

DETECCIÓN DE SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD ESTROGÉNICA EN HORTALIZAS DEL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ MEDIANTE LA TÉCNICA YEAST ESTROGEN SCREEN

Danilo Mora Otalvaro
Paola Andrea Niño Sutta



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá D. C. 2020

DETECCIÓN DE SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD ESTROGÉNICA EN HORTALIZAS DEL DEPARTAMENTO DE BOYACÁ MEDIANTE LA TÉCNICA YEAST ESTROGEN SCREEN

MSc. Patricia Cifuentes Prieto
Asesora interna



Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca
Facultad de Ciencias de la Salud
Programa de Bacteriología y Laboratorio Clínico
Bogotá D. C. 2020



Contenido

Introducción
Marco teórico
Antecedentes
Planteamiento del problema
Objetivos
Metodología
Resultados
Discusión
Conclusiones
Recomendaciones
Agradecimientos

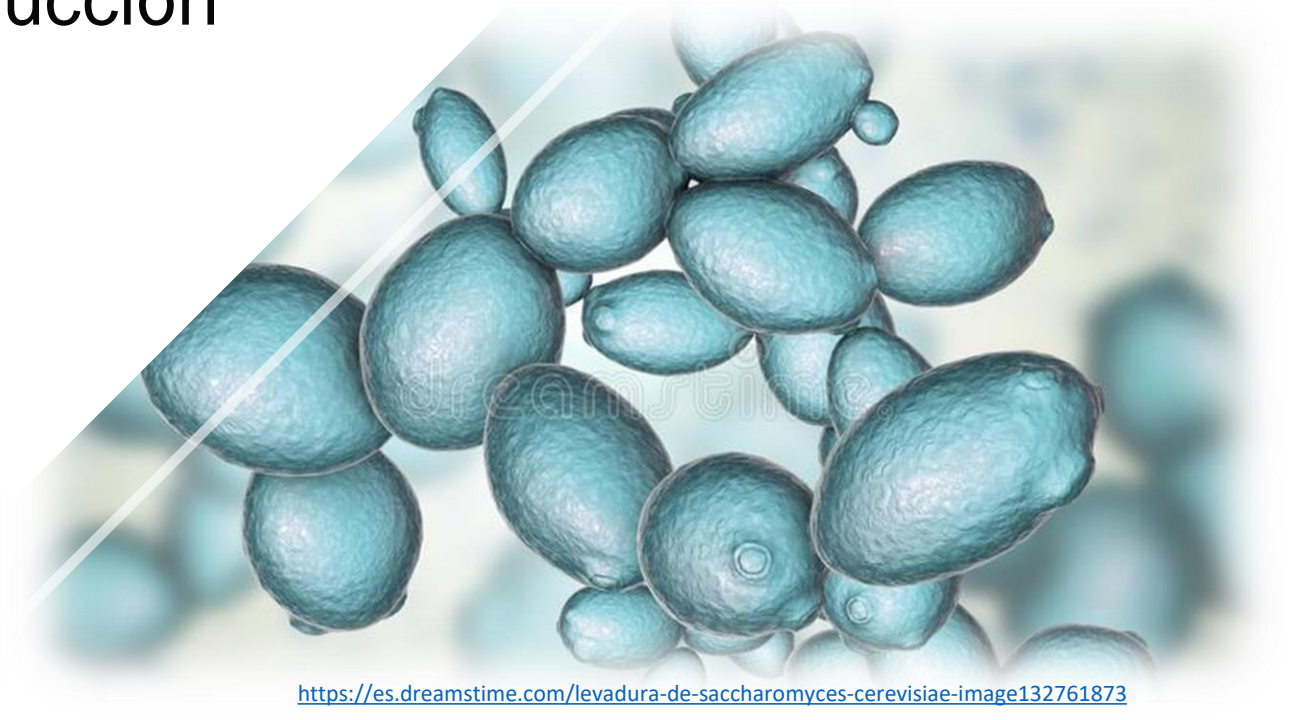




Introducción

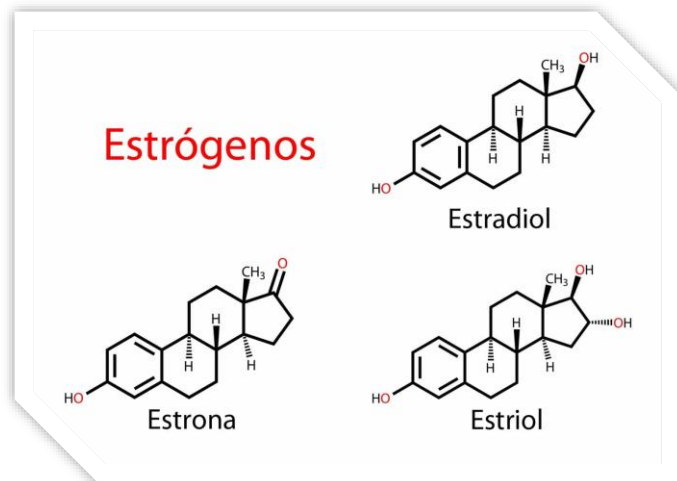


https://en.wikipedia.org/wiki/Boyac%C3%A1_Department



<https://es.dreamstime.com/levadura-de-saccharomyces-cerevisiae-image132761873>

Función de los Estrógenos



CEREBRO

Ayudan a mantener el control central de la temperatura corporal
Tienen efectos sobre la memoria
Maduran al cerebro para llevar a cabo una función reproductiva y sexual

PIEL Y CABELLO

Contribuyen en el crecimiento del cabello y la piel

MAMA

Estimulan el desarrollo de la mama en la pubertad y la preparan para la producción de leche

CORAZÓN E HIGADO

Controlan la producción de colesterol a nivel del hígado, lo que disminuye la aterosclerosis

ÚTERO

Estimulan la maduración del útero en la adolescencia.

