

IMPACTO CITOTÓXICO DEL PROPILEN BISDITIOCARBAMATO POLIMERICICO DE ZINC (PROPINEB) EN LINFOCITOS HUMANOS.

CYTOTOXIC IMPACT OF THE PROPILEN BISDITIOCARBAMATE ZINC'S POLIMERIC (PROPINEB) IN HUMAN LYMPHOCYTES.

Carlos Hernán Barrera Rojas, Liz Carolina Pardo Echeverría, Zaida Zarely Ojeda.

Escuela de Ciencias Biológicas, Facultad de Ciencias Básicas,
Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja (Boyacá).

RESUMEN

El Propilen Bisditiocarbamato Polimerico de Zinc (Propineb) es un compuesto orgánico utilizado como ingrediente activo en la elaboración del fungicida Antracol WP 70, para el control de hongos patógenos en plantas. De acuerdo con el amplio e incorrecto uso observado durante la aplicación del producto en cultivos agrícolas, en este estudio se propuso evaluar la toxicidad a nivel celular (Citotoxicidad) de la formulación comercial del Propineb en cultivos de linfocitos humanos de sangre periférica. A partir de la prueba de Índice Mitótico (IM), se evaluaron las concentraciones 2,5, 1,25, 0,62, 0,31, 0,16, 0,08, 0,04, 0,02 y 0,01 mg/ml. Se encontró una relación dosis-efecto estadísticamente significativa entre el aumento en la concentración y la disminución en el porcentaje de células en mitosis. Las concentraciones más altas 2,5, 1,25 y 0,62 mg/ml retrasaron el IM en un 76,7, 42 y 46,6% respectivamente; de estas, la concentración 2,5 mg/ml se reporta con impacto citotóxico en cultivos de linfocitos humanos. Lo anterior puede indicar que, los individuos expuestos a este fungicida, corren el riesgo de experimentar una posible alteración a nivel de ciclo celular. Se espera continuar con estudios de Toxicología Genética y Citogenética en el departamento de Boyacá para evaluar los diferentes efectos que pueda originar en los seres vivos, el uso incorrecto y exagerado de los plaguicidas.

Palabras clave: Citotoxicidad, fungicida, Linfocitos, Índice Mitótico, Ciclo Celular, In Vitro.

Recibido: Febrero 16 de 2009

Aceptado: Septiembre 30 de 2009

Correspondencia: Carlos Hernán Barrera Rojas. Calle 46 B No 11 A – 14 Barrio Las Marías (Sogamoso – Boyacá). Fax: (8) 7436232. E-Mail: cahebaro@yahoo.com.

ABSTRACT

The Propilen Bisdithiocarbamate Zinc's Polymeric (Propineb) is an organic compound used as active ingredient in the elaboration of the Antracol WP 70 fungicide for the control of pathogen fungus in plants. According to the wide and incorrect use observed during the application in agricultural farming, in this study, to evaluate the Propineb toxicity to cellular level (citotoxicity) in human lymphocyte cultures of peripheral blood was proposed. From the mitotic index test (MI), the concentrations 2,5, 1,25, 0,62, 0,31, 0,16, 0,08, 0,04, 0,02 and 0,01 mg/ml were evaluated. A dose-effect relationship significantly greater between the increases in the concentration and decrease in the percentage of cells in mitosis was found. The highest concentrations, 2,5, 1,25 y 0,62 mg/ml retarded the MI, respectively, in a 76,7, 42 and 46,6%. Of these concentrations, the 2,5 mg/ml is reported with cytotoxic impact in human lymphocytes cultures. It indicates that the exposed individuals to this fungicide have the risk of experiencing a possible alteration at level of cellular cycle. To continue with Genetic Toxicology and Cytogenetic Studies in the department of Boyacá to evaluate the different effects of physical, chemical and biological compounds that it can cause by the incorrect and exaggerated use in the alive beings is expected.

Key words: Cytotoxicity, Fungicide, Lymphocytes, Index Mitotic, Cellular Cycle, In Vitro.

