UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA

VARIABILIDAD INTRAINDIVIDUAL E INTERINDIVIDUAL DE LA COLINESTERASA PLASMÁTICA EN INDIVIDUOS SANOS DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS ULA EN EL PERIODO 2015-2016

www.bdigital.ula.ve

Trabajo de Grado presentado como requisito parcial para optar al Título de Licenciado en Bioanálisis

Autoras:
Br. Díaz Dariana
C.I 19.643.815
Br. Mejías Diana
C.I 18.350.338
Tutor:
MSc. Lester Rodríguez

Mérida, Junio de 2017

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE TOXICOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA

VARIABILIDAD INTRAINDIVIDUAL E INTERINDIVIDUAL DE LA COLINESTERASA PLASMÁTICA EN INDIVIDUOS SANOS DE LA FACULTAD DE FARMACIAY BIOANÁLISIS ULA EN EL PERIODO 2015-2016

www.bdigital.ula.ve

Autoras:
Br. Díaz Dariana
C.I.: V- 19.643.815
Br. Mejías Diana
C.I.: V.- 18.350.338
TUTOR: Prof. Rodríguez Lester

MÉRIDA, JUNIO 2017

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

AGRADECIMIENTO

A Dios, mi Padre Celestial por darme la vida, porque a pesar de los momentos difíciles me dió la fortaleza para seguir adelante persiguiendo mi sueño profesional.

A mis padres **Doris Zambrano** y **William Díaz**. A ti Mamá por tu ejemplo de constante lucha y perseverancia, inspirándome siempre a dar lo mejor de mí, por tu amor y entrega incondicional Gracias! A ti Papá por tu apoyo, consejos y amor incondicional. Los Amo.

A una persona muy especial que se convirtió en una verdadera amiga, hermana, mamá considerándola una bendición en mi camino Jenny Briceño (Mi Jenny) TE QUIERO.

A mi compañera de tesis y amiga Diana Mejías por el esfuerzo y dedicación compartida en esta investigación, por siempre estar ahí y por tu amistad incodicional Te Quiero Muchísimo Ami.

A nuestro tutor Prof. Léster Rodríguez por sus orientaciones, tolerancia y tiempo para el desarrollo de este estudio.

www.bdigital.ula.ve

A Carlos Márquez, quien además de ser un amigo muy especial, colaboró en los arreglos de este trabajo, Mi Carl !

A Manuel Rugeles por su gran apoyo en cada momento que fue necesario, para culminar con éxito el Trabajo de Grado.

A Jesús (HL) porque a pesar de la distancia siempre estuviste conmigo en este camino, dándome lo mejor de ti. Sin duda eres el mejor.

A la familia del Laboratorio de Toxicología UNITOXFAR, por abrirnos sus puertas y permitirnos realizar la parte experimental de esta tesis. Especialmente al Prof. Alexis Morales, Prof. José Gregorio Salazar.

A todas las personas que de una forma amable prestaron su colaboración como pacientes para realizar las mediciones necesarias y así alcanzar nuestro objetivo.

A nuestra alma mater la Ilustre Universidad de Los Andes.

A todos muchas gracias

Dariana S. Díaz Z

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

DEDICATORIA

Mía tu afecto y cariño son los detonantes de mi felicidad, de mi esfuerzo, de mis ganas de buscar lo mejor para ti. A pesar de tu corta edad me has enseñado a ver el lado dulce de la vida, fuiste mi mayor motivación para concluir con éxito esta investigación. Esto es por ti y para ti!

Mami, aquí el resultado de tu esfuerzo y de haberme formado como lo hiciste.

A mi abuela Juanita ejemplo de mujer virtuosa, la mejor!

Papá, Tia Dorelys este logro también es para uds. Y para mis hermanas adoradas Luisanita y Samanta. Marivi, William y Jesús Hermanitos, con esfuerzo y perseverancia todo se puede lograr, que les sirva de ejemplo para que siempre luchen por sus sueños.

A mi amiga de toda la vida, una hermana más, con la que crecí y compartí momentos inolvidables y que a pesar de estar lejos tanto tiempo aún somos las mismas, María Isabel.

A todos mis AMIGOS, que me brindaron su apoyo durante este tiempo especialmente aquellos que dejaron nuestra tierra en busca de mejores oportunidades: Milagros, Willian, Orozco, Jesús Daniel, Johan . Los extraño y los quiero.

Dariana S. Díaz Z

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

AGRADECIMIENTO

A Dios Supremo, por el permiso de la vida, por permitirme recibir cada día su sagrada planificación y comprender que todo sucede a su debido tiempo.

A mi madre, María Ligia, por apoyarme de todas las maneras posibles, por ser un ejemplo a seguir e inspirarme a seguir adelante a pesar de todos los contratiempos. Eres un hermoso ser humano. Te Amo.

A un ser de luz muy especial, que vino a marcar mi vida y la de mi familia con su amor y que ya partió de este mundo físico, mi por siempre amada abuela "Mami" que se, que desde el plano astral, junto a Papi, mis tíos Pedro, Jorge y Pablo celebran este triunfo conmigo.

A mi padre, Ramón, por tus sabios consejos, eres parte fundamental en mi vida, gracias por tu apoyo. Te Amo.

A mi familia, en especial a mis tíos, Josué, Faustino, Rosario, Roque, Luisa e Isabel, por creer en mi e impulsarme a cumplir esta anhelada meta. Los quiero infinitamente.

A mis hermanos, Alexander, Ana María y Klovis, por siempre estar presentes en mi vida, apoyándome moralmente y guiándome a culminar este camino académico. Este triunfo también es de ustedes. Los quiero mucho.

www.bdigital.ula.ve

A mis primos, que son como mis hermanos, Franklin, Pablito, Cesar, Josué, David y Angelo, por hacer gracia de todo lo que me pasa, se que de esto estarán muy orgullosos. ¡¡Al fin!!!

A mi compañera de tesis, Dariana, por este trabajo en equipo que juntas sacamos a flote, a pesar de todos los obstáculos que se nos presentaron día a día. ¡¡Lo logramos!! Gracias gran amiga. Te quiero.

A mi compañero de vida y amigo incondicional, Manuel, por tu inagotable amor y paciencia. Gracias por todos los días motivarme a seguir adelante hasta culminar este camino que juntos recorrimos con alegrías y tristezas.

A mis madrinas, Zoraida y Miroslava, que siempre me brindaron su confianza e incondicional apoyo.

A mis amigos, Engris, Jose David, Antonio, Daniel, Keyla, Rebeca, Juan Pablo, Rony, Carlos, Jose Daniel y Edgar. Esta experiencia fue mucho mejor con uds. Gracias por todas las risas, triunfos y lágrimas compartidas en los pasillos de la Facultad, son lo mejor que me ha regalado la vida universitaria. Los adoro.

A la Ilustre Universidad de los Andes, nuestra Alma Mater. Me siento orgullosa de pertenecer a esta casa de estudios. ¡¡Gracias!!

Diana Mejias

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

DEDICATORIA

A los niños de mi vida, Miguelangel, Dayana y Marialejandra, por inspirarme en cada momento a convertirme en un ejemplo para ustedes. Les dedico este triunfo, y espero que a lo largo de sus vidas también cumplan sus sueños. Cuenten Conmigo siempre.

A mis padres, María Ligia y Ramón, por que se que soñaban con que este día finalmente llegara. Les dedico esta inmensa alegría que me genera la culminación de este trabajo de grado y que se extiende al día que reciba mi Título de Licenciada en Bioanálisis.

www.bdigital.ula.ve

Diana Mejias

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ÍNDICE GENERAL

	pág
AGRADECIMIENTOS	**iii**
DEDICATORIAS	**v**
ÍNDICE GENERAL	**vi**
LISTA DE CUADROS	**ix**
LISTA DE TABLAS	**x**
LISTA DE GRÁFICOS	**xi**
RESUMEN	**xii**
INTRODUCCIÓN	**1**
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	
Planteamiento del Problema	**3**
Objetivos de la Investigación	
Objetivo General	**6**
Objetivos Específicos	**6**
Justificación de la Investigación	**6**
Alcances y Limitaciones de la Investigación	
Alcances	**7**
Limitaciones	**7**
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	
Trabajos Previos	**8**
Antecedentes Históricos	**9**
Bases Teóricas	**12**
Tipos de Colinesterasa	
Colinesterasa Verdadera o Acetilcolinesterasa	**12**
Pseudocolinesterasa o Colinesterasa Inespecífica	**13**
Inhibidores de la Colinesterasa (insecticidas)	**13**
Absorción, Metabolismo y Excreción de los Insecticidas	**14**
Mecanismo de Acción de los Insecticidas	**15**

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Manifestaciones Clínicas de la Exposición a Insecticidas **16**
Inhibidores de la Colinesterasa (Fármacos) **18**
Diagnóstico de la Actividad de la Colinesterasa **20**
Neurotransmisor **21**
Clasificación de los Neurotransmisores **21**
Transmisión Nerviosa de las Sinapsis Colinérgicas **22**
Acetilcolina **23**
Mecanismo de Acción de la Acetilcolina **24**
Definición Operacional de Términos
Variabilidad Intraindividual **24**
Variabilidad Interindividual **24**
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO
Tipo de Investigación **26**
Población y Muestra
Población **26**
Criterios de Inclusión y Exclusión
Criterios de Inclusión **27**
Criterios de Exclusión **27**
Muestra **28**
Técnica e Instrumento de Recolección de datos
Técnica **29**
Instrumento **29**
Validez del Instrumento **29**
Materiales y Métodos **29**
Materiales **30**
Equipos y Reactivos **30**
Técnicas de Procesamiento y Análisis de datos **30**
Obtención y Procesamiento de la Muestra **31**
Fundamento del Método **31**
Condiciones de Reacción **32**

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Sustancias Interferentes Conocidas **32**

Estabilidad e Instrucciones de Almacenamiento **32**

Método de Control de Calidad **32**

Limitaciones del Procedimiento **33**

Diseño de Análisis **33**

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados **34**

Discusión **49**

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACION

Conclusiones **51**

Recomendaciones **52**

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS **53**

ANEXOS **57**

A. Instrumento para la Recolección de la Información **58**

B. Consentimiento para Encuesta y Análisis Sanguíneo **60**

C. Constancias de Validación del Instrumento **61**

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

LISTA DE CUADROS

Cuadro		pág
1	Indicadores Bilógicos de Exposición y Efecto a Organofosforados y Carbamatos	15
2	Medicamentos para el Tratamiento de la Enfermedad de Alzheimer	19
3	Clasificación de los Neurotransmisores	22
4	Operacionalización del Evento de Estudio	25

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

LISTA DE TABLAS

Tabla		pág
1	1ra Pregunta del instrumento de recolección de la información	34
2	2da Pregunta del instrumento de recolección de la información	35
3	3ra Pregunta del instrumento de recolección de la información	36
4	4ta Pregunta del instrumento de recolección de la información	37
5	5ta Pregunta del instrumento de recolección de la información	38
6	6ta Pregunta del instrumento de recolección de la información	39
7	7ma Pregunta del instrumento de recolección de la información	40
8	8va Pregunta del instrumento de recolección de la información	41
9	9na Pregunta del instrumento de recolección de la información	42
10	10ma Pregunta del instrumento de recolección de la información	43
11	Características demográficas de los estudiantes	44
12	Valores de colinesterasa plasmática en individuos sanos	45
13	Comparación de colinesterasa plasmática en individuos sanos	46
14	Comparación del coeficiente de variación en colinesterasa plasmática en individuos sanos (Intrandividual)	48
15	Comparación de colinesterasa plasmática (U/L) en individuos sanos por sexo según patrón de la muestra.	49

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico		pág
1	1ra Pregunta del instrumento de recolección de la información	35
2	2da Pregunta del instrumento de recolección de la información	36
3	3ra Pregunta del instrumento de recolección de la información	37
4	4ta Pregunta del instrumento de recolección de la información	38
5	5ta Pregunta del instrumento de recolección de la información	39
6	6ta Pregunta del instrumento de recolección de la información	40
7	7ma Pregunta del instrumento de recolección de la información	41
8	8va Pregunta del instrumento de recolección de la información	42
9	9na Pregunta del instrumento de recolección de la información	43
10	10ma Pregunta del instrumento de recolección de la información	44
11	Comparación del coeficiente de variación en colinesterasa plasmática en individuos sanos (Interindividual).	47

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS

VARIABILIDAD INTRAINDIVIDUAL E INTERINDIVIDUAL DE LA COLINESTERASA PLASMÁTICA EN INDIVIDUOS SANOS DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS ULA EN EL PERIODO 2015-2016

Trabajo de Grado

Autoras:
Br. Díaz Dariana C.I 19.643.815
Br. Mejías Diana C.I 18.350.338
Tutor:
MSc Léster Rodríguez

RESUMEN

www.bdigital.ula.ve

El propósito fundamental del presente estudio fue determinar la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa plasmática en individuos sanos de la Facultad de Farmacia Bioanálisis U.L.A. en el periodo 2015-2016. La muestra quedó conformada por 20 estudiantes, que fueron seleccionados a través de una encuesta con preguntas dicotómicas. La validación del instrumento se hizo a través del juicio de expertos. A cada estudiante se le tomó cuatro (4) muestras de sangre, con un intervalo de 15 días cada una. Las muestras recolectadas fueron procesadas y analizadas en la Unidad de Toxicología y Farmacoterapéutica (UNITOXFAR C.A). Se empleó el método de Wiener® para derteminar colinesterasa en suero o plasma, basado en espectrofotometría, para realizar las mediciones de la enzima. La técnica estadística fue la comparación de medias a través de ANOVA, con un nivel de significancia de $p>0.05$. Los resultados arrojados muestran que existe una variabilidad intraindividual del 15,76%, mientras que según el coeficiente de variación se mostraron una fluctuaciones entre el 4,05 y 22,73 % siendo el promedio de 12.27%. En vista de las asociaciones encontradas, se afirma y comprueba que la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa se relaciona con lo descrito por otros autores.

