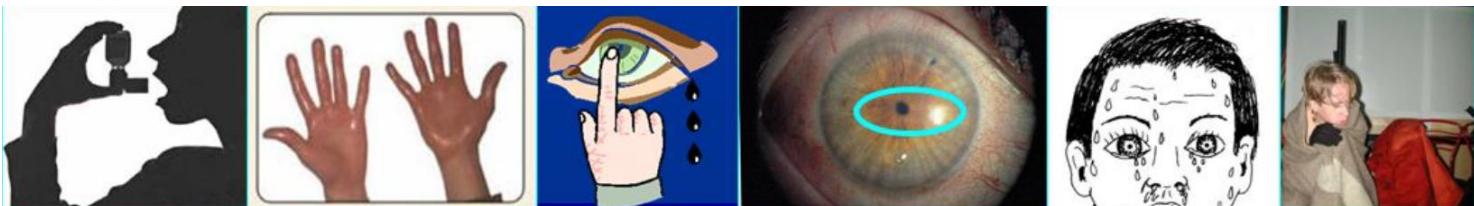
Carbamatos: inhibidores reversibles.

Al estar esta enzima inhibida, se acumula acetilcolina en el espacio sináptico alterando el funcionamiento normal del impulso nervioso.

La acumulación de acetilcolina produce síndrome colinérgico.

SÍNDROME COLINÉRGICO

- las uniones colinérgicas neuroefectoras (efectos muscarínicos como sudoración, lagrimeo, vómito, diarrea, cólico, etc.)
 - las uniones mioneurales del esqueleto y los ganglios autónomos (efectos nicotínicos como taquicardia, hipertensión, debilidad muscular, hiperglicemia, midriasis, etc.)
- en el sistema nervioso central: cefalea, psicosis, agitación, convulsiones, confusión mental, coma, etc.



CUADROS DE LA INTOXICACIÓN POR INHIBIDORES DE LAS COLINESTERASAS

Intoxicación aguda



Síndrome intermedio



Neuropatía retardada



Organofosforados Carbamatos

Organofosforados neurotóxicos

Organofosforados neurotóxicos

Inicio

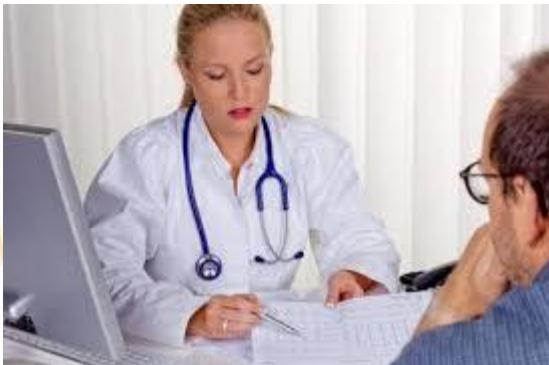
Rápido

24 a 96 horas
después de la crisis
colinérgica

1 a 3 semanas
después de la
exposición

OBJETIVO DE ESTUDIO

El objetivo del presente trabajo es realizar una búsqueda exhaustiva sobre las consideraciones pre analíticas en la determinación de acetilcolinesterasa en muestras de sangre de seres humanos, ya que estos factores influyen directamente en la actividad de la acetilcolinesterasa y que son importantes para emitir el resultado y evitar resultados erróneos en el diagnóstico médico.



METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo se basa en una recopilación bibliográfica exhaustiva sobre la determinación de la acetilcolinesterasa en sangre, y sobre todo los factores previos a considerar antes y durante el análisis de esta enzima, ya que esta puede estar inhibida o aumentada de acuerdo a varios factores, y si los mismos no son considerados al momento de emitir un resultado de laboratorio, o estos son pasados por alto en el momento de la consulta médica se pueden cometer errores en el diagnóstico y tratamiento, al igual que en el laboratorio, en el momento de determinar la enzima se debe tener claro que existe no solo un tipo, sino dos tipos de Colinesterasas y cada una tiene un objetivo diferente en el momento de su análisis y va a relacionarse incluso con el tipo de muestra que se requiere para su determinación



METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

Consideraciones Pre analíticas en la Determinación de la acetilcolinesterasa para la identificación de intoxicaciones por plaguicidas carbamatos y organofosforados

- Estructura química del tóxico y toxicodinámica
- Medicamentos o fármacos que influyen en la Inhibición de la actividad de la Acetilcolinesterasa
- Factores biológicos que influyen en la actividad de la acetilcolinesterasa

Genética

Exposición a otras sustancias químicas

Horario de toma de muestra

- Valores Basales del Individuo
- Estados Patológicos que influyen en la actividad de la Acetilcolinesterasa
- Variabilidad de la acción enzimática según la especie

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

FACTORES A CONSIDERAR EN LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Tipo de enzima a determinar: depende del objetivo del análisis; así en el caso de la determinación de colinesterasa verdadera o acetilcolinesterasa es el biomarcador de elección que se utiliza para los programas de vigilancia de la exposición crónica y en casos de intoxicación aguda, mientras que en el caso de la determinación de la pseudocolinesterasa tiene principal importancia en la determinación de intoxicaciones agudas.

Tipo de muestra: Dependiendo el tipo de técnica y el tipo de enzima a determinar la muestra puede variar, pudiendo utilizarse suero, plasma o sangre total. En algunas técnicas, para la determinación de la acetilcolinesterasa, las muestras deben ser diluidas antes de ser analizadas. Se debe prestar mucha atención a la técnica para incluir en la toma de muestra un anticoagulante específico como el EDTA o heparina, o en algunas técnicas para la determinación de la acetilcolinesterasa la muestra que se requiere es suero, para ello no se utiliza ningún tipo de anticoagulante

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

FACTORES A CONSIDERAR EN LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Diluyentes:

- Diluyentes hemolíticos: el agua destilada, detergente no iónico Tritón X-100, y la saponina, cuyo objetivo es provocar la hemólisis.
- Diluyentes no hemolíticos: solución salina isotónica, tampón fosfato 0,1 M y la albúmina sérica bovina.

