

38
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

MONITOREO CITOGENETICO EN PERSONAS
EXPUESTAS A PLAGUICIDAS EN EL ESTADO DE
MORELOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I O L O G A

P R E S E N T A :

Y C O K O D I A Z S A N C H E Z

REALIZADA BAJO LA DIRECCION DE LA
DRA. SANDRA LUZ GOMEZ ARROYO

MEXICO, D. F.

1997



REGISTRO DE CIENCIAS
SECRETARIA OLAP

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

M. en C. Virginia Abrín Batule
Jefe de la División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Ciencias
Presente

Comunicamos a usted que hemos revisado el trabajo de Tesis: MONITOREO CITOGENETICO
EN PERSONAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS EN EL ESTADO DE MORELOS

realizado por YOOKO DIAZ SANCHEZ

con número de cuenta 8926798-7 , pasante de la carrera de BIOLOGIA

Dicho trabajo cuenta con nuestro voto aprobatorio.

Atentamente

Director de Tesis

Propietario DRA. SANDRA GOMEZ ARROYO

Propietario DR. RAFAEL VILLALOBOS PIETRINI

Propietario DR. JORGE ARTURO DE LEON RODRIGUEZ

Suplente M. en C. MA. ELENA CALDERON SEGURA

Suplente Biól. MIGUEL ANGEL MENESES PEREZ

Sandra Gómez Arroyo
Rafael Villalobos Pietrini
Jorge Arturo de León Rodríguez
Elena Calderón Segura
Miguel Ángel Meneses Pérez

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
U.N.A.M.

Alejandro Martínez Mena
M. EN C. ALEJANDRO MARTINEZ MENA



DEPARTAMENTO
DE BIOLOGIA

**Yo soy la luz del mundo;
El que me sigue, no camina a
oscuros, sino que tendrá la
luz de la vida.**

Juan, 8, 12.

A mis padres

Gracias por el esfuerzo y dedicación que siempre tuvieron conmigo, su paciencia y apoyo fueron el camino que me mostró la meta que ahora cumpla

A Gerardo, mi futuro esposo, gracias por tu compañía y soporte que me diste cada momento durante la realización de esta tesis sin los cuales este trabajo hubiera sido difícil. Tu amor mantiene en mí la esperanza de seguir adelante

Carlos gracias por estar nuevamente conmigo y por la ayuda en la realización de este trabajo

Gerardo gracias por tu apoyo cada día al despertarme muy temprano desde la tercera cuerda

A Natsuko, Lydia y Sergio que siempre están en mi corazón y por el apoyo que me brindan en todos los momentos difíciles

A Nonon y Conchis que siempre me han apoyado y deseado para mí lo mejor

A mis amigos Erika, Yuriko, Toño G., Paty, Moy, David, Yokasta, Pietro, Ana Rosa, Josefina, Xico, Emmara, Ana Luisa, Gaby L., Bibiana, Jorge, David B., Gina, Lucy, Vuly y Conchita que siempre estuvieron conmigo brindándome su apoyo

Mi mas sincero agradecimiento a la *Dra. Sandra Gómez Arroyo* por el apoyo, paciencia y por la oportunidad de trabajar bajo su dirección al compartir conmigo su conocimiento

Este trabajo de tesis se realizo con el apoyo de Fundación ZINAM quien me brindo una beca para trabajar en el proyecto de investigación de la misma

Al Dr. Jorge Arturo de León y Miguel Ángel Meneses, gracias por su sacrificio incondicional al acompañarme en todo momento en el trabajo de campo, parte fundamental de este trabajo

Agradezco a mis sinodales por su paciencia mostrada en la realización y revisión de la presente tesis

Dr. Rafael Villalobos Pietrini

Dr. Jorge Arturo de León

Biol. Miguel Ángel Meneses Pérez

M. en C. Ma. Elena Calderón Segura

A Gaby y Alberto gracias por estar conmigo durante el largo y pesado trabajo de campo que implicó esta tesis

Gracias a todos mis compañeros del Laboratorio de Citogenética y Mutagénesis Ambientales

Al Hospital Dr. Mauro Belauzarán, a las enfermeras del Centro de Salud de Temixco en el Estado de Morelos y al Sanatorio San Martín de Porres que me ayudaron en el desarrollo de este trabajo

A toda la gente que tan amablemente brindaron su ayuda y participación en la realización de este trabajo

INDICE

CONTENIDO	PAG
Resumen	1
Introducción	2
Organoclorados	3
Organofosforados	5
Carbamatos	9
Piretrinas y Piretroides	11
Mezclas	13
Información Epidemiológica	
Plano Internacional	14
Plano Nacional	15
Efecto Ambiental	17
Información Toxicológica	18
Sistemas de Prueba para Evaluar el Daño Genotóxico	20
Linfocitos Humanos	21
Intercambio de Cromátidas Hermanas	23
Indices Mitótico y de Replicación	26
Prueba de Micronúcleos	27
Efectos Citogenéticos en Personas Ocupacionalmente Expuestas	30
Objetivo	33
Materiales y Métodos	
Descripción del Area de Estudio	33
Trabajo de Campo	34
Grupo Expuesto	35
Grupo Testigo	36
Trabajo de Laboratorio	38
Cultivo y Cosecha de Linfocitos	38
Tinción Diferencial de Cromátidas Hermanas	39
Indices de Replicación y Mitótico	40
Mucosa Oral	
Colecta de Muestras de Mucosa Oral para Micronúcleos	41
Resultados	43
Discusión y Conclusiones	45
Referencias	53
Tablas	71
Figuras	83
Anexo	93

RESUMEN

La floricultura es una de las actividades más desarrolladas en algunos estados de la República Mexicana, tal es el caso de Morelos, que cuenta con 400,000 Ha destinadas a este cultivo y por ello muchas personas se exponen ocupacionalmente a mezclas complejas de plaguicidas.

Es posible evaluar el daño genotóxico que produce esta exposición con los ensayos de intercambios de cromátidas hermanas (ICH) y de micronúcleos en células de descamación del epitelio bucal.

Las zonas de estudio del estado de Morelos fueron seleccionadas con base en datos obtenidos después de aplicar una encuesta. Para ello se escogieron 4 viveros de los municipios: Santa Catarina, Yecapiztla y San Gaspar, en donde la aspersión de productos químicos no está controlada debido a que se fumigan flores y no alimentos. Como grupo testigo fue elegida la población de Temixco, cuya actividad económica no está relacionada con plaguicidas.

Las frecuencias de ICH fueron analizadas en linfocitos de sangre periférica de 30 personas (18 mujeres y 8 hombres), que tienen tiempos de exposición aproximadamente de 10 años y de 30 personas (28 mujeres y 2 hombres) que integraron el grupo testigo; a cada uno se le tomaron 3 ml de sangre periférica y se les hizo un raspado de la mucosa bucal.

Al comparar ambos grupos se encontró que los individuos que estuvieron en contacto con los plaguicidas mostraron un incremento estadísticamente significativo con respecto al testigo en las frecuencias de ICH, en la cinética de proliferación celular, así como en los índices mitótico (IM) y de replicación (IR).

En cuanto a los micronúcleos, en los individuos expuestos también se notaron resultados positivos, ya que la incidencia fue aproximadamente 3 veces más elevada que en la población testigo.

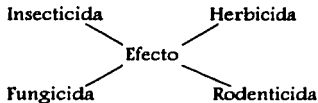
INTRODUCCION

La lucha contra las plagas ha fomentado la producción y el consumo de plaguicidas sintéticos, en México como en otros países, gran cantidad de estos productos son empleados indiscriminadamente en la agricultura, provocando contaminación química que es necesario atender. Sin embargo, es poco lo que se hace, entre otras razones debido al desconocimiento que la población tiene acerca de su manejo. Los plaguicidas constituyen un grupo de sustancias o mezclas con las que se pretende prevenir, destruir, repeler o atenuar las plagas que dañan a los cultivos (Vega *et al.*, 1963).

Una plaga se define como cualquier especie que el hombre considera perjudicial a su persona, a su propiedad o a su medio. En la agricultura puede ser cualquier población vegetal o animal que interfiere con el proceso de desarrollo de un cultivo. La plaga puede incluir insectos, hierbas, microbios, hongos, nemátodos, etc., quienes destruyen gran parte de los cultivos y compiten por factores como espacio, humedad y nutrientes.

La extensa utilización de plaguicidas y de otros agentes químicos en la agricultura moderna ha incrementado la cantidad de contaminantes en el aire, el suelo y el agua (Crebelli *et al.*, 1991), lo que representa un serio problema. Investigaciones recientes han demostrado la acción carcinogénica y mutagénica de estos compuestos. El empleo continuo y a gran escala ocasiona daños a largo y a corto plazos en la salud de la población expuesta directa e indirectamente (Moutchen *et al.*, 1984).

Las sustancias que se usan como plaguicidas cubren una amplia gama de compuestos. La manera más práctica de agruparlos y clasificarlos es teniendo en cuenta el tipo de plagas que matan.



Más del 90 % del volumen de los plaguicidas utilizados en México es destinado a la agricultura, por lo tanto es importante conocer sus características (Brook, 1984). Se pueden dividir en organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretrinas y piretroides (Tabla 1), cada uno de los grupos está compuesto por sustancias de naturaleza diferente y se clasifican de acuerdo con el grupo químico al que pertenece el ingrediente activo.

Organoclorados

Estos compuestos tienen estructuras químicas variadas, pero presentan en común las siguientes características (Brook, 1984):

- Son hidrocarburos cíclicos de origen sintético
- Muy estables en diferentes ecosistemas por su poca degradabilidad, debida a que el átomo de cloro sustituyente en la molécula, es relativamente no reactivo.
- Tienen altos coeficientes de partición y por lo tanto tienden a acumularse en ambientes hidrofóbicos tales como materia orgánica del suelo o tejido adiposo del hombre y de animales. Esta característica es debida a que el enlace C-Cl es no polar.
- Son neurotóxicos para los organismos.
- Están clasificados entre los plaguicidas de mediana a baja toxicidad aguda.
- Sospechosos de efectos a largo plazo de: neuropatías, cáncer, inducción enzimática, mutagénesis y teratogénesis.

Toxicidad

Los insecticidas organoclorados difieren mucho en el grado de toxicidad y en la capacidad de almacenamiento, además la toxicidad no es siempre paralela al almacenamiento, sino que intervienen otros factores como la liposolubilidad, ruta metabólica y velocidad de excreción.

Se considera que el sitio primario de la acción tóxica de los insecticidas organoclorados son las fibras sensibles, motoras y la corteza motora. El mecanismo de acción apenas se conoce. Sin embargo, la evidencia reciente sugiere que estos plaguicidas pueden alterar el transporte de sodio y de potasio a través de las membranas de los axones (Brook, 1984).

Los insecticidas organoclorados son compuestos moderadamente tóxicos según la clasificación aceptada en el país, en cuanto a las dosis necesarias para producir intoxicaciones agudas, varían entre intervalos demasiado amplios, sin embargo se tienen cifras de intoxicaciones agudas provocadas por estos compuestos (Brook, 1984).

Las manifestaciones clínicas revelan cambios de comportamiento (agresividad) y una respuesta violenta a estímulos, se manifiestan contracciones neuromusculares caracterizadas por temblor; a medida que la acción tóxica se hace más intensa, el paciente se agita con frecuencia y empieza a perder la coordinación dando lugar a convulsiones (Brook, 1984).

Dependiendo de cual sea la vía de absorción del agente tóxico al organismo, se podrán agregar fenómenos específicos como vómitos, diarrea, edema pulmonar, tos y erupciones cutáneas (Hayes, 1975).

Efectos genotóxicos

Al realizar tratamientos con DDT, lindano, dieldrín y endrín en *Escherichia coli* (Ashood-Smith *et al.*, 1972) y *Salmonella typhimurium* (Buselmaier *et al.*, 1973), se obtienen resultados negativos de mutagenicidad; este mismo comportamiento se observa, en *Bacillus subtilis* (Ashwood y Smith *et al.*, 1972; Shirasu *et al.*, 1976; Wade *et al.*, 1979), en *Drosophila melanogaster* (Benes y Sram 1969) y en ratas tratadas *in vivo*, mediante la prueba de micronúcleos (Usha Rani *et al.*, 1980) y de aberraciones cromosómicas (Georgian, 1975). La misma respuesta se presenta en cultivo de linfocitos humanos *in vitro* (Dean *et al.*, 1975) y en trabajadores expuestos a plaguicidas que han estado en contacto con DDT y lindano (Ortelec, 1958; Rabello *et al.*, 1975; Laws y Biros, 1976; Kiraly *et al.*, 1979).

Asimismo, se han descrito resultados positivos de mutaciones recesivas con diferentes dosis de DDT, heptacloro y dieldrín en *Drosophila melanogaster* (Vogel, 1972). En plantas con los mismos plaguicidas se encontró efecto c-mitótico e inducción de aberraciones cromosómicas (Vaarama, 1947; Gómez-Arroyo *et al.*, 1985).

Mutaciones letales dominantes así como leucemia, tumores malignos y muerte fetal en ratones (Tarjarán y Kemény, 1969; Epstein *et al.*, 1972; Clark, 1974; Bidwell *et al.*, 1975.), se observan en células de rata canguro (Palmer *et al.*, 1972) y de criceto chino (Kelly y Legator, 1973), con DDT y dieldrín. Se inducen *in vitro* rompimientos cromosómicos, en la síntesis de DNA de fibroblastos y en linfocitos humanos en cultivo, aberraciones cromosómicas (Ahmed *et al.*, 1977) en tratamientos con aldrín y dieldrín (Georgian, 1975).

Organofosforados

Los derivados organofosforados hoy en día ocupan un lugar preponderante entre los plaguicidas más conocidos y utilizados.