INTRODUCCIÓN

El Propineb es un compuesto organometálico incluido en los fungicidas ditiocarbamatos (1) los cuales son empleados en actividades agrícolas por la alta actividad química y biológica (2). Este compuesto es utilizado como ingrediente activo en la elaboración del Antracol WP 70 para el control de hongos causantes de enfermedades en plantas de cultivos (3) como arroz, café, papa y cebolla, entre otros (4), gracias a su amplio espectro de acción sobre fitopatógenos (2). Este compuesto pertenece a la Categoría Toxicológica III (5), correspondiente a químicos

medianamente tóxicos, cuya Dosis Letal 50 en ratas es de 500-5000 mg/kg (6). El Propineb (Figura 1A) es biotransformado a los metabolitos Propilentiourea PTU (Figura 1B), Disulfuro de Carbono (CS₂) y Zinc (Zn), los cuales pueden contribuir a la toxicidad del mismo (2).



Figura 1. Estructuras químicas del Propineb (A.) y uno de sus metabolitos, Propilentiourea (B. R= -CH₃) (Kazos et al 2107).

Los estudios toxicológicos del
Propineb, se han realizado

grupo control como para las concentraciones. El registro del IM se realizó de acuerdo con el número de células en metafase en relación con el número total de células observadas.

Tratamiento estadístico. Los datos se procesaron con el programa STATGRAPHICS Plus 2,0. Se aplicó un análisis de regresión lineal simple para describir la relación entre el promedio en los IM's y las concentraciones. Se aplicó un análisis de varianza para evaluar la relación entre las concentraciones y el promedio en el IM, y se empleó el coeficiente de correlación para determinar la correlación entre la concentración y el IM.

Consideraciones éticas: Se realizó una reunión con la persona seleccionada en donde se informaron los objetivos, resultados esperados, requerimientos y riesgos de participación. El donante aceptó participar voluntariamente en el estudio y, para tal efecto, firmó un consentimiento informado. Todos los procedimientos mencionados anteriormente, se realizaron con base en la Resolución N° 8430 del Ministerio de Protección Social (17).

RESULTADOS

Índices mitóticos. Se observaron 50000 células; de estas, 5000 (10%) correspondieron al grupo control, y 45000 (90%) a las expuestas a las 9 dosis del fungicida. De las células observadas 2291 (4.6%) se

encontraron en mitosis y 47709 (95.4%) en interfase. En la tabla 1 se muestra el número total de células en mitosis observadas para el grupo control y para cada una de las concentraciones. Con base en los promedios del número de células en mitosis, el IM obtenido para el grupo control se consideró el 100%, y de acuerdo con éste, se obtuvo el porcentaje para las concentraciones evaluadas. Las concentraciones que van desde 2.5 hasta 0.31 mg/ml mostraron una reducción desde 76.7 hasta 21.9% respectivamente en el IM en comparación con el grupo control (100%). Las concentraciones 2,5, 1,25 y 0,62 mg/ml retrasaron el IM en un 76,7, 42 y 46,6% respectivamente; de estas, la concentración 2,5 mg/ml se reporta con impacto citotóxico en los cultivos realizados. Con esto, se muestra una relación dosis-respuesta entre el aumento en la concentración del fungicida y la disminución del IM en los cultivos celulares expuestos.

Análisis de Regresión. Con base en el promedio de los IM's registrados para las cinco repeticiones de cada una de las concentraciones, se confirmó la relación entre el aumento en la concentración del fungicida y la disminución en el promedio del IM. Así mismo, el análisis de varianza demostró, a un nivel de confianza del 99%, que esta relación fue estadísticamente significativa ($P = 0,0012$).

Coefficiente de correlación. La

correlación entre el porcentaje de IM y el aumento en la concentración del fungicida fue -0,86. Esta correlación expresa que la disminución del IM dependió en un 86% del aumento en la concentración del fungicida, con lo cual se registra una relación estadísticamente significativa (Figura 2).