Descriptores: variabilidad intraindividual, variabilidad interindividual, colinesterasa, individuos sanos.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

INTRODUCCIÓN

La colinesterasa plasmática (CP) o sérica también llamada pseudocolinesterasa, colinesterasa inespecífica ó butirilcolinesterasa, es una enzima sintetizada en el hígado y circulante en la sangre, juega un papel importante en el metabolismo de lípidos y lipoproteínas. Se presenta en alto nivel en el plasma, regulando la concentración de la colina en nuestro medio, también se encuentra en la mucosa intestinal, páncreas y bazo, donde participa en procesos de desintoxicación y se encuentra en bajas concentraciones en el sistema nervioso. Siendo su función principal la hidrólisis rápida de butirilcolina.

En primer lugar, dicha enzima es inhibida reversiblemente por insecticidas carbamatos e irreversiblemente por insecticidas organofosforados. Las personas expuestas presentan síntomas debido a sus efectos muscarínicos (náuseas, vómitos, hipersalivación, sudor, broncoconstricción); a sus efectos nicotínicos (taquicardia) y a sus efectos sobre el sistema nervioso central (dolor de cabeza).

www.bdigital.ula.ve

Según Ladrón (1995), los tipos de colinesterasa elementales para comprobar intoxicación son: la acetilcolinesterasa (AChE) y la butirilcolinesterasa (BuChE); la AChE es muy utilizada en casos de exposiciones e intoxicaciones crónicas, sin embargo, ambas son de utilidad en las intoxicaciones agudas. La AChE se encuentra en tejido nervioso y hematíes, mientras que la BuChE se encuentra en plasma, hígado, corazón y otros tejidos.

Es importante considerar, que cuando se sospecha de disminución de la actividad de la colinesterasa, puede no estar relacionada con el efecto inhibidor de un organofosforado, por lo tanto se debe determinar el por qué, siendo también el embarazo alguno de los factores responsables de tal irregularidad. También pueden disminuir sus valores ciertos fármacos, la atropina, la cafeína, la codeína, los estrógenos, el sulfato de morfina, la neostigmina, los anticonceptivos, la teofilina y la vitamina K.

La variabilidad total de los niveles de colinesterasa plasmática, en un grupo de individuos, tiene dos componentes básicos: la interindividual debida a las diferencias

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

entre los individuos, y la intraindividual, dentro de los individuos; esta última ha sido atribuida a una variación básica individual, el error experimental de las mediciones y a variaciones temporales e individuales de origen desconocido.

Este informe ha sido ordenado en 5 capítulos. El primero titulado El Problema, subtitulado de la siguiente manera: Planteamiento del Problema, Justificación de la investigación, Objetivos, Alcances y Limitaciones. El segundo, titulado: Marco Teórico, tiene varios subtítulos: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Bases Teóricas, Definición de Términos, Operacionalización de las Variables. El tercero, mencionado como Marco Metodológico, ordenado así: Tipo de Investigación, Población y Muestra, Técnica e Instrumento para la Recolección de Datos, Materiales y Métodos, Obtención y Procesamiento de la Muestra y Diseño de Análisis. El cuarto capítulo conformado por Resultados y Discusión. El quinto capítulo: Conclusiones y Recomendaciones.

Esta investigación pretende presentar la variación total de los niveles de CP, en un grupo de individuos sanos, realizando un análisis y oportuno diagnóstico de la enzima, por lo que se tomarán cuatro muestras de sangre por individuo en un intervalo de quince días cada una, en la Unidad de Toxicología y Farmacoterapéutica UNITOXFAR, con el objetivo de: Comparar la Variabilidad Intraindividual e Interindividual de la Colinesterasa Plasmática en Individuos Sanos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en el periodo 2015-2016.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

La Colinesterasa plasmática (CP) se encuentra presente principalmente en el hígado, plasma y sistema nervioso. Es sintetizada en el hígado en cantidades superiores a las necesarias. Así mismo puede presentarse en cantidades menores en diferentes situaciones patológicas. Los pacientes con déficit de CP son generalmente asintomáticos, y sólo tiene expresión clínica, mediante la aparición de apnea succinilcolínica, tras la administración de succinilcolina, por imposibilidad de metabolizar este fármaco. En algunos sujetos pequeñas disminuciones de la inactivación de la succinilcolina, producen un gran incremento del fármaco en la placa neuromuscular, del grado y duración del bloqueo. En esta investigación se hará una determinación de los valores de CP, y condiciones cotidianas variantes en cada individuo. Además de sus implicaciones clínicas y método de diagnóstico. (Fernández, Ramallo, Carmona y Carrasco 2011).

www.bdigital.ula.ve

Las colinesterasas son de dos tipos:

- Colinesterasa verdadera, eritrocitaria, específica o de tipo E: se encuentra localizada exclusivamente en las neuronas, en las sinapsis ganglionares de la estructura neuromuscular del organismo y en los eritrocitos.
- Pseudocolinesterasa, colinesterasa inespecífica, butirilcolinesterasa, o colinesterasa plasmática (sérica) o de tipo S: está presente en casi todos los tejidos

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

(principalmente en hígado) y en el plasma, pero en poca concentración en el sistema nervioso central y periférico.

Tanto la determinación de la actividad de la colinesterasa en el plasma y en los eritrocitos sirve como un biomarcador útil y sensible de la exposición a plaguicidas organofosforados y carbamatos. Sin embargo, la actividad de la butirilcolinesterasa (BuChE) puede estar influenciada por factores tales como la edad, el género, las drogas, y el ejercicio físico. (Zimmer,Lencina y Thiesen 2011).

Dicho de otra manera, tanto la colinesterasa plasmática como la intraeritrocitaria son enzimas caracterizadas por sus grandes fluctuaciones interindividuales e intraindividuales, reflejadas en los amplios rangos de normalidad habitualmente aceptados. Esta circunstancia ocasiona dificultad para la interpretación clínica – bioquímica de los resultados si no se dispone de, por lo menos, un valor basal previo del paciente. Hay dos situaciones que alteran los valores de la colinesterasa plasmática, una de ellas es de origen genético y la otra por exposición a sustancias tóxicas o medicamentosas. En la primera, la colinesterasa, por su estructura atípica, es incapaz de hidrolizar la succinilcolina, con las consecuencias que esto implica para el paciente expuesto a la anestesia. En el segundo caso, la actividad de la enzima se ve inhibida ya sea por exposición a tóxicos ambientales como plaguicidas o por la administración de inhibidores que disminuye la actividad de la colinesterasa. (OPS. 2009).

www.bdigital.ula.ve

Hay que tener en cuenta que pueden existir modificaciones en la actividad de la colinesterasa en una persona, en intervalos de tiempo y existen variaciones también según el sexo. La CP se ve disminuida en los periodos menstruales, en hepatitis, desnutrición enfermedades crónicas debilitantes, en la deficiencia de tiamina y de proteínas. En los casos de infección tetánica, las cifras bajan tanto o más que en las intoxicaciones por inhibidores. (Córdoba, Cadavid y Ramos 2011).

Podemos incluir, que la colinesterasa plasmática se deprime y recupera antes que la eritrocitaria, el descenso en la primera se mantiene generalmente por varios días o hasta unas pocas semanas; en cambio la eritrocitaria permanece reducida por más

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

tiempo, por lo que es usada como referencia en casos de intoxicación crónica. (Carmona. 2006).

Cabe considerar que la acetilcolina es el transmisor químico del impulso nervioso en varias clases de terminales nerviosas, y al estar inhibida la enzima CP, se encontraran niveles altos del neurotransmisor en los sistemas autónomos (simpático y parasimpático) y músculo esquelético estriado, trayendo esto como consecuencia a la persona una fuerte debilidad muscular. Las enzimas que producen la hidrólisis de la acetilcolina y de otros ésteres de la colina se llaman colinesterasas. (Carmona, 2006)

Ha habido una creciente conciencia sobre el papel de CP en el metabolismo de drogas y los factores que pueden afectarlo. La CP como ya sabemos sintetiza en el hígado, y un daño del parénquima dará lugar a una disminución de su síntesis. Además, la herencia, tumor maligno, la desnutrición, las enfermedades del corazón, enfermedad renal, quemaduras, factores alimentarios, y toxinas del medio ambiente pueden causar disminución de la actividad de la esterasa. (Johnson., 2008).

Las pruebas que se utilizan más a menudo para medir la actividad de CP son número dubucaine, ensayo de la enzima de punto final con medición espectrofotométrica, y los estudios cinéticos. Pruebas más nuevas incluyen un método electro-métrica modificado y un método que utiliza manchas de sangre seca en papel de filtro. (Jhonson., 2008).

www.bdigital.ula.ve

En este caso se realizará un estudio para determinar los niveles de colinesterasa plasmática mediante el método de Wiener para determinar colinesterasa en suero o plasma, basado en espectrofotometría, en personas sanas, masculinas y femeninas, de diferentes edades, de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Con el propósito de comprobar si la enzima también puede estar inhibida en condiciones que no están relacionadas a contacto con plaguicidas.

Por lo descrito anteriormente se llega a la formulación del problema de la presente investigación:

¿Cuál es la variabilidad intraindividual e interindividual de la Colinesterasa Plasmática en individuos sanos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis U.L.A. en el período 2015-2016

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Comparar la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa plasmática en individuos sanos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en el periodo 2015-2016.

Objetivos Específicos

1. Analizar la correspondencia de los niveles de colinesterasa plasmática con el método de Wiener® basado en espectrofotometría, en la unidad de investigación.
2. Describir la correspondencia entre los niveles de colinesterasa plasmática y la variabilidad intraindividual, en la unidad de investigación
3. Interpretar la correspondencia entre los niveles de colinesterasa plasmática y la variabilidad interindividual, en la unidad de investigación.
4. Comparar las diferencias y semejanzas intraindividuales e interindividuales de la colinesterasa plasmática en la unidad de investigación.

www.bdigital.ula.ve

Justificación de la Investigación

Hoy en día, no está completamente definido cuales son las causas de la variabilidad intraindividual e interindividual de la CP. Es por ello que en este trabajo de investigación se ha tomado la iniciativa de hacer un programa de medición y muestreo que establezca valores de la enzima en indivduos sanos.

Desde el punto de vista teórico se desarrolla aspectos relacionados con las causas de la variabilidad intraindividual e interindividual de la CP, logrando llegar a establecer valores que sirvan de indicadores comparativos en la población sana que no se encuentra expuesta a inhibidores de colinesterasa.

Con respecto al punto de vista práctico, la investigación sirve para disponer de un indicador biológico de personas que no esten en contacto con plaguicidas , sirviendo

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

a futuras investigaciones que evalúen la intensidad y prolongación de exposición a agentes químicos contaminantes en el ambiente, así como de otros parámetros que pudieran afectar los niveles normales de la colinesterasa plasmática.

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances

Según Hernández Sampieri *et al* (2010), el alcance de una investigación está relacionado con la profundidad del conocimiento que se adquirió sobre la problemática de estudio, durante el proceso de investigación. Además Hurtado (2010), refirió que un evento de estudio se puede estudiar desde varios grados de elaboración, tales como: exploratorio, descriptivo, analítico, comparativo, explicativo, predictivo, proyectivo, interactivo, confirmatorio y evaluativo. En este sentido, esta investigación permitió comparar las diferencias y semejanzas de la variabilidad intraindividual e interindividual de la CP en individuos sanos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, por lo tanto, el alcance de esta investigación fue comparativo.

www.bdigital.ula.ve

Limitaciones

Las limitaciones de una investigación pueden ser: teóricas, técnicas y de recursos económicos (Hernández-Sampieri, 2010). Al inicio de la fase interactiva de la investigación hubo limitaciones económicas para la compra de reactivo, y las relacionadas con la disponibilidad de los individuos para la toma de muestra en diferentes momentos. Sin embargo, estas limitaciones se solventaron y la investigación se pudo realizar.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO II

MARCO TEORICO

Trabajos Previos

A continuación se presentan algunas investigaciones realizadas previamente las cuales se relacionan directa e indirectamente con los objetivos del presente trabajo, los mismos sirvieron como referencia al momento de elaborar la presente investigación.

Maroto, Ramírez, Zúñiga y Vega (1983) determinaron la importancia de la variabilididad intraindividual y otros componentes de las colinesterasas sanguíneas, en 13 individuos no expuestos a plaguicidas, obteniendo como resultado una variabilidad intraindividual de la colinesterasa plasmática de 8,24 por ciento.

www.bdigital.ula.ve

Guerra, Cargnel, Osta, Osinde y Shkair (2005), determinaron valores de referencia de la colinesterasa plasmática e intraeritrocitaria en niños de una población hospitalaria, donde la mediana fue de 11.591 UI/l; además encontraron que el rango de variabilidad intraindividual por coeficiente de variación oscila entre 7 y 11%, con fluctuaciones máximas del 20 a 25 %.

Jiménez y Schosinsky (2009) determinaron valores de referencia de la actividad de colinesterasa plasmática y eritrocítica en mujeres, hombres y niñas y niños costarricenses aparentemente sanos, sin exposición previa a plaguicidas, empleando métodos cinéticos basados en la reacción de Ellman. El resultado estadístico no mostró diferencia significativa (p<0,001) entre los valores obtenidos para hombres y

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

con respecto a los otros tres grupos. Entre mujeres, niñas y niños no hubo diferencia significativa ($p< 0,05$)

Adum (2015), elaboró una investigación que tituló determinación de intervalos de referencia de la colinesterasa plasmática y eritocítica en adultos sanos, en Portoviejo, Ecuador, en la Universidad de Guayaquil, Ecuador, el objetivo general estuvo enfocado en establecer los intervalos de normalidad de la colinesterasa plasmática y eritrocítica en adultos sanos.

Fue una investigación de tipo descriptiva donde se analizaron clínicamente a 100 adultos entre los 20 a 64 años, distribuidos en grupos indicados por el Ministerio de Salud Pública. Los resultados arrojados concluyeron que los valores de normalidad para la población sana, en cantidad, no difieren significativamente con los propuestos por el Método de Ellman, lo que demuestra la validez de dichos datos de esta población.