Estos insecticidas han reemplazado en gran parte a los organoclorados. Los organofosforados no persisten en el ambiente por tiempo prolongado, sin embargo su toxicidad aguda es mucho mayor en el hombre.

Su principal forma de degradación en el ambiente es por hidrólisis (Henaó, 1993).

Sus características más importantes de acuerdo con Córdoba (1994) son:

- Esteres del ácido fosfórico o sus homólogos (tio y ditiofosfato). Estos estereofosforados se hidrolizan dependiendo de su estructura química.
- La proporción fosfato, tio o ditiofosfato de la molécula confiere parte de polaridad y por lo tanto tendrán diferentes grados de solubilidad.
- Su volatilidad es muy variable, se presentan como líquidos o sólidos en forma de polvos, a partir de los cuales se expenden emulsiones, polvos mojables o adheridos a cebos o cintas repelentes, pero la mayoría se encuentran en forma líquida.
- De alta toxicidad por ser inhibidores irreversibles de la enzima colinesterasa.
- De efectos a largo plazo: Se realizan investigaciones en personas ocupacionalmente expuestas en periodos largos.

Toxicidad

La toxicidad extrema se debe a la inactivación de la enzima acetilcolinesterasa que determina su actividad inhibitoria a largo plazo, también son inhibidores de enzimas tales como: fosfatasa ácida, lipasa, tripsina y quimiotripsina deshidrogenasa (Eto-Morfusa, 1984).

Se les conoce también como agentes anticolinesterasa, ya que ocasionan que la acetilcolina se acumule en sitios receptores colinérgicos y por ende son capaces de producir un estímulo excesivo en los sistemas nerviosos central, periférico y vegetativo (Henaó, 1993). La función normal de la enzima es la hidrólisis y en consecuencia la inactivación de la acetilcolina (Hollingworth, 1981)

Estos plaguicidas se absorben por todas las vías: oral, dérmica, conjuntiva, rectal y por inhalación, siendo la dérmica la de mayor importancia en la exposición laboral, al estar en contacto con la piel y las mucosas (conjuntiva oral y nasal), se distribuyen en el organismo y sufren procesos de transformación. El inicio de la intoxicación después del contacto agudo es impredecible, pero se relaciona con la dosis, la vía de exposición y la estructura química de cada organofosforado (Córdoba, 1994).

Los organofosforados compiten por la acetilcolinesterasa. El átomo central de fósforo de estos plaguicidas tiene una deficiencia de electrones y esta configuración favorece la atracción hacia el sitio estérico de la acetilcolinesterasa que posee un excedente de electrones. El fósforo forma una unión covalente irreversible con el grupo nucleofílico de la enzima. En el proceso normal la enzima fosforilada es relativamente estable, lo cual impide su regeneración libre y activa, a menos que se administre un antídoto de tipo oxima (O'Brien, 1987).

La fosforilación al provocar la inactivación de la acetilcolinesterasa detiene la hidrólisis de la acetilcolina y produce acumulación de cantidades excesivas de esta en las sinapsis ganglionares periféricas, sistema nervioso central y órganos efectores (Córdoba, 1994).

En el cambio de potencial de membrana, la acetilcolina actúa como mediador del impulso nervioso, siendo el transmisor químico en las terminales de las fibras pre y postganglionares (Matsumura, 1985).

La acetilcolinesterasa produce la inactivación de la acetilcolina, con la consiguiente interrupción de la transmisión del impulso nervioso (Karsak, 1987).

Al ser inhibida la colinesterasa, se produce acumulación de acetilcolina que inicialmente estimula pero posteriormente paraliza la transmisión colinérgica de la sinapsis, ocasionando daños a la salud que se presentaron en tres síndromes (Karsak, 1987):

- Muscarínico: intoxicación grave
- Neurológico: " aguda
- Nicotínico: " leve

Debido a su peligrosidad han sido empleados como agentes tóxicos en forma de insecticidas agrícolas.

Efectos genotóxicos

Para evaluar la mutagenicidad de algunos compuestos fosforados como: malatión, paratión, folidol, dimetoato, metil-paratión etc., se han realizado experimentos con *Escherichia coli* (Aswood-Smith *et al.*, 1972), *Salmonella typhimurium* y *Drosophila melanogaster* (Hanna y Dyer, 1975) en donde los resultados han sido negativos.

Se han obtenido resultados positivos con dimetoato, metil-paratión y malatión al inducir rompimientos cromosómicos en ratas (Griffin y Hill, 1978)

En plantas como *Vicia faba* (Reddy y Rao, 1969; Gómez-Arroyo *et al.*, 1985), *Allium cepa* (Ravidran, 1971), *Gossypum barbadense* (Amer y Farah, 1974), *Hordeum vulgare* (Singh *et al.*, 1979), al ser sometidas a diferentes concentraciones de plaguicidas organofosforados como folidol, rogor, malatión y paratión se obtuvieron rompimientos cromatídicos y cromosómicos, divisiones multipolares, separaciones anormales de los cromosomas y en algunos casos inducción de tetraploidías y aneuploidías.

Pocos son los estudios realizados en insectos, debido a la toxicidad de estos compuestos, pero en *Drosophila* se observaron rompimientos cromosómicos así como mutaciones letales con diclorvos (Gupta y Singh, 1974).

Al analizar el efecto de 17 plaguicidas organofosforados se encontró que no inducen intercambio de cromátidas hermanas en células de criceto chino *in vitro*; en el mismo sistema de prueba los mismos plaguicidas fueron activados con una mezcla S-9, a diferente concentración resultando positivos (Chen *et al.*, 1982).

Al realizar pruebas *in vivo* con paratión en cobayos se obtuvo respuesta positiva en espermatogonias después de aplicarlo mediante una inyección intratesticular (Bhunya y Behera, 1975).

De acuerdo al punto de vista de Moutschen-Dahmen *et al.* (1984), de los estudios anteriormente descritos, se puede concluir que los efectos clastogénicos, con base en los compuestos organofosforados probados, son bajos y generalmente no significativos en especies de mamíferos pequeños.

El diclorvos (lucafós) es uno de los compuestos organofosforados comúnmente investigado. Produjo resultados negativos después de tratamientos agudos y crónicos independientemente de la dosis o ruta. Se reportaron efectos positivos solo en cantidades considerablemente más altas que aquellas utilizadas para terapias antihelmínticas en el hombre, las cuales, aumentan ampliamente el riesgo de envenenamiento agudo o crónico cuando la sustancia es utilizada como insecticida (Gerstengarbe, 1975).

Se analizaron los linfocitos de sangre periférica de pacientes con intoxicación aguda por exposición a varios plaguicidas organofosforados, tales como: malatión, triclorfón, metil-paratión, mevinfos, dimetoato y diazinón. La toma de muestras fue a tres diferentes intervalos: inmediatamente, de 2 a 6 días y de 30 y 180 días después de la intoxicación. Se reportó un incremento significativo pero temporal de rompimientos cromatídicos y de aberraciones también de tipo cromatídico, solamente en pacientes expuestos a malatión, triclorfón, mevinfos y metil-paratión; observándose el valor máximo con el malatión. En el caso de los otros compuestos la intoxicación fue muy baja como para obtener resultados confiables. El nivel de intoxicación permaneció siete veces por arriba de los niveles del testigo al cabo de un mes y disminuyó casi a niveles controlables después de seis meses (Van Bao *et al.*, 1974).

Se han observado efectos carcinogénicos en ratas y ratones pero sólo tóxicos en perros expuestos a compuestos organofosforados, como el diclorvos (lucafós) (Blair *et al.*, 1975; Reuber, 1981).

CARBAMATOS

Son plaguicidas de gran importancia por su actividad biológica; son ésteres del ácido carbámico, entre los más usados están el lannate (sumamente tóxico) y el propoxur (baygón). Son inestables por lo que no persisten por largo tiempo en el ambiente (De Campos 1987).

Su acción depende de la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa ya que la carbamil-esterasa, formada por la unión del carbamato y el polo esterásico de la enzima es más lábil hidrolizándose con suma rapidez y regenerándose la enzima, por lo que los síntomas de intoxicación son los mismos que los producidos por los compuestos organofosforados. Sin embargo, en este caso la acción es reversible y la enzima se regenera, produciendo la carbamilación enzimática sin necesidad de metabolizarse, es decir lo hacen directamente, por su acción rápida y por ser una molécula lábil (Hollingworth, 1981).

Se usan como herbicidas, fungicidas e insecticidas. Estos últimos se distinguen por su carácter de selectividad: pequeñas modificaciones en su estructura hacen que el producto sea activo solamente en determinadas especies de insectos (Barberá, 1975).

Sus características principales (Eto, 1984) son:

- biodegradables y se hidrolizan fácilmente
- no bioacumulables. Algunos carbamatos que tienen radicales aromáticos como grupo sustituyente en la molécula tienen coeficientes de partición altos y por lo tanto son liposolubles, sin embargo, el aldicarb se sabe que es persistente
- menos volátiles que los insecticidas organofosforados, por lo cual no son residuales, tienen una vida media de algunas semanas
- son de toxicidad mediana, con excepción de carbofurán (furdán) que es de toxicidad alta
- Provocan inhibición transitoria de la enzima colinesterasa.

TOXICIDAD

En los mamíferos se absorben a través de la piel, conjuntiva, vías respiratoria y digestiva. No se acumulan en el organismo; la biotransformación se realiza a través de 3 mecanismos básicos: hidrólisis, oxidación y conjugación; la eliminación se lleva a cabo principalmente por vía urinaria (Henaó, 1986).

Como se menciona anteriormente los carbamatos son inhibidores activos de la colinesterasa pero esta inhibición es transitoria, permanece horas solamente y no se ha demostrado neurotoxicidad retardada (OMS, 1986).

Efectos genotóxicos

Se ha descrito que algunos plaguicidas carbámicos como: carbaril, aldicarb, metomil, landril, lannate, propoxur, etc., tienen actividad mutagénica en microorganismos como *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* y *Bacillus subtilis* y acción carcinogénica y teratogénica en pollos, ratones, ratas, cricetos y perros (Epstein y Mantel, 1972, Blevins *et al.*, 1977a, b., ETO *et al.*, 1980).

En *Hordeum vulgare* se observa el aumento de rupturas cromosómicas en mitosis y un ligero efecto en meiosis provocado por el carbaril (sevin) (Wuu y Grant 1966, 1967).

Ishidate y Odashima (1977) mencionan que el carbaril (sevin) induce rompimientos e intercambios en el ADN de fibroblastos de criceto dorado *in vitro*. Ahmed *et al.* (1977) observan la desincronización en la síntesis de ADN en cultivo de fibroblastos tratados con dicho compuesto.

González-Cid *et al.* (1988), observan incrementos significativos de rompimientos cromatídicos y cromosómicos con aldicarb en linfocitos periféricos humanos *in vitro*, aumento de intercambios de cromátidas hermanas y retardo en el ciclo celular del mismo sistema de ensayo con otros carbamatos como el propoxur.

La frecuencia de micronúcleos, puentes cromatídicos y mitosis multipolares se incrementan significativamente en ratones tratados con tiram, disminuyendo la cantidad de anafases (Dulout *et al.*, 1982).

Desde el punto de vista de la mutagénesis de los plaguicidas carbámicos, es importante su actividad alquilante (Gómez-Arroyo *et al.*, 1992). Estos agentes provocan una amplia variedad de efectos biológicos de importancia a nivel genético (Natarajan *et al.*, 1984), que van desde sustituciones de pares de bases en el ADN, (Brendel y Rhubland, 1984; Bonatti *et al.*, 1990), hasta aberraciones cromosómicas, ICH y muerte celular (Natarajan *et al.*, 1984).

Se ha analizado la carcinogenicidad de algunos carbamatos como el carbaril el cual fue suministrado por entubación digestiva a ratas observándose carcinomas en la parte anterior del estómago (Eisenbrand *et al.*, 1975, 1976).

Son muy pocos los datos sobre la actividad teratogénica de los insecticidas carbámicos pero se ha demostrado en diferentes organismos como peces, aves, ratones, perros, conejos y monos, anomalías tales como embriotoxicidad, decremento en el tamaño de la camada, esterilidad, aumento en el número de individuos nacidos muertos, malformaciones de las vértebras, entre otras son causadas por diferentes concentraciones y vías de administración (Moutschen-Dahmen *et al.*, 1984).

PIRETRINAS Y PIRETROIDES

Las piretrinas son productos orgánicos de origen natural y los piretroides son sustancias sintéticas y semisintéticas. Ambos poseen un mecanismo de acción tóxica que tiene relación con el transporte iónico a través de la membrana del axón nervioso. Este mecanismo tiene cierta similitud con el provocado por los hidrocarburos clorados, en los mamíferos inferiores y por las piretrinas en los invertebrados (Córdoba, 1994).

Toxicidad

Estas sustancias pueden ingresar al organismo por vía oral y respiratoria. A través de la piel su absorción no es importante aunque parece ser la ruta responsable de las reacciones de carácter anafiláctico.

La DL₅₀ para las piretrinas es de 1,500 mg/kg por vía oral. No obstante la dosis letal para cada compuesto es variable, como lo es también con relación a la forma de ingreso al organismo y a la especie sobre la cual actúan (Astofi 1982).

A pesar de considerarse como plaguicidas de toxicidad baja y de no dejar residuos en plantas (Papadopoulou-Mourkidou, 1983), se tienen datos positivos al ser analizados con diferentes sistemas de prueba.

Efectos genotóxicos

En estudios realizados con piretroides se obtienen resultados negativos al probar cipermetrina y deltametrina (Brooks *et al.*, 1976; Suzuki, 1977), fenpropartrin (Pluijmen *et al.* 1984) y fenvalerato en bacterias y en *Drosophila melanogaster* (Woodruff *et al.*, 1983; Gupta *et al.*, 1990).

