

Rodriguez, Piuque M.¹; Vera, Berta^{1,2}; Muntaner, María C.^{2,3}; Losilla, Vanesa^{2,3}; Miglioranza Karina S.B.⁴; Ondarza, Paola M.⁴; Guiñazú, Natalia L.^{1,5}

¹Centro de Investigaciones en Toxicología Ambiental y Agrobiotecnología, CONICET, Universidad Nacional del Comahue. Buenos Aires 1400, Neuquén (8300), Argentina. +54-299-4490300 (int 673). ²Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional del Comahue. Los Arrayanes y Av. Toschi, Cipolletti (8324), Río Negro, Argentina. +54-299-4774707. ³Clínica San Lucas Maternidad. Gral. Manuel Belgrano 2256, Neuquén (8300), Argentina. +54-0299-4439225. ⁴Laboratorio de Ecotoxicología y Contaminación Ambiental, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, Universidad Nacional de Mar del Plata – CONICET. Déan Funes 3350, Mar del Plata (7600), Buenos Aires, Argentina. +54-223-4752426 (int 223). ⁵Facultad de Ciencias del Ambiente y la Salud, Universidad Nacional del Comahue. Buenos Aires 1400, Neuquén (8300), Argentina. +54-299-4490300 (int 713).
rodriguezpiuque@outlook.com

Introducción

En el Alto Valle de Río Negro y Neuquén para controlar los insectos plaga se utilizan numerosos plaguicidas, como los insecticidas organofosforados (OF). Estos se metabolizan al oxón responsable de la inhibición de esterasas. Estas enzimas muestran diferencias en su interacción con OF, al contrario de carboxilesterasa (CES), paraoxonasa (PON) no es inhibida por el oxón, mientras que ambas detoxifican OF. **Los objetivos fueron investigar cambios en la actividad y expresión de CES y PON en mujeres residentes del Alto Valle, y determinar la respuesta de células HTR-8SV/neo de trofoblasto humano a la exposición in vitro al OF clorpirifos (CP).**

Materiales y métodos

Se colectaron placentas de 61 mujeres embarazadas sanas, durante 2018-2020. Se realizó un estudio de corte transversal, se utilizaron criterios de inclusión/exclusión y se obtuvo el consentimiento informado y muestras de placenta, luego de la cesárea a término. Se completó un cuestionario con las características sociodemográficas de las madres y los parámetros antropométricos del neonato. Las muestras fueron clasificadas según lugar de residencia en rurales (R=28) y urbanas (U=33). En la placenta se analizó el nivel de CP (ng/g lípido) por GC-ECD. Se determinó la actividad de CES y PON y la expresión de las isoformas PON1, PON2, PON3 y CES1, CES2, CES3 por PCR cuantitativa. Además, en cultivo celular se investigó el efecto de la exposición in vitro a CP (0,01; 0,1; 1 y 10 µM) por 24 h, sobre la actividad y expresión de CES en la línea celular HTR-8SV/neo.

Resultados

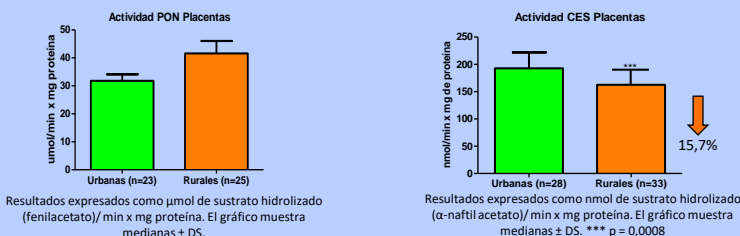
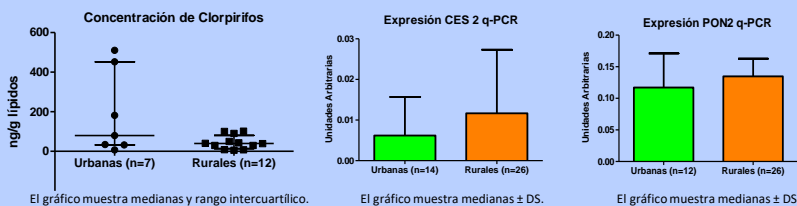
La concentración de CP (mediana ± DS; ng/g lip) en U (79,80 ± 210,6) vs R (39,72 ± 34,49) no mostró diferencias significativas (Mann Whitney; p=0,2539). Los parámetros sociodemográficos y antropométricos no arrojaron cambios significativos entre ambos grupos. Se observó una inhibición significativa de la actividad de CES (mediana ± DS; nmol/min.mg prot) en las muestras R (162,6 ± 28,79) respecto de U (192,9 ± 25,92) (M. W.; p=0,0008). La actividad de PON no mostró cambios significativos entre grupos (M. W.; p=0,2088). Se demostró la expresión del mensajero de PON2 y CES2 aunque no se observaron cambios en U vs R. La exposición de las células HTR-8SV/neo a CP disminuyó significativamente la actividad de CES respecto al control en un 20,56% a 1 µM y 19,42% a 10 µM (Kruskal-Wallis; p<0,05 y p<0,01, respectivamente). La misma tendencia se observó al analizar la expresión de CES2 a 0,1; 1 y 10 µM (ANOVA y prueba a posteriori de Dunnett; p<0,05, p<0,01 y p<0,001, respectivamente).