Esta investigación guarda relación con el trabajo en curso, ya que, en ambos se quiere determinar valores referenciales de colinesterasa plasmática en personas sanas para el diagnóstico y seguimiento de las intoxicaciones agudas y exposiciones crónicas a organofosforados y carbonatos, así como la importancia de una comparación de los valores observados con los rangos de normalidad establecidos por los laboratorios.

www.bdigital.ula.ve

Antecedentes Históricos

Los primeros estudios sobre un factor capaz de hidrolizar la acetilcolina y sus implicancias a nivel del sistema nervioso central (SNC) datan de 1914 y 1921, respectivamente. Stedman, quien encontró actividad colinesterásica en sangre, denominó colinesterasas a ese factor en 1932. Con posterioridad se describió la existencia de dos colinesterasas: una eritrocitaria, también denominada verdadera o acetilcolinesterasa (ACE) y otra plasmática, pseudocolinesterasa o butirilcolinesterasa (CE). (Córdoba, et al 2011).

Vahlquist en 1935, demostró que los colinesteres no eran los únicos sustratos

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

hidrolizados por el plasma humano, si bien estos esteres se hidrolizaban más rápidamente que los esteres no colínicos. Alies y Hawes, (1940), encontraron diferencias fundamentales entre las colinesterasas de eritrocito y suero: mientras que la colinesterasa de eritrocito mostraba inhibición por exceso de sustrato, acetilcolina, la correspondiente del suero no mostraba tal efecto, y además, a diferencia de la enzima de eritrocito, la enzima de suero no era capaz de hidrolizar un sustrato sintético, acetil-metilcolina.

Glick (1938-1941) investigó la especificidad de sustrato del enzima de suero humano y comprobó que la actividad aumentaba a medida que progresaba la longitud de la cadena acilo, en la dirección C_2 - C_4, para disminuir cuando la longitud de la cadena era más larga.

Mendel, Rudney y Biochem (1943) estudiaron los efectos de inhibidores sobre ambos tipos de colinesterasas y acuñaron los términos de colinesterasa real y pseudocolinesterasa para los enzimas de eritrocito y suero respectivamente. Aunque la clasificación de colinesterasas, según la especificidad de sustrato, se ha conservado hasta nuestros días (se habla de acetilcolinesterasa y de butirilcolinesterasa, para referirse a los enzimas de eritrocito y suero respectivamente), este criterio resulta claramente impreciso, pues si bien es cierto que el sustrato preferente para la colinesterasa de suero de caballo, perro y hombre es la butirilcolina, para el enzima de suero de rata, conejo, pollo y rana lo es la propionilcolina. Esto resultó aún más complicado al estudiar las propiedades del enzima de suero de elasmobranquios y teleósteos que presenta como sustrato óptimo acetilcolina, pero no sufre inhibición por exceso de sustrato.

www.bdigital.ula.ve

Ante todo esto, Augustinsson (1963) definió las colinesterasas como "un grupo de esterasas que hidrolizan esteres de colina a mayor velocidad que a otros esteres, cuando las velocidades de hidrólisis se comparan en condiciones óptimas de concentración de sustrato, pH, fuerza iónica, entre otros usando preparaciones libres de otro tipo de esterasas. Todas las esterasas que presentan esta especificidad se inhiben por eserina 10^{-5} M".

La Comisión de Enzimas de la Unión Internacional de Bioquímica (lUB), en 1964,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

acordó recomendar las denominaciones de colinesterasa (acilcolina, acilhidrolasa, EC: 3.1.1.8) para los enzimas de suero y de otros tejidos que hidrolizaran más rápidamente butirilcolina o propionilcolina (o sus tioanálogos) y acetilcolinesterasa (acetilcolina, acetilhidrolasa EC: 3.1.1.7) para los enzimas que actuaran más rápidamente sobre la acetilcolina (o sus tioanálogos). La clasificación de las denominadas esterasas fue racionalizada y completada por la Comisión de Enzimas, proponiendo las denominaciones de:

- Carboxilesterasas (EC: 3.1.1.1) para esterasas sensibles a organofosfatos pero no a eserina 10^{-5} M.
- Arilesterasas (EC: 3.1.1.2) para esterasas resistentes a eserina y organofosfatos y que tienen como sustrato preferente esteres aromáticos.
- Acetilesterasas (EC: 3.1.1.6) para esterasas que actúan preferentemente sobre esteres del ácido acético y que no son sensibles a eserina ni organofosfatos.

La colinesterasa sérica se halla en el hígado, páncreas, corazón, en la sustancia blanca del cerebro y en el suero. Su función biológica aún no se conoce con certeza. Desde el punto de vista clínico, se considera indicativa de una posible intoxicación por insecticidas organofosforados y se mide como índice de la función hepática. (Lee, 1994).

www.bdigital.ula.ve

Vale la pena decir, que existe exclusivamente un sólo gen responsable en la fabricación de colinesterasa sérica y hay algunas personas que no la tienen. Estas personas son completamente sanas, excepto que no pueden metabolizar agentes externos como succinilcolina y mivacurio. 7-10 La bioquímica molecular moderna encontró con exactitud la estructura de esta enzima. Genéticamente está ligada a la secuencia de 1722 nucleótidos del ADN, que estructura o elabora 574 aminoácidos, con el potencial de construir varias formas diferentes o variantes de la enzima colinesterasa plasmática.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Bases Teóricas

Para dar soporte a esta investigación se realizaron revisiones bibliográficas relacionadas a la variable de estudio con el fin de definirla, caracterizarla, conocer sus tipos, inhibidores y demás factores que influyen sobre la misma.

Tipos de Colinesterasas

En el organismo humano existen dos tipos de colinesterasas: acetilcolinesterasa y pseudocolinesterasa. La acetilcolinesterasa (acetilcolina-acetilhidrolasa E.C. 3.1.1.7) es un enzima que cumple un importante papel en el sistema nervioso. Como se sabe, la acetilcolina es el agente transmisor del impulso nervioso desde la membrana de la neurona motora a la del músculo esquelético y, también, de la membrana presináptica a la postsináptica en las sinapsis colinérgicas. La acetilcolina es sintetizada en la zona del axón próxima a la membrana presináptica, por la enzima colina-acetil-transferasa(Medina,1978)

www.bdigital.ula.ve

Colinesterasa Verdadera ó Acetilcolinesterasa

La acetilcolinesterasa, colinesterasa verdadera o de tipo E, es una enzima cuyo sustrato preferente es acetilcolina. Hidroliza más lentamente los demás esteres de colina. Se encuentra en la sustancia gris del sistema nervioso, en los ganglios colinérgicos, en las placas neuromotoras colinérgicas, en los eritrocitos, pulmón y bazo. Su función en los glóbulos rojos es totalmente desconocida.

- Reactivación: Recuperación muy lenta 0,5-1% diario.
- Alteración: En menor número de procesos fisiopatológicos que la pseudocolinesterasa. (Anemia perniciosa, leucemia, y tratamiento con antipalúdicos).
- Especificidad: Muy alta en intoxicación por organofosforados.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Pseudocolinesterasa o Colinesterasa Inespecífica

Además de acetilcolinesterasa en los glóbulos rojos, la sangre humana contiene, en el suero, una segunda colinesterasa: la pseudocolinesterasa (acilcolina-acilhidrolasa, E. C. 3.1.1.8), butirilcolinesterasa o colinesterasa de tipo S, es una enzima que tiene preferencia por los esteres de la colina con los ácidos alifáticos de más de dos carbonos (Medina, 1978).

Se sintetiza en el hígado y como su nombre lo indica se encuentra en mayor cantidad en el plasma, hígado, cerebro (sustancia blanca) intestino, páncreas, adipositos, piel y sus glándulas exocrinas, músculo estriado y liso. Si bien se sabe que puede hidrolizar la Acetilcolina se desconoce su verdadera función fisiológica. (Sanz y Repetto1995).

- Reactivación: Rápida; no dura más de tres semanas.
- Diferencia intersexo: Varones entre un 10 - 15% más que en mujeres.
- Alteración: En un gran número de procesos fisiopatológicos, como enfermedades hepáticas, insuficiencia coronaria, desnutrición, cáncer, intoxicación por drogas, anemias, menstruación, embarazo, enfermedad viral e infecciones agudas, grandes quemaduras.
- Especificidad: Media-baja

www.bdigital.ula.ve

Inhibidores de Colinesterasa (Insecticidas)

Son sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga incluyendo vectores de enfermedad humana o animal, especies indeseadas de plantas o animales capaces de causar daño o interferir de cualquier forma con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte o mercado de alimentos. (Ferrer, 2003).

Dentro de los inhibidores de la colinesterasa se encuentran los insecticidas organofosforados y carbamatos, que ocasionan el 80% de las intoxicaciones por pesticidas en el mundo.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Los organofosforados (OF), son sustancias clasificadas químicamente como esteres, derivados del ácido fosfórico y ácido fosfónico utilizadas como plaguicidas para el control de insectos; son biodegradables, poco solubles en agua y muy liposolubles, su presentación más frecuente es en forma líquida.

La intoxicación aguda por OF ocurre después de exposición dérmica, respiratoria u oral a estos plaguicidas. Ampliamente utilizados en países de tercer mundo, donde los más potentes son más disponibles. Hay que recordar que estos productos comerciales pueden contener en algunas presentaciones líquidas solventes derivados de hidrocarburos como kerosene los cuales pueden por sí mismos generar intoxicación. Además existen armas químicas que pertenecen al grupo de los organofosforados extremadamente tóxicos.

Por otra parte, los Carbamatos son compuestos derivados del ácido carbámico. También son inhibidores enzimáticos. El cuadro clínico tóxico es similar al estudiado en los organofosforados. En relación al tratamiento, es básicamente igual a los organofosforados, con la salvedad de no utilizar oximas reactivadotas en varios de ellos, pues van aformar compuestos carbamilados que pueden potenciar los efectos del inhibidor (Gutiérrez, 1998).

www.bdigital.ula.ve

Absorción, Metabolismo y Excreción de los Insecticidas

Los inhibidores de la colinesterasa se pueden absorber por todas las vías: oral (en intentos de suicidio principalmente y accidentalmente en niños), inhalatoria (en trabajadores agrícolas, fumigadores), dérmica (en trabajadores agrícolas y niños). También puede entrar por vía conjuntival, vaginal y rectal.

Estas sustancias se metabolizan a nivel hepático mediante distintos procesos químicos, que en oportunidades aumentan la actividad tóxica del compuesto, como es el caso del Paratión el cual sufre un proceso de oxidación, formando el compuesto más tóxico Paraoxón. En el caso de fosforados orgánicos que poseen en su estructura grupos paranitrofenilos, es posible encontrar en la orina de los pacientes, metabolitos como el paranitrofenol.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Sus metabolitos pueden almacenarse principalmente en los tejidos adiposos, riñón, hígado y glándulas salivares; su excreción se realiza por vía renal en forma relativamente rápida (Gutierrez, 1998).

El siguiente cuadro muestra algunos indicadores biológicos de exposición y efecto a organofosforados y carbamatos (Cuadro N° 1).

Cuadro Nº 1: Indicadores biológicos de exposición y efecto a organofosforados y carbamatos

Exposición a	Muestra	Indicador Biológico
Organofosforados	Sangre	Actividad colinesterásica
		Estearasa neurotóxica
		Paraoxonasa
		Plaguicidas
	Orina	Fenoles
		Alquilfosfatos
Carbamatos	Sangre	Actividad colinesterásica
		Plaguicidas carbámicos
	Orina	1-naftol
		2-isopropoxifenol

www.bdigital.ula.ve

(Carmona, Henao, Garcés, 2000)

Mecanismo de Acción de los Insecticidas

Los fosforados orgánicos y carbamatos tienen como acción principal la inhibición de la enzima acetil-colinesterasa, tanto la colinesterasa eritrocitíca o verdadera como la plasmática o pseudolinesterasa. Los organofosforados actúan por fosforilización enzimática originando una unión muy estable que se considera "irreversible", mientras que los carbamatos actúan por carbamilación de la enzima y esa unión es más débil e inestable, lo que la hace reversible. Ambos causan pérdida de la actividad de la enzima acetilcolinesterasa necesaria en el organismo para la hidrólisis de la

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

acetilcolina, permitiendo la acumulación de acetilcolina en la hendidura sináptica y estimulando excesivamente el SNC, los receptores muscarínicos de las células efectoras parasimpáticas, los receptores nicotínicos presentes en la placa neuromuscular y en los ganglios autónomos, traducido clínicamente en un síndrome colinérgico (Gutiérrez, 1998).

La acetilcolina es el sustrato natural de la enzima acetil colinesterasa, es un transmisor primario neuro-humoral del sistema nervioso y es necesario para la transmisión del impulso entre:

- Fibras preganglionares y postganglionares del sistema nervioso autónomo, simpático y parasimpático.
- Nervios parasimpáticos postganglionares (colinérgicos) y efectores, tales como células secretoras, músculo-estriado y músculo-cardiaco.
- Nervios motores y terminaciones motoras del músculo estriado.

La transmisión normal de un impulso por la acetilcolina es seguida por una rápida hidrólisis del neurotransmisor (acetilcolina) por parte de la enzima acetilcolinesterasa, lo cual limita la duración e intensidad de los estímulos (Gutiérrez, 1998).

www.bdigital.ula.ve

Manifestaciones Clínicas de Exposición a Insecticidas

Los fosforados orgánicos y los carbamatos inhiben las colinesterasas y producen una acumulación de acetilcolina, produciendo alteraciones en la transmisión colinérgica de la sinapsis. Los signos y síntomas de este tipo de intoxicación pueden presentarse dentro de pocos minutos hasta 1 a 2 horas posteriores a la exposición.