La cipermetrina induce anomalías mitóticas en los meristemas de *Vicia faba* (Amer y Aboul-ela, 1985) y con deltametrina se detectan alteraciones cromosómicas en *Allium cepa* (Chauhan *et al.*, 1986).

En células de criceto chino tratadas *in vitro* con fenvalerato se provoca la inhibición de la comunicación intercelular en fibroblastos (Floodstrom *et al.*, 1988)

En roedores tratados *in vivo*, la cipermetrina, la deltametrina y el fenvalerato son descritos como inductores de aberraciones cromosómicas en células de la médula ósea de ratón (Bhunya y Pati 1988, 1990), mientras que un estudio con deltametrina arroja resultados negativos en el mismo sistema de prueba (Polaková y Vargová, 1983).

Con referencia a los estudios de carcinogénesis, la deltametrina y fenvalerato no son carcinogénicos en ratones y ratas (Parker *et al.*, 1984; Cabral *et al.*, 1990), donde el fenvalerato mostró una respuesta positiva débil en los hepatocitos de ratón (Cabral *et al.*, 1990).

Al probar cinco insecticidas piretroides *in vitro* en linfocitos de sangre periférica humana se encuentra que la cipermetrina y el fenpropartrin incrementan ligeramente la cantidad de micronúcleos de dos de tres donadores. La deltametrina produce efecto positivo mientras que con la permetrina la mayoría de los resultados son negativos. El fenvalerato no induce micronúcleos (Surrallés *et al.*, 1995).

MEZCLAS

Una nueva forma de combatir las plagas consiste en la aplicación de mezclas de plaguicidas a las que se denomina "combinados", que se administran a la vez en un solo tratamiento, esto se realiza con el fin de buscar una acción de sinergismo, para ahorrar mano de obra o prevenir el surgimiento de alguna plaga que pudiera presentarse al combatir otra.

Está probado que en muchos casos la mezcla de dos plaguicidas del mismo o de distinto grupo provocan un efecto superior al que resulta de la suma de las acciones individuales de cada uno de ellos por separado. Este mecanismo llega a destruir no sólo a los insectos nocivos, sino también a los benéficos que puedan tener controlada a otra plaga. Como resultado, después de un fuerte tratamiento desaparece la plaga que se desea combatir; pero en cambio surge otra, indirectamente favorecida al ser más resistente y libre de sus depredadores (Restrepo y Franco, 1988; AgrEvo- MIP, 1997).

Panorama Mundial de Ventas

Se estima que en 1974 los países del Tercer Mundo importaron alrededor de 641 millones de dólares de plaguicidas; cuatro años después, aumenta casi a mil millones de dólares. Para 1980 esta cifra llega a 2, 817 millones equivalente al 20 % del comercio internacional de plaguicidas. Los principales exportadores a nivel mundial son: Alemania, con el 25%; Estados Unidos, 20%; Inglaterra, 15%; Suiza, 15%; Francia, 13%; Japón, 5% e Italia, 3%. Estos países surten virtualmente el total de las importaciones del Tercer Mundo. Para 1986 se calcula que el consumo máximo de plaguicidas se aproxima a los 2.5 millones de toneladas con un valor de 15 mil millones de dólares. Los países del Tercer Mundo consumieron medio millón de toneladas con un costo de 3,600 millones de dólares (OMS, 1986).

Los insecticidas han ocupado en promedio un mayor porcentaje del mercado internacional representando el 51%; le siguen los herbicidas con 31%, los fungicidas con el 15% y el 3% restante corresponde a otros agroquímicos. La demanda efectiva de estos productos mantiene un crecimiento superior al 5% anual en los últimos años (OMS, 1986).

Plano Internacional

La Red Internacional de Acción Contra el Uso de Plaguicidas, informa que a pesar de que los países en vías de desarrollo utilizan la quinta parte del consumo mundial de plaguicidas, se estima que la verdadera cifra de intoxicaciones ocupacionales anuales por dichas sustancias asciende a 25 millones de casos y que el 99% de las defunciones atribuibles a los plaguicidas tienen lugar en estos países (PAN Internacional, 1990).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud, basados en una cantidad limitada de estudios en algunos países, en todo el mundo podrían producirse aproximadamente un millón de intoxicaciones agudas accidentales al año, de las cuales cerca del 70% se debe a exposiciones profesionales. Además se calcula que se diagnostican actualmente hasta 2 millones de intoxicaciones agudas deliberadas. En total entre los dos grupos la mortalidad alcanza la cifra de 22,000 defunciones al año (OMS, 1990).

Durante los años ochenta en América Latina se realizan varios estudios sobre plaguicidas, llevados a cabo en lugares y circunstancias distintas. De los resultados se puede extraer la siguiente estimación: en los países más pequeños ocurren por lo menos, de 1,000 a 2,000 intoxicaciones por plaguicidas al año mientras que en los mayores la proporción es más elevada. Debido a que no se registran todas las intoxicaciones que se producen, resulta difícil elaborar evaluaciones precisas (Rivera y Rivera, 1990).

La cifra de intoxicaciones por plaguicidas ha ido en aumento año tras año durante la década de los ochenta. El porcentaje de fallecimientos atribuidos a esta causa es del orden de 15 al 30%, aunque la mayoría de los datos se encuentran en el intervalo del 20 al 30%. De las personas intoxicadas que son hospitalizadas fallecen del 3.0 al 8.5%, de lo anterior se calcula que aproximadamente el 70% trabajan en el sector agrícola y ganadero (OMS, 1986).

En la actualidad la gran cantidad de intoxicaciones agudas se debe a inhibidores de la enzima colinesterasa (organofosforados y carbámicos). Los informes de diferentes países señalan que los daños en la salud de la comunidad son frecuentes y que los casos notificados y registrados representan sólo una pequeña parte del problema (SS, 1992).

En la última década el uso de plaguicidas se duplica en algunos países de América Latina, como Brasil, México y Colombia quienes en 1980 invierten 695, 199 y 196 millones de dólares respectivamente, para 1990 su gasto ascendió a 1,993, 565 y 250 millones de dólares, en estos mismos países en las últimas 3 décadas se registran incidentes de intoxicación masiva por plaguicidas (Rivera y Rivera, 1990).

América Latina ocupa el segundo lugar en consumo después de Africa. La mayoría de los plaguicidas empleados se utilizan en cosechas de exportación (Lombera, 1993).

Un estudio realizado de 1980 en Costa Rica reporta que el 60 % de los casos hospitalizados por intoxicación por plaguicidas se debió a inhibidores de la colinesterasa (SS, 1992), en Ecuador durante el mismo período se demuestra que del total de intoxicaciones por plaguicidas (588 casos), el 75% se atribuye a organofosforados y carbámicos (SS, 1993).

En un análisis de prevalencia de insecticidas efectuado en Argentina, en 150 floricultores, se menciona que 18 individuos (12%) presentan síntomas de intoxicación aguda y crónica, en este ultimo caso el daño se relaciona principalmente con el SNC y periférico y en segundo término con alteraciones gastrointestinales, cutáneas y respiratorias y en una mínima proporción se vincula con alteraciones en el sistema reproductor (Matos, 1983).

Plano Nacional

En México de 1978 a 1984 se registran 20 accidentes de intoxicaciones por plaguicidas de diversos grupos y en 15 de ellos hay defunciones. De 226 personas intoxicadas en estos periodos mueren 26, lo cual da una tasa de mortandad de 11.5% (Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud, 1984).

En 1992 se detectan 2,089 casos de intoxicaciones por plaguicidas, en la República Mexicana, con una tasa de intoxicaciones del 2.41. Los estados que mayor número de casos presentaron son: Morelos con 355, Nayarit con 289, Guerrero con 189, Michoacán con 168, Jalisco con 129 y Querétaro con 114 casos de intoxicaciones por plaguicidas. La tasa mas elevada es de 32.98 que correspondió a Nayarit, le sigue la de 27.33 de Morelos, 17.90 de Quintana Roo, 10.00 de Querétaro y la de 7.02 a Baja California Sur (SS, 1992).

En 1993 se describen para nuestro país un total de 1,207 casos de intoxicaciones por plaguicidas con una tasa de 1.36. El estado con más casos reportados es Nayarit con 277, enseguida el Estado de México con 145, Michoacán con 115, Jalisco con 112, Guerrero con 99 y Morelos con 88 casos de intoxicación por plaguicidas. La mayor tasa es de 31.00 de Nayarit, le continúa Baja California Sur con 10.24, Morelos con 6.59, Aguascalientes con 5.26 y Campeche con 4.67 (SS, 1993). En este mismo año se evidencian 154 defunciones por envenenamiento químico en la lista básica de la Dirección General de Estadística Informática y Evaluación (DGEIE, 1995), donde se especifican grupos de edad y sexo y se dan a conocer en orden de importancia:

1. Organofosforados con 74 muertes, de las cuales 57 corresponden a hombres y 17 a mujeres, predominando en los grupos en edades de 30 hasta 44 años.
2. Herbicidas con 41 muertes, 34 en hombres y 7 en mujeres, en edades de 15 a 25 años.
3. Otros insecticidas y los no especificados con 28 muertes, de las cuales 18 hombres y 10 mujeres, de 10 a 40 años.
4. Rodenticidas con 8 muertes, todas en hombres en edades de 15 a 39 años.
5. Las mezclas de insecticidas y fungicidas, ambos con dos muertes en hombres de 15 y 44 años.
6. Organoclorados con una muerte de un hombre de 30 años de edad.

Hay gran cantidad de personas expuestas directamente a los plaguicidas por estar relacionadas con la producción, transporte, importación, almacenamiento o uso de estas sustancias y personas expuestas indirectamente a través de los residuos de plaguicidas en los alimentos, los que se transportan por viento, los que contaminan los mantos freáticos, en los cultivos tratados como en el caso de las flores.

EFEECTO AMBIENTAL

El empleo continuo y cada vez mayor de compuestos agrícolas, puede causar efecto sobre el ambiente (Pandita, 1983). El valor de los plaguicidas para el control de organismos no deseados es de importancia económica inquestionable (Moutschen *et al.*, 1984).

Al asperjar cualquier plaguicida, se establece una interacción entre éste y el medio, hasta que termina su efecto y desaparece, esta correlación se lleva a nivel de la atmósfera, del suelo superficial y en su interior, en el agua y dentro de las plantas. Las relaciones que se suscitan no son simples ya que son factores múltiples los que intervienen sobre su actividad biológica tales como la humedad, la presión, etc. El ambiente influye en la acción y selectividad del plaguicida alterándolo y por tanto repercutiendo sobre los organismos (De la Jara, 1982a) (Fig. 1).

La manera en que los plaguicidas pueden llegar a la atmósfera es muy variada, pero el aporte más importante lo proporcionan las aplicaciones en forma de rociado; las corrientes de aire que acarrear las gotas pueden transportarlas por la atmósfera a distancias considerables del punto de aplicación, horizontal y vertical. El acarreo está en función del tamaño de las gotas, las condiciones atmosféricas; la dirección del viento, de la temperatura, de las adyuvantes de la formulación, y del equipo de aplicación (avión, boquillas, mochilas, etc.) (Márisco, 1980). Independientemente del modo de aplicación siempre llegan al suelo o bien son asperjados directamente en presiembra o preemergencia, en donde permanecen por tiempo variable (De la Jara, 1982b; Klingman y Ashton, 1984).

El empleo de compuestos químicos para el control de las plagas causa impactos negativos al ambiente, a la salud, e incluso incide desfavorablemente en el proceso productor del sector agropecuario. Se ha comprobado, que con los plaguicidas se ocasiona la extinción de depredadores naturales de insectos y se incrementa cada vez más la resistencia de plagas a las fórmulas químicas (López, 1986).

La toxicidad aguda, de los compuestos organofosforados al momento de ser aplicados, es más alta que la de los organoclorados y los carbamatos, por lo que representan riesgos inmediatos más graves de envenenamiento para las personas que están en contacto con ellos, como los campesinos, trabajadores de viveros, jornaleros agrícolas y sus familias (Restrepo y Franco, 1988).

La resistencia de algunos individuos a los plaguicidas organoclorados, organofosforados y carbamatos, quizás con la excepción de los ciclodienos, se debe a la sensibilidad de cada organismo. De modo que es inútil reemplazar un plaguicida por otro dentro de estos grupos. Por el contrario, agravan generalmente el problema de la resistencia. La evolución que en ésta se observa demuestra que la estrategia del control químico ha fracasado. El uso de plaguicidas no conlleva solamente peligros a la salud humana en los proceso de su fabricación y aplicación; o para la contaminación del medio y los alimentos; también es con frecuencia un riesgo para el desarrollo mismo del cultivo, particularmente en cuanto a su continuidad en un lugar específico (Restrepo y Franco, 1988).

INFORMACION TOXICOLOGICA

La exposición a plaguicidas es una situación alarmante en el caso de los individuos ocupacionalmente expuestos ya que en ellos se acentúan los problemas de salud.

Se han identificando más de 15,000 sustancias tóxicas o dañinas para la salud, que causan desde dermatitis hasta cáncer, detectándose que su acción puede ser inmediata a la exposición o manifestarse tiempo después.

La penetración de cualquier plaguicida en el cuerpo humano se hace a través de cuatro vías distintas: por la boca (oral), por la piel (dérmica), por inhalación (respiratoria) y transplacentaria (Tabla 2).

El ingreso de los agentes tóxicos en el cuerpo está en función de la cantidad y del contacto que se tenga con éste.

La acción tóxica de un plaguicida puede ser aguda (resultado de la ingestión de una sola dosis, intoxicación inmediata), subaguda (ingestión de dosis pequeñas en tomas repetidas) y crónica (acción de dosis pequeñas y acumulativas durante un tiempo prolongado) (Wester y Maibach, 1985).

