

FERIA DE
**INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA**
FACULTAD DE MEDICINA DR. AURELIO MELEAN

EFFECTO DE LOS PLAGUICIDAS EN LA CALIDAD SEMINAL Y FRAGMENTACION DEL DNA ESPERMATICO EN AGRICULTORES DEL CHAPARE

*Carlos Eróstegui, Ángela del Callejo, Isabel García y Sandra Pacheco
Instituto de Investigaciones Biomédicas, UMSS*

Resumen
Los plaguicidas son productos químicos con toxicidad variable, que siempre tendrán efectos en la salud humana. La exposición por periodos prolongados a estas sustancias, podría producir efectos en las células reproductoras del varón. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de los plaguicidas en los parámetros seminales y fragmentación de DNA espermático de los pobladores de dos municipios del Chapare. Se realizó una encuesta a los agricultores en la que se consignaron datos sobre el uso de los plaguicidas en los cultivos, y se tomaron muestras de semen, en las cuales se determinaron los parámetros seminales. Los resultados muestran que en la zona del Chapare existe un uso indiscriminado de plaguicidas por parte de los agricultores, sin tener las debidas precauciones por los riesgos que implica el manejo de estas sustancias. Respecto a los parámetros seminales, se encontró que aun cuando el índice de exposición a los plaguicidas es alto, este no tiene correlación con las alteraciones.

Introducción
Es sabido desde hace tiempo que las sustancias utilizadas como plaguicidas causan efectos deletéreos sobre la salud, principalmente en el sistema neuromuscular, pero también en otros sistemas y órganos. Sin embargo hay poca información sobre los efectos que tienen estas sustancias sobre el sistema reproductor, particularmente con la exposición crónica. Si bien se sabe que algunos como el dibromocloropropano producen impotencia y esterilidad 1, 2, no se tiene información sobre el efecto que los otros plaguicidas causen a este sistema3. Recientemente se ha advertido que el uso prolongado de los plaguicidas pueden afectar la fertilidad masculina mediante la interferencia con los procesos reproductivos a nivel celular y molecular causando esterilidad e impotencia afectando principalmente a los espermatozoides4, 5. El análisis provee información de la calidad del semen, pero no identifica defectos en la arquitectura de la cromatina espermática4,7. La integridad del DNA espermático es esencial para la transmisión de la información genética durante la reproducción, y a la vez, para mantener la buena salud en futuras generaciones5. Las anomalías de la cromatina o el daño de éste podrían explicar algunos casos de infertilidad de la pareja8, 9. La evaluación de la integridad del ADN en el espermatozoide, además del estudio de los parámetros seminales, podría aportar una información adicional acerca de la calidad del espermatozoide10, 11. Existen datos contradictorios respecto al efecto de los pesticidas y un aumento de la fragmentación del DNA. Algunos estudios reportan incremento del daño del DNA por acción de los pesticidas12, mientras otros solo muestran una variación en la compactación de la cromatina espermática 13. En Bolivia el uso de plaguicidas es indiscriminado y sin asesoría técnica o muy poca en el ámbito rural, encontrándose en la actualidad en el territorio boliviano cerca de 500 plaguicidas obsoletos de todos los tipos2. La poblaciones con mayor riesgo son: las comunidades rurales que viven cerca de donde se hacen aplicaciones aéreas o terrestres, los familiares de trabajadores agrícolas, especialmente niños y mujeres embarazadas y las comunidades urbanas y rurales donde se hacen aplicaciones domésticas. El trópico de Cochabamba es una región con mucha actividad agrícola, en la que se utiliza gran cantidad y variedad de plaguicidas, sin el conocimiento ni información necesaria para su uso, sin protección personal, etc., por lo que los agricultores y sus familias están expuestos crónicamente a estos químicos. La vigilancia epidemiológica del uso de los plaguicidas es muy débil en Bolivia en general y particularmente en esta región por lo que no se cuentan con datos epidemiológicos objetivos sobre las intoxicaciones agudas, y menos sobre la exposición crónica. Por reportes orales y observaciones empíricas, se sabe que la incidencia de la esterilidad es importante, pero no se tienen estudios, sin embargo, es posible pensar que este incremento de la esterilidad sea debida a la esterilidad masculina que pudiera estar en relación con la exposición a plaguicidas, ya que el uso de éstos se ha incrementado en los últimos años. Es por esta razón que se quiere determinar si los plaguicidas utilizados en esta zona afectan específicamente, a nivel seminal y a nivel del DNA espermático.