Preparan al útero para nutrir al feto durante un embarazo

OVARIO

Estimulan la maduración del ovario

Inician los ciclos menstruales

VAGINA

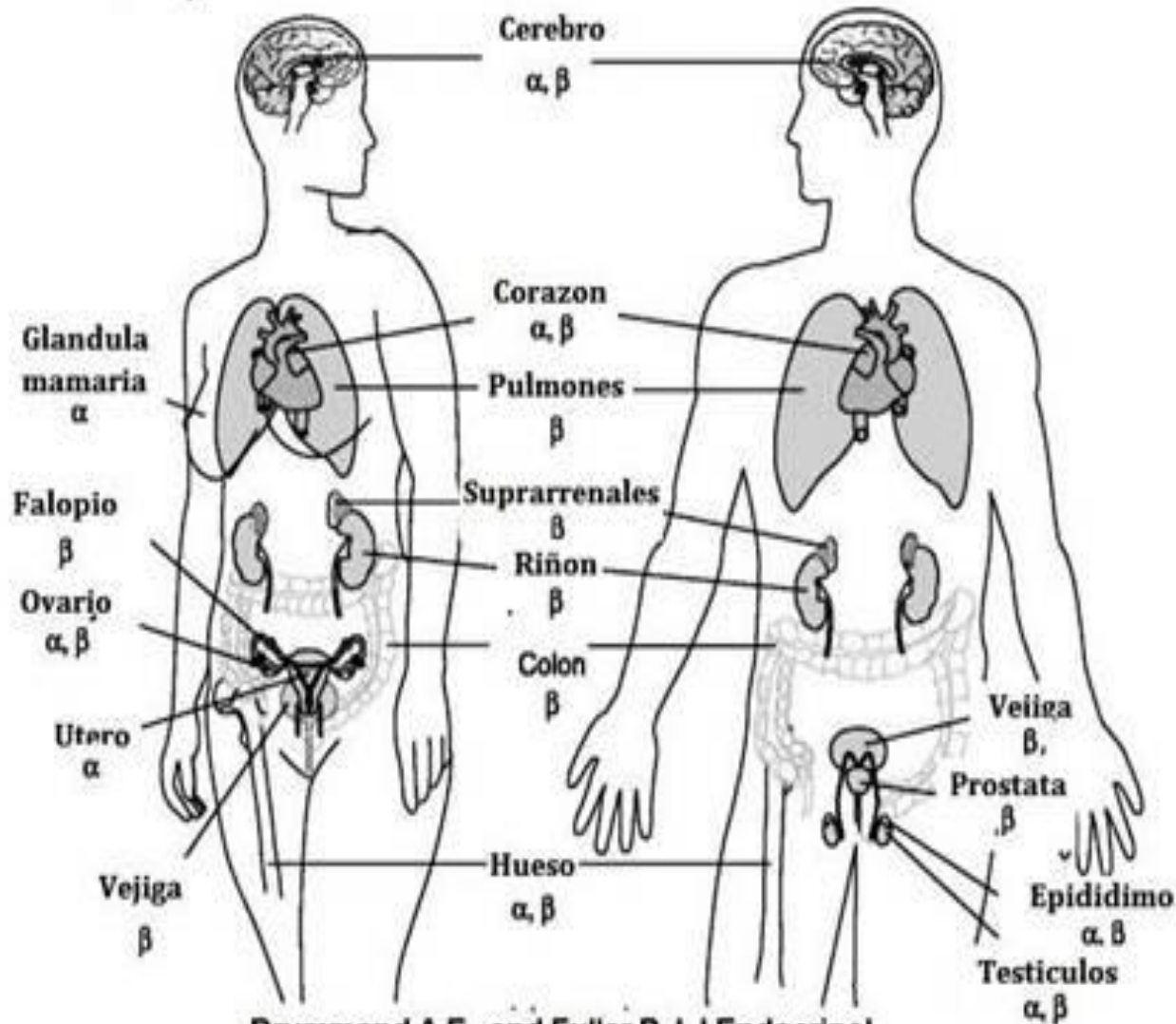
Estimula la maduración de la estructura de la vagina

Ayudan a mantener la lubricación

HUESO

Ayudan a mantener la densidad del hueso

localización del receptor de estrógeno en el tejido humano
alfa y beta
α β



Drummond A E , and Fuller P J J Endocrinol
2010;205:15-23

Receptores estrogénicos

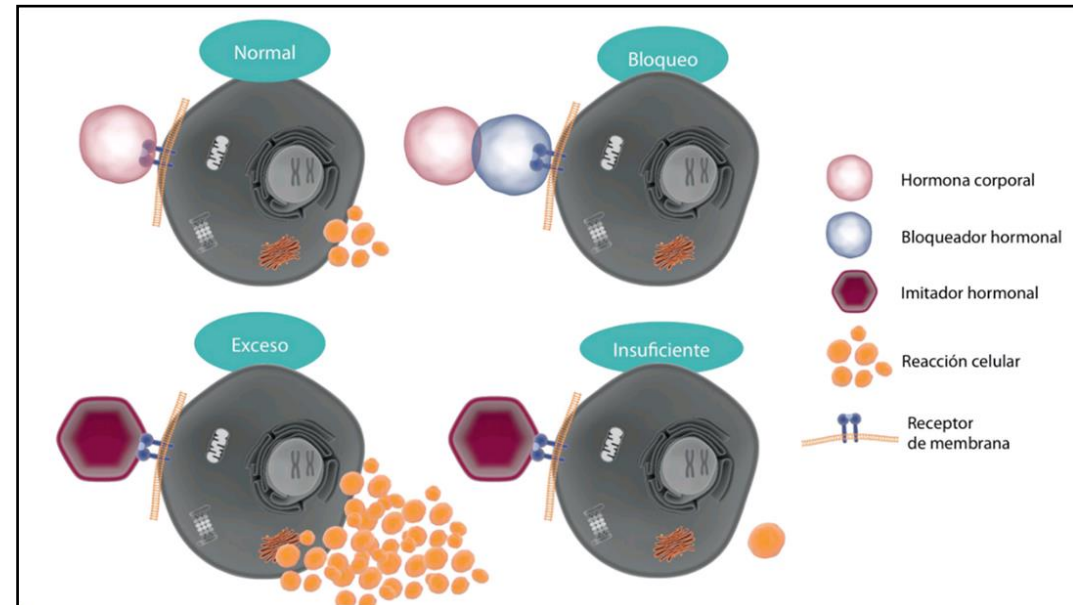
RE Alfa	RE Beta
<ul style="list-style-type: none"> • Longitud 600 aminoácidos • Peso 67 kDa • Presenta más afinidad por el estradiol 	<ul style="list-style-type: none"> • Longitud 500 aminoácidos • Peso 55 kDa • Presenta más afinidad por los fitoestrógenos

Compuestos con disrupción endocrina y Mecanismo de acción

Estos compuestos representan una gran variedad de sustancias, se pueden catalogar por la presencia en el entorno y los sintetizados por el hombre.