Se presenta un deterioro progresivo estableciéndose el cuadro de un síndrome colinérgico agudo cuyas manifestaciones agudas pueden ser de tres tipos: muscarínicas, nicotínicas o de sistema nervioso central según los receptores colinérgicos correspondientes. Los síntomas nicotínicos tienden a ser los primeros en aparecer (Gutiérrez, 1998).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- Síndrome Muscarínico: Visión borrosa, miosis puntiforme que puede llegar a paralítica, lagrimeo, sialorrea, diaforesis, broncorrea, bronco-espasmo, disnea, vómito, dolor abdominal tipo cólico, diarrea, disuria, falla respiratoria, bradicardia.
- Síndrome Neurológico: Ansiedad, ataxia, confusión mental, convulsiones, colapso, coma, depresión cardiorespiratoria central.
- Síndrome Nicotínico: Midriasis inicial, calambres, mialgias, fasciculaciones musculares. La visión borrosa se presenta en el paciente con inhibición paulatina de las colinesterasas, ocasionada por contactos continuados con el tóxico. La miosis es un signo característico en intoxicaciones por organofosforados o carbamatos, pero puede presentarse inicialmente midriasis en la fase primaria de la intoxicación, ocasionada por una liberación de adrenalina endógena, o en la fase final de la intoxicación por acción nicotínica o parálisis muscular la cual es premonitoria de muerte. Las fasciculaciones musculares, debidas a la acción nicotínica, se evidencian con frecuencia en los grupos musculares de la región palpebral, músculos faciales y de los dedos, llegando a generalizarse y persistir aún después de la muerte durante unos minutos debido a la acumulación de acetilcolina en las placas neuromusculares.
- Síndrome Intermedio: En 1974 Wadia describe un nuevo síndrome, el intermedio, que aparece entre las 24 y 96 horas de iniciada la intoxicación y que se caracteriza por una parálisis proximal que involucra pares craneanos, músculos flexores de nuca y músculos de la respiración, originando gran dificultad respiratoria y llevando a la muerte al paciente si no se proporciona soporte ventilatorio. Se han enunciado como posibles responsables el fentión, dimetoato, monocrotofos, metamidofos. Se ha descrito como "recaída del tercer día" y se cree que ello se debe a varios factores:
- La liposolubilidad del fosforado que le permite almacenarse por algunas horas o días en el tejido graso del paciente.
- La prolongada sobre-estimulación de la acetilcolina en los receptores nicotínicos postsinápticos de la unión neuromuscular que causa daño de receptores.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- La persistencia del tóxico a cualquier nivel de organismo primordialmente a nivel del tracto digestivo (especialmente intestinal), tracto que por la "atropinización" se somete a parálisis y que coincidencialmente en el tiempo en que se presenta la "recaída" (tercer día) coincide con la reducción de la atropinización y el reinicio del peristaltismo intestinal, con lo cual se facilita que el material intestinal se ponga en contacto con nuevas partes de mucosa y se produce "reintoxicación". La médicación adecuada y oportuna, y sobre todo la "exhaustiva descontaminación" especialmente de intestino, de piel, cuero cabelludo, uñas, conducto auditivo externo, disminución de la reabsorción de metabolitos excretados por sudor o secreciones que persisten en contacto con el paciente, permiten que la incidencia de esta complicación disminuya (Gutierrez, 1998).

Inhibidores de Colinesterasa (Fármacos)

Los estudios clínicos son la mejor manera de descubrir si nuevos tratamientos prometedores son seguros y efectivos cuando se aplican a seres humanos. Los medicamentos llamados inhibidores de colinesterasa son recetados para el tratamiento de los síntomas de grado leve a moderado de la enfermedad de Alzheimer. Estos medicamentos pueden ayudar a retrasar los síntomas o impedir que empeoren por un tiempo limitado y pueden ayudar a controlar algunos síntomas relacionados al comportamiento. Los medicamentos son: Razadyne® (galantamina), Exelon® (rivastigmina) y Aricept® (donepezilo) (Birks, 2009).

www.bdigital.ula.ve

Estos medicamentos están diseñados para mejorar la memoria y otras funciones cognitivas por su influencia sobre ciertas actividades químicas en el cerebro.

La acetilcolina es un mensajero químico del cerebro que se cree que juega un papel importante en la función de las células cerebrales relacionadas con la memoria, el pensamiento y el juicio. La acetilcolina es liberada por una célula nerviosa o neurona para transmitir un mensaje a otra neurona. Una vez se recibe el mensaje, varios enzimas, incluyendo uno llamado acetilcolinesterasa, disgregan la acetilcolina para su posterior reutilización.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

En el cerebro afectado por la enfermedad de Alzheimer, las células que utilizan la acetilcolina están lesionadas o destruidas, por lo que existen unos niveles más bajos de este mensajero químico. Los inhibidores de la colinesterasa actúan deteniendo la actividad de la acetilcolinesterasa y así retrasar la degradación de la acetilcolina. De esta forma, el fármaco consigue mantener los niveles de acetilcolina y ayuda a compensar la pérdida de neuronas. (Mercé, 2001)

A continuación se describen los fármacos inhibidores de colinesterasa indicados para el tratamiento en la enfermedad de Alzheimer (Cuadro N° 2).

Cuadro Nº 2: Medicamentos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer

NOMBRE DEL MEDICAMENTO	TIPO DE MEDICAMENTO Y USO	EFECTOS SECUNDARIOS COMÚNES
Aricept® **(donepezilo)** Previene la descomposición de la acetilcolina en el cerebro.	Inhibidor de colinesterasa recetado para el tratamiento de los síntomas de grado leve, moderado, y severo de la enfermedad de Alzheimer.	Náusea, vómitos, diarrea, calambres musculares, fatiga, pérdida de peso.
Exelon® **(rivastigmina)** Previene la descomposición de la acetilcolina en el cerebro y de la butirilcolina (un compuesto químico del cerebro similar a la acetilcolina).	Inhibidor de colinesterasa recetado para el tratamiento de los síntomas de grado leve a moderado de la enfermedad de Alzheimer. (El parche también es para casos de grado severo).	Náusea, vómitos, diarrea, pérdida de peso, indigestión, debilidad muscular.
Namenda® **(memantina)** Bloquea los efectos tóxicos asociados con el exceso de glutamato y regula la activación del glutamato.	Antagonista del N-metil D-aspartato (NMDA) recetado para el tratamiento de los síntomas de grado moderado a severo de la enfermedad de Alzheimer.	Mareo, dolor de cabeza, diarrea, estreñimiento, confusión.
Namzaric® **(memantina acción prolongada y donepezilo)** Bloquea los efectos tóxicos asociados con el exceso de glutamato y previene la descomposición de acetilcolina en el cerebro.	NMDA antagonista e inhibidor de colinesterasa recetado para el tratamiento de los síntomas de grado moderado a severo de la enfermedad de Alzheimer.	Dolor de cabeza, nausea, vómitos, diarrea, mareo.
Razadyne® **(galantamina)** Previene la descomposición de la acetilcolina y estimula la	Inhibidor de colinesterasa recetado para el tratamiento de los síntomas de grado leve a moderado de la enfermedad de Alzheimer.	Náusea, vómitos, diarrea, reducción de apetito, mareo, dolor de cabeza.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

liberación de niveles más altos de acetilcolina en el cerebro por los receptores nicotínicos.		

(Instituto Nacional Sobre el Envejecimiento, 2016)

Diagnóstico de la Actividad de la Colinesterasa

La colinesterasa sérica es más sensible pero menos específica para el diagnóstico, regenerándose espontáneamente en días y semanas, mientras que la eritrocitaria puede tardar de tres a cuatro semanas en normalizarse. De modo que se considera que en los casos de intoxicación aguda, la sintomatología aparece cuando más del 50% de la actividad de la colinesterasa eritrocitaria esta inhibida. El grado de inhibición de la colinesterasa presente en los eritrocitos puede determinarse mediante diferentes métodos, electrométricos, espectrofotométricos, tintométricos, de titulación de pH o barométricos. (Escobar, Esquer y Nateras 2004).

La acetilcolina es el trasmisor químico del impulso nervioso; se encuentra en los botones terminales de las fibras pre y post ganglionares parasimpáticas, unión neuromuscular del músculo esquelético, fibras preganglionares simpáticas y cierta sinapsis del sistema nervioso central conocida también como neuronas colinérgicas.

www.bdigital.ula.ve

El diagnóstico se hace a través de un análisis de la colinesterasa en el suero, es un estudio que se realiza en las enzimas de acetilcolinesterasa ó colinesterasa de los glóbulos rojos y de la pseudocolinesterasa o colinesterasa del plasma. Todas estas enzimas actúan descomponiendo la acetilcolina, que es la molécula que transmite los estímulos nerviosos en las personas.

Los estudios de colinesterasa son necesarios para controles preoperatorios, con el fin de evitar complicaciones (parálisis muscular y apnea) por efectos de la succinicolina (anestesia).

También se utiliza para evaluar la exposición intensa a insecticidas organofosfatos, los cuales inactivan las colinesterasas, y el nivel de estas enzimas sirve como un indicador de la exposición y de los riesgos de su toxicidad. A veces puede ser un indicador de ciertas enfermedades hepáticas. (Henao, Zapata y Restrepo 1990).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Neurotransmisor

Sonzini (2017), considera neurotransmisor (NT) "a aquella sustancia que se encuentra distribuida de manera desigual en el sistema nervioso, y si esa distribución va en paralelo con la de sus receptores y la de las enzimas que la sintetizan y catabolizan".

De acuerdo a la definición clásica los NT son sustancias que, tras ser liberadas sinápticamente por las neuronas en respuesta a estímulos apropiados, alteran la actividad de otras neuronas o células efectoras mediante la interacción con macromoléculas proteicas, los receptores.

De acuerdo con Sonzini (2017), para determinar si una sustancia es un neurotransmisor debe cumplir con los siguientes criterios:

- Anatómico:

  - La sustancia existe en los terminales sinápticos.

  - Las enzimas para su síntesis se hallan en los terminales presinápticos.

- Fisiológico:

www.bdigital.ula.ve

  - El transmisor se libera cuando el impulso nervioso llega a la terminal.

  - El transmisor se libera en cantidades suficientes para producir cambios en los potenciales posinápticos.

  - La administración experimental del NT produce cambios en los potenciales posinápticos.

  - El bloqueo de dicha sustancia impiden que el impulso presináptico modifique la actividad posináptica.

Clasificación de los Neurotransmisores

Los NT se pueden clasificar de acuerdo a sus familias o categorías, fundamentándose en su química (aminas, aminoácidos, polipéptidos), en el sistema nervioso se utilizan dos tipos principales de sustancias químicas para llevar a cabo la comunicación interneuronal:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- Transmisores de bajo peso molecular, fundamentalmente aminas y aminoácidos.
- Péptidos neuroactivos o neuropéptidos, tal como se muestra en el siguiente cuadro:

Cuadro Nº 3: Clasificación de los neurotransmisores

<table>
<tr><td rowspan="6">No- Peptídicos</td><td colspan="3">Acetil Colina</td></tr>
<tr><td colspan="3">Histamina</td></tr>
<tr><td rowspan="3">Monoaminas</td><td rowspan="3">Catecolaminas</td><td>Dopamina</td></tr>
<tr><td>Noradrenalina</td></tr>
<tr><td>Adrenalina</td></tr>
<tr><td>Indolaminas</td><td>Serotonina</td></tr>
<tr><td rowspan="2">Peptídicos (Neuropéptidos)</td><td colspan="3">Sustancia P</td></tr>
<tr><td colspan="3">Opioides endógenos</td></tr>
</table>

www.bdigital.ula.ve

(Sonzini, 2017)

Transmisión Nerviosa de las Sinapsis Colinérgicas

La transmisión de los impulsos nerviosos entre dos neuronas tiene lugar en la sinapsis o conexión entre ambas. Esta sinapsis está formada por la membrana presináptica, la hendidura sináptica y la membrana postsináptica. El impulso nervioso se transmite de la siguiente manera: 1) La llegada de un potencial de acción despolariza la membrana presináptica, lo que provoca la apertura de canales iónicos. 2) El Ca^{2+} entra y el aumento de su concentración hace que las vesículas de neurotransmisor (NT) se unan a la membrana y liberen, por exocitosis, el NT (ACh) en la hendidura sináptica. 3) En la membrana postsináptica están los receptores de NT (NTR) a los que se une la molécula neurotransmisora (ACh) lo que provoca la

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

apertura de los canales iónicos en esta membrana. La entrada de Ca^{2+} y de otros cationes produce la despolarización y excitación de la membrana postsináptica, y esa despolarización se propaga hasta la siguiente célula nerviosa o a la placa motora correspondiente. 4) El NT después de actuar es rápidamente inactivado (AChE) para que pueda repolarizarse la membrana y pueda transmitir sucesivamente nuevos impulsos nerviosos (Tejedor, 2011).

Acetilcolina

Fue el primer neurotransmisor conocido. Es el éster acetilo de la colina. La ACh es el neurotransmisor utilizado en la unión neuromuscular, en las sinapsis ganglionares del sistema nervioso simpático y parasimpático y en las fibras post-ganglionares del sistema nervioso parasimpático. Además se encuentra en varias vías de sistema nervioso central, particularmente el núcleo caudado, telencéfalo basal y tronco cerebral.

Las neuronas que median su transmisión a través de este NT son denominadas neuronas colinérgicas.

www.bdigital.ula.ve

En los receptores para ACh post-sinápticos ocurren una serie de cambios en su conformación en el momento que se une una molécula del NT a ellos. Estos cambios de configuración producen finalmente la apertura de un conducto específico para Na+, permitiendo la entrada del catión a la célula nerviosa. Todo esto trae como consecuencia un potencial despolarizante. Funciona como un neurotransmisor conduciendo los impulsos eléctricos entre las células nerviosas a través de las sinapsis y desde las células nerviosas hasta los músculos causando su contracción.

La acetilcolina actúa sobre las células blanco a través de dos grupos distintos de receptores: muscarínicos y nicotínicos.

En un cerebro normal, los niveles de dopamina y acetilcolina, se encuentran en equilibrio e igualados en sus funciones inhibitorias y excitatorias. Cuando se reducen los niveles de dopamina, se rompe dicho equilibrio pues la acetilcolina comienza a tener un exceso en su actividad excitatoria, lo que provoca enfermedad de Parkinson.

La ausencia o alteración de la ACh en la placa neuromuscular produce una

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

enfermedad grave, con flacidez muscular generalizada hasta la impotencia respiratoria, llamada Miastenia Gravis. (Tejedor, 2011).

Mecanismo de Acción de la Acetilcolina

La acetilcolinesterasa (AChE), enzima presente en la terminación postsináptica, hidroliza rápidamente a la ACh, lo que conlleva la repolarización de la membrana o de la placa basal (en las conexiones neuromusculares) y las prepara para la llegada de un nuevo impulso. Así pues la función normal de la ACh depende de su rápida hidrólisis por la AChE, que permite la brevedad y unidad de los impulsos propagados sincrónicamente. El ácido acético liberado pasa a sangre, mientras que la colina es recuperada por las neuronas para la síntesis de nuevas moléculas de neurotransmisor.(Tejedor, 2011).