Materiales y Métodos
El presente proyecto es un estudio exploratorio, que se realizó en agricultores varones de dos poblaciones del Chapare. El estudio incluyó a 80 varones entre 18 y 44 años expuestos a plaguicidas por más de 1 año, de estos, solo 37 fueron incluidos y seleccionados en forma no probabilística. Se excluyeron varones con azoospermia y/o necrozoospermia severa en la muestra seminal, con historia previa de enfermedades de transmisión sexual, trauma testicular, orquitis, infección urinaria, uso de hormonas o exposición a gonadotoxinas antes de ser expuestos a plaguicidas o con enfermedades sistémicas o desordenes neuropsiquiátricos con posible incidencia en la reproducción. Previa información general, se solicitó a cada paciente la firma de un acta de consentimiento informado. La encuesta se realizó a cada participante mediante cuestionario dirigido por el investigador. A cada uno se le pidió firmara el consentimiento informado. Para la toma de muestra se les provió de un recipiente para recolección del semen, previa explicación, y explicación, Las muestras fueron procesadas y analizadas en el laboratorio con los criterios de la OMS 2010 para Análisis seminal, para lo cual se toma en cuenta el número/mL (concentración), motilidad, vitalidad y morfología de los espermatozoides presentes en el eyaculado. La morfología se determinó mediante el Criterio Estricto de Kruger con la tinción de Panóptico Rápido. La determinación de la fragmentación del ADN espermático, se realizó mediante el Test SCD (Sperm Chromatin Dispersion).

Resultados
Se realizaron encuestas a agricultores en las poblaciones de Villa 14 de Septiembre y Villa Bolívar, que mostró que los agricultores utilizan muchos tipos de plaguicidas, herbicidas, insecticidas y fungicidas, a veces solo uno o usando mezclas preparadas comercialmente (estandarizadas) o mezclas preparadas empíricamente por ellos, sin considerar el nivel tóxico de los productos (expresado por el color de la etiqueta: en orden de toxicidad rojo, amarillo, azul y verde). Los más utilizados son los Bipiridilos tóxicos; Glifosatos; y productos combinados de fábrica como Caporal y Extermin. (Ver tabla 1).

Tabla 1. Toxicidad de los plaguicidas

CATEGORÍA DE TOXICIDAD	BANDAS TOXICOLÓGICAS	FORMULACIÓN LÍQUIDA		FORMULACIÓN SÓLIDA	
		DL50 (24 horas) AGUDA		DL50 (24 horas) AGUDA	
		ORAL	DERMAL	ORAL	DERMAL
I A	EXTREMADAMENTE TOXICO	< 20	< 40	< 5	< 10
I B	ALTAMENTE TOXICO	20-200	40-400	5-50	10-100
II	MODERADAMENTE TOXICO	200-2000	400-4000	50-500	100-1000
III	LIGERAMENTE TOXICO	2000-3000	> 4000	500-2000	> 1000
IV	PROBABLEMENTE SIN RIESGO	> 3000	-	> 2000	-

*El color de la etiqueta muestra la toxicidad del producto, como se indica en el siguiente cuadro:

TABLA 3. Uso de protección

IMPLEMENTOS DE PROTECCIÓN	PREPARACIÓN		FUMIGACIÓN	
	Nº	%	Nº	%
Guantes	6	9.5	3	4.8
Botas	19	30.2	29	46
Pañoleta	4	6.3	5	7.9
Pantalón largo	2	3.2	2	3.2
Mascara	15	23.8	14	22.2
Gafas	1	1.6	4	6.3
Traje de protección (Overol)	2	3.2	3	4.8
Mangas largas	12	19	16	25.4
Sombrero	1	1.6	2	3.2
Sin protección	31	49.2	22	34.9

Protección
Se midió el nivel de protección de los agricultores ante la toxicidad de los plaguicidas tomando en cuenta qué medida de protección utilizaban y el número de medidas de protección, tanto en la preparación como en la fumigación. Se encontró que para ambas situaciones la protección es mínima (tablas 2 y 3), y que un alto porcentaje de los agricultores no utilizaban ninguna protección para la preparación (49,2%) ni la fumigación (34,9%).

Dosis recomendada
En cuanto al uso de las dosis recomendadas, de acuerdo a las instrucciones del fabricante de cada plaguicidas, solo el 50.8 % (n=63) de los agricultores utilizan las dosis recomendadas. Intoxicación El 96.8 % (n=48) de los agricultores indican haber tenido uno o más de los síntomas de intoxicación, generalmente al finalizar la faena de fumigación (Tabla 4). Los Carbamatos (41.7 %) y Caporal (29.2%), son los plaguicidas que les producen mayormente los síntomas de intoxicación.

