

Universidad Nacional del Comahue
Centro Regional Universitario Bariloche

Modulación de la transcripción de esterasas en la placenta y el trofoblasto inducida por la
exposición a plaguicidas

Autor: Lic. Rodriguez Piuque Miguel

Directora: Dra. Natalia Guiñazú

Co-directora: Dra. Paola Ondarza

Año de presentación: 2025

Resumen.

La exposición prenatal a plaguicidas es una problemática de gran relevancia a nivel mundial. En el Alto Valle de Río Negro y Neuquén históricamente se han utilizado diversas familias de plaguicidas, destacándose los plaguicidas organoclorados (POCs), actualmente prohibidos, y los plaguicidas organofosforados (OFs), de los cuales el insecticida clorpirifos (CP) fue el más utilizado hasta el año 2023. Una vez que la persona embarazada se expone a los plaguicidas, estos alcanzan la placenta pudiendo afectar tanto la salud materna como la del feto. En este estudio se analizó la presencia de plaguicidas en placentas de residentes del Alto Valle de Río Negro y Neuquén y se evaluó su impacto en la expresión y actividad de las enzimas esterasas, particularmente las carboxilesterasas (CES) y paraoxonasas (PON).

Para esto, entre los años 2018 y 2021 se recolectaron 90 placentas de personas sanas, residentes en zonas rurales del Alto Valle (n=50) y en la ciudad de Neuquén (n=40). Se registraron los parámetros morfométricos de los neonatos y las placentas y se analizaron las concentraciones de plaguicidas prohibidos y de uso actual mediante cromatografía gaseosa con detector de captura de electrones y cromatografía gaseosa acoplada a espectrómetro de masas. Además, se analizaron muestras de frutas, muestras de aire y agua de consumo de red y de pozo. Complementariamente, se realizó la exposición in vitro a CP (0,01-100 μ M), utilizando la línea celular de trofoblasto HTR-8/SVneo. La actividad de CES se evaluó en ambos modelos utilizando los sustratos α -naftil acetato (α -NA) y acetato de 4-metilumbeliferilo (4-MUBA). También, en placenta se realizó la caracterización de las isoformas de CES mediante la electroforesis en geles no desnaturizantes de poliacrilamida. La actividad arilesterasa y lactonasa de las PON, se determinó tanto en placentas como en la línea celular y se determinaron los niveles de expresión de los genes CES1, CES2, CES3, PON1, PON2 y PON3 mediante qPCR. En muestras de placenta, se determinó la expresión proteica de CES y PON mediante el ensayo de Western Blot, se analizaron las asociaciones entre las variables

estudiadas y se realizó un Análisis Factorial Múltiple (AFM) para caracterizar la relación entre las variables cuantitativas y categóricas.

La concentración media de plaguicidas totales en placentas fue de $534,77 \pm 1.007,14$ ng/g lípidos (n=85), de la cual el 93% correspondió a Σ DDTs, CP y Σ endosulfanes. Aunque no se observaron diferencias significativas en las características sociodemográficas ni en los parámetros de los neonatos y las placentas, entre los grupos, los niveles de plaguicidas totales del grupo rural fueron 285 % más altos que los del grupo urbano ($p=0,0003$ Mann Whitney). También los niveles de CP en las muestras rurales fueron 121,56 % más altos respecto a las urbanas ($p=0,032$ M.W.). Las muestras rurales tuvieron un mayor porcentaje de detección en comparación con las urbanas ($p=0,026$ prueba de Fisher), siendo los plaguicidas más frecuentemente detectados el clorpirifos, el heptacloro y el DDT. Tanto en las muestras de fruta como de aire, no se registró ninguno de los plaguicidas analizados, mientras que en las muestras de agua de red (n=2) y agua de pozo (n=2) solo se detectó CP en concentraciones inferiores a los valores de referencia. A nivel enzimático, la actividad CES determinada con el sustrato α -NA, fue un 18 % menor en las placentas rurales ($p=0,0009$ Mann Whitney), mientras que no se observaron diferencias significativas utilizando el sustrato 4-MUBA ($p=0,914$ M.W.). En cuanto a la actividad de las PON, se observó un aumento del 50 % en la actividad arilesterasa y 38 % de la actividad lactonasa en el grupo rural ($p=0,048$ y $p=0,030$ M. W. respectivamente). En las placentas analizadas se observó la expresión de transcritos de CES1, CES2, PON2 y PON3, aunque esta última no pudo ser cuantificada debido a su baja expresión. La expresión de los transcritos de CES1, CES2 y PON2 fue 5, 6 y 3 veces mayor en las muestras rurales, respectivamente ($p=0,0303$; $p=0,0045$ y $p=0,0077$ M.W. respectivamente). De igual manera, la expresión proteica de CES 1, fue un 72 % mayor ($p=0,343$ M.W.) y la de PON2 un 75 % mayor ($p=0,030$ prueba t) en las muestras rurales respecto a las. Por su parte, los ensayos in vitro en células de trofoblasto HTR-8/SVneo, mostraron una disminución de la actividad CES, determinada con α -NA, del 26 % y 41 % a la mayor concentración en la exposición a 24 y 48 h, respectivamente ($p \leq 0,05$ prueba de Dunnett), mientras que no se observaron cambios en la actividad CES determinada con el sustrato 4-MUBA. La actividad arilesterasa de las PON, se vio aumentada en un 29 % y 42 % ($p \leq 0,05$ prueba de Dunnett), en las células expuestas a 100 μ M de CP durante 24 y 48 h respectivamente, mientras que la actividad lactonasa de las PON no pudo ser determinada. En la línea celular no se encontraron diferencias significativas en la expresión de los transcritos de CES2 y PON2 por qPCR, a ninguna de las concentraciones, tanto a 24 como 48 h de exposición.

Este estudio confirma la presencia de plaguicidas en la placenta de mujeres del Alto Valle de Río Negro y Neuquén. Si bien se determinaron mayores concentraciones en las muestras de residentes rurales, la presencia de plaguicidas en las muestras urbanas evidencia la existencia de múltiples vías de exposición. Dicha exposición produjo alteraciones en la actividad y expresión de las esterasas CES y PON en las placentas, de manera similar a lo observado en el estudio in vitro. Estos hallazgos resaltan la importancia del monitoreo ambiental y de la implementación de estrategias de prevención para reducir la exposición a plaguicidas durante el embarazo, con el objetivo de minimizar los riesgos asociados para la madre y el feto.