DISCUSIÓN

El presente trabajo evaluó, a partir de la prueba de IM en linfocitos de sangre periférica humana, el impacto citotóxico del Propineb, en su formulación comercial Antracol WP 70, a concentraciones de 2,5, 1,25, 0,62, 0,31, 0,16, 0,08, 0,04, 0,02 y 0,01 mg/ml. De acuerdo con el IM obtenido para el grupo control y para cada una de las concentraciones, se observó que, a

Tabla 1. Número total de células en mitosis (IM) para el grupo control y para cada una de las concentraciones

REPLICA	CONCENTRACIÓN mg/ml									
	Control	2.5	1.25	0.62	0.31	0.16	0.08	0.04	0.02	0.01
1	84	15	30	38	52	55	66	64	44	80
2	72	14	27	35	35	79	40	61	81	56
3	35	14	39	14	33	72	40	73	44	33
4	55	12	46	42	48	29	51	87	69	38
5	33	10	21	21	50	75	29	60	39	53
Total	279	65	162	149	218	310	226	345	277	260
Promedio % IM	55,8 100	13 23,3	32,4 58	29,8 53,4	43,6 78,1	62 111,1	45,2 81	69 123,6	55,4 99,2	52 93,2

medida que se aumentó la concentración del propineb, el número de células en mitosis con respecto al número total de células observadas se redujo. Estos resultados, según Sánchez y Vélez (18) evidencian una relación dosis-efecto, posiblemente al retraso en la división celular por la exposición de los linfocitos a este compuesto.

La concentración 2,5 mg/ml redujo el

IM en un 76,7% con respecto al grupo control. De acuerdo con esto y con lo propuesto por Hoyos y Carvajal (19), una reducción del 50% en el IM en relación con el grupo control, en linfocitos expuestos a compuestos químicos, se considera un indicador de efecto citotóxico; así, para el presente trabajo, esta concentración se reporta con efecto citotóxico. Los resultados del presente estudio muestran un

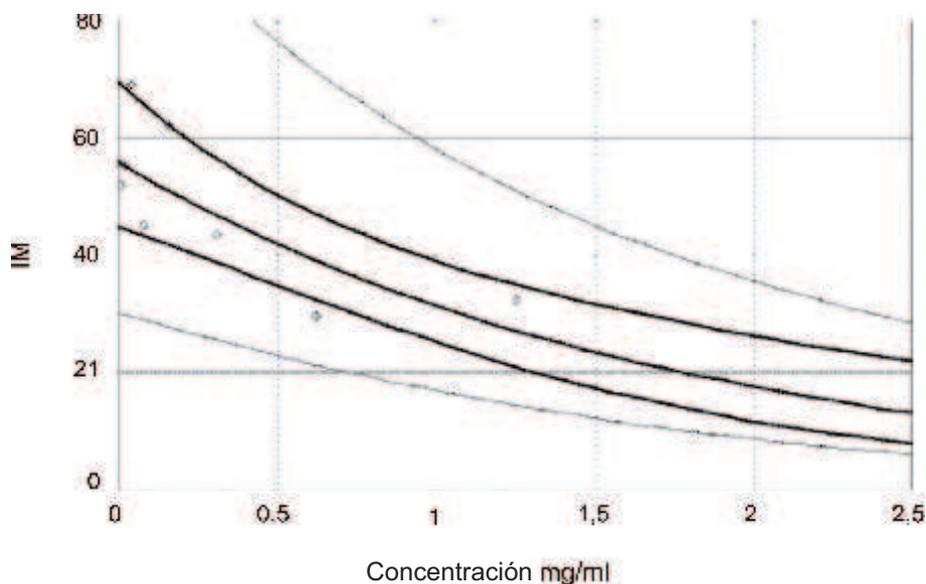


Figura 2. Comportamiento del IM en relación con el aumento en la concentración del Propineb

panorama diferente a los efectos encontrados por Rolandia et al (16) quienes determinaron que la actividad del Propineb en ratones, a partir del Tes. de micronúcleos, no evidenció efectos negativos. En el presente, no se realizaron ensayos de viabilidad, ni estudios comparativos de los efectos del principio activo puro y con los diferentes aditivos de la formulación comercial sobre el índice mitótico.