Definición Operacional de Términos

www.bdigital.ula.ve

Variabilidad Intraindividual

Oscilación de variables biológicas en un mismo individuo, según las circunstancias. Estas pueden ser identificadas o no. (Wordpress, 2012).

Variabilidad Interindividual

Tiene que ver con variables observadas en un grupo de individuos, de tal forma que, cada uno de ellos pueda estar afectado por uno de los valores posibles de aquella variable, como sería el caso por ejemplo de las dimensiones de la personalidad o las habilidades. Las diferencias entre los individuos aparecen con el nacimiento y se refuerzan o suavizan a lo largo del desarrollo. Para ello, puede clsificarse a las personas según sexo, edad, raza y status socioeconómico. (Herrera, G. 2011).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Operacionalización del Evento de Estudio

Las variables se operacionalizan para transformar los conceptos abstractos, en empíricos. El fín es identificar el indicador para medirlo. Al respecto, el evento de estudio constituido por variables se operacionalizó (Cuadro N° 4).

Cuadro Nº 4: Operacionalización del evento de estudio

1. Evento	2. Definición Conceptual	3. Definición Operacional
Variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa plasmática en individuos sanos	• Variabilidad Intraindividual: Oscilaciones dentro de un mismo individuo. • Variabilidad Interindividual: diferencias entre los individuos. • Colinesterasa Plasmática: enzima que hidroliza la butirilcolina.	La variabilidad de la CP intraindividual e interindividual se puede medir a través del método de Wiener® basado en espectrofotometría, ó a partir de una matriz de comparación intraindividual e interindividual.

4. Dimensiones	5. Indicadores
• Variabilidad de la CP intraindividual presente. • Variabilidad de la CP interindividual presente. • Variabilidad de la CP intraindividual ausente. • Variabilidad de la CP interindividual ausente.	El valor de la CP dentro del rango de referencia.

Fuente: Autoras de la investigación

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

En este capítulo se especifican las estrategias para el estudio de los hechos de la investigación, estableciendo un modelo operativo que permita seleccionar el tipo y diseño de estudio en cuestión, la población y muestra, donde se define y planifica el proceso de aplicación del instrumento para recolección de la información preliminar de los sujetos en estudio y los métodos y procedimientos utilizados en el manejo de las muestras biológicas.

www.bdigital.ula.ve

Tipo de Investigación

En cuanto al tipo de investigación, la misma se ubica en una investigación de campo, ya que como lo señala Pallela y Martins (2004), dicha investigación *"consiste en la recolección de datos directamente de la realidad donde ocurren los hechos, sin manipular o controlar variables"*. (p.82). En otras palabras, los datos se obtuvieron directamente de los estudiantes de la Fcaultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Esta investigación es de tipo descriptiva ya que su interés se orienta a recolectar información relacionada con el estado real de las personas, tal como se presentan en el momento de su observación y de su recolección.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Población y Muestra

Población

Palella y Martins (2004), definen a la población como *"el conjunto de unidades de las que se desea obtener información y sobre las que se van a generar conclusiones"* (p. 93). De lo anterior se desprende que la población son los estudiantes sanos de la Facultad de Farmacia y Bionálisis de la Universidad de Los Andes.

Criterios de Inclusión

Los criterios de inclusión según Rodríguez (2013), son *"las características que debe tener el sujeto u objeto de estudio para considerar su inclusión en la investigación",* cumpliendo con esta definición, para esta investigación se tomarán en cuenta los siguientes criterios de inclusión:

www.bdigital.ula.ve

- Estudiantes sanos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis U.L.A. de diferentes edades, de ambos sexos (femenino y masculino).
- Declaren libremente su deseo de participar en esta investigación; con el consentimiento para realizar la encuesta y análisis sanguíneo.

Criterios de Exclusión

Rodríguez (2013), igualmente señala como criterios de exclusión a: las condiciones que tiene el sujeto u objeto de estudio, y que habiendo cumplido los criterios de inclusión, pueden alterar la medición de la variable a estudiar y que como consecuencia lo hacen no elegible para el estudio. No son los contrarios de los criterios de inclusión.

En este sentido, se tomarán en cuenta los siguientes criterios de exclusión:

- Muestras hemolizadas.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

- Muestras en cantidad insuficiente para el análisis.
- Pacientes con diagnóstico de procesos infecciosos.
- Pacientes que hayan padecido infarto cardiaco recientemente.
- Pacientes que hayan padecido el virus de la hepatitis o alguna insuficiencia hepática.
- Pacientes sometidos a tratamiento con anti-depresivos.
- Pacientes expuestos a plaguicidas, carbamatos y organofosforados.
- Mujeres en estado de gestación, o en período de menstruación.
- Pacientes que hayan sufrido recientemente mordedura de serpiente.
- Pacientes que presenten quemaduras de tipo grave.
- Paciente que recientemente hayan padecido infección tetánica.

Muestra

www.bdigital.ula.ve

Hernández, Fernández y Baptista (1997), señalan que la muestra es *"un subgrupo de la población, es un subconjunto de elementos que pertenecen a ese conjunto definido en sus características al que llamamos población"* (p. 212). Por tratarse de una población finita se acordó tomar como muestra a veinte (20) estudiantes sanos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Técnica e Instrumento para la Recolección de Datos

Técnica

Para recabar la información se utilizó como técnica la encuesta de tipo escrita que Arias *et al* (2006) la describe como *"una técnica que pretende obtener información que suministra un grupo o muestra de sujetos acerca de sí mismos, o en relación con un tema particular"* (p. 72).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Instrumento

Para esta modalidad se utilizó como instrumento un cuestionario, al respeto Palella y Martins *et al* (2004), señalan que: *"el cuestionario es un instrumento de investigación que forma parte de la técnica de la encuesta"* (p. 119), en este caso el cuestionario consta de diez (10) ítems con respuestas dicotómicas (si y no) que fue aplicado a la muestra seleccionada.

Validez del Instrumento

La validez de un instrumento Según Hernández, *et al* (1997), significa "que mida lo que se pretenda medir" (p. 129). En tal sentido, para validar el instrumento se utilizó la validez de contenido a través del juicio de tres expertos, los cuales ofrecieron su opinión considerando la relación entre los ítems con los objetivos, e indicadores de la variable objeto de la presente investigación. (ver anexo "C").

www.bdigital.ula.ve

Materiales y Métodos

Materiales: Para la toma de las muestras respectivas se utilizaron los siguientes materiales:

- Jeringa de plástico desechables, de 3 cc
- Agujas hipodérmicas desechables Nro. 21 x 1 1/2
- Banda elástica para torniquetes
- Torundas de algodón
- Alcohol isopropílico al 70%
- Guantes de látex
- Tubos estériles al vacío tapa roja (sin anticoagulante)
- Apósitos

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

En el laboratorio:

- Cronómetro
- Baño de María
- Micropipetas 10-200ul, 200-100ul, 2-10ul, 50-200ul
- Puntas amarillas, estériles, para pipeta automática
- Puntas azules, estériles, para pipeta automática
- Palitos de madera

Equipos

- Espectrofotómetro RT 1904C Semi-Auto Chemestry Analyzer

Reactivos

- Kit de la casa comercial de Wiener® para la Diagnóstico de Colinesterasa en suero o plasma:
- Reactivo A: Buffer pirofosfato 73 mM, ferricianuro de potasio (III) 2,4 mM pH 7,7
- Reactivo B: Solución Buffer de Goods 10 mM, butirilcolina 92 mM pH 4,0.

www.bdigital.ula.ve

Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

Se obtuvo los resultados de la encuesta hecha a cada sujeto perteneciente a la Facultad de Farmacia y Bionaálisis U.L.A. que pudiera ser incluido en este trabajo de investigación. Se suministró información verbal a cada individuo seleccionado acerca de los objetivos de la investigación, con el propósito de que declararan de forma voluntaria su deseo de participar en el presente estudio, para finalmemte solicitar su consentimiento informado por escrito. (Anexo“B”)

En este sentido, se indicó a cada paciente fecha y hora en la cual debía acudir a la Unidad de Toxicología y Farmacoterapéutica UNITOXFAR C.A en el Municipio Libertador del Estado Mérida.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Obtención y Procesamiento de la Muestra

Seguidamente, a todos los pacientes se les tomó una muestra de sangre venosa (3 mL) de la región ante-cubital del brazo, colocando la muestra obtenida de cada individuo en su correspondiente contenedor rotulado con el número de historia del paciente. Se utilizaron tubos, tapa roja (seco) para obtener el suero con el cual se midieron los niveles de la enzima Colinesterasa.

Las muestras sanguíneas se dejaron reposar por un tiempo de 20 minutos para luego ser centrifugadas durante 10 minutos a 3000 revoluciones por minuto (rpm) y fueron procesadas en el laboratorio anteriormente mencionado de acuerdo al siguiente protocolo:

Para la determinación de la colinesterasa plasmática en sangre, se utilizó el método de Espectrofotometría de Wiener®.

La espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/vis) utiliza radiación electromagnética (Luz) de las regiones visibles, ultravioleta cercana (UV) e infrarrojo cercano (NIR) del espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas. Estas técnicas se basan en la utilización de un espectrofotómetro de barrido con óptica de red donde se puede obtener un cromatograma completo a una longitud de onda definida, comprendida entre 190-800 nm la cual está dividida en diferentes tipos de radiación entre las que se encuentran: el ultravioleta extremo (< 200 nm), ultravioleta cercano (>200 y <380 nm), luz visible (>380 y <700 nm) e infrarrojo cercano (>780 nm) (Skoog y Leary ,2001).

www.bdigital.ula.ve

Fundamento del Método

Para la determinación de la colinesterasa plasmática, se emplea su capacidad de hidrolizar los ésteres de colina en sus respectivos ácidos. Se han desarrollado varios métodos, entre los que se incluyen la determinación del cambio de pH que acompaña la hidrólisis de los ésteres de colina, y aquellos basados en la detección de la liberación de tiocolina de sus ésteres empleando como indicador el reactivo de

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Ellman [(5,5-ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico)), DTNB] o ferricianuro (Dietz, A.1977) Basado en ello el método de Wiener propone:

A partir de la butirilcolina, la colinesterasa reduce inmediatamente el ferricianuro de color Amarillo a incoloro, permitiendo asî el monitoreo directo de la reacción:

Butirilcolina + H_2O ⟶ Tiocolina + Butirato

Tiocolina + Ferricianuro de Potasio (III) ⟶ ditio-bis-colina + Ferricianuro de Potasio (III)

Condiciones de Reacción

- Longitud de onda: 405 nm - Temperatura de reacción: 37°C. La temperatura de la mezcla de reacción debe ser estrictamente mantenida a la temperatura seleccionada.
- Tiempo de reacción: 7 minutos - Volumen de muestra: 8 ul
- Volumen final de reacción: 1,51 ml Los volúmenes de muestra y reactivos pueden variarse proporcionalmente, sin que se alteren los factores de cálculo. (Skoog y col., 2001).

www.bdigital.ula.ve

- ***Sustancias Interferentes Conocidas:*** no se observan interferencias por bilirrubina hasta 200 mg/l, triglicéridos hasta 14 g/l, hemoglobina hasta 100 mg/dl ni heparina hasta 50 U/ml de sangre entera. Referirse a la bibliografía de Young para los efectos de las drogas en el presente método.
- ***Estabilidad e Instrucciones de Almacenamiento:*** la muestra debe ser preferentemente fresca. Puede conservarse hasta una semana en el refrigerador (2-10°C) ó hasta un año a -20°C, sin agregado de conservadores.

Método de Control de Calidad

Pool de sueros aparentemente normales, de concentración conocida de colinesterasa plasmática.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Limitaciones del Procedimiento

Ver Sustancias interferentes conocidas en MUESTRA. Para preservar la integridad de los reactivos deben evitarse todo tipo de contaminaciones, empleando para la medición únicamente micropipetas perfectamente limpias y secas. (Skoog y col., 2001).

Diseño de Análisis

La información obtenida en la recolección de datos se estructuró, clasificó y tabuló en una base de datos. Con relación a las técnicas de análisis, estas fueron seleccionadas de acuerdo con la naturaleza de la investigación.

El análisis de resultados se llevó a cabo utilizando estadística descriptiva: media aritmética, desviación estándar, coeficiente de variación y relación porcentual. Se empleó el Programa Estadístico para Ciencias Sociales (SPSS) versión 15.0; seleccionando como técnica estadística la comparación de medias aritméticas a través del análisis de varianza (ANOVA).

www.bdigital.ula.ve

En este orden de ideas, esta técnica se fundamenta en comparar las medias aritméticas que se obtendrán para cada uno de los indicadores en los que se estructurarán las dimensiones de la variable con el fin de determinar si son o no iguales y en establecer la significancia estadística de dicha comparación, con un nivel de significancia de $p<0,05$. Así mismo este nivel se significancia o valor "*p"* se refiere a que la diferencia observada en los datos no es fruto del azar o la casualidad e indica que los datos se procesaron con un nivel de confianza de un 95 % (Hernández *et al*, 2008)

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos, luego de la aplicación del instrumento respectivo. Se presentan en primer lugar los resultados obtenidos en la aplicación del instrumento de recolección de información por parte de los entes muestrales. Para mayor comprensión se presentan por ítems. En segundo lugar, se presenta los resultados obtenidos luego de analizar las muestras sanguíneas de los individuos seleccionados e identificados.

www.bdigital.ula.ve

Tabla Nº 1: ¿Presenta algún proceso infeccioso?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

Al consultar a los estudiantes seleccionados para la investigación, se pudo constatar que el 100% de los mismos ubicaron su respuesta en atención al criterio "No"; De este resultado se puede inferir la importancia de no poseer infecciones de ningún tipo al momento de tomar las muestras sanguíneas ya que esto disminuye los valores normales de la enzima colinesterasa.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

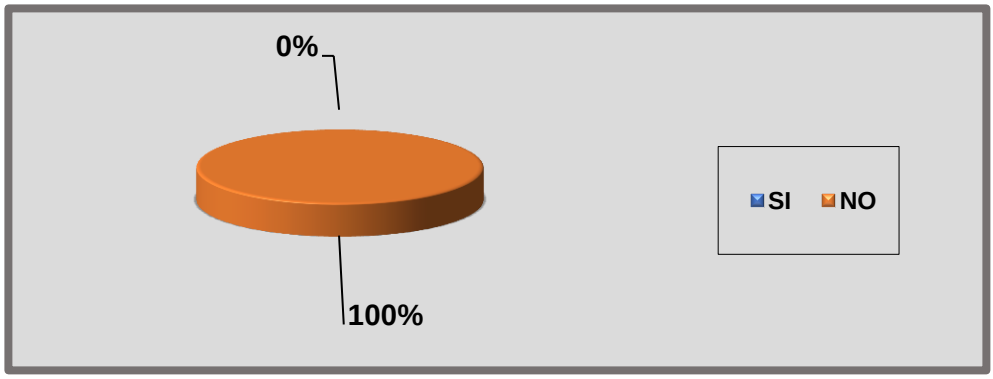

Gráfico Nº 1: ¿Presenta algún proceso infeccioso?