Entorno: fitoestrógenos, micoestrógenos y estrógenos, además de algunos metales pesados.

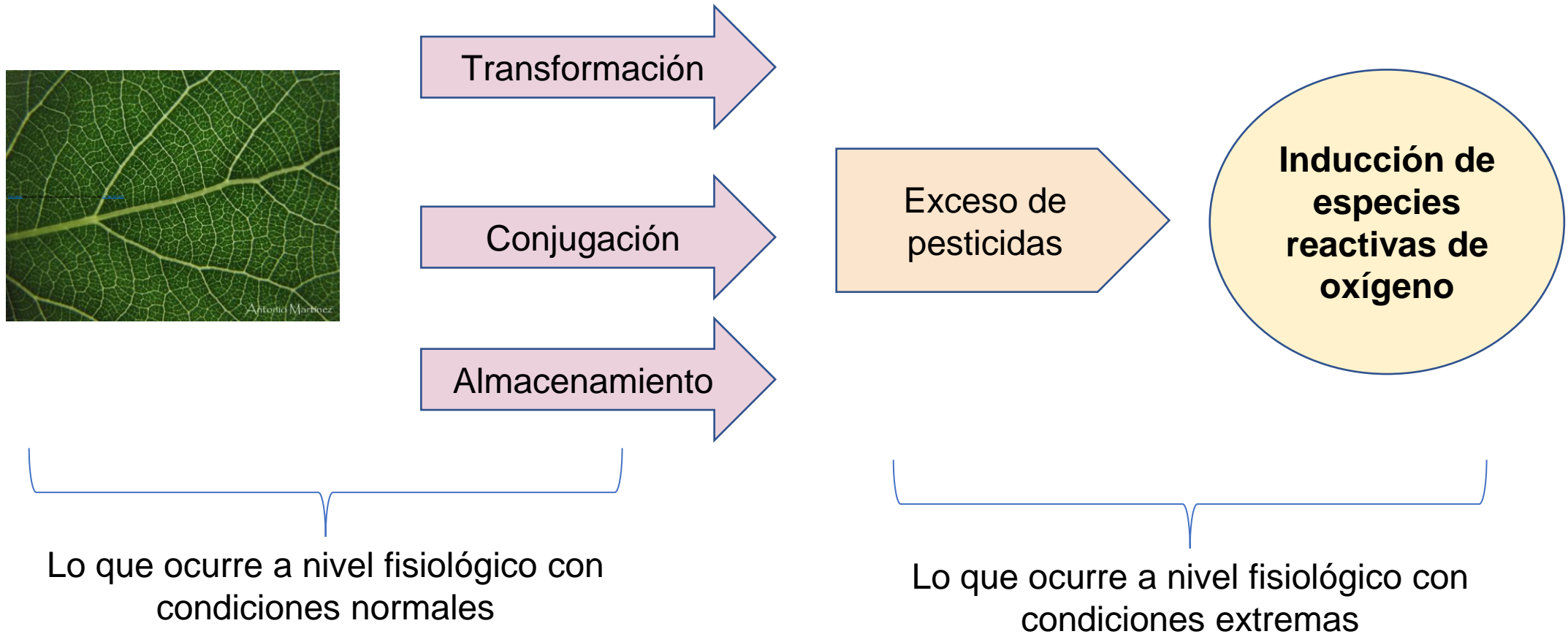
Sintetizados por el hombre: relacionado con procesos industriales para su síntesis como los pesticidas (fungicidas, herbicidas e insecticidas) y otros productos químicos sintéticos



Tipos de sustancias con actividad estrogénica en hortalizas

HORTALIZA	RES. 2906/2007 (LMR) TIPOS DE PESTICIDAS	COMPUESTOS ENCONTRADOS EN LA BASE DE DATOS DE SUSTANCIAS CON ACTIVIDAD ESTROGENICA (EADB)
Cebolla de bulbo	Clorotalonil, Clorpirifos, diazinon, dicloran, ditiocarbamatos, endosulfan, folpet, Malation, metidation, Metomilo (methomyl), procimidona, vinclozolin	Clorotalonil, Clorpirifos, folpet, Malation, Metomilo (methomyl)
Coliflor	Acefato, Clorotalonil, Clorpirifos, dimetoato, endosulfan, fenvalerato, Metomilo, vinclozolin	Clorotalonil, Clorpirifos, dimetoato
Espinaca	Cipermetrin, diazinon, endosulfan, Malation	Cipermetrin, Malation
Hortalizas de hojas	Aldrin, dieldrin, deltametrin, tebuconazole	deltametrin, tebuconazole
Lechugas arrepolladas	Cipermetrin, diazinon, diclofluanida, dimetoato, ditiocarbamatos, endosulfan, fenvalerato, folpet, iprodiona, Metomilo, metoxifenoza, procimidona, vinclozolin	Cipermetrin, dimetoato, folpet, iprodiona, Metomilo
Perejil	Clorotalonil	Clorotalonil

Interacción de los pesticidas con las plantas



Metales

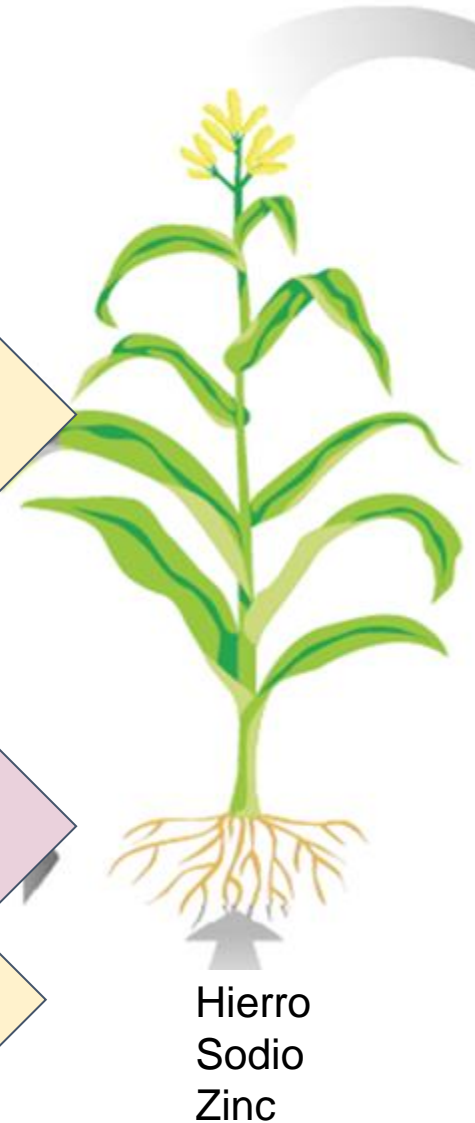
Las plantas requieren metales en mínimas concentraciones