La piel es el primer contacto con los contaminantes y la ruta más rápida que siguen para entrar al cuerpo (Maibach y Feldmann, 1974). Durante la aplicación de los plaguicidas la exposición de la piel es mayor que la de las vías respiratorias por ello la penetración cutánea es la de mayor importancia en la exposición laboral (LaDou, 1993).

Cuando un plaguicida está en relación con la piel su absorción depende de parámetros como (Córdoba, 1986):

- concentración empleada
- área superficial
- oclusión
- condiciones de la piel
- aplicación de dosis múltiple
- tiempo de contacto

Los productos tóxicos como los plaguicidas ingresan al organismo por absorción y penetran a la circulación atravesando membranas celulares hasta el sitio blanco en el cuerpo.

Un plaguicida puede seguir diferentes caminos (Vega, 1985):

1. Ser eliminado sin sufrir alteración.
2. Transformarse para ser fácilmente eliminado
3. Modificar su estructura aumentando o disminuyendo su toxicidad.

Algunos plaguicidas son eliminados sin cambios otros son excretados sufriendo un proceso de biotransformación para lo cual se lleva a cabo una serie de pasos metabólicos cuya finalidad es modificarlo en sustancias más polares, ionizables, para que no sean reabsorbidas por el túbulo renal y sean fácilmente excretadas a través de la orina. Si no se dieran estas transformaciones los compuestos apolares liposolubles no serían filtrados o serían reabsorbidos por los túbulos renales y sólo podrían excretarse junto con la bilis y, en menor proporción, en la leche, las heces, el sudor y la saliva (Córdoba, 1986) (Fig. 2).

La toxicidad o peligrosidad de los plaguicidas, según la OMS (1990), es la capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se dan una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto.

La DL₅₀ oral obtenida para ratas permite establecer valores de toxicidad relativa para los distintos plaguicidas, los cuales al extrapolarlos al ser humano, se tiene un dato teórico de la peligrosidad de los compuestos. La estimación es teórica y orientadora, ya que por razones obvias no es posible efectuar las pruebas en el hombre, pero se ha podido realizar una escala de clasificación de plaguicidas de acuerdo con la toxicología del ingrediente activo (Mársico, 1980), que se basa en la dosis letal media (DL₅₀) aguda por vía oral o dérmica de las ratas y se expresa en mg/kg de peso corporal incluyendo cuatro categorías (Tabla 3).

Las enfermedades crónicas con periodos de latencia largos, como el cáncer, son una de las preocupaciones de salud más importantes en lo tocante a plaguicidas. Se han descrito casos de anemia aplásica, una alteración de la sangre que se considera relacionada con los plaguicidas organoclorados; en el caso de las enfermedades pulmonares crónicas, se tienen reportes por parte del IMSS y de la Secretaría de Salubridad de un aumento significativo en campesinos asperjadores de plaguicidas (SS, 1993).

Al realizar los análisis de orina en individuos expuestos a productos químicos, los resultados son alarmantes, ya que el 74% de las muestras estudiadas y correspondientes a los trabajadores se encuentran por encima del límite tolerable (OMS, 1990).

SISTEMAS DE PRUEBA PARA EVALUAR EL DAÑO GENOTÓXICO

Con el fin de detectar el efecto de los contaminantes ambientales se han desarrollado diversos sistemas que permiten evaluar el daño genotóxico provocado por mutágenos tanto físicos como químicos, donde se usan como batería de pruebas: bacterias, hongos, plantas y animales (EMS, 1975) en ensayos como el de Ames *Salmonella/microsoma*, aberraciones cromosómicas, micronúcleos (MN) e intercambio de cromátidas hermanas (ICH) (Alink *et al.*, 1983). Este último es muy útil, ya que permite realizar análisis de exposiciones *in vitro* e *in vivo* mediante el cultivo de linfocitos o de otros sistemas celulares. El estudio del efecto del contacto a agentes mutagénicos tanto *in vitro* como *in vivo* también es posible en el ser humano, mediante el uso de cultivos celulares, como fibroblastos de piel, células epiteliales de descamación de mucosa (oral y de vejiga) y células de la médula ósea (WHO/IPCS, 1985).

Los linfocitos humanos pueden proliferar en distintos medios, que pueden ser enriquecidos o no con suero fetal. Se ha demostrado, que la cantidad de células que se dividen y el tiempo que transcurre entre una división y la siguiente (ciclo celular), después de la estimulación con fitohemaglutinina, depende del tipo de medio y del suero empleado (Prescott, 1976).

LINFOCITOS HUMANOS

El sistema de linfocitos humanos de sangre periférica tiene características útiles para observar funciones especiales como la diferenciación celular, la transferencia de energía, el flujo de información genética del ADN a través del ARN a proteínas y la formación de organelos celulares. Debido a esto son empleados en estudios citogenéticos y para diagnóstico clínico (Lerner y Dixon, 1973).

Los linfocitos son la célula primordial de la respuesta inmune por medio de la cual, el organismo responde a los agentes ambientales (Lerner y Dixon, 1973).

Los linfocitos humanos han demostrado que son indicadores extremadamente sensibles tanto *in vivo* como *in vitro* para el análisis de cambios cromosómicos estructurales, presentando las ventajas siguientes (Evans y O'Riordan, 1975):

- Fácil disponibilidad de gran número de células humanas y de obtención sencilla, ya que 1 ml de sangre periférica puede contener de 1 a 3 millones.
- Están distribuidos en el cuerpo, circulando en todos los tejidos y una proporción elevada de ellos son longevos.
- Generalmente constituyen una población celular sincronizada en la interfase y normalmente no realizan la mitosis.
- En cultivo se puede inducir la mitosis mediante la adición de un estimulante mitótico, la fitohemaglutinina (PHA).
- Hay excelentes técnicas disponibles para hacer preparaciones de linfocitos, teniendo cierta frecuencia espontánea de aberraciones cromosómicas.
- En experimentos *in vitro* se puede trabajar con un amplio rango de concentraciones de la sustancia a verificar. Esto da la oportunidad de evaluar con mayor exactitud la dependencia concentración-efecto y también el espectro de aberraciones inducidas (Zhurkov y Yakovenko, 1976).

En la actualidad se cuenta con metodologías estandarizadas para el cultivo de sangre periférica completa de humanos, lo que permite determinar la sensibilidad de los linfocitos a las alteraciones citogenéticas. Estas dan resultados reproducibles con índices mitóticos elevados y frecuencias basales de eventos de daños estables (Klingerman *et al.*, 1984).

Para estimular la división de los linfocitos en cultivo se han empleado extractos vegetales que tienen propiedades mitogénicas, esto se debe a la presencia de ciertas proteínas llamadas lectinas como la concavalina (A) y la fitohemaglutinina (PHA) (Crossen y Morgan, 1977). Así como otras sustancias como lipopolisacáridos derivados de bacterias como estreptococos y estafilococos (Ling y Kay, 1975).

Hay gran cantidad de factores que intervienen en el inicio y en la duración de la síntesis del ADN en los linfocitos en cultivo, entre ellos se pueden citar el origen, la concentración y el metabolismo del estimulante empleado y las condiciones de cultivo (Jasinka *et al.*, 1970).

Jasinka y colaboradores (1970), describen que los linfocitos en cultivo no inician la síntesis del ADN al mismo tiempo, algunos entran al periodo S después de 36 horas, mientras que otros pueden permanecer entre G₁ y S hasta más de 72 horas, sugiriendo que la duración del periodo G₁ es muy variable bajo las mismas condiciones.

Asimismo el cultivo de linfocitos se ha utilizado como un modelo para investigar la regulación de los estados iniciales de proliferación celular durante la fase de transición de G₀- G₁-S (Kaczmarek *et al.*, 1987).

INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS

El análisis a través de la prueba de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) es muy empleado para evaluar el riesgo que implica para las poblaciones la exposición a los contaminantes, porque es rápido y sensible, ya que se induce con concentraciones hasta 10 veces menores que las requeridas para ocasionar aberraciones cromosómicas (Wolff, 1974; Perry y Evans, 1975).

Los ICH pueden ser provocados por circunstancias múltiples como el daño al ADN por inhibición del proceso de la síntesis (Ishii y Bender, 1980; Rainaldi y Mariani, 1982), por enzimas involucradas en la reparación (Oikawa *et al.*, 1980) o por un agente promotor de cáncer no involucrado en la producción de lesiones sobre el ADN (Kinsella y Radman, 1978; Schwarts *et al.*, 1982). Son inducidos eficientemente por substancias que forman aductos covalentes con el ADN (Perera *et al.*, 1987).

El mecanismo molecular de los intercambios se refiere a que son transposiciones simétricas de ADN de doble cadena equivalentes de las cromátidas de un mismo cromosoma, es decir, son el resultado de rompimiento y reunión del ADN en sitios aparentemente homólogos de dos cromátidas de un mismo cromosoma.

La primera evidencia del intercambio de cromátidas hermanas es descubierta por Taylor *et al.* (1957), usando métodos autorradiográficos en cromosomas metafásicos de *Vicia faba*. Con timidina tritiada en la primera de dos divisiones subsecuentes encuentra que los cromosomas de las células que se han dividido dos veces muestran una cromátida marcada y otra sin marcar, con intercambios de segmentos. Siendo esto evidencia de la duplicación semiconservadora y de la presencia de una sola doble hélice de ácido desoxirribonucleico (ADN) por cromátida. Posteriormente Latt (1973) sugiere el uso del colorante fluorocromado bisbenzimidaz 33258 de Hoechst, como indicador de la incorporación del análogo de base (BrdU) en el ADN de leucocitos cultivados durante dos ciclos sucesivos de división celular o al menos uno de ellos en presencia de BrdU. Sin embargo, aunque es posible detectar intercambios de segmentos muy pequeños, este método tiene la desventaja de que la fluorescencia se desvanece rápidamente.

Con el fin de mejorar este sistema Perry y Wolff (1974) utilizan el método de fluorescencia más Giemsa (FPG), el cual consiste en dejar a las células durante dos ciclos de replicación en presencia con BrdU y teñirlas con los colorantes Hoechst y Giemsa. Las cromátidas bifilarmente sustituidas de BrdU se tiñen más débilmente que las unifilares. La sustitución diferencial de las cromátidas con BrdU produce cromátidas fácilmente distinguibles gracias a la tinción apropiada.

Para la detección del ICH se utiliza la incorporación de un átomo pesado y polarizable como el bromo (Br) en el ADN en la forma de un análogo de la timina, la bromodesoxiuridina (BrdUrd). La incorporación de ésta se basa en tres postulados: (1) la teoría uninémica de la cromátida, (2) la duplicación semiconservadora del ADN y (3) la segregación al azar de los cromosomas durante la división celular (Tice *et al.*, 1976).

La incorporación de la BrdUrd en el ADN es necesaria para la tinción diferencial de las cromátidas hermanas y la identificación de células en metafase que han pasado por uno, dos o tres ciclos de replicación (Tice *et al.*, 1975)(Fig. 3.)

La detección de los intercambios de las cromátidas hermanas mediante esta técnica permite la cuantificación precisa de los eventos, ya que con la tinción diferencial de las dos cromátidas es posible hacer la identificación de los ICH sin el uso del microscopio de fluorescencia.

Un ICH representa el rompimiento de 4 hebras de ADN (2 hélices dobles), una conexión entre las hebras de uno y otro brazo del mismo cromosoma y la reunión de las hebras en su nueva localización (Carrano y Thompson *et al.*, 1982).

Se ha demostrado que la frecuencia de ICH se incrementa dramáticamente cuando las células u organismos completos, incluyendo a los seres humanos, se exponen a mutágenos y carcinógenos conocidos (Perry y Evans, 1975; Latt *et al.*, 1981; Lambert *et al.*, 1982). Las aberraciones cromosómicas inducidas por agentes físicos o químicos pueden ser estudiadas en cualquier población celular en ciclo o en poblaciones celulares que no están en ciclo pero que pueden ser estimuladas por un agente mitogénico. Para estudios en humanos se dispone de dos tipos de células a las que se puede tener acceso en una forma fácil y práctica. Estas son las de la médula ósea (población en ciclo) y los linfocitos de sangre periférica, los cuales como se menciona antes, normalmente no se están dividiendo, pero pueden ser estimulados *in vitro* cultivándolos con un mitógeno como la fitohemaglutinina (PHA).

Esta prueba tiene una gran ventaja sobre otras ya que se tienen poblaciones celulares numerosas (Evans y O'Riordan, 1975) y debido a la fácil obtención de una muestra de sangre. El ensayo con linfocitos ha sido utilizado en la mayoría de los estudios concernientes a la inducción de aberraciones cromosómicas e ICH en humanos ofreciendo un método adecuado para la detección del efecto de mutágenos ambientales (Perry y Evans, 1975; Zhurkov y Yakovenko, 1976).

Se ha demostrado que el proceso de intercambio de cromátidas hermanas requiere que la célula pase por la etapa de síntesis (S) del ADN (Wolff, 1974) y que es durante o inmediatamente después de que se ha formado la horquilla de replicación cuando se lleva a cabo el intercambio de doble banda entre las cadenas de ADN (Kato, 1980).