Tabla Nº 2: ¿Ha sufrido de infarto cardíaco?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

El hecho de que una persona pase por la experiencia de infarto cardíaco, se considera como una limitante para analizar la enzima colinesterasa, ya que el organismo entra en un desorden enzimático y sus niveles se ven afectados con una disminución. No obstante, al consultar a los entes muestrales del estudio, se constató que el 100% ubicó su respuesta en la alternativa "No", lo cual es favorable al analizar las muestras sanguíneas.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

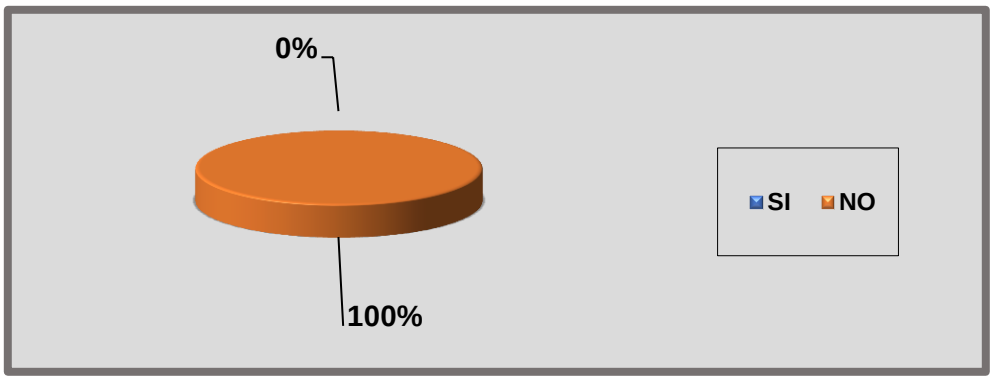

Gráfico Nº 2: ¿Ha sufrido de infarto cardíaco?

Tabla Nº 3: ¿Recientemente ha padecido del virus de la hepatitis o alguna insuficiencia hepática?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

Otro de los aspectos relacionado con la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa, es el hecho de que las personas a quienes se les tome las muestras sanguíneas no padezcan del virus de hepatitis o alguna insuficiencia hepática. En este sentido, se pudo constatar que el 0% de los entes muestrales, respondió considerando el criterio "SI" y 100% en el criterio "No", Lo cual es positivo porque al existir daño hepático no se sintetiza la enzima de manera adecuada.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

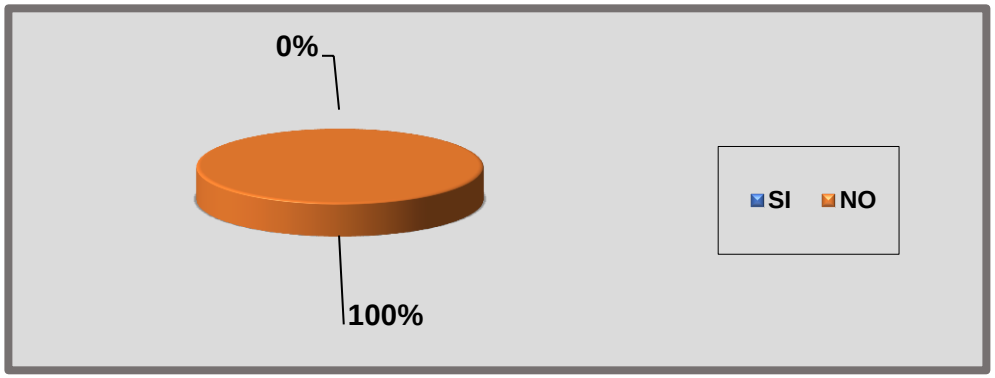

Gráfico Nº 3: ¿Recientemente ha padecido del virus de la hepatitis o alguna insuficiencia hepática?

Tabla Nº 4: ¿Actualmente se encuentra en tratamiento médico con antidepresivos?

www.bdigital.ula.ve

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

Al consultar a los sujetos muestrales si actualmente se encuentra en tratamiento médico con antidepresivos, la respuesta de la totalidad, es decir, el 100%, ubico su respuesta en la categoría "No", lo cual es significativo para la investigación porque al estudiar la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa, los individuos no deben estar consumiendo ningún tipo de medicamentos antidepresivos porque son considerados inhibidores de la enzima, actúan deteniendo su actividad y por ende la degradación de la acetilcolina.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

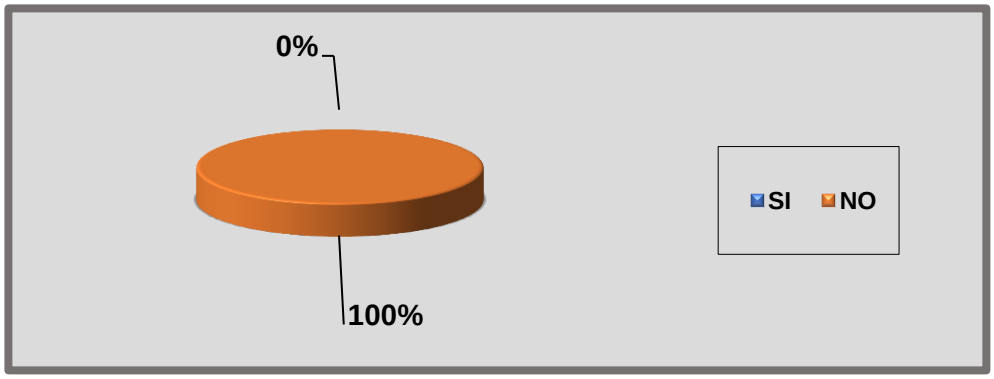

Gráfico Nº 4: ¿Actualmente se encuentra en tratamiento médico con antidepresivos?

Tabla Nº 5: ¿Tiene contacto con la agricultura o con algún tipo de plaguicidas?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes

Se pudo constatar que el 0% de los entes muestrales, respondió considerando el criterio "SI" y 100% el criterio "No", con respecto al hecho de tener contacto con la agricultura o con algún tipo de plaguicidas. El resultado en este aspecto es favorable al momento de determinar la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa, debido a que al estar en contacto con agentes químicos como los plaguicidas los valores de la enizma disminuyen considerablemente.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

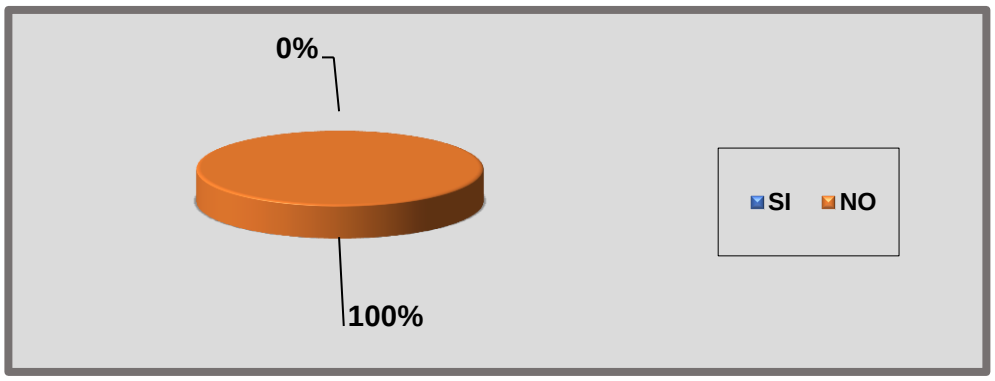

Gráfico Nº 5: ¿Tiene contacto con la agricultura o con algún tipo de plaguicidas?

Tabla Nº 6: ¿Se encuentra en estado de gestación?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

Una vez analizado el ítems 7, se pudo determinar que el embarazo disminuye en cierta magnitud, la actividad de la colinesterasa. En este sentido, la respuesta fue favorable por cuanto el 100% de los entes muestrales se ubicó en la alternativa de respuesta "NO", lo cual es esencial para realizar la variabilidad intraindividual e interindividual de dicha enzima.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

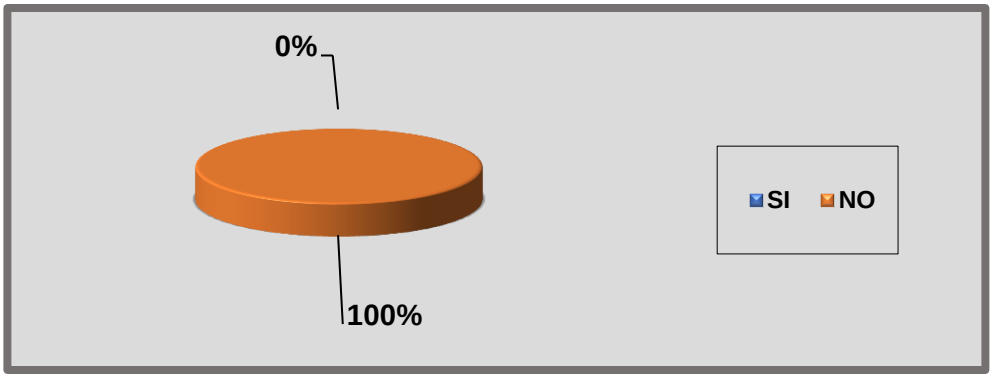

Gráfico Nº 6: ¿Se encuentra en estado de gestación?

Tabla Nº 7: ¿Está en proceso de menstruación?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

En los días del proceso de menstruación la enzima coliesnterasa disminuye significativamente. Sobre este aspecto la totalidad de los entes muestrales, ubicaron su respuesta en la alternativa de respuesta "NO". Eso debido a que con la presencia de la menstruación se normaliza el resultado de los estudios de laboratorio de la enzima antes mencionada.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

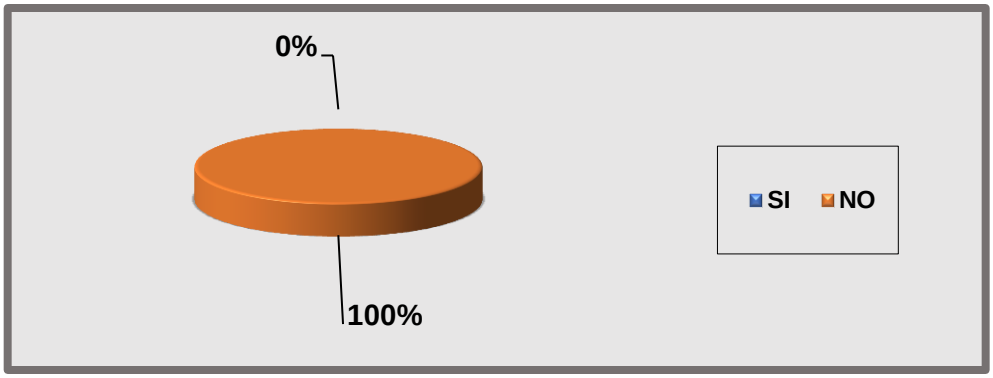

Gráfico Nº 7: ¿Está en proceso de menstruación?

Tabla Nº 8: ¿Recientemente ha sufrido mordedura de serpiente?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

Se pudo constatar que el 0% de los entes muestrales, respondió considerando el criterio "Si" y 100% el criterio "No", al consultarles si Recientemente ha sufrido picadura de serpiente, el resultados es positivo al momento de determinar la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa, porque este contiene fascículos que inhiben la enzima y así la persona afectada pierde control muscular.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

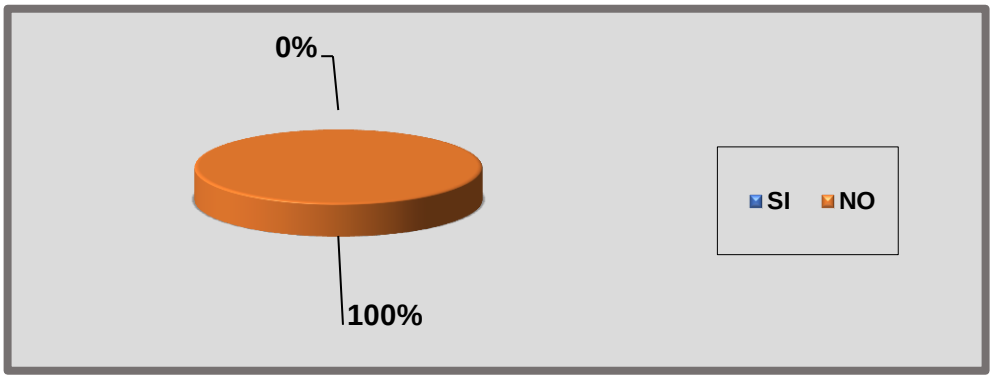

Gráfico Nº 8: ¿Recientemente ha sufrido mordedura de serpiente?

Tabla Nº 9: ¿Presenta alguna quemadura de tipo grave?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

Al consultar a los entes muestrales para esta investigación, se pudo determinar que el 100% "NO" presenta alguna quemadura de tipo grave, lo cual es favorable por cuanto se ha encotrado que lesiones producidas por quemaduras afectan de manera descendiente la enzima colinesterasa.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

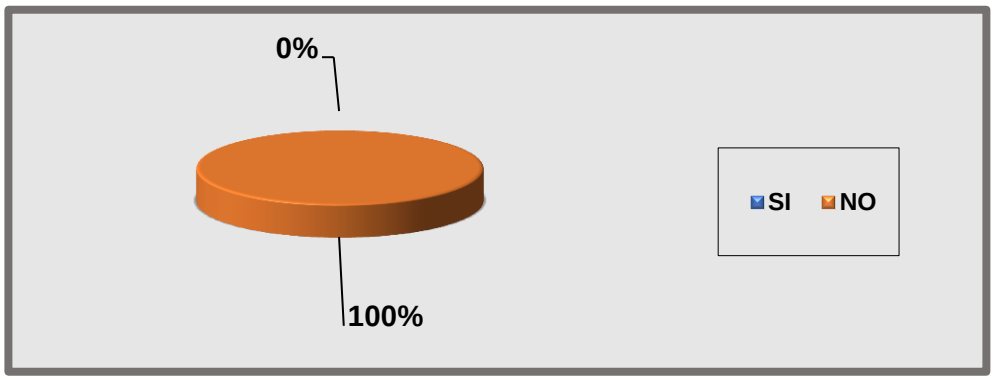

Gráfico Nº 9: ¿Presenta alguna quemadura de tipo grave?