Absorción de metales a los que se encuentre expuesta

Espacio intracelular

Endocitosis que de paso a metaloides innecesarios

Espacio extracelular

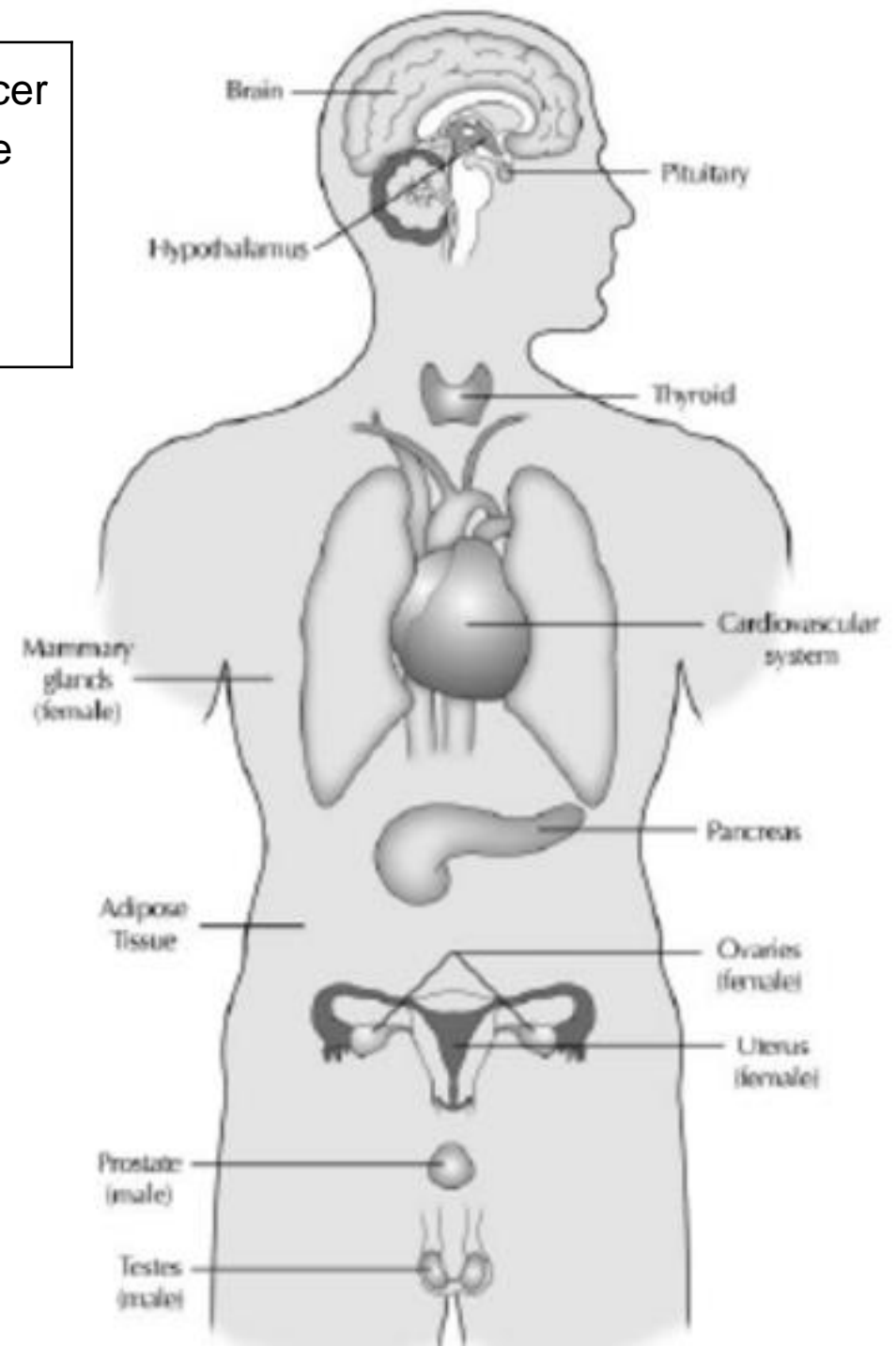


Tumores en
órganos
hormono
dependientes

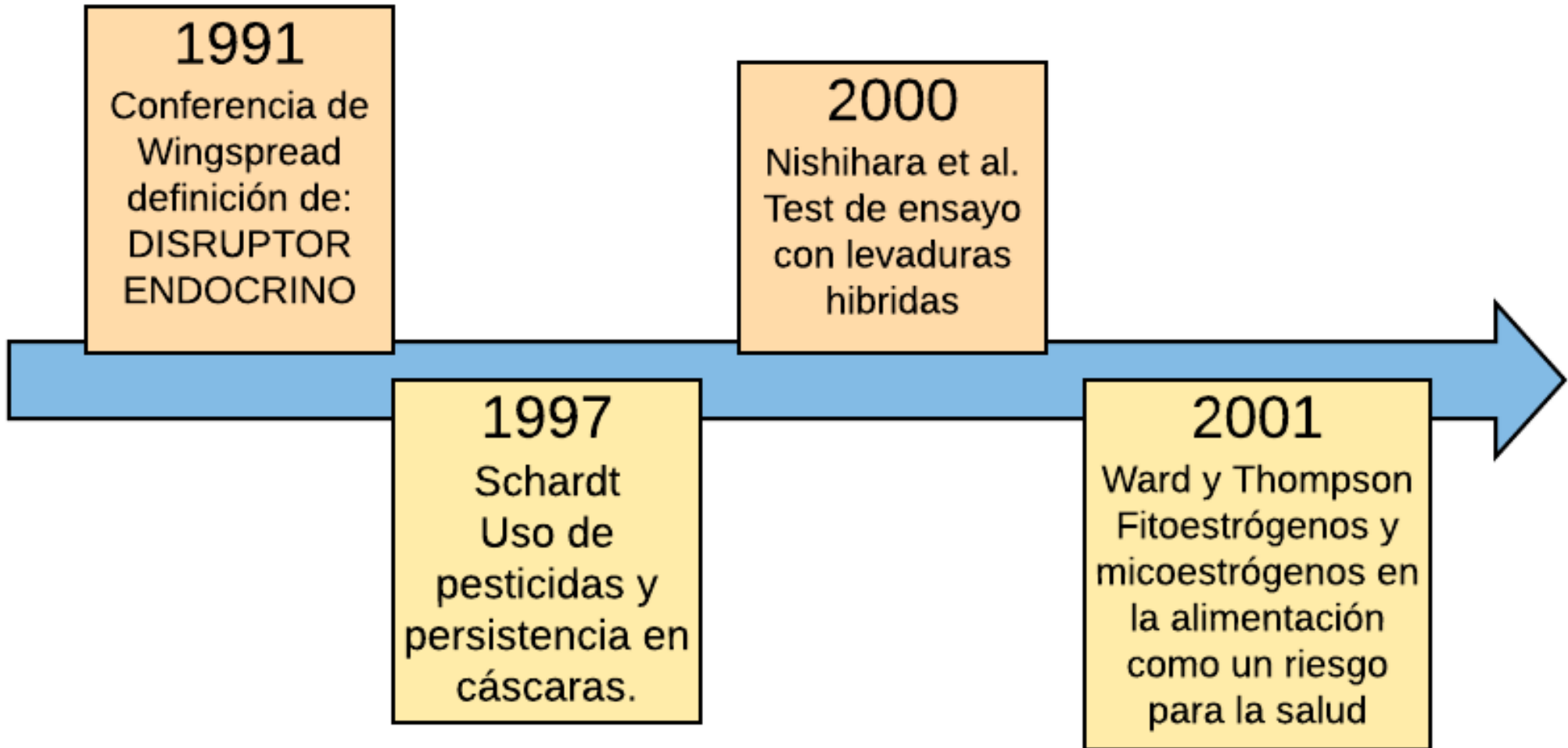
Cáncer de mama, cáncer
de ovarios, cáncer de
próstata, cáncer de
testículo, cáncer de
tiroides.

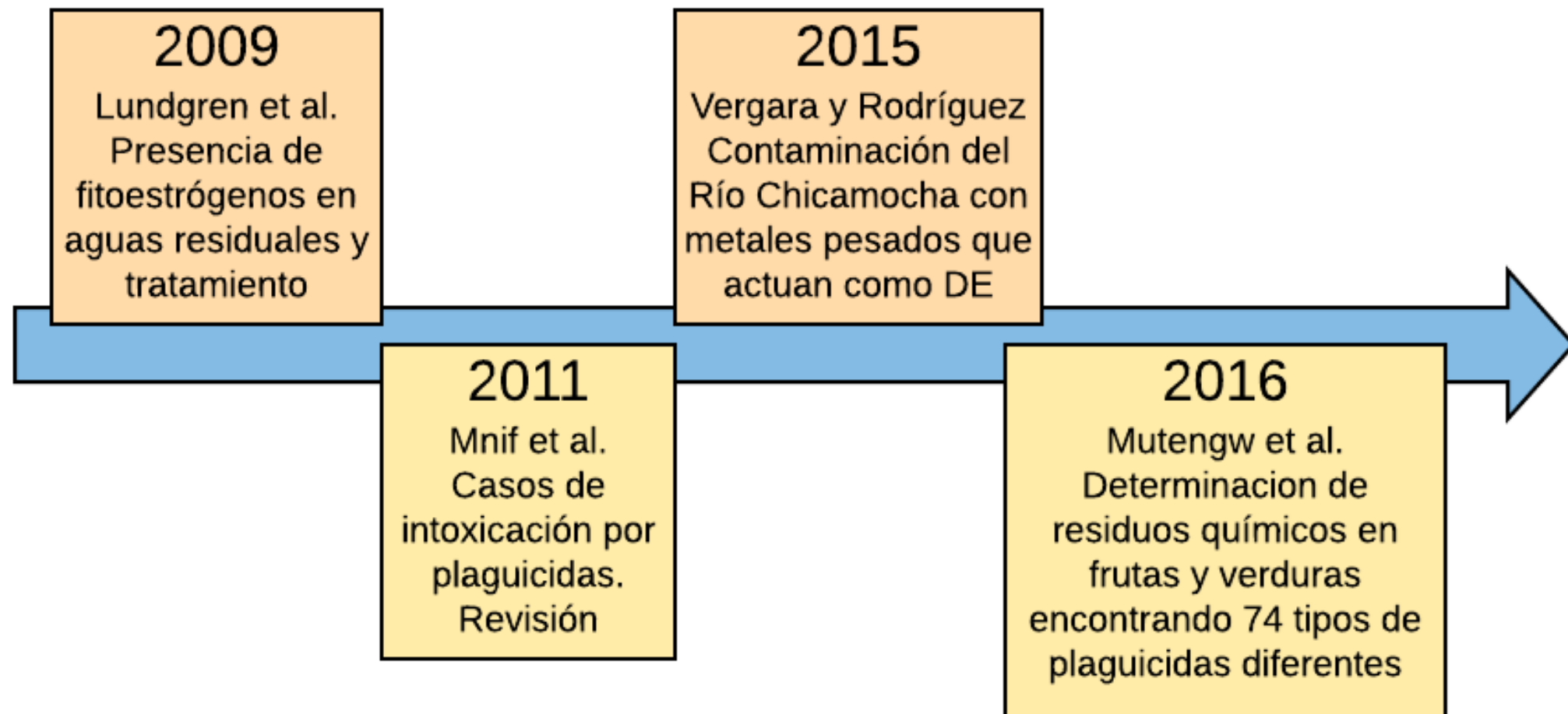
La salud humana y los DE

https://www.hospitalitaliano.org.ar/multimedia/archivos/noticias_archivos/56/encuentro_2012/56_dr_costanzo_20_encuentro.pdf



Antecedentes





Planteamiento del problema



<https://www.ecured.cu/Ra%C3%ADz>

Contacto de la planta
con las posibles SAE



Fuentes hídricas que son
usadas como agua de riego



<https://masquevidadigital.blogspot.com/2017/11/sudamerica-es-el-tercer-mercado-en-el.html>