Existen varias hipótesis propuestas para explicar la formación del ICH, la más aceptado es el esquema de Painter (1982) que es consistente con las bases teóricas (estructura y replicación del ADN) y experimentales. Este se basa en la idea de que los rompimientos de doble hebra, es decir de cada hebra progenitora, se realizan frecuentemente en las conjunciones de grupos de replicones adyacentes durante su replicación. Es decir que el ICH se inicia en el punto de coincidencia de un replicón completamente duplicado y otro parcialmente duplicado, donde se provoca esta lesión generando con esto un ICH. Este principio está apoyado por la evidencia de que las topoisomerasas promueven y reúnen los rompimientos. Se sugiere que los rompimientos de la doble hebra de ADN en estas conexiones son formados y unidos por la acción de las topoisomerasas I y II que se encuentran localizadas en las células de mamíferos (Liu *et al.*, 1980). Eventualmente en lugar de una reunión normal, el rompimiento es sellado por la reunión de hebras hijas de una molécula duplicada a la molécula no duplicada. Por lo tanto, el ICH es iniciado cuando las hebras hijas nacientes de un grupo duplicado se combinan con hebras progenitoras de un grupo parcialmente duplicado y cuando estos últimos grupos completan la duplicación el ICH se termina de formar (Fig. 4). Este intercambio requiere de un sólo evento: el rompimiento de la doble hebra y éste es consistente con los datos que sugieren que la formación de los ICHs es una función lineal con la dosis del agente (Carrano y Thompson, 1982). Un apoyo posterior a esta teoría esta dado por los experimentos de Dillehay *et al.* (1987) quienes postulan que el ICH resulta de la alteración de la topoisomerasa II mediante la acción de un agente supresor de la misma durante la fase de síntesis. Lo anterior fue probado mediante un experimento, con el cual se observó la acción del 4'-(9-acridinilamino) metanosulfon-m-anisida (mAMSA), como supresor de la topoisomerasa II, observándose la formación del ICH cuando este agente está presente durante la síntesis del ADN. Un supresor de la topoisomerasa II, tal como la Novobiocina, produce una inhibición en la síntesis de la cadena de ADN pero sin inducir por sí mismo ICH, es más, éste conduce a la disminución en la acción de la mAMSA.

El índice mitótico y la cinética de proliferación celular (CPC) son criterios que han sido empleados con gran eficacia como biomarcadores para evaluar la proliferación de linfocitos de una población, así como el de células normales y tumorales (Tice *et al.*, 1975, 1976). Se han empleado para evaluar el daño al ADN a concentraciones citotóxicas ya que las alteraciones en la proliferación pueden ser modificadas por la genotoxicidad. En paralelo con otros ensayos ha sido usada para detectar la genotoxicidad de plaguicidas (Chen *et al.*, 1981; González-Cid, 1988). Estas células tienen como ventajas que mediante muestreos no invasivos pueden obtenerse gran cantidad de ellas, cultivadas mediante técnicas sencillas y de bajo costo, además de permitir analizar efectos tanto *in vivo* como *in vitro* (Palma *et al.*, 1993).

La CPC es una medida del número relativo de generaciones durante un tiempo específico en cultivo, identificando células cuyo ADN ha sido replicado. Para su análisis hay que tener en cuenta, la reproducibilidad, especificidad y sensibilidad de los parámetros evaluados (Ivett y Tice, 1982).

La cinética de proliferación linfocitaria es afectada por factores fisiológicos como, la edad del donador (When y Liew, 1983; Malarango y Smith, 1990), la salud (Kierszbenbaum *et al.*, 1990; Szein *et al.*, 1990) y el medio de cultivo (Wolff, 1974; Speit *et al.*, 1986; Gonsebatt, 1990; Larramendy *et al.*, 1990). El análisis de la cinética conduce a la evaluación de variaciones intra e inter-individuales de los efectos provocados por agentes químicos, la variación inter-individual está relacionada con factores como la edad, el metabolismo, mientras que en la intrínseca interviene la susceptibilidad de la población de linfocitos (Obe y Beek, 1984).

PRUEBA DE MICRONUCLEOS

El tejido epitelial está construido por células generalmente poliédricas yuxtapuestas, entre las cuales hay escasa sustancia intercelular, las células epiteliales derivan de las tres hojas germinales (ecto, endo y mesodermo). La mayor parte de las células epiteliales que recubren la piel y algunas cavidades naturales (boca, ano y fosas nasales) son de origen ectodérmico. Es común clasificar a los epitelios de acuerdo con su estructura y función en dos grandes grupos: los de revestimiento y los glandulares. Este criterio encierra cierto grado de arbitrariedad, ya que existen epitelios de revestimiento donde todas las células secretan moco (epitelio de revestimiento del estómago) o también donde sólo algunas células son glandulares (células calciformes de la tráquea) (Lesson y Lesson, 1989).

Los epitelios son tejidos cuyas células tienen vida limitada, en consecuencia, hay una renovación constante de estas células gracias a una actividad mitótica continua. La velocidad de esta renovación es variable, pudiendo ser muy rápida en ciertos casos y lenta en otros, como ejemplos extremos pueden citarse el epitelio de revestimiento intestinal que se renueva cada dos o tres días y el de las glándulas salivales y del páncreas que tardan más de dos meses para reemplazarse. En los epitelios estratificados y pseudoestratificados en general, las mitosis ocurren en las células situadas junto a la membrana basal. Tal es el caso del epitelio plano estratificado que reviste el cérvix y la cavidad oral, el cual está formado por células basales, intermedias y superficiales. La capa basal tiene células hijas, que al madurar se transforman en otro tipo celular y migran a la superficie para sustituir a las células perdidas, renovando a las células maduras. Al sufrir daños cromosómicos las células basales del epitelio forman micronúcleos que quedan excluidos del núcleo principal de la célula hija (Pearson *et al.*, 1981) (Fig. 5).

La morfología celular, se deteriora progresivamente con el incremento del pH y el almacenamiento prolongado (Pearson *et al.*, 1981). El punto final de la degeneración, es decir de la muerte celular, conduce a tres situaciones: picnosis (núcleo contraído), cariorrexis (desintegración nuclear) y cariólisis. La cariólisis es un estado inespecífico en que la cromatina está disminuida y condensada hacia el borde nuclear (Wendt, 1959) (Fig. 6).

Cuando el contorno celular se torna esférico y la cromatina está condensada en la periferia, entonces persiste como masa de cromatina aglomerada. Después de haber desaparecido el borde nuclear, se produce una cariorrexis. Otra forma de muerte celular que se observa con frecuencia es la picnosis, en que hay retracción y condensación de la cromatina en el núcleo, que se convierte en una masa sólida y amorfa. El citoplasma muestra disminución de la basofilia, por la pérdida de ribonucleoproteína, intensa eosinofilia y fragmentación (Takahashi, 1985).

La picnosis y la condensación cromatídica se correlacionan normalmente con la diferenciación y la madurez del epitelio celular. Sin embargo se presentan valores elevados como respuesta a la lesiones celulares (Pindborg *et al.*, 1980).

La picnosis, la condensación cromatídica, la cariorrexis y la cariólisis son características de células que sufren necrosis, que es una forma de muerte celular que ocurre siguiendo la lesión por agentes que causan perturbación del ambiente celular (Wylie, 1981).

Las células binucleadas no parecen estar directamente relacionadas con la interacción del ADN, más bien, la interferencia con estos eventos ocurre más tarde en la división celular. Las consecuencias de la binucleación son desconocidas. El rompimiento de huevo, es un término recientemente aplicado a anomalías muy aparentes de origen desconocido y significativo (Fig. 6) (Tolbert *et al.*, 1992).

La prueba de micronúcleos (MN) en exfoliación de mucosa bucal es una técnica innovadora para evaluar el daño en poblaciones expuestas a agentes mutagénicos y carcinogénicos (Rosin y Stich, 1983; Stich *et al.*, 1983; Tolbert *et al.*, 1992) e incluye el análisis de exfoliación celular de diversos tipos de epitelios de cavidades oral y nasal, esófago, útero, vejiga y tracto urinario (Stich *et al.*, 1983; Tolbert *et al.*, 1992). Debido a su gran confiabilidad junto con la simplicidad y rapidez de tamiz con respecto a otras pruebas citogenéticas, ésta es un indicador de rompimientos cromosómicos, genotóxicos y/o carcinogénicos (Countryman y Heddle, 1976; Schmid, 1976; Nassi *et al.*, 1987).

Los micronúcleos se forman por la condensación de fragmentos cromosómicos acéntricos o por todo el cromosoma que por daño al huso o por alguna lesión centromérica, no migra hacia los polos (Díaz *et al.*, 1990). Son fácilmente detectados en células en interfase como cuerpos intracitoplasmáticos libres (Högstedt, 1984).

El estudio de daño genético por observación directa de cromosomas en metafase puede detectar muchos tipos de cambios cromosómicos estructurales, pero aún no se han desarrollado técnicas efectivas para hacer preparaciones cromosómicas de tejidos epiteliales. Sin embargo, como estas células no necesitan ser estimuladas, las aberraciones cromosómicas inestables pueden ser estudiadas por la detección de MN en células en interfase, tanto en secciones tisulares como en células exfoliadas (Stich *et al.*, 1985; Ribeiro *et al.*, 1990).

Al llevarse a cabo la división de las células basales del epitelio que ha sufrido daños cromosómicos, los fragmentos acéntricos y los cromosomas completos que no están unidos al huso acromático quedan excluidos del núcleo principal de la célula hija y forman sus propias membranas, presentándose como cuerpos llamados micronúcleos, que se localizan en el citoplasma; estas células después de madurar son exfoliadas (Rosin y Stich, 1983).

Los micronúcleos en las células exfoliadas reflejan eventos genotóxicos que han ocurrido en la capa basal en división de las tres últimas semanas (Stich *et al.*, 1983); estas células de la capa superficial del epitelio son colectadas fácilmente y pueden reflejar daño genotóxico en tejidos epiteliales, que es en donde aparecen cerca del 92% de los cánceres (Cairns, 1975; Rosin y Gilbert, 1990).

Algunos estudios han reportado frecuencias elevadas de células micronucleadas (MN) en individuos expuestos a sustancias o factores asociados con un riesgo incrementado de cáncer. Muchos de ellos se han realizado en células provenientes de la cavidad oral. Individuos expuestos a carcinógenos orales, como el tabaco, presentan un aumento de MN cuando se les compara con testigos no expuestos (Mandrad *et al.*, 1987; Sarto *et al.*, 1987). El uso de alcohol y tabaco eleva la frecuencia de MN de una manera directamente proporcional al consumo diario de cigarrillos, lo cual coincide con datos de estudios epidemiológicos que describen una interacción sinérgica entre alcohol y tabaco en el incremento de riesgo para el cáncer oral (Wynder *et al.*, 1975). Stich *et al.* (1982 a,b) aplican la prueba de MN en células exfoliadas del epitelio bucal de fumadores de tabaco de Bihar, India y encuentran una cantidad elevada en los 27 individuos examinados.

In vivo los niveles de rompimientos cromosómicos en tejidos epiteliales pueden ser cuantificados por la determinación de la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas; los lugares más accesibles para que tales células puedan ser colectadas son la cavidad oral, mediante el raspado de la mucosa, y la vejiga urinaria, por centrifugación de orina (Rosin y Gilbert, 1990).

La prueba de MN en células exfoliadas tiene ventajas, ya que, el tejido blanco puede ser estudiado directamente, siendo también un ensayo muy sencillo de realizar.

Existen variaciones en las frecuencias reportadas para los grupos testigos, mucha de esa variabilidad se debe a la falta de rigor con que se determina la frecuencia de MN, Reali *et al.* (1987), comentan que es necesario analizar un mínimo de 3,000 células por sujeto, ya que la presencia de células micronucleadas con un alto grado de certidumbre es baja. Es muy común que aparezcan cuerpos Feulgen positivos que son en realidad núcleos rotos de granulocitos (Reali *et al.*, 1987; Blas, 1995).

EFFECTOS CITOGENETICOS EN PERSONAS OCUPACIONALMENTE EXPUESTAS.

Los plaguicidas representan riesgo ocupacional para dos grupos de trabajadores, aquellos que los elaboran y los expuestos en las áreas agrícolas. Existe además la posibilidad de que ocurran accidentes que causan intoxicaciones agudas. Para la población en general constituye un peligro menor a través de las cadenas tróficas (Moutschen *et al.*, 1984).

El uso de plaguicidas en la producción agrícola, tiene gran importancia económica, no obstante es necesario destacar, que su aplicación ocasiona la interacción plaguicidas-suelo-agua-aire, lo que tiene un impacto potencial y adverso en el ambiente. Por sus características de bioacumulación y de movilidad a través de las redes tróficas, algunos de ellos pueden llegar al hombre de manera indirecta o directa al estar expuestos a ellos por su ocupación, ocasionándole daños en la salud.

El empleo extenso de estos potentes agentes químicos en el medio y la exposición prolongada y persistente de ciertos agricultores, ha hecho necesario realizar ensayos que permitan evaluar su posible potencial carcinogénico y mutagénico (Sobti *et al.*, 1982).

Los plaguicidas se han convertido en un tema central de controversia en el interior de la comunidad científica y entre las personas. En nuestro país ya se han presentado signos de contaminación química que es necesario atender. Pero poco se ha hecho debido, entre otras razones, al desconocimiento que la población tiene acerca de insumos que se utilizan en la agricultura (Stellman y Daum, 1986).

Hoy en día, se le ha dado mucha atención a la probable carcinogenicidad, mutagenicidad y teratogenicidad microtoxicológica causada por la alteración a largo plazo de sustancias utilizadas en la protección química de las plantas. La importancia social de tales investigaciones es el reconocimiento temprano de factores carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos en humanos (Nehéz *et al.*, 1981).

Los efectos citogenéticos *in vitro* e *in vivo* de los plaguicidas han sido bien estudiados. Sin embargo, las investigaciones acerca de personas ocupacionalmente expuestas son menos frecuentes (Gómez Arroyo *et al.*, 1992).

Los primeros estudios en este campo son de Yoder *et al.* (1973), quienes hacen un análisis citogenético en asperjadores de plaguicidas organofosforados y encuentra un aumento significativo de aberraciones cromosómicas estructurales durante la época de exposición aguda.

Dulout *et al.* (1985) examinan los cromosomas de pacientes intoxicados con organofosforados y demuestran incremento de rompimientos cromatídicos. Resultados similares son indicados por Rabello *et al.* (1975) en trabajadores de una fábrica de DDT en Brasil.