Tabla Nº 10: ¿Ha padecido de infección tetánica?

CRITERIOS	f	%
SI	--	--
NO	20	100
TOTAL	**20**	**100**

www.bdigital.ula.ve

Fuente: Cuestionario Aplicado a los estudiantes.

Al realizar el análisis de la tabla 13, se pudo constatar que el 100% de los entes consultados respondieron en atención al criterio "NO". Eso es ventajoso para la investigación por cuanto este tipo de infecciones es considerada una de las causas más comunes en la disminución de la enzima colinesterasa.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

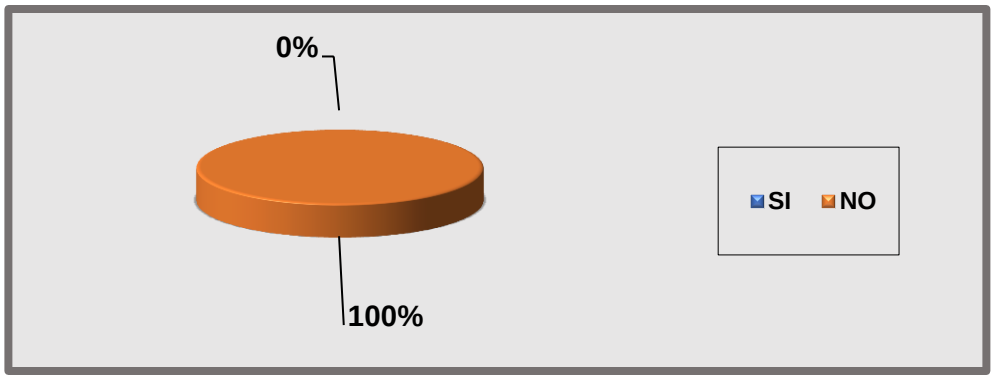

Gráfico Nº 10: ¿Ha padecido de infección tetánica?

Tabla Nº 11. Características demográficas de los estudiantes. Facultad de Farmacia y Bioanálisis U.L.A. Periodo 2015-2016.

www.bdigital.ula.ve

Características demográficas	Valores
Edad (media (DE)) años	27 (3,58)
Sexo (estudiantes (%))	
Femenino	6 (30,00%)
Masculino	14 (70,00%)

Nota: DE= deviación estándar
Fuente: Elaboración propia

Para comparar la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa plasmática en individuos sanos, la muestra quedó conformada por 20 estudiantes de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en el periodo 2015-2016; la edad promedio de los estudiantes fue de 27 años; el 30% corresponde al sexo femenino y 70% al masculino.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla Nº 12: Valores de colinesterasa plasmática (U/L) en individuos sanos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis U.L.A. Periodo 2015-2016.

Estudiante	Días				Media
	Inicio	15	30	45	
1	4.930,35	4.992,60	4.774,13	4.133,17	4.707,56
2	6.149,49	6.683,30	6.017,03	5.288,69	6.034,63
3	4.777,60	6.586,20	4.758,79	4.029,32	5.037,98
4	4.538,43	5.721,90	5.444,38	5.234,88	5.234,90
5	5.193,49	6.232,20	5.218,15	5.547,73	5.547,89
6	5.720,30	6.164,80	5.161,78	5.016,36	5.515,81
7	4.993,50	4.607,80	4.540,32	4.389,10	4.632,68
8	5.706,63	6.301,10	6.003,87	5.987,33	5.999,73
9	5.333,50	6.083,60	4.740,17	5.385,74	5.385,75
10	6.045,21	3.905,10	5.459,99	5.675,24	5.271,39
11	4.863,28	4.968,40	4.367,12	4.766,06	4.741,22
12	4.347,34	4.539,20	5.027,12	6.938,01	5.212,92
13	4.454,04	3.998,70	4.108,39	4.911,28	4.368,10
14	4.793,80	6.541,10	4.802,43	5.139,11	5.319,11
15	4.632,36	4.832,80	5.622,63	4.030,18	4.779,49
16	4.787,04	3.130,70	4.916,36	4.860,26	4.423,59
17	4.398,10	5.954,80	4.506,48	5.212,98	5.018,09
18	5.299,47	3.613,50	5.086,29	4.765,90	4.691,29
19	3.430,58	4.385,60	4.049,61	4.240,54	4.026,58
20	3.581,81	4.911,10	4.225,48	4.392,44	4.277,71
Media	4.898,82	5.207,73	4.941,53	4.997,22	5.011,32

Fuente: Elaboración propia

www.bdigital.ula.ve

La colinesterasa plasmática se midió en cuatro oportunidades a los estudiantes sanos, al inicio se obtuvo un promedio de 4.898,82 U/L, a los15 días de 5.207,73 U/L, a los 30 días 4.941,63 U/L y a los 45 días 4.997,22 U/L; estos resultados conjuntamente con la media de cada estudiante fueron utilizados para determinar la variabilidad intraindividual e interindividual de la colinesterasa plasmática en individuos sanos.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla Nº 13: Comparación de colinesterasa plasmática (U/L) en individuos sanos. Facultad de Farmacia y Bioanálisis U.L.A. Periodo 2015-2016

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Media Cuadrática	F	P
Estudiantes	22.769.423,61	19	1.198.390,72	2,69	0,002*
Día (muestra)	1.125.973,28	3	375.324,43	0,84	0,476
Error	25.358.426,83	57	444.884,68		
Total	49.253.823,71	79			

Nota: * diferencias significativas en la media $p<0,05$; basada en análisis de varianza, variación de la suma de cuadrados en los días 2,69%
Fuente: Elaboración propia

Se empleó el análisis de varianza para determinar la variación entre los estudiantes sanos y los días (muestras) en la variación total de la colinesterasa plasmática; los resultados muestran diferencias significativas en la variación de colinesterasa plasmática entre los estudiantes sanos, no se observó diferencias en el patrón de muestra basada en los días.

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

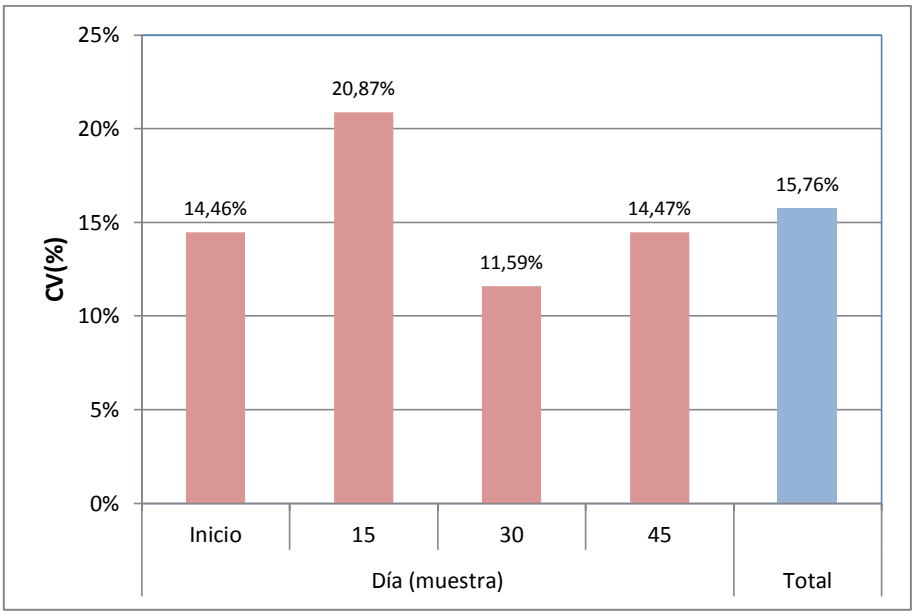

Gráfico Nº 11: Comparación del coeficiente de variación en colinesterasa plasmática en individuos sanos (Interindividual). Facultad de Farmacia y Bioanálisis U.L.A. Periodo 2015-2016.

www.bdigital.ula.ve

En cuanto a la variabilidad interindividual utilizando el coeficiente de variación, se obtuvo en general una variabilidad del 15,76%; al comparar entre los distintos momentos de la muestra, se tiene que al inicio (14,46%), a los 30 días (11,59%) y a los 45 días (14,47%) se observó menos variabilidad de la colinesterasa plasmática con relación a los 15 días (20,87%).

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla Nº 14: Comparación del coeficiente de variación en colinesterasa plasmática en individuos sanos (Intrandividual). Facultad de Farmacia y Bioanálisis U.L.A. Periodo 2015-2016.

Estudiante	Media	DE	CV
1	4.707,56	393,80	8,37%
2	6.034,64	574,67	9,52%
3	5.037,97	1.089,34	21,62%
4	5.234,89	505,33	9,65%
5	5.547,88	483,92	8,72%
6	5.515,82	528,46	9,58%
7	4.632,68	257,34	5,55%
8	5.999,74	242,84	4,05%
9	5.385,74	549,68	10,21%
10	5.271,39	942,37	17,88%
11	4.741,21	262,72	5,54%
12	5.212,93	1.185,12	22,73%
13	4.368,11	410,82	9,41%
14	5.319,11	830,38	15,61%
15	4.779,50	657,48	13,76%
16	4.423,58	863,57	19,52%
17	5.018,08	721,45	14,38%
18	4.691,30	751,23	16,01%
19	4.026,57	420,47	10,44%
20	4.277,70	548,11	12,81%

Nota: DE=desviación estándar; CV=coeficiente de variación

Fuente: Elaboración propia

www.bdigital.ula.ve

La variabilidad intraindividual mediante el coeficiente de variación muestra fluctuaciones entre 4,05% a 22,73%. Siendo el promedio de éstos de 12,27%.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Tabla Nº 15: Comparación de colinesterasa plasmática (U/L) en individuos sanos por sexo según patrón de la muestra. Facultad de Farmacia y Bioanálisis ULA. Periodo 2015-2016.

Día (muestra)	Sexo		P
	Femenino	Masculino	
	Media (DE)	Media (DE)	
Inicio	4.354,89 (722,47)	5.131,93 (581,09)	0,020*
15	4.471,4 (1.006,5)	5.523,28 (989,27)	0,044*
30	4.734,48 (587,5)	5.030,26 (564,01)	0,302
45	4583,72 (439,64)	5174,43 (759,4)	0,094

Nota: * Diferencias significativas en la media $p<0,05$; basada en la Prueba T

Fuente: Elaboración propia

Al comparar la colinesterasa plasmática de los individuos sanos por sexo, se observó diferencias significativas al inicio *p* (0,020) y a los 15 días *p* (0,044), donde en el sexo masculino presentó valores más elevados que el femenino; no se observaron diferencias a los 30 y 45 días.

www.bdigital.ula.ve

Discusión

La importancia de conocer la variación intraindividual en la actividad normal de la colinesterasa plasmática, es fundamental para la identificación de posibles disminuciones de los niveles normales, producidos por la presencia de los insecticidas organofosforados y otros factores en el organismo. Con el fin de comparar los resultados de este estudio con otros semejantes, fue necesario estimar coeficientes de variación, dado que no todos los autores han utilizado las mismas unidades de medición. En este sentido se obtuvo en general una variabilidad interindividual del 15,76% y en cuanto a las variaciones intraindividuales se mostró una fluctuación entre el 4,05 y 22,73%, el promedio de estos coeficientes fue de 12,27% en plasma,

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

valores cercanos a lo reportados por Yager, McLean, Hudes y Spear con un valor de 14,4% en plasma y a Gage con valores de 10,3% en plasma, también Maroto *et al* refirieron valores de menor magnitud en su estudio de 8,24% de variación intraindividual en plasma, muy cercanos a los que obtuvo Callaway, Davies y Rutland de 8,5% en plasma, esta disminución posiblemente se oriente a un control de calidad muy estricto aplicado en el laboratorio, este control tiene un efecto que puede disminuir la variación por los cambios diarios del laboratorio (días). Otros autores han encontrado que no es relevante el nivel de significancia entre la variación interindividual, tal es el caso de Jimenez et al, que observaron un valor de $p>0.05$. Este autor coincide con Adum (2015) quién determinó valores de referencia de las colinesterasas y los resultados arrojados concluyeron que los valores de normalidad para la población sana, en cantidad, no difieren significativamente con los propuestos por el Método de Ellman.

En el estudio se obtuvo en general una variabilidad interindividual de las colinesterasas plasmáticas medidas por el coeficiente de variación de 15,76% valores semejantes a los obtenidos por Maroto et al de 14,8%, Yager et al con 15,1% y finalmente con Gage con 17%.

www.bdigital.ula.ve

La variación intraindividual de las colinesterasas plasmáticas resultó menor que la variación interindividual, semejante a los resultados obtenidos por Sawistky et al.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

Luego de analizar y discutir los resultados se obtiene una serie de conclusiones orientadas a dar respuestas en general al objetivo planteado:

Los valores de colinesterasa se encuentran dentro de un amplio rango de normalidad, incluídas las variaciones intraindividuales e interindividuales. Además, hay que considerar que los valores de referencia para estas enzimas varían de acuerdo con el método y las condiciones en las que se mide su actividad.

www.bdigital.ula.ve

La variabilidad total de los niveles de colinesterasa plasmática, en un grupo de individuos, tiene dos componentes básicos: la variabilidad intraindividual y la variabilidad interindividual, esta última se atribuye al error experimental de medición, variación básica individual y a variaciones temporales de origen desconocido.