TABLA 3. COMBINACION DE PROTECCION

PROTECCIÓN (COMBINADA)	PREPARACIÓN		FUMIGACIÓN	
	Nº	%	Nº	%
Sin protección	31	49.2	22	34.9
Con una protección	15	23.8	21	33.3
Con dos protección	10	15.9	9	14.3
Con tres protección	2	3.2	5	7.9
Con cuatro protección	3	4.8	6	9.5
Con cinco protección	2	3.2	0	0

TABLA 4. SINTOMAS DESPUES DE FUMIGAR

SÍNTOMAS	N= 63	%
Dolor de Cabeza	53	84.1
Irritación de la Piel	15	23.8
Mareo	35	55.6
Irritación Respiratoria	23	36.5
Irritación Digestiva	23	36.5
Visión Borrosa	19	30.2
Vómito	9	14.3
Tos	1	1.6
Ninguno	2	3.2

Índice de Exposición
El índice de exposición se calculó en base a 4 parámetros: frecuencia de fumigación, tiempo de fumigación, dosis utilizada y protección durante la fumigación. El índice tiene un rango de 0 a 1, siendo 0 la exposición mínima, y 1 la exposición máxima. Establecimos arbitrariamente una escala para la frecuencia de fumigación es siendo 1 la fumigación diaria, 0.3 la fumigación semanal y 0.1 la fumigación mensual. Para el tiempo de fumigación establecimos 0.1 cuando el tiempo es 2 a 3 horas, 0.3 si es 5 horas o 0.6 10 horas y 1 más de 10 horas. La dosis utilizada se clasificó en recomendada o mayor a ésta, siendo 0.3 la recomendada y 0.7 si es mayor. El cuarto parámetro fue la protección durante la fumigación, y esta fue medida con una escala de 1 a 10, donde 10 es la máxima protección y 1 la mínima. Para la ecuación del índice de exposición, esta última variable se la invirtió, ya que la máxima protección implica menor exposición. La ecuación final de índice de exposición fue la suma de cada uno de los parámetros multiplicado por un coeficiente de ponderación 0.15(a)+0.25 (b)+0.2(c)+0.4 (d), donde (a) es la frecuencia de fumigación, (b) el tiempo de exposición, (c) la dosis y (d) la protección. El resultado de esta ecuación en la población estudiada es en 0.59 sobre 1, es decir el índice de exposición de las dos poblaciones es muy alto.

Análisis Seminal
Los parámetros seminales, se determinaron mediante espermograma realizado de acuerdo a los criterios de la OMS (2010). Los resultados nos muestran 56,8% de parámetros por encima de los límites de referencia, 40,5% con alteración de por lo menos un parámetro seminal y 2,7 % con azoospermia. La frecuencia de alteración de los parámetros seminales encontrada en la población estudiada respecto a los parámetros de la OMS es como sigue: 27 % tiene volumen menor, 18 % tiene concentración espermática menor, 21,7 % con conteo total espermatozoides bajo, 10,8 % con motilidad progresiva disminuida, 18,9 % con motilidad disminuida, 18,9 % con morfología normal (Tabla 5) y 19,5 % con fragmentación del DNA (Tabla 6). (Gráficas 1 y 2).

TABLA 4. Características de la calidad seminal

	Mínimo	Máximo	Media	Dev. típ.
Volumen (ml)	,5	4,8	2,3	1,1
pH	7,0	9,0	7,5	0,4
Concentración espermática/ml x 106	0,0	176	67,3	52,8
Nº Total esp x 106	0,0	666	167,4	169,8
T.E.M.	0,0	460	114,7	119,0
Motilidad Progresiva	0,0	90	60,5	20,0
Vitalidad	0,0	93	69,3	19,8
Edad	19,0	45	31,2	7,0
Morfología Normal	0,0	19	8,9	4,6
Tiempo/años	3,0	35	15,1	8,2