Uso de pesticidas para
el control de plagas

Objetivos

General

Determinar la presencia de sustancias con actividad estrogénica en hortalizas obtenidas en el departamento de boyacá mediante la técnica YES (Yeast Estrogen Screen)

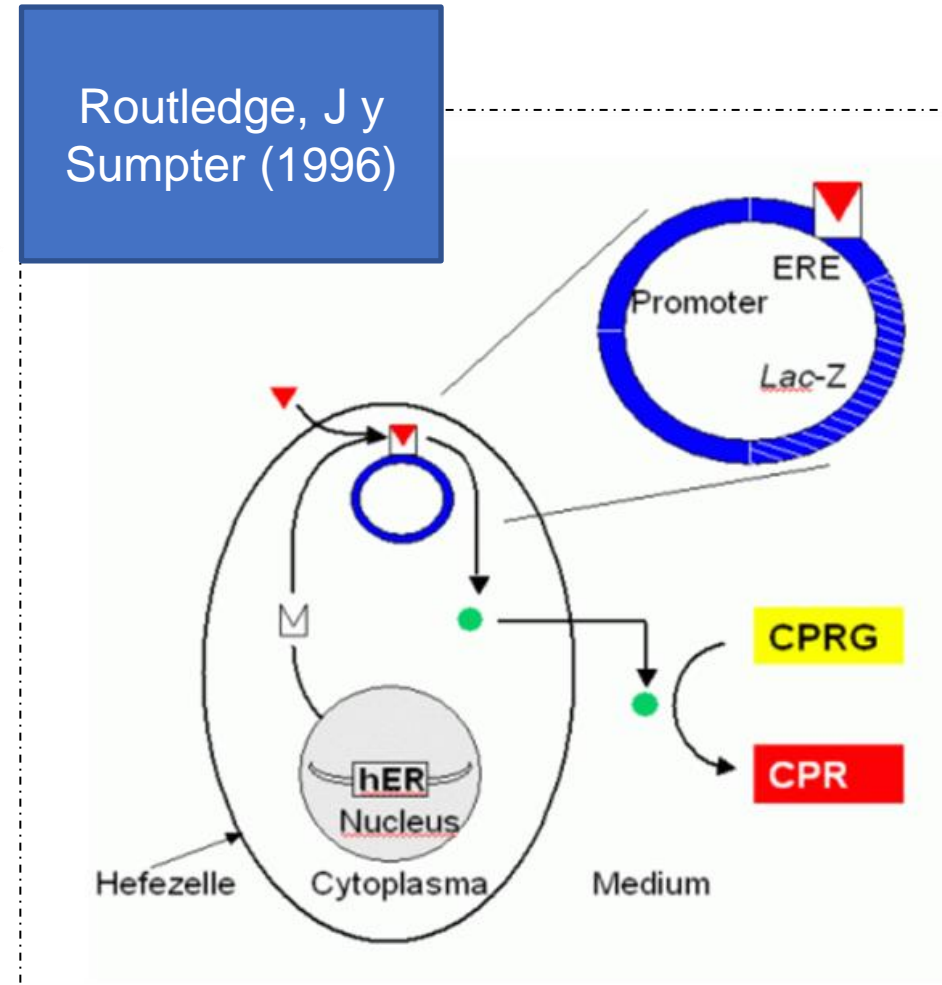
Específicos

- Comparar los métodos de macerado y arrastre, para la obtención de los extractos a partir de las hortalizas que serán procesadas por la técnica YES.
- Cuantificar en equivalentes de estradiol (EEQ) sustancias con actividad estrogénica en hortalizas del Departamento de Boyacá.

Aplicación de la técnica YES



Routledge, J y
Sumpter (1996)



Tratamiento de las muestras para el montaje con la levadura



Pesar 100 g
Secado con
toallas
desechables

1. Obtención por arrastre
con etanol absoluto



en ambas extracciones
se obtiene el etanol y el
respectivo arrastre



2. Obtención por
macerado de la verdura



Almacenar
en frascos ámbar
para evitar la
degradación de las
SAE y almacenar a
4°C.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	Yellow											
B	Yellow											
C	Light Blue											
D	White											
E	Red											
F	Red											
G	Red											
H	Red											