Sobti *et al.* (1982), en un análisis con plaguicidas organofosforados en campesinos, encuentran cambios en el ciclo celular mostrando el ascenso o la disminución en el número de metafases de 1ª, 2ª y 3ª división, así como el aumento significativo de la frecuencia basal de ICH.

En varios reportes de la literatura se han descrito efectos genotóxicos de los plaguicidas en linfocitos de personas expuestas (Dulout *et al.*, 1985; Paldy *et al.*, 1987; Rupa *et al.*, 1989; De Ferrari *et al.*, 1991).

Rupa *et al.* (1989), en un estudio con agricultores fumadores, observan incremento significativo en la frecuencia de metafases de 1ª división celular e ICH con respecto al grupo testigo, infiriendo que el cigarrillo contribuye al aumento en la frecuencia basal de ICH y de las alteraciones en la cinética de proliferación celular.

La inducción de ICH, aberraciones cromosómicas y micronúcleos en linfocitos de sangre periférica en un grupo italiano de floricultores expuestos a mezclas de plaguicidas no muestra diferencias significativas con respecto al testigo, pero al analizar a los agricultores fumadores, se observa un aumento del 17% en ICH y un 54% en aberraciones cromosómicas cuando se comparan con los campesinos no fumadores (Scarpato *et al.*, 1996).

Diversos estudios en agricultores expuestos han mostrado que existe una relación entre el tiempo de exposición y el peligro de presentar cáncer (Carbonell *et al.*, 1993), en células germinales se ha visto un impacto en la capacidad reproductora pudiendo causar esterilidad y alteraciones genéticas como aberraciones cromosómicas (Carbonell *et al.*, 1996).

Se han realizado investigaciones *in vivo* e *in vitro* con estos agentes donde se evidencia la producción de numerosos efectos citotóxicos y farmacológicos en varias especies de animales y en el hombre, dentro de las cuales se consideran las alteraciones al material genético, las alergias, las afecciones de las vías respiratorias, al sistema nervioso y aún la muerte (Barberá, 1975; Ecobichon y Joy, 1984).

OBJETIVO

En el mundo se cuenta con registros actuales, pero incompletos, que sólo proporcionan estadísticas de morbilidad. Por ello es importante considerar y evaluar los problemas de salud que provoca la exposición a plaguicidas, en las áreas agrícolas de mayor susceptibilidad, caracterizando grupos expuestos y correlacionando la información recabada mediante la apreciación biológica y médica.

Se han realizado estudios con respecto a la contaminación y al peligro que ésta representa para la salud de las poblaciones expuestas (Krishna *et al.*, 1985) y conociendo que los plaguicidas son uno de los contaminantes ambientales más tóxicos por contener complicadas mezclas de varios agentes químicos que causan mutaciones y cánceres, surge la preocupación del riesgo que éstos implican en los aplicadores que se encuentran directamente en contacto con los plaguicidas por ello en este trabajo se propone evaluar el posible daño citogenético en floricultores expuestos a plaguicidas que trabajan en invernaderos del Estado de Morelos, mediante las pruebas de intercambio de cromátidas hermanas en linfocitos de sangre periférica y de micronúcleos en células de exfoliación de mucosa oral, así como detectar alteraciones en la cinética de proliferación celular a través de los índices de replicación y mitótico.

MATERIALES Y METODOS

DESCRIPCION DEL AREA DE ESTUDIO

El Estado de Morelos se encuentra en el Centro de la República Mexicana, cuenta con una población de 1'195,059 habitantes, sobre una superficie de 4,964 Km², es decir 511,179 ha (INEGI, 1994).

La economía de la región se basa principalmente en la agricultura, por lo tanto, Morelos es uno de los estados que presenta un valor considerable de personas intoxicadas por el uso de plaguicidas (INEGI, 1993).

La población expuesta a los plaguicidas de esta región es potencialmente numerosa e incluye a personas de todas las edades que viven tanto en zonas urbanas, como en rurales (SS, 1993).

La entidad dispone de 44,430 hectáreas de riego y 77,741 de temporal. Debido a la gran variedad de climas, Morelos cuenta con una amplia diversidad de cultivos, todos ellos tienen un nivel de participación relativamente homogéneo en cuanto a superficie cosechada. Al hacer un desglose de la superficie de riego y temporal, se observa que en esta última, el cultivo principal es el sorgo. En segundo lugar está el jitomate y el resto se siembra con maíz, arroz, frijol, etc. La superficie de riego muestra mucha variedad de cultivos, los más importantes son caña de azúcar, arroz, limón, mango, flores, hortalizas como calabaza, pepino, cebolla, chile, ejote, melón y sandía (INEGI, 1988).

En el ciclo primavera-verano (de marzo a agosto), el 60% de las aplicaciones de plaguicidas es sobre flores de ornato, caña de azúcar, jitomate y calabaza. La mayoría de los agroquímicos se dirigen a controlar principalmente al gusano soldado (*Spodoptera exigua*), a la mosquita blanca (*Bemisia tabaci*), a la gallina ciega (*Phyllophaga spp.*), al pulgón y a los hongos tizón temprano y tizón tardío (INEGI, 1993).

Trabajo de campo

Este trabajo se llevó a cabo con floricultores del Estado de Morelos, expuestos a plaguicidas y se tomó como testigo a un grupo de condiciones socioeconómicas similares, sin exposición a plaguicidas.

Se realizaron visitas preliminares para conocer y delimitar las zonas de trabajo y además para contactar a los agricultores que conformaron los grupos de estudio como población expuesta.

Se hicieron varias visitas al hospital regional de Cuautla "Dr. MAURO BELAUZARAN TAPIA" en donde se efectuó la revisión de los expedientes médicos de urgencias con el fin de conocer el número de intoxicaciones y el sitio de mayor exposición a plaguicidas durante los últimos años.

El análisis de estos resultados reflejó que los meses con la más elevada frecuencia de intoxicaciones corresponden a julio y agosto, con suma precipitación pluvial que alcanza los valores más altos del año. Esto hace que las condiciones climáticas sean ideales para el crecimiento de plagas por ello la cantidad de plaguicidas que se emplean para combatirlas es mayor que en el resto de la temporada (Fig. 7).

Se integró un grupo con habitantes de un poblado en donde no se utilizan plaguicidas, el cual fue tomado como testigo.

Con el fin de conocer el tipo de cultivo y los plaguicidas de mayor consumo agrícola en el Estado, se realizó una encuesta a las personas encargadas de los establecimientos distribuidores de productos agrícolas ubicados en las calles principales de Cuautla, Atlatlalucán, San Carlos, Yautepec y Santa Catarina.

Con los datos que se obtuvieron de las encuestas se seleccionaron viveros dentro de los siguientes poblados: Santa Catarina, Jiutepec y Yecapiztla que cuentan con viveros de flores en donde la aplicación de plaguicidas es constante, la mayoría de las personas asperjan diario y almacenan los productos en sus casas y no en lugares especiales. En la figura 8 se muestra su localización en el Estado de Morelos.

Grupo Expuesto

Viveros seleccionados en Santa Catarina

Vivero Santa Catarina.

Laboran 10 personas 8 mujeres y 2 hombres cuyas edades fluctúan entre los 24 y 60 años.

Es un lugar cerrado por láminas de plástico gruesas, donde la aplicación de plaguicidas es constante, de 2 a 4 veces por semana y el tiempo de exposición de la mayoría de ellos es de aproximadamente 360 horas al año; esto ha sido a lo largo de 10 años.

Vivero Internacional

Se cultivan nochebuenas, crisantemos, malbones y geranios, cuenta con más de 18 hectáreas divididas en naves, cada una cubierta de plástico obscuro, donde laboran 200 personas, 150 mujeres y 50 hombres.

Las actividades realizadas están divididas por brigadas: cortadores, fumigadores y regadores.

La brigada de fumigadores está integrada por 8 hombres cuyas edades se encuentran entre los 18 y 26 años. La aplicación de mezclas de plaguicidas es durante 11 horas diarias, el tiempo de exposición ha sido por año y medio, siendo en total 1,600 horas al año.

Vivero seleccionado en Jiutepec:

Vivero San Gaspar

Se caracteriza por sembrar gerberas, es fumigado 3 ó 4 veces a la semana por 4 trabajadoras entre los 45 y 50 años de edad, con una antigüedad laboral y de exposición de 10 años, sin embargo, al momento de tomarse la muestra, las trabajadoras tenían tres meses de no aplicar plaguicidas.

Vivero seleccionado en Yecapiztla:

Vivero La Estación

En este lugar se cultivan rosas; está integrado por 6 mujeres entre los 30 a 49 años de edad. La aplicación se realiza por ellas mismas, 4 ó 5 días a la semana han estado expuestas 10 años. Las mujeres que laboran en este vivero no habían aplicado plaguicidas seis meses antes de tomarse la muestra.

El vivero es pequeño y la estructura es muy similar a los anteriores.

Los plaguicidas que en estos viveros se emplean están clasificados como altamente tóxicos, por su uso constante, a gran escala y sin restricciones, ya que el cultivo al cual se aplican no es alimento.

El hecho de que en los viveros trabajen en su mayoría mujeres, indica una población homogénea, en la que no existen variables como el alcohol y el cigarro, que pudieran influir en el resultado final.

Grupo Testigo

Fue seleccionada la población de la Unidad Morelos-Temixco del municipio de Xochitepec, cuya actividad económica no tiene que ver con plaguicidas.

En el Centro de Salud de esta región se realizó una revisión de los expedientes de las mujeres de planificación familiar que no ingirieran algún medicamento y que fueran sanas.

Fueron seleccionadas 30 mujeres entre los 20 y 65 años de edad.

De los datos obtenidos de las encuestas se escogieron 28 mujeres y 2 hombres sanos, sin exposición a agentes químicos, medicamentos, alcohol y cigarro, que aceptaron participar como voluntarios en este estudio.

Pláticas de orientación e información

Con ambos grupos se realizaron las siguientes actividades:

- Plática sobre los tipos de plaguicidas, efecto y medidas de seguridad y protección.
- Se realizó la toma de muestra de sangre periférica y de células de exfoliación de mucosa oral.
- Se practicó un examen médico y se elaboró una historia clínica, a todos los personas seleccionadas, para evaluar el aspecto epidemiológico y de esta manera confirmar que no padecieran de alguna enfermedad que influyera en los resultados.
- A cada individuo se le realizó un cuestionario (Anexo) para contar con información sobre hábitos (alimentación, enfermedades padecidas, adicción a cigarrillos, alcohol y drogas) tiempo de exposición a plaguicidas, radiaciones o si estaban bajo tratamiento médico para evaluar efectos causados por plaguicidas, a saber:
 - riesgo toxicológico
 - índice de morbilidad
 - índice de fertilidad
 - malformaciones congénitas
 - cáncer

COLECTA DE LAS MUESTRAS DE SANGRE PARA EL ANALISIS DE ICH

- Se tomaron 3 ml de sangre a cada persona con una jeringa heparinizada, etiquetada con el nombre completo del donador.
- Las jeringas se sellaron y se colocaron en un recipiente para ser transportadas al laboratorio.

TRABAJO DE LABORATORIO

Cultivo y cosecha de linfocitos

Las muestras fueron llevadas al laboratorio, en donde se realizaron las actividades siguientes:

- En 3 ml de medio RPMI (Gibco), se agregaron 8 gotas de sangre mas 0.4 ml de fitohemaglutinina.
- Se incubaron a 37°C. A las 24 horas se añadieron 100 microlitros de bromodesoxiuridina, (análogo de base de la timina) para la tinción diferencial de las cromátidas hermanas (Perry y Wolff, 1974).
- A las 70 horas de iniciado el cultivo se adicionaron 100 microlitros de colchicina, sustancia bloqueadora de la mitosis para obtener cromosomas metafásicos.

Cosecha de linfocitos humanos

La cosecha de linfocitos se llevó a cabo por centrifugación:

1. Cada cultivo fue transferido a un tubo y se centrifugó a 1000 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente.
2. Con ayuda de una pipeta se eliminó el sobrenadante inmediatamente se resuspendió el botón suavemente con KCl a 37°C y se dejó reposar durante 20 min en la incubadora a 37°C.

3. Nuevamente se centrifugó a 1000 rpm durante 5 min .
4. Se desechó el sobrenadante y se resuspendió el botón rápidamente con fijador metanol-ácido acético (Sigma), 3:1.
5. Se centrifugó a 1000 rpm durante 5 min.
6. Se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el botón, con 0.5 ml de fijador y se realizaron las preparaciones.
7. Cada preparación se hizo por goteo de 1.0 a 1.5 metros de altura, elaborándose como mínimo 4 por individuo.
8. Se dejaron secar al aire.

Tinción diferencial de cromátidas hermanas

1. Las laminillas se colocaron en el colorante fluorocromado Hoechst 33258 (solución acuosa 1:9), en cajas de Koplín, por 40 min en la oscuridad, posteriormente se lavaron con agua corriente y se dejaron secar al aire.
2. Se irradiaron con luz negra (20 watts) a 2 cm de distancia durante una hora, cuidando que siempre estuvieran húmedas en solución de citrato de sodio salino, se enjuagaron y se dejaron secar.
3. Después se colocaron en cajas de Koplín con citrato de sodio salino a 60°C durante una hora, se enjuagaron con agua corriente y se dejaron secar al aire.
4. Se tiñeron con Giemsa (solución acuosa 1:10) durante 2 min, se enjuagaron y se dejaron secar en las mismas condiciones.
5. Con el fin de evitar prejuicios en los registros de ICH se reetiquetaron todas las preparaciones.
6. Se realizó el análisis al microscopio, cuantificando 25 metafases en cada paciente identificando ICH sencillos y dobles.