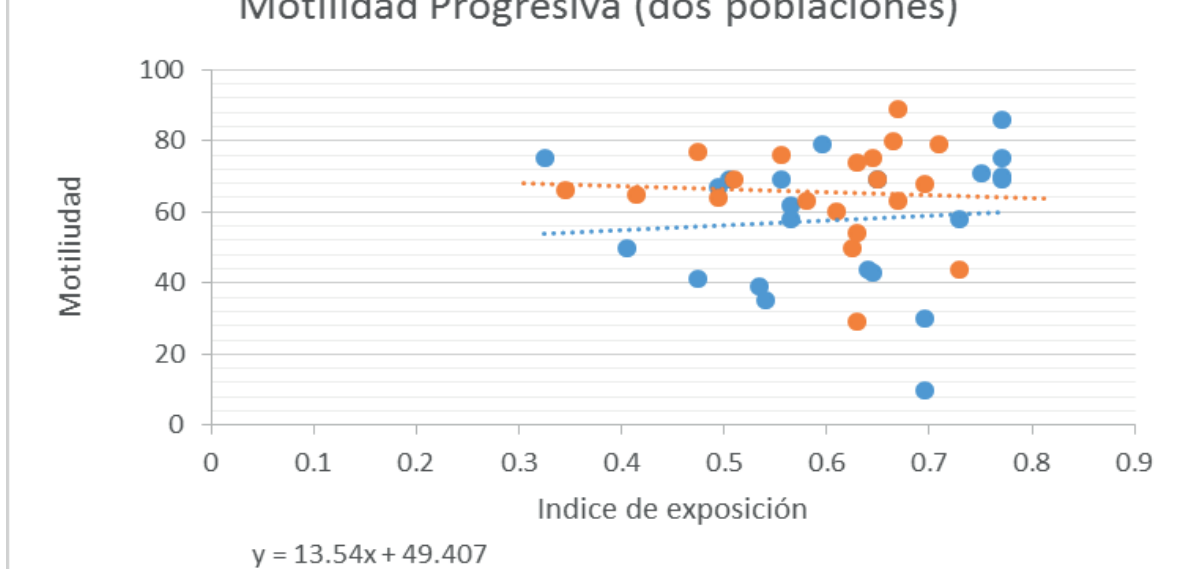
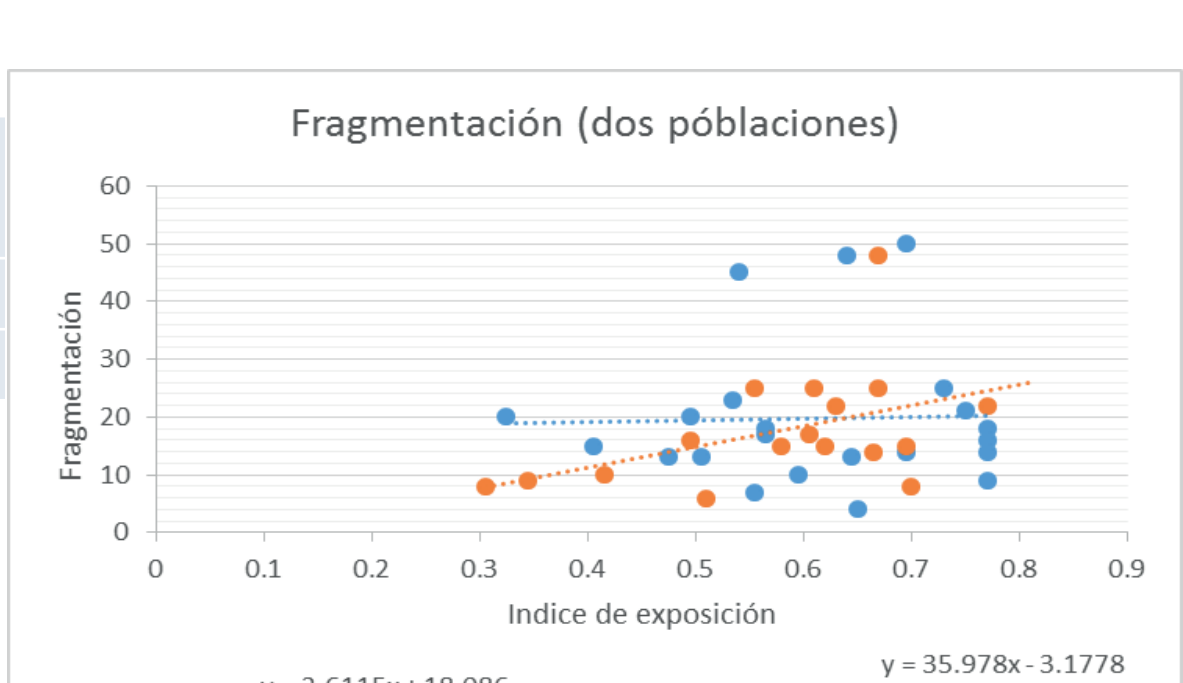