Curva patrón

Control negativo

Blanco

Muestras



lecturas a 540 nm
630 nm

<https://www.labsupplyquest.com/product/pr-3100-tsc-microplate-reader/>

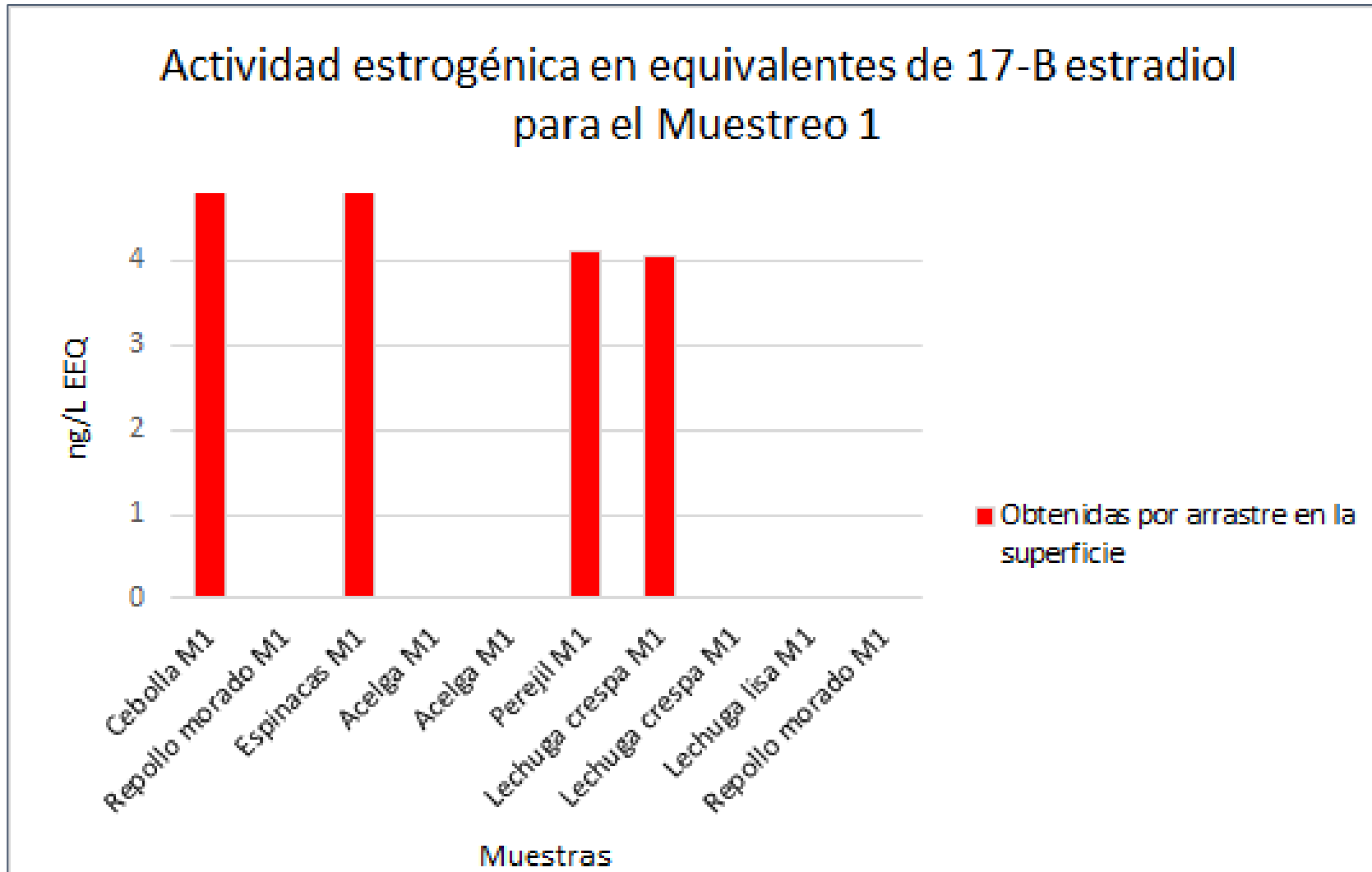


Reacción colorimétrica

La curva patrón con 17 B-estradiol se ajustó (función sigmoïdal con pendiente variable).

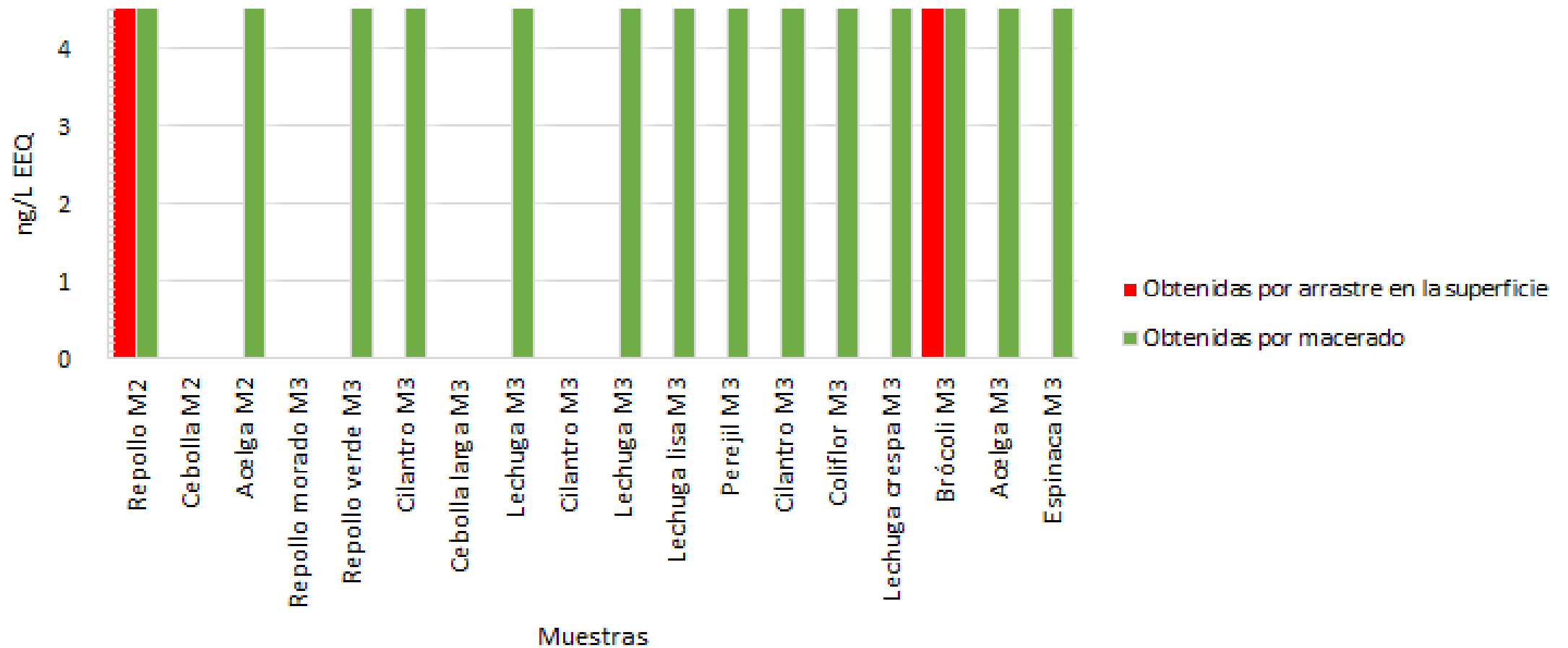
El valor de EC50 (concentración efectiva media) el límite superior fue de (106 ng/L) y el inferior de (47 ng/L).

Resultados



Resultados muestreo 1

Actividad estrogénica en equivalentes de 17-B estradiol para el Muestreo 2 y Muestreo 3



Resultados muestreo 2 y 3

Discusión

De los resultados se infiere que: las SAE están presentes en algunas de las hortalizas provenientes de puntos de recolección aleatorios y que la técnica utilizada como tamizaje para esta identificación fue efectiva.