Índice de replicación

Para el análisis del índice de replicación celular se analizaron 100 metafases consecutivas, indicando las que fueron de primera, segunda y tercera divisiones celulares mitóticas, de acuerdo con la siguiente fórmula:

$$IR = \frac{1(M1)+2(M2)+3(M3)}{100}$$

donde:

M₁, considerada como células cuyo ADN se replicó una vez en presencia de la 5-bromodesoxiuridina (5-BrdU); M₂, células que se han duplicado dos veces y M₃, que se han replicado tres veces (Lamberti *et al.*, 1983; Krishna *et al.*, 1985).

Índice mitótico

El índice mitótico (IM) fue determinado como el número de metafases que se encuentren en 5000 células estimuladas, para calcularlo se utilizó la fórmula siguiente:

$$IM = M/TC$$

donde:

M, indica el número de metafases registradas y TC el de células estimuladas.

Análisis estadístico

Se aplicó la "t" de Student a los resultados obtenidos de la prueba de intercambio de cromátidas hermanas y del índice de replicación. Para los análisis estadístico de la cinética celular y del índice mitótico se usó la χ^2 .

MUCOSA ORAL.

Colecta de muestras de mucosa oral para micronúcleos

- Previamente enjuagada la boca con agua, con la ayuda de un abatelenguas se realizó un raspado de las paredes internas izquierda y derecha de la cavidad bucal, extendiendo las muestras en portaobjetos limpios y previamente marcados con una clave que permitió identificar al donador que correspondió y el lado de donde se hizo el raspado.
- Las muestras de mucosa bucal bien extendidas sobre el portaobjetos se dejaron secar al aire durante 10 min. Posteriormente se fijaron con metanol - ácido acético (3:1) y se dejaron secar.
- Las preparaciones ya fijas se colocaron durante 10 min en agua y posteriormente se pasaron a ácido clorhídrico (1N) a temperatura ambiente por 10 min.
- El siguiente paso fue acomodar las preparaciones en HCl 1N a 60°C por 10 min.
- Se sacaron y enjuagaron las laminillas con agua destilada por 10 min.
- Las laminillas se colocaron en una caja de Koplín con reactivo de Schiff durante 90 min.
- Una vez teñidos los núcleos, se enjuagaron las preparaciones con agua corriente y se dejaron secar al aire.
- El análisis al microscopio se realizó con un lente ocular de 10 aumentos y con un objetivo de 40 aumentos. Para apreciar claramente las células micronucleadas y anomalías celulares se utilizó el objetivo de 100 aumentos y el condensador de contraste de fases.

Este análisis, se efectuó con base en los siguientes aspectos: forma y tamaño típico de las células bucales, núcleo y citoplasma claramente definidos (Reali *et al.*, 1987).

Los criterios para estimar la frecuencia de células micronucleadas (MN) fueron previamente establecidos por Heddle *et al.* (1978); Stich y Rosin (1983a) y Livingston *et al.* (1990). La norma para identificar y contar MN se basó en la morfología y en la localización en la célula.

El criterio morfológico se sustentó en la textura (comparando con el núcleo principal), forma (redonda a oval con un límite definido y claro) y tamaño (considerando como límite mayor de un tercio de diámetro del núcleo principal). Los micronúcleos deben localizarse en el mismo plano focal del núcleo principal pero bien definidos y separados físicamente. Las células con uno o mas MN fueron registradas como micronucleadas.

Se tomaron en cuenta otras anomalías nucleares, de acuerdo con la clasificación propuesta por Tolbert *et al.* (1991), que se muestran en la Fig. 5.

1. Binucleación o presencia de dos núcleos en una célula
2. Picnosis o núcleo contraído,
3. Cariorréxis o desintegración nuclear.
4. Cariólisis o disolución nuclear, en la cual se aprecia un núcleo remanente o fantasma.
5. Rompimiento de huevo, se refiere a un fragmento nuclear unido al núcleo principal por material nuclear.
6. Condensación cromatínica, la cromatina nuclear aparece agregada.

El registro se realizó en 3000 células consecutivas.

Análisis estadístico

A los datos obtenidos se les aplicó la prueba de "t" Student, para hacer una comparación entre el grupo testigo y el expuesto y de esta forma saber si existen diferencias significativas entre ambos.

Resultados

Los datos obtenidos del cuestionario sobre los plaguicidas que son de mayor uso en las localidades seleccionadas se muestran en la tabla 4.

En la tabla 5, se presenta la relación de las características arrojadas por los datos obtenidos del cuestionario aplicado a los individuos tanto del grupo expuesto a plaguicidas, como del grupo testigo, con respecto a la edad, el sexo, adicción al cigarro, al alcohol, enfermedades que padecen, medicamentos que toman y tiempo de exposición a los plaguicidas.

Los datos generales del sexo, de edad, años de exposición, adicción al cigarro y/o al alcohol, frecuencias de ICH y error estándar de los grupos expuestos y testigo se incluyen en las tablas 6 y 7.

La tabla 8 y la figura 9 evidencian los promedios generales de ICH, para el grupo testigo con un valor de 3.2 ± 0.088 y para el expuesto, de 7.2 ± 0.189 . Al aplicar la prueba de "t de Student", el valor es significativo con una $p < 0.001$, lo que demuestra que hubo un aumento en la frecuencia de ICH del grupo expuesto, significativo al compararlo con el testigo.

También se compararon las frecuencias de ICH entre los hombres y las mujeres del grupo expuesto (Tabla 9), observándose diferencias estadísticamente significativas entre ellos ya que la frecuencia de ICH de los 8 hombres fue de 7.7 ± 0.164 , mientras que para las 18 mujeres del mismo grupo con 10 años de antigüedad el valor fue de 6.8 ± 0.271 , datos que al aplicarles la prueba de "t de Student" fueron significativos con una $p < 0.001$.

El resultado del análisis de la cinética de proliferación celular, para los testigos, fue de 28.5 de primera, 42.06 de segunda y 29.4 de tercera divisiones; mientras que para los expuestos se obtuvieron 26.23 de primera, 36.20 de segunda y 38.8 de tercera divisiones (Tabla 10).

Los valores de los índices de replicación (IR) y mitótico (IM), fueron para el expuesto de 2.11 el IR y el IM de 0.07. En el grupo testigo el IR fue de 2.01 y el IM fue 0.04, frecuencias que al aplicarles la prueba de X^2 fueron significativas en el caso del IM a $p < 0.001$ y no significativas para IR (Tabla 10).

En la tabla 11 se observan los promedios de las células micronucleadas en el grupo testigo el cual fue de 0.038 y en el expuesto de 0.092. Cuando se realizó la prueba de "t de Student", la diferencia fue estadísticamente significativa entre estos dos grupos con $p < 0.001$.

Cuando se compararon las frecuencias de algunas de las alteraciones nucleares: células binucleadas, cromatina condensada, rompimiento de huevo, trinucleadas y binucleadas con micronúcleos no se notan diferencias significativas (Tabla 12, Fig. 10). Mientras que los individuos expuestos mostraron mayores frecuencias de células con picnosis, cariólisis y cariorrexis a $p < 0.001$, resultando significativos los valores (Tabla 12). En todos ellos se analizaron 3000 células y se siguió el criterio descrito en la metodología.

Al comparar por sexo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre hombres y mujeres testigos y expuestos para el caso de los micronúcleos y las anomalías nucleares.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Las actividades en el campo, en los invernaderos y en los viveros, involucran la exposición a muchas sustancias naturales y sintéticas tales como plaguicidas y fertilizantes, algunas de ellas han mostrado tener efecto mutagénico en diversos sistemas de prueba (Beningi *et al.*, 1982) y, por lo tanto, pueden potencialmente aumentar el daño genético en la población humana. Estos productos con actividad clastogénica se han encontrado distribuidos en alimentos, compuestos industriales (fertilizantes) y plaguicidas (EPA, 1986) y por razones obvias es prudente limitar las exposiciones a los mutágenos ambientales en humanos.

Algunos de estos agentes químicos no tienen un efecto inmediato, pero pueden constituir un riesgo genético a largo plazo para el hombre (Ahmed *et al.*, 1977), por ello es importante el empleo de pruebas de detección rápida que además sean de manejo sencillo y repetibles, aporten datos de interpretación fácil, sean confiables y permitan evaluar el peligro potencial para el hombre.

El uso de biomarcadores de daño citogenético como los ICH en linfocitos de sangre periférica y los micronúcleos en células de descamación del epitelio bucal son especialmente importantes para estudios ambientales, en donde la medición de la exposición por los métodos tradicionales es difícil e imprecisa. El período de latencia entre exposición y cáncer es un problema mayor, mientras que las latencias entre exposición y la aparición de biomarcadores de efecto genotóxico son relativamente cortos (Smith *et al.*, 1993), pudiéndose evaluar citotoxicidad, mutagenicidad y carcinogenicidad causados por compuestos químicos.

De acuerdo con su definición, los biomarcadores de efecto identifican cambios genéticos asociados a la exposición de un agente químico. En el caso de sustancias carcinogénicas es de gran importancia identificar alteraciones tempranas que permitan prevenir un daño severo, implicado por su contacto, evitando así la progresión hacia la etapa de cáncer.

Aunque todavía no se conoce el significado biológico del ICH, el hecho de que se haya observado en las células de todos los organismos estudiados, sugiere que es un fenómeno común y fundamental en las células (Tice y Hollaender, 1984). Es posible, que éstos sean consecuencia de un proceso que permite a la célula dividirse, aún en presencia de lesiones en el ADN, de ser así puede existir una correlación entre el fenómeno y la mutación (Carrano y Thompson, 1982), dado que las lesiones persistentes aumentarían la probabilidad de esta última en el ADN. Lo anterior tiene importancia respecto a la formación de las células cancerosas, debido a que hay pruebas que asocian la permanencia de lesiones en el ADN con la inducción de células malignas (Margison y Kleihues, 1975). En estudios de monitoreo genético, este ensayo ha resultado ser muy útil debido a que responde a concentraciones muy bajas, hasta 10 veces menores, que las que se necesitan para producir aberraciones cromosómicas (Wolff, 1974 ; Perry y Evans, 1975; Lambert *et al.*, 1982).

Existen factores externos que influyen en el aumento de la frecuencia de ICH y de micronúcleos en cada individuo, tales como la alimentación, condición social, el consumo de café, de alcohol, de medicamentos, de cigarros, ocupación laboral (Lambert *et al.*, 1982; Scarpatto *et al.*, 1996), sexo, edad, talla, peso y dietas (Hoffman *et al.*, 1984; Shallenberger *et al.*, 1992) los cuales conducen a que no todas las personas respondan de la misma manera y al mismo tiempo ante un agente genotóxico. Se sabe que la edad tiene efecto sobre la formación de ICH en linfocitos humanos (Khalil *et al.*, 1994) y de micronúcleos (Högstedt, 1984), esto puede deberse a la acumulación de exposición mutagénica en el tiempo de vida y causar daños al huso mitótico (Díaz *et al.*, 1990; Bolognesi *et al.*, 1993). Esta aseveración concuerda con los estudios descritos por Soper *et al.* (1984); Sarto *et al.* (1985) y Carbonell *et al.* (1993), en poblaciones expuestas a plaguicidas en donde los datos son significativos al asociar la edad con la frecuencia basal de ICH.

Sin embargo, en este trabajo se evidencia que tanto en la población expuesta a plaguicidas como en la testigo, la edad parece tener poca influencia en los ICH y MN, ya que, aunque ésta varíe, la frecuencia no se modifica considerablemente como se puede apreciar en las tablas 6 y 7. Estos resultados coinciden con los encontrados por Crossen y Morgan (1977), quienes observan que este factor no modifica la frecuencia de los valores de ICH entre dos poblaciones. Las diferencias dentro del grupo testigo o expuesto probablemente estén dadas por factores externos, los cuales provocan una variación en la frecuencia de ICH.

En algunas actividades, como en la producción de flores, se ocupan (y se exponen) principalmente mujeres ya que aparentemente son más eficaces para realizar este tipo de trabajo.

Al comparar las frecuencias de ICH y MN, entre hombres y mujeres del grupo expuesto se obtuvieron resultados estadísticamente significativos siendo los hombres los más afectados, datos que no están de acuerdo con los descritos por Carbonell *et al.* (1993) quienes no encuentran diferencias significativas entre ambos sexos.

Es posible que las diferencias detectadas en esta investigación se deban a que la exposición de los hombres a los plaguicidas es mayor que la de las mujeres, ya que las jornadas de trabajo para ellos son de 10 a 12 y para ellas de 6 horas al día. Sin embargo, los hombres han aplicado plaguicidas únicamente durante año y medio mientras que las mujeres lo hicieron por 10 años. Aunque la exposición de ambos es similar por trabajar dentro de áreas cubiertas y poco ventiladas, el contacto al plaguicida actualmente es mayor en los hombres lo cual está posiblemente siendo el factor que influye en la respuesta significativa obtenida (Tabla 9).

Se han demostrado propiedades genotóxicas causadas por plaguicidas en pruebas de exposición a corto plazo sobre personas ocupacionalmente expuestas (Sternberg *et al.*, 1979). En estudios de monitoreo humano en poblaciones expuestas se ha descrito incremento en ICH, teniendo en cuenta el tipo de plaguicida, de cultivo y las medidas de protección empleadas (Carbonell *et al.*, 1993).

En la presente investigación se evidencia que en el grupo expuesto existen personas con periodos largos y cortos de trabajar con plaguicidas; observándose valores de ICH similares en ambos casos. Sin embargo, se esperaría que los individuos con un mayor período laboral en tiempo de exposición tuvieran mas daño citogenético, al no encontrarse diferencias se puede pensar que estos resultados pueden ser debidos a que las personas como mayor tiempo fueron expuestas al plaguicida crónicamente pero por periodos cortos cada año por lo tanto, el nivel de exposición no fue suficiente para producir un valor de ICH como el esperado (Gómez-Arroyo *et al.*, 1992).