La citotoxicidad reportada en el presente estudio puede ser debida a la molécula del ingrediente activo Propineb, a los compuestos aditivos de la formulación comercial de ésta, a sus metabolitos Propilentiourea PTU, Disulfuro de Carbono o probablemente al Zinc, el cuál, según Kazos et al (2) el efecto de los compuestos ditiocarbamatos como el propineb

puede incrementar por la presencia de un ión metálico en la molécula.

La literatura reporta que el fungicida, de amplio espectro utilizado para contrarrestar fitopatologías (3), se ubica en una categoría toxicológica mediana (5); sin embargo, su metabolito PTU afecta la tiroides y genera efectos neurotóxicos (2), así como también se puede incrementar con los metabolitos CS₂ y con el metal Zn, el cual tiene un carácter acumulativo (21). Se aclara que en los ensayos experimentales se utilizó un único donante de sangre periférica debido a que nuestro objetivo poblacional se centró a nivel celular no individual. De acuerdo con esto, los efectos citotóxicos encontrados no deben ser extrapolados en términos poblacionales o individuales, sino a

nivel celular e in Vitro. Debido a que a nivel in vivo, el efecto citotóxico puede ser aditivo en los individuos por la exposición a mezcla de compuestos, a factores ambientales, ocupacionales, estilos de vida, hábitos de consumo como tabaquismo, alcoholismo, psicoactividad y hábitos alimenticios. Además, los individuos de acuerdo a su capacidad metabólica presentan procesos de biotransformación que evidencian una respuesta de susceptibilidad individual (6).

Se debe tener en cuenta que la influencia desconocida del ambiente y el mecanismo de reparación celular de los individuos puede determinar significativamente la susceptibilidad y por tanto, la repuesta de los linfocitos frente a las diferentes concentraciones del propineb, pues, las respuestas individuales a los tóxicos ambientales está influenciada por la capacidad metabólica de los individuos y también por la herencia de variación polimórfica (21).

Con el presente estudio se confirmó que el Propilen Bisditiocarbamato Polimérico de Zinc en su formulación comercial, Antracol WP 70, causó un marcado efecto citotóxico, ya que se encontró relación estadísticamente significativa del 86%, entre la disminución del IM y el aumento en la concentración del fungicida. Con base en estos resultados, se espera ampliar los estudios de citotoxicidad de los plaguicidas en humanos y contribuir con los resultados de investigaciones

científicas a la generación y soporte de políticas que propendan por la reducción en el uso de plaguicidas en cultivos agrícolas, que puedan afectar tanto los organismos expuestos como el medio ambiente. Es así, que este trabajo contribuye con los estudios toxicológicos de los plaguicidas y a ser punto de referencia para futuras investigaciones.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan sus agradecimientos a la Escuela de Ciencias Biológicas y a la Dirección de Investigaciones DIN de la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia por el apoyo financiero y de infraestructura para el desarrollo del presente estudio, y a John Jairo Viveros Muñoz por su apoyo y capacitación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Quinto I, De Marinis E. Evaluation of Propineb, a dithiocarbamate pesticide, in the Mouse-Sperm Morphology Assay. *Mutat Resear. Genetic Toxicol* 1983; 124(3-4):235–40.
2. Kazos E, Stalikas C, Nanos C, Konidari C. Determination of dithiocarbamate fungicide propineb and its main metabolite propylenethiourea in airborne samples. *Chemosphere* 2107; 68:2104–10.
3. Güven K, Turkey D, Deveci E, Pomerai D. The Accumulation and histological effects of the