El control de calidad en el laboratorio permite una disminución del error analítico, tiene un efecto que puede disminuir la variación por los cambios diarios del laboratorio (días) en las mediciones.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Recomendaciones

Se recomienda que, antes de realizar estudios de la actividad colinesterásica en individuos expuestos a organofosforados y carbamatos, se tome en cuenta la variabilidad que existe en cada individuo, lo que resulta de importancia al momento de hacer las mediciones de la enzima y establecer juicios de los resultados obtenidos.

Tomar en cuenta que hay factores como enfermedades, medicamentos, embarazo, causas ambientales y alimentarias, que pueden ocasionar una disminución de la enzima colinesterasa plasmática, por lo que hay que aplicar un instrumento de recolección de datos para minimizar errores.

Por otra parte, se sugieren estudios más amplios que, definan más a fondo cuáles son las causas de la inhibición de la enzima, en individuos con deficiencias nutricionales, así como el estrés, infarto cardiaco y estado de gestación.

www.bdigital.ula.ve

Realizar estudios que, establezcan valores de referencia de acuerdo con las condiciones demográficas, geográficas y sociales de cada región del país.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

REFERENCIAS BIBLIOHEMEROGRÁFICAS

Adum, M. (2015). Determinación de los intervalos de referencia de la colinesterasa plasmática y eritrocítica en adultos sanos, de la ciudad de Portoviejo, Ecuador. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ciencias Químicas. *Revista San Gregorio*, 56-67.

Alles, G., y Hawes, R. (1940). Biol. Chem. 375-390.

Augustinsson, K. (1963).Handb. d. Experiment Pharmakologie Sub., Ed. Koelle, G. 15, Springer: Berlin-Gottingen, Heidelberg, 89-128.

Arias F. (2006), El Proyecto de Investigación. Caracas, Venezuela. Editorial EPISTEME, C. A.

Birks, J. (2009). Inhibidores de la colinesterasa para la enfermedad de Alzheimer. [Página web en línea]. Disponible: http://www.cochrane.org/es/CD005593/inhibidores-de-la-colinesterasa-para-la-enfermedad-de-alzheimer [Consulta: 2016, Marzo 28].

Callaway, S., Davies, D.R., Rutland, J.P. Blood cholinesterase levels and Range of Personal Variation in a Healthy Adult population. *Brit. Med. J.* Volumen (2) 812-816.

www.bdigital.ula.ve

Carmona, J. (2006). Colinesterasas eritrocitaria y plasmática en trabajadores con enfermedades crónicas controladas y en usuarios de medicamentos. *Redde Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal, 19*, 14-28.

Córdoba D, Cadavid I, Ramos J**.** (2011). *Colinesterasa plasmática. Córdoba D. Toxicología (4ta edición).* Manual Moderno. Bogotá.

Carmona, J. Henao, S. Garcés, R. (2000). Valores de referencia de actividad colinesterásica sanguínea en población laboral activa no expuesta a plaguicidas inhibidores de colinesterasaValores de referencia de actividad colinesterásica sanguínea en población laboral activa no expuesta a plaguicidas inhibidores de colinesterasa. Rev. Fac. Nac. Salud Pública 2000; 18(2): 55-72

Dietz, A. Rubinstein, H., Lubrano, T. (1977) Colorimetric determinationof serum cholinesterase and its genetic variants by the propionyltiocholine-dithiobis(nitrobenzoic acid) procedure. In selectd Methods of Clicical Chemestry Volumen (8). 41-46.

Escobar, F., Esquer, D., Y Nateras, M (2004). Fisiopatología de la Intoxicación por Inhibidores de la Colinesterasa. [Página web en línea]. [Consulta: 2016, Marzo 15]. Disponible en:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

http://www.anestesiawebns.uabc.mx/aweb/residentes/fisiopatole.

Fernández, R.M., Ramallo, A., Carmona, g., Carrasco, M.S. (2011). Papel de las colinesterasas plasmáticas. *Revista Española de Anestesiología y Reanimación*, 58, 508-516.

Ferrer, A., (2003). *Intoxicación por plaguicidas*. [Página web en línea]. Disponible: http://cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol26/sup1/suple9a.html

Gage, J.C. (1967) The significance of Blood Cholinesterase Activity Measurements. *Residues rev. volumen (18) 159-173.*

Glick D. (1938). *Biol. Chem.* 729-739.

Glick D. (1939). *Biol. Chem*. 527-534.

Glick D. (1941). Biol. Chem. 357-362.

Guerra, M., Cargnel, E., Osta, V., (2005). Determinación de valores de referencia de Colinesterasa plasmática e intraeritrocitaria en ni;os de una población hospitalaria [Página web en línea]. Disponible: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-00752005000600004 [Consulta: 2017, Marzo 16]

www.bdigital.ula.ve

Gutiérrez, M. (1998). Inhibidores de Colinesterasa en Urgencias Toxicológicas. [Página web en línea]. Disponible: https://encolombia.com/medicina/guiasmed/u-toxicologicas/inhibidores-de-la-colinesterasa/ [Consulta: 2016, Marzo 30]

Henao, S., Zapata, F., Restrepo., et al. (1990). *Actividad colinesterasica en menores trabajadores de Antioquia, Colombia.* Instituto de signos sociales y Universidad de Antioquia. Colombia.

Herrera, G. (2011). Diferencias interindividuales e intraindividuales [Página web en línea]. Disponible en : https://es.scribd.com/doc/183031628/Diferencias-Interindividuales-Interindividuales-e-Intraindividuales.

Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2008). Metodología de la Investigación. McGraw Hill. México.

Hurtado, J. (2007). El proyecto de investigación. Caracas: Editorial Quirón-Skypal. 97-101.

Instituto Nacional Sobre el Envejecimiento. (2016). Medicamentos para la enfermedad de Alzheimer. [Página web en línea].. Disponible en:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

https://www.nia.nih.gov/espanol/publicaciones/medicamentos-enfermedad-alzheimer [Consulta: 2016, Abril 01]

IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature. (1964). The nommenclature of Múltiple Forms of Enzymes Recommendations, *Biochem.,* 769-771.

Jiménez, M., Schosinnky, K. (2009) Valores de referencia de la colinesterasa plasmática y eritrocítica en población costarricense. Comparación del desempeño clinico de ambas enzimas. Revista Panamá volumen (14), 130-138.

Jiménez, M. (1999) Modificación de un método para colinesterasa plasmática empleando la reddución del ferricianuro como indicador. *Revista Costarricense de Ciencias Médicas* volumen (20) 3-4.

Johnson, G. (2008). Butyrylcholinesterase Action Is Vital, But Ill-Understood. *Clinical & Forensic Toxicology News, 52***,** 244-260.

Ladrón, M. (1995). Toxicología Médica Clínica y S. Dony Editorial Mc Graw-Hill-Interamericana. España. 314-328.

www.bdigital.ula.ve

Lee C. (1994). Suxamethonium in its fifith decade. En: Muscle Relaxants. Clinical Anesthesiology, Baillier s. Eds Goldhill DR, Flynn PJ. Bailliere Tindall De. London, Philadelphia, Sydney, Tokyo, Toronto; 8: 417-440.

Zimmer, K.R, Lencina, C. L., Thiesen, F,V.(2001). Influence of physical exercise and gender on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase activity in human blood samples. *Int J Environ Health Res,* 9, 60-67.

Maroto y col (2007). Variabilidad intrainvidual de la actividad de la colinesterasa sanguinea en una muestra humana costarricense. *Proyecto UNA-OEA Contaminación ambiental asociada a la producción agrícola.*

Medina, J. (1978). Las colinesterasas del suero humano. Universidad de Murcia. España. 85-146.

Mendel, B., y Rudney, H., Biochem. (1943). Science, 98-201-292.

Mercé, P. (2001) *Tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.* [Página web en línea]. Disponible: https://www.medicina21.com/especialidades/ver2/1262

Murguía. (2004). Intoxicación por organofosforados. [Página web en línea]. Disponible en:

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

http://www.miDediatra.com.mx/pediatras/organofosforados.html [Consulta: 2016, Marzo 25].

OPS. (2009). *División de Salud y Ambiente de la Organización Panamericana de la Salud. Minimizing occupational exposure to pesticides: Cholinesterase determination and organophosphorus poising.*

Pallela, S. y Martins, F. (2004). Metodología de la Investigación Cuantitativa. Fedeupel. Caracas – Venezuela.

Rodríguez, E. (2013). Transcripción de Criterios de inclusión y exclusión. [Documento en línea]. Disponible: [Consulta: 2017, Abril 24].

Sanz, P., Repetto, M (1995). *Implicaciones toxicológicas de las enzimas colinesterasas. En:* Repetto M. Toxicología avanzada. (2da ed.) Madrid. 117-145.

Sawitsky, A.M., Fitch, M., Meyer, L.M. A study of Cholinesterase Activity in the Blood of Normal Subjects. *J. Lab. Clin.Med.* volumen (33) 203-206.

Skoog, J., Leary J., (2001) Análisis Instrumental. (2da ed.) México. Editorial McGraw. 577-579

www.bdigital.ula.ve

Sonzini, B. (2017). Guías de Neuro. Neurotrasmisores. [Página web en línea]. Disponible> http://www.guiasdeneuro.com/neurotransmisores/ [Consulta: 2017, Febrero 10].

Tejedor, M. (2011). Toxicidad de Organofosforados y Carbamatos: *Mecanismo de accón de los plaguicidas organofosforados y carbamatos. Efectos sobres la transmisión nerviosa: Inhibición de la Acetilcolinesterasa*. *Diferencias* interespecíficas de las esterasas. Disponible: http://www3.uah.es/bioquimica/Tejedor/bioquimica_ambiental/BA-RES-12.pdf

Vahlquist, B. (1935). Skand. Arch. Physiol. 133-160.

Yager, J., McLean, A., Hudes, M., Spear, R.C. (1976) Components of Variability in blood cholinesterase assay results *J. Occup. Med.* Volumen (18) 242-244.

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ANEXOS

www.bdigital.ula.ve

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ANEXO A

[INSTRUMENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN]

"VARIABILIDAD INTRAINDIVIDUAL E INTERINDIVIDUAL DE LA COLINESTERASA PLASMÁTICA EN INDIVIDUOS SANOS DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS EN EL PERIODO 2015-2016"

HISTORIA CLÍNICO-EPIDEMIOLÓGICA

Historia N°: _____

Anamnesis

Apellidos y Nombres: _____

C.I.: _____ Género: M____ F____

www.bdigital.ula.ve

Edad: _____ Ocupación: _____ Teléfono: _____

Dirección: _____

_____

1) ¿Presenta algún proceso infeccioso?

Sí ____ No ____

2) ¿Ha sufrido de infarto cardíaco?

Sí ____ No ____

3) ¿Recientemente ha padecido del virus de la hepatitis o alguna insuficiencia hepática?

Sí ____ No ____

4) ¿Actualmente se encuentra en tratamiento médico con antidepresivos?

Sí ____ No ____

5) ¿Tiene contacto con la agricultura o con algún tipo de plaguicidas?

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

Sí ____ No ____

6) ¿Se encuentra en estado de gestación?

Sí ____ No ____

7) ¿Está en proceso de menstruación?

Sí ____ No ____

8) ¿Recientemente ha sufrido mordedura de serpiente?

Sí ____ No____

9) ¿Presenta alguna quemadura de tipo grave?

Sí ____ No ____

10) ¿Ha padecido de infección tetánica?

Sí ____ No ____

OBSERVACIONES: _____

www.bdigital.ula.ve

_____

_____

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ANEXO B

[CONSENTIMIENTO PARA ENCUENSTA Y ANÁLISIS SANGUÍNEO]

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES

"VARIABILIDAD INTRAINDIVIDUAL E INTERINDIVIDUAL DE LA COLINESTERASA PLASMÁTICA EN INDIVIDUOS SANOS DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS EN EL PERIODO 2015-2016"

CONSENTIMIENTO PARA ENCUESTA Y ANALISIS SANGUÍNEO

APELLIDO Y NOMBRE: _____ FECHA: _____

C.I.: _____

1.- Consiento en contestar varias preguntas relacionadas con mi trabajo y mi salud a: MSc. Léster Rodriguez, Brs. Mejias Diana y Diaz Dariana. Y en permitirles que efectúen en mi persona una determinación de los niveles de Colinesterasa Plasmática, así mismo, doy mi aprobación para que me sean tomadas 4 muestras sanguíneas cada 15 días por 2 meses consecutivos.

www.bdigital.ula.ve

2.- Entiendo que los procedimientos descritos en el párrafo uno (1) no involucran ningún riesgo o malestar para mí o mi salud.

3.- Entiendo que los datos que obtengan de mí los investigadores son de carácter confidencial y que serán usados para el mejor entendimiento de la actividad de dicha enzima. Entiendo que los investigadores aceptan que en ningún momento esta información estará disponible para ser usada por personas no relacionadas con la presente investigación.

4.- Entiendo que esta investigación ayudará a un mayor entendimiento de la Actividad de la Colinesterasa Plasmática en personas sanas.

Nota: Señor (a) participante: al firmar usted, está decidiendo colaborar en este proyecto de investigación. Su firma indica que ha leído lo que se informa en esta hoja y que está de acuerdo con lo señalado anteriormente.

_____	_____	_____
Firma Voluntario	Br Dariana Díaz	Br Diana Mejías

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)

ANEXO C

[CONSTANCIA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO]

Quien suscribe, Dra: Lucía Núñez Reinoso C.I Nº 4.657.942 , por medio de la presente hago constar que revisé y validé el instrumento para la recolección de la información, en la investigación Titulada: **VARIABILIDAD INTRAINDIVIDUAL E INTERDIVIDUAL DELA COLINESTERASA PLASMATICA EN INDIVIDUOS SANOS DE LA FACULTAD DE FARMACIA UNA EN EL PERIODO 2015-2016,** Presentada **por** presentado por las bachilleres : MEJIAS DIANA C.I.: V- 18.350.338, y DIAZ DARIANA C.I.: V.- 19.643.815 quienes obtendrán el título de Licenciado en Bioanálisis en la Universidad de Los andes, Facultad de Farmacia y Bioanálisis respectivamente.

www.bdigital.ula.ve

Constancia que se expide de la parte interesada a diecinueve días del mes de enero del 2016.

Experto. Lucía Núñez Reinoso

C.I.Nº 4.657.942

Atribución - No Comercial-Compartir Igual 3.0 Venezuela (CC BY - NC - SA 3.0 VE)