TABLA 5. Ffragmentación de DNA espermático

	Mínimo	Máximo	Media	Dev. típ.
Espermatozoides fragmentados	0,0	55	19,5	13,4
Espermatozoides Normal	0,0	95	77,2	18,5



Discusión y conclusiones

Se ha constatado que los agricultores utilizan indiscriminadamente los plaguicidas, y sin el cuidado suficiente y menos el recomendado, lo cual posiblemente tiene su impacto en el medio ambiente. La valoración de la salud propia parece ser baja, dado que los agricultores se exponen directamente durante la preparación y especialmente durante la fumigación a los tóxicos que contienen los plaguicidas, ya que no utilizan protección ni otros atuendos de protección, y realizan la fumigación por tiempo prolongado y en algunos casos con alta frecuencia. El índice de exposición calculado está en base a la probabilidad de absorción de tóxicos hacia el cuerpo, es por ejemplo más probable que se introduzca el tóxico por vía respiratoria que por la piel, de manera que la no utilización de protección en la respiración es de mayor riesgo que la de no utilizar protección en las manos. De igual manera, el tiempo de exposición es muy importante y expresa la probabilidad de que ingrese el tóxico. Los otros parámetros fueron calculados similarmente. El resultado de este análisis indica que los agricultores tienen una exposición muy alta a los plaguicidas. Por otra parte, el uso de plaguicidas, aún en exceso, no altera significativamente los parámetros seminales. Una toxicológica explicación es que el proceso de formación y multiplicación de los espermatozoides es corto, insuficiente para que la acumulación de algún tóxico afecte, pues los que estuvieron afectados serían desechados espontáneamente. Es posible que la intoxicación aguda con plaguicidas afecte, pero en este trabajo no se analizó esta situación.

Agradecimientos Agradecemos a ASDI por el financiamiento del proyecto.

Referencias Bibliográficas

Cerventem Morant Rafael. Plaguicidas en Bolivia: sus implicaciones en la salud, agricultura y medio ambiente Revista REDESMA, 2010. http://www-cebem.org/cmsfiles/articulos/REDESMA_09_art02.pdf. Consultado julio 2014
 PLAGBOL. Manual de diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas por plaguicidas. Fundación Cagol, La Paz, 2008.
 Gutiérrez M. (2008). Guías para el manejo de urgencias toxicológicas. Ministerio de la protección social. Bogotá, d. C., Colombia.
 Perry M. (2008). Effects of environmental and occupational pesticide exposure on human sperm: a systematic review. Human Reproduction Update, Vol.14, No.3 pp. 233-242.
 Agarwal A and Said T. (2003). Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. Human Reproduction Update, Vol.9, No.4 pp. 331-345.
 Anway MD, Cupp AS and Uzumcu M. (2005). Epigenetic Transgenerational Actions of Endocrine Disruptors and Male Fertility. www.sciencemag.org Science VOL 308 3 June.
 Gutiérrez G R. (2007). Daño al ADN espermático: aspectos clínicos y biológicos. Revista Cubana de Endocrinología, 18. (2).
 Evenson DP, Jost LK, Marshall D, Zinaman MJ, Clegg E, Purvis K, Angelis Pand Claussen P. 1999. Utility of the sperm chromatin structure assay as a diagnostic and prognostic tool in the human fertility clinic. Human Reproduction, 14, 4: 1039-1049.
 Cortés-Gutiérrez El, Dávila-Rodríguez MI, López-Fernández C, Fernández JL and Gosálvez J. (2007) Evaluación del daño en el DNA espermático. Acta Urológica Española. 31(2):120-131.
 Gutiérrez G R. (2007). Daño al ADN espermático: aspectos clínicos y biológicos. Revista Cubana de Endocrinología, 18. (2).
 Shamsi MB, Kumar R & Dada R. (2008). Evaluation of nuclear DNA damage in human spermatozoa in men opting for assisted reproduction. Indian J Med Res 127, 115-123.
 da Silva J, Moraes C, Heuser V, Andrade V, Silva F, Kvitko K, Emmel V, Rohr V, Bordin D, Andrezza A, Salvador M, Joao A. Henriques P and Erdtmann B. (2008). Evaluation of genetic damage in a Brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. Mutagenesis vol. 23 no. 5 pp. 415-422.
 de Jager C, Aneck-Hahn N.H, Bornman M.S, Farias P, Leter G, Eleuteri P, Rescia M, and Spano M. (2009). Nuclear chromatin integrity in DDExposed young men living in a malaria area in the Limpopo Province, South Africa. Human Reproduction, Vol.24, No.10 pp. 2429-2438.