Resultados poblacionales

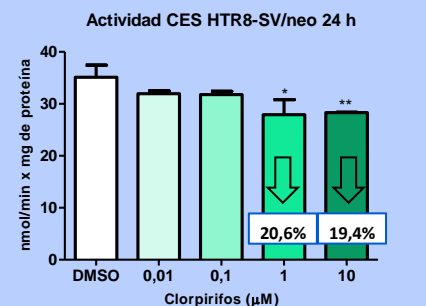
Características socio-demográficas y parámetros morfométricos

Variable	Urbano (n=28)	Rural (n=33)
Edad (años)	32,04 ± 5,61	31,29 ± 7,01
Paridad	0,92 ± 0,96	1,16 ± 1,07
Nivel educacional (%)		
Primario completo	0	23,33
Secundario incompleto	11,54	13,33
Secundario completo	42,31	26,67
Superior	46,15	36,67
Estado nutricional		
Normal (%)	77,8	74,2
Fumadora pasiva (%)	22,2	16,1
Consumo de agua de pozo (%)	0	6,5
Uso doméstico de plaguicidas (%)	14,8	16,1
Peso del neonato (g)	3451 ± 392,8	3538 ± 395,4
Talla (cm)	48,8 ± 1,70	49,5 ± 1,91
Perímetro cefálico (cm)	35,5 ± 1,15	35,5 ± 1,17
Peso de la placenta (g)	577,9 ± 129,4	619 ± 123,7
Edad gestacional (semanas)	38,3 ± 1,20	38,6 ± 0,96
Índice placentario	0,1679 ± 0,033	0,1751 ± 0,030

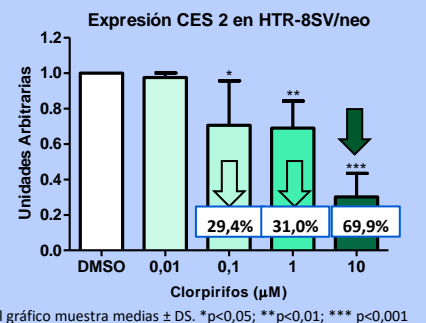
Resultados expresados como media ± DS o porcentaje según corresponda



Resultados in-vitro



Resultados expresados como nmol de sustrato hidrolizado (α-naftil acetato)/min x mg proteína. El gráfico muestra medianas ± DS. * p<0,05; ** p<0,01



El gráfico muestra medianas ± DS. * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001

Conclusión

En placenta, la menor actividad de CES no se relacionaría a una modulación de la expresión del transcrito de CES2. Mientras, en trofoblastos, CP disminuye la actividad de CES y modula el mensajero de CES2. Se determinó que las mujeres residentes urbanas y rurales están expuestas a CP durante el embarazo, aunque no se encontraron cambios significativos en las concentraciones entre grupos. La actividad de CES en la placenta podría asociarse a la presencia de oxones, responsables de la inhibición de esterasas, los cuales no fueron cuantificados en esta oportunidad.