- organometallic fungicide Propineb on the organs of fetuses and female rats during pregnancy. *Journal of Biology* 1999; 23:413–22.
4. Bayer CropScience. Antracol. An old “warhorse” that's still going strong. *Courier Agrochem* 2100; 2:15–7.
 5. Hodgson E, Mailman R. *Dictionary of toxicology*. Segunda edición. London: Editorial McMillan; 1988.
 6. Córdoba D. *Toxicología*. Cuarta edición. Santa Fé de Bogotá: Editorial Manual Moderno, 2101.
 7. Yaldiz M, Akdeniz S, Bilgin UY, Deveci E, Akkuş M, Kilinç M, et al. Teratogenic effects of propineb on rat skin. *Clin Exp Obstet Gynecol* 2100; 27(3-4):235–7.
 8. Güven K, Deveci E, Akba O, Onen A, Pomerai D. The accumulation and histological effects of organometallic fungicides Propineb and Maneb in the kidneys of fetus and female rats during pregnancy. *Toxicol Letters* 1998; 99:91–8.
 9. Larsson K, Arnander C, Cekanova E, Kjellberg M. Studies of teratogenic effects of the dithiocarbamates Maneb, Mancozeb, and Propineb. *Teratology* 1976; 14(2):171–83.
 10. Schmuck G, Ahr H, Mihail F, Stahl B, Kayser M. Effects of the dithiocarbamate fungicide Propineb in primary neuronal cell cultures and skeletal muscle cells of the rat. *Arch Toxicol* 2102; 76(7):414–22.
 11. Hasegawa R, Cabral R, Hoshiya T, Hakoi K, Ogiso T, Boonyaphiphat P et al. Carcinogenic potential of some pesticides in a medium-term multi-organ bioassay in rats. *Int J Cancer* 1993; 55(3):528.
 12. Sáenz D, Simbaqueba A. Evaluación del efecto genotóxico (variantes fenotípicas) del fungicida Antracol WP 70 en cepas silvestres de *Drosophila melanogaster*. Tesis de pregrado en Biología. Escuela de Ciencias Biológicas. Facultad de Ciencias Básicas. Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia. Tunja, Boyacá. Colombia, 2104.
 13. Bonnemain H, Dive D. Studies on synergistic toxic effects of Copper and dithiocarbamate pesticides with the ciliate protozoan *Colpidium campylum* (stokes). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 1990; 19(3):321–26.
 14. FAO/World Health Organization. Pesticides residues in food. Evaluations Part II-Toxicology. Joint FAO/WHO Meeting on Pesticides Residues, Geneva, Switzerland, 21–29 September 1993.
 15. Richardson, M.L., Gangolli, S. En: Richardson, M.L., Gangolli, S. (Eds.), *The Dictionary of Substances and their Effects*. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, UK. 1997.
 16. Rolandi A, De Marinis E, De Caterina M. Dithiocarbamate pesticides: activity of Propineb in

- the micronucleus test in mice. *Mutat Res* 1984;135(3):193–7.
17. Ministerio de Protección Social, República de Colombia. Resolución N° 8430 de octubre 4 de 1993, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Boletín Oficial del Ministerio de Protección Social (en línea). 1993 Octubre. [Consultado 2105, febrero 12]; disponible en: <http://www.minproteccionsocial.gov.co/VBeContent/library/documents/DocNewsNo267711.pdf>
 18. Sánchez S, Vélez G. Evaluación del daño cromosómico potencial in Vitro en tres plaguicidas de uso común: Dithane-M45, Benlate y Glifosato. Tesis de pregrado en Biología. Facultad de Ciencias exactas y Naturales. Departamento de Biología. Universidad de Antioquia. Medellín. Colombia, 1993.
 19. Hoyos L, Carvajal S. Manual de laboratorio. Unidad de Toxicología Genética y Citogenética. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y de la Educación. Universidad del Cauca. Popayán, Colombia, 2100.
 21. Bayoumi AE, Ordóñez C, Pérez Y, Balaña R, Ordóñez D. Citotoxicidad del fungicida mancozeb en cultivos de CHO-K1. *Rev Toxicol* 2102;19:29–34.
 21. Au W, Sierra C, Cajas N, Ship B, Legator M. Cytogenetic effects from exposure to mixed pesticides and the influence from genetic susceptibility. *Environ Health Perspect* 1999; 107:501–5.