Se recomiendan los diluyentes hemolizantes, ya que brindan una mayor precisión a la determinación de colinesterasa en sangre además de mostrar una actividad enzimática más alta.

Anticoagulantes: Si se va a realizar la determinación de la acetilcolinesterasa normalmente, la muestra a requerir es sangre entera, y en el caso de que la técnica indique utilizar otra muestra diferente, como por ejemplo plasma es recomendable la utilización de heparina o el EDTA como anticoagulantes de elección

Almacenamiento de la muestra: el almacenamiento de las muestras de sangre entera se debe realizar a -20°C por un tiempo máximo de 30 días para la determinación de la actividad de la pseudocolinesterasa y la suspensión de eritrocitos en 0.9% de NaCl a 4°C por 14 días máximo para la determinación de la acetilcolinesterasa.

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

FACTORES A CONSIDERAR EN LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Influencia de las Condiciones de Temperatura y pH en el Análisis de la Acetilcolinesterasa

En los mamíferos, de acuerdo a Witter, a 37° y 40° se alcanza la máxima actividad; pero la mayoría de autores de diferentes trabajos de investigación lo que sugieren es una temperatura de reacción de 37°C ya que cuando se trabaja a temperaturas inferiores, puede darse un declive de la actividad de la enzima. Por el contrario, a temperaturas superiores a 40 °C, pueden provocar la desnaturalización de la enzima.

A pesar de estas consideraciones, en el caso de la presencia de los carbamatos, en donde pueden actuar como inhibidor reversible a la temperatura de 37°C, se puede dar una reactivación de la enzima, sugiriendo realizar las determinaciones de la actividad de la enzima a 25°C. En el caso del pH se sugiere utilizar un valor de 7,5 ya que a pH superiores se produce una hidrólisis espontánea de los sustratos provocando un valor elevado del blanco.

Influencia del Sustrato en el análisis de la Acetilcolinesterasa

Dependiendo del tipo de enzima a determinar se realiza la selección del sustrato adecuado; así para la determinación de la Acetilcolinesterasa se utiliza el Ioduro de acetilcolina en cuyo caso la muestra a utilizar es sangre entera con EDTA o heparina y el otro sustrato a emplear son los ésteres de colina que se utilizan para la determinación de la Pseudocolinesterasa (Che) en cuyo caso la muestra a utilizar es suero.

METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

CONDICIÓN	AChE	BChE
<i>INDIVIDUOS SANOS</i>		
Diferencia de Género	NO	10 – 15% > en hombres
edad	Disminuye en menores 6 meses	
Masa corporal		Correlación directa
Nivel de colesterol		Correlación directa
Variación estacional	No	No
Menstruación		Disminuye
Embarazo		Disminuye
Raza		Disminuye en negros.
<i>INDIVIDUOS ENFERMOS</i>		
Actividad Reducida	Leucemias, neoplasias	Enfermedad hepática, cáncer, falla cardiaca, anemia, reacciones alérgicas, infecciones
Actividad Incrementada	Policitemia, Talasemia, otras discrasias sanguíneas congénitas	Hipertiroidismo.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

- De las revisiones bibliográficas en el presente trabajo, se concluye que la determinación de la acetilcolinesterasa para la identificación de intoxicaciones por plaguicidas es específica para organofosforados y carbamatos por su mecanismo de acción, y su efectividad va a depender de diferentes factores como los revisados en el presente documento y que son fundamentales y complementarios en el análisis del laboratorio para que tenga la validez respectiva.
- En la tabla 1 se resume como puede variar los valores de la BChE y de la AChE, ante los diferentes factores biológicos; concluyendo que la BChE es la que va a depender de forma directa de algunos factores biológicos para que la enzima aumente o disminuya independientemente de la exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos.
- La Acetilcolinesterasa es el biomarcador de elección para utilizar en casos de exposición crónica y la pseudocolinesterasa constituye una ayuda importante para el diagnóstico de las intoxicaciones agudas.

DISCUSIÓN Y RESULTADOS

- La determinación de la actividad de la colinesterasa eritrocitaria y la colinesterasa plasmática en sangre total y plasma respectivamente, son métodos rápidos y económicos para establecer la exposición a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa, sin embargo, el diagnóstico de intoxicaciones con exposiciones de bajo nivel, con inhibición de la actividad inferior al 20% y con ausencia de signos y síntomas clínicos puede ser difícil. Esto se debe a la marcada variación interindividual de la actividad de la enzima, así como a la variación intraindividual, por lo que se recomienda determinar en cada sector dónde se vaya a realizar un control y monitoreo de las intoxicaciones por plaguicidas, determinar valores basales toxicológicos de acetilcolinesterasa antes de que el personal que va a exponerse en la actividad de manipular estas sustancias químicas tenga un mejor control sobre su salud y evitar errores diagnósticos en cuanto a la actividad de acetilcolinesterasa.

VIII CONGRESO INTERNACIONAL de INVESTIGACIÓN E INNOVACIÓN

CON ÉNFASIS EN: EDUCACIÓN - CIENCIAS DE LA SALUD
CIENCIAS ADMINISTRATIVAS - CIENCIAS SOCIALES



INGRESA A
WWW.CIDECUADOR.COM

una vez finalizado el evento
podrás encontrar esta presentación
en su **respectiva página web**