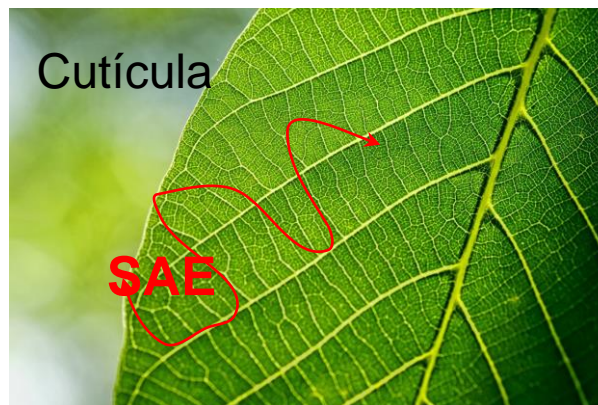
Obtención del extracto por arrastre en superficie:

Estudio de:
Aguirre C.
(2015)

técnica de arrastre con etanol:
48/4 muestras
(2 espinacas, 1 acelga)

en el presente estudio:
28/6 muestras

Devine et al 1993



<https://tipos.wiki/tipos-de-hojas/>

Murillo et al 2013

LIPOFILICA

HIDROFILICA

Obtención del extracto por macerado

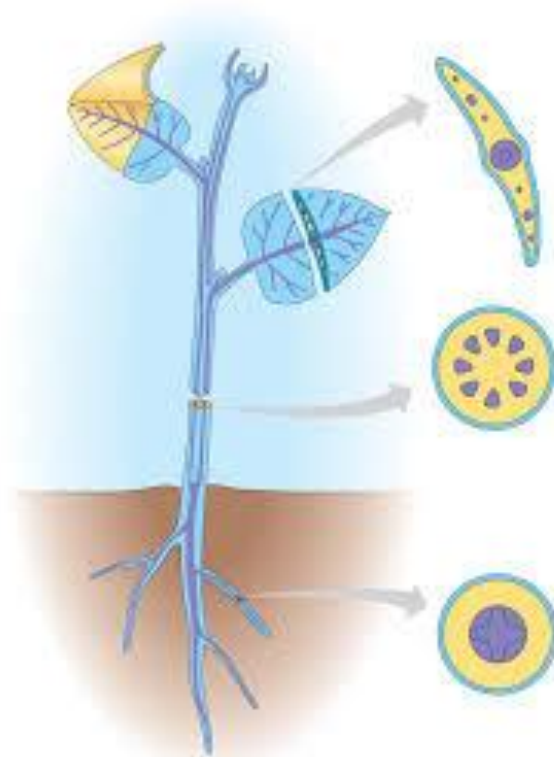
muestras 2 y 3

14/18 muestras

Repollo M2, acelga M2, repollo verde M3, cilantro M3, lechuga M3, lechuga lisa M3, perejil M3, cilantro M3, coliflor M3, lechuga crespa M3, brócoli M3, acelga M3 y espinaca M3.

Dubey, G et al (2016)

La actividad metabólica de los pesticidas en la planta comprende 3 fases:
la transformación, la conjugación y el almacenamiento



Copyright © 2016 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings.

Estudios con hallazgos de SAE en extractos...

González, R et al
(2008)

Análisis de insecticidas y fungicidas en extractos de hortalizas de hoja



Cipermetrina
Tebuconazol

<https://www.youtube.com/watch?v=o6qV8sycDDM>

Mutengw et al
(2016)

Análisis a extractos de frutas y verduras encontrando residuos de 74 tipos de plaguicidas



Cipermetrina
Clorpirifos
Clorotalonil

<https://gastronomiaycia.republica.com/2012/05/29/mala-calidad-de-frutas-y-verduras-una-tonica-dominante/>

Otro factor al que se puede atribuir la presencia de SAE en las muestras analizadas.



Manrique F et al (2006)	Río Chicamocha está expuesto a contaminación por múltiples desechos antropogénicos .
Vergara y Rodríguez (2015)	Se encontró plomo y mercurio en peces de la cuenca alta del Río Chicamocha.
Srivastava PK et al. (2016)	Los xenoestrógenos como los metales y pesticidas (además de otros QDE), están presentes en las aguas residuales y representan un riesgo para los cultivos.



Nasu et al,
2001

Demostraron que el
tratamiento en aguas
residuales disminuye en gran
cantidad las SAE



Mojica y
Guerrero , 2013

Se encontraron
plaguicidas como el
Tebuconazol, Malatión y
la cipermetrina en la
superficie y sedimento
del Lago de Tota

muestras que no
presentaron actividad
estrogénica

repollo morado M1, acelga M1, acelga M1, lechuga crespa M1, lechuga lisa M1, repollo morado M1, cebolla M2, repollo morado M3, cebolla larga M3 y cilantro M3

Podría relacionarse con: limitación de la técnica: por el rango mínimo de detección de la levadura (4 ng/L EEQ)

otra metodología para evaluar los diferentes SAE.

Huérfano Barco et
al (2018)

Protocolo para la identificación de residuos de plaguicidas en frutas y hortalizas, mediante el uso de la cromatografía de gases y el espectrofotómetro de masas.

Lopez de Alda MJ
et al (2013)

Identificación de productos farmacéuticos teniendo en cuenta protocolos alternativos para la extracción y purificación de los extractos

Conclusiones

Considerando que se implementaron dos formas diferentes de extracción se determinó que la más efectiva fue la maceración, ya que en comparación con la técnica de arrastre en la superficie el número de muestras que presentaron actividad estrogénica fue menor.

Mediante la técnica YES se obtuvieron resultados cuantitativos y cualitativos en los extractos obtenidos de las hortalizas, teniendo en cuenta que aquellos mayores o iguales a 4 ng/L EEQ, presentaron actividad estrogénica y en las menores de 4 ng/L EEQ no se detectó actividad estrogénica.

Recomendaciones

Teniendo en cuenta los resultados se hacen las siguientes recomendaciones:

- Posterior a la aplicación de la técnica YES como tamizaje, se recomienda aplicar métodos como cromatografía de gases y espectrofotometría de masas para determinar específicamente las sustancias que actúan como disruptor endocrino.
- A nivel departamental se deben tomar acciones con el fin de disminuir la contaminación en las fuentes hídricas que son utilizadas como agua de riego en los cultivos aledaños.
- A nivel nacional se deberían establecer normativas relacionadas que regulen la presencia de disruptores endocrinos, teniendo como referencia bases de datos como por ejemplo, la EADB de la FDA.

Congreso



CONGRESO AMBIENTAL
COLOMBIA 2020
MEGAPROYECTO RÍO BOGOTÁ

CAR

Mayo 28 - 29 2020

Bogotá, Colombia



GRACIAS