Varios autores han reportado resultados negativos para ICH en personas expuestas a insecticidas, herbicidas (Linnainma *et al.*, 1983) y a mezclas complejas de estos (Carbonell *et al.*, 1990; Gómez-Arroyo *et al.*, 1992). Por otro lado, se han observado incrementos significativos en ICH en grupos de horticultores (Carbonell *et al.*, 1990, 1993; De Ferrari *et al.*, 1991), floricultores (Dulout *et al.*, 1985; Carbonell *et al.*, 1990;), empleados de viveros (Dulout *et al.*, 1987) y algodoneros (Rupa, *et al.*, 1989). En este trabajo se detecta que el uso de plaguicidas es indiscriminado por tratarse de un cultivo que no es de consumo humano por lo que los residuos generados por la aplicación no son importantes desde el punto de vista legal. El empleo indistinto conduce a utilizar mezclas de concentraciones mayores de plaguicidas para potenciar su efecto sin considerar que esto puede afectar a los aplicadores generando aumentos en la frecuencia de ICH.

Los plaguicidas organofosforados se han convertido en los más empleados en el control de las plagas debido a que la persistencia de los residuos de éstos es moderada. Esta propiedad permite que el registro legal de ellos sea más sencillo. Sin embargo su toxicidad aguda reportada es mucho mayor en el humano. Numerosos plaguicidas organofosforados que son frecuentemente empleados por el grupo expuesto están descritos como altamente genotóxicos; tal es el caso del malatión, paratión, lucaphos (Moutschen-Dahmen, 1984). Los plaguicidas pertenecientes a este grupo son inhibidores de las colinesterasas y otras enzimas (Hollingworth, 1981), por la afinidad que tienen de combinarse con las proteínas del plasma sanguíneo (Wester y Maibach, 1985). Las alteraciones en las reacciones enzimáticas producidas por los organofosforados, posiblemente se realizan mediante reacciones de tipo hidroxilación, N-desalquilación, oxidación o nitrosación, que hace que se originen derivados o formas activas que ocasionan daño al ADN (Plewa *et al.*, 1988). Concluyendo en este sentido se puede afirmar que el uso frecuente e indiscriminado de este tipo de plaguicidas provocó daño genotóxico en las personas ocupacionalmente expuestas que participaron en este estudio.

Los campesinos del Estado de Morelos están expuestos a una mezcla de plaguicidas constituidos por diferentes ingredientes activos, en su mayoría organofosforados, algunos de ellos prohibidos por tener actividad mutagénica y carcinogénica como ha sido previamente demostrado (Yoder *et al* 1973; De Ferrari *et al* 1991; Rupa *et al* 1991).

El contacto ocupacional a plaguicidas de los floricultores, al cual están sometidos en los invernaderos de plástico, se caracteriza por el alto empleo de agroquímicos en lugares cerrados, siendo agudo y constante. La actividad es cíclica con una intensa aplicación. Este uso es considerado como de alta exposición por las actividades que se desempeñan dentro de los invernaderos y por estar sujetos al transporte de plaguicidas en sus ropas fuera de sus labores. Esta característica observada en este trabajo coincide con el monitoreo realizado por Scarpató *et al.* (1996) al analizar un grupo de floricultores de invernaderos en Italia, cuyas condiciones de trabajo son similares, excepto por el hábito de fumar, que influye en la frecuencia de ICH por el uso de plaguicidas en lugares cerrados tales como invernaderos.

Otro estudio que revela incremento de ICH provocado por plaguicidas organofosforados en floricultores es el realizado por De Ferrari *et al.* (1991), quienes comparan grupos de individuos sanos expuestos a plaguicidas y de personas afectadas por cáncer también expuestos así como de un grupo testigo. Se encontró incremento significativo de ICH en ambos grupos expuestos con respecto al testigo. Además en los trabajadores con cáncer se detectó la presencia de anillos y poliploidias mismas que también se observaron pero en menor cantidad, en el grupo expuesto sano.

Se han llevado a cabo monitoreos en personas ocupacionalmente expuestas en donde los datos de incremento de ICH con respecto al testigo son negativos; estos resultados se deben a que las condiciones de estudio son diferentes en cuanto a que son lugares abiertos, las aplicaciones y las concentraciones son más controladas por ser cultivos de consumo humano.

Por otro lado, el índice de proliferación celular constituye un criterio para evaluar el daño fisiológico que provocan diversos agentes, los cambios en la proliferación pueden acelerar o inhibir la duración del ciclo celular, en algunos casos ellos pueden causar efectos en la respuesta inmunológica de las células (Elizondo *et al.*, 1994).

La actividad de los plaguicidas no sólo puede estar afectando al ADN, sino también a grupos proteicos, de tal manera que no es factible encontrar únicamente daños a nivel genético, evidenciados a través de la inducción de ICH, sino también alteraciones biológicas como serían los efectos sobre la proliferación celular.

Investigaciones llevadas a cabo, para evaluar la alteración del ciclo celular muestran que algunos compuestos organofosforados, como paratión, malatión y azodrin que se emplean en la agricultura, dañan al ADN, son mutagénicos en bacterias (Rehana *et al.*, 1995), aumentan la frecuencia de ICH en células de criceto chino e inducen aumento significativo en el índice de replicación y en la cinética de proliferación celular en linfocitos humanos *in vitro* (Sobti *et al.*, 1982).

En la evaluación de la cinética de proliferación celular, de este estudio se muestra que el grupo testigo tuvo un comportamiento normal de acuerdo como el criterio establecido por Tice *et al.* (1976), teniendo 28.5% metafases de primera, 42.06 % de segunda y 29.43% de tercera divisiones, acercándose al comportamiento hipotético planteado en un cultivo celular en donde no interfieren compuestos genotóxicos con valores de 25% en metafases de primera, 50% de segunda y 25% de tercera divisiones.

Los datos que se obtuvieron para el grupo expuesto fueron inclinándose hacia una reducción en el número de metafases de segunda y un aumento considerable de tercera divisiones; este hecho sugiere que la exposición a plaguicidas, ha ocasionando un adelanto del ciclo celular, ya que la frecuencia de M₃ fue significativamente elevada (Tabla 10).

Con los datos obtenidos se puede concluir que la exposición a plaguicidas acelera el ciclo de proliferación celular en el grupo de trabajadores expuestos de los invernaderos de Morelos, lo que representa un peligro latente en la población para desarrollar algún tipo de cáncer, considerando que en la formación de tumores neoplásicos estudiados, se ha descrito que hay una aceleración del ciclo celular (Chen *et al.*, 1982).

Asimismo, los datos de la evaluación del daño genético mediante la prueba de MN que se realizó en las poblaciones seleccionadas del Estado de Morelos, permite concluir que la exposición crónica a niveles altos de plaguicidas indujo MN y anomalías nucleares en células del epitelio bucal lo que indicó que este tejido está reflejando la producción de daño a nivel de rompimiento cromosómico así como alteraciones en el centrómero, en el huso acromático y en la citocinesis.

Las células epiteliales se renuevan cada 2 a 3 semanas, mientras que los linfocitos pueden llegar a vivir varios años, por lo que el tipo de alteración que se observa en las células epiteliales pueden corresponder a eventos más recientes y esto es importante, porque el período de latencia entre la exposición y la aparición de biomarcadores de efecto genotóxico, es relativamente corto (Smith *et al.*, 1993).

La posibilidad de realizar análisis con células epiteliales de descamación tiene gran relevancia, porque en este tipo de tejidos aparece cerca del 92% de cánceres (Cairns, 1975; Rosin y Gilbert, 1990), en este sentido, con la prueba de MN es factible evaluar el daño en el órgano blanco de interés con la ventaja de que la obtención de la muestra es sencilla, el análisis no es complicado y es muy sensible.

El examen del efecto genético mediante la prueba de micronúcleos permitió concluir que la exposición crónica a plaguicidas indujo MN y anomalías nucleares en individuos ocupacionalmente expuestos, quienes tuvieron una proporción mayor de células con micronúcleos, picnosis, cariólisis y cariorexis en el epitelio bucal que los testigos, lo que indica que en este tejido se está reflejando también daño. Por lo tanto esta prueba resultó ideal para el monitoreo de grupos con alto riesgo mutagénico y/o carcinogénico.

En la prueba de MN al igual que en la de ICH y en las anomalías nucleares, el consumo de alcohol, de cigarro y la edad, no fueron factores que influyeran en el aumento significativo de las frecuencias observadas, sino que es evidente que la exposición crónica a mezclas complejas de plaguicidas a las cuales se sometieron dentro de los invernaderos de plástico, fue el factor que influyó en este aumento.

Las enfermedades crónicas y con periodos de latencia largos, como el cáncer, son la preocupación de salud más grave con respecto a plaguicidas, debido a que los campesinos carecen de equipos especiales para protegerse de los productos químicos y desconocen los riesgos que corren. Los síntomas fisiológicos inmediatos hasta el momento han sido vómitos, irritaciones de la piel y mareos, sin embargo la exposición constante puede tener un efecto genético a largo plazo como el cáncer como ha sido descrito por Córdoba (1986).

Debido a que el cáncer tiene un lapso asintomático muy largo, previo a la expresión de la enfermedad como tal, es importante contar con pruebas que permitan conocer el daño citogenético a corto plazo en personas sospechosas de desarrollarlo, tales como el ICH y los micronúcleos, que son invaluable ya que describen el grado de daño genético de una forma temprana y rápida, pudiéndose tomar acciones preventivas y correctivas para restablecer la normalidad. Es importante resaltar que aunque no se evidencien síntomas de enfermedad, esto no quiere decir que no exista ya alteración a nivel cromosómico.

El examen médico que se realizó a las personas expuestas, no reflejó problemas de salud, a pesar de la exposición aguda a la que están sometidas, sin embargo el hecho de que los resultados mostraron que hay un daño genético por estar expuestos a plaguicidas, se hacen las siguientes recomendaciones:

- realizar trabajo extenso de campo, para investigar las necesidades y el empleo real de los agroquímicos, planeando su uso más adecuado en el futuro y estimar realmente el efecto que sobre las plagas tienen las diversas fórmulas. Es importante y urgente conocer con mayor detalle la presencia de residuos en el ambiente y en los seres vivos y su relación con la morbilidad y la mortalidad
- aumentar el apoyo a la investigación dirigida al control biológico
- la capacitación en las técnicas del control integrado de plagas en la población rural, ya que es importante que se conozcan los riesgos en cuanto al uso de plaguicidas, así como en su manejo.
- someter a regulación cualquier tipo de publicidad que favorezca el uso indiscriminado de plaguicidas. Crear conciencia entre los agricultores de que un plaguicida no debe aplicarse según un calendario fijo, sino exclusivamente en el momento y en la cantidad necesaria.

Como son relativamente pocos los casos de intoxicación que se registran en los centros de salud por la falta de asistencia de las personas a los mismos, los datos que se logran recoger dejan mucho que desear. La mayoría de los afectados no mueren en los centros hospitalarios, sino en sus hogares, desconociéndose la causa del deceso, por lo tanto no es posible asegurar que el origen del fallecimiento radique en los agroquímicos. Sin embargo en la estadística que se realizó de los datos del hospital de Cuautla "Dr. Mauro Belauzaran Tapia" se desprende que algunos casos críticos de intoxicación por plaguicidas acuden al servicio médico, lo cual es una clara evidencia de que el problema existe dados los datos mostrados en la figura 7 y por lo tanto debe ser afrontado mediante campañas de seguridad y de buen uso y manejo de plaguicidas.

Las concentraciones encontradas en estudios ambientales no alcanzan aún niveles alarmantes, sin embargo en un futuro su acumulación podría generar serios problemas de salud. De cualquier manera, se pone de manifiesto el escaso interés que existe para dar vigencia a la reglamentación y observación de leyes que controlen el uso y la aplicación de plaguicidas y el virtualmente nulo conocimiento que tiene la población respecto al tipo de insumos que a veces utiliza y el estado de los alimentos que consume. Poco se sabe aún sobre las consecuencias presentes y futuras que tienen los agentes tóxicos y en la salud de la población.

REFERENCIAS

- AgrEvo-MIP 1997. **Manejo integral de plagas de México**. AgrEvo, México.
- Ahmed, F., Hart, R. y Lewis, N. 1977. Pesticide induced DNA damage and its repair in cultured human cells. *Mutat. Res.* **42**,161-174.
- Alink, G. M., Smith, H. A., Van Houdt, J. J., Kolkman, J. R. y Boleij, J.S.M. 1983. Mutagenic activity of airborne particulates and non-industrial locations. *Mutat. Res.* **116**, 21-34.
- Amer, S. y Farah, O. 1974. Cytological effects of pesticides; VI. Effect of the insecticide rogor on the mitosis of *Vicia faba* and *Gossypium barbadense*. *Cytologia* **41**, 597-606.
- Amer, S. H. y Abou-ela, E. I. 1985. Cytogenetic effects of pesticides. III. Induction of micronuclei in mouse bone marrow by the insecticides cypermethrin and rosetone; *Mutat. Res.* **115**, 135-142.
- Ashwood-Smith, M., Treviño, J. y Ring, R. 1972. Mutagenicity of dichlorvos; *Nature (Lond.)* **240**, 418-420.
- Astofí, E. 1982. **Toxicología de Pregrado**. Librero López, Buenos Aires, Argentina.
- Barberá, C. 1975. **Pesticidas Agrícolas**. Omega, Barcelona, España.
- Benes, V. y Sram, R. 1969. Mutagenic activity of some pesticides in *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* **38**, 5053.
- Beningi, R., Dogliotti, E., Falcone, E. y Calcagnie, A. 1982. DNA repair studies on diallate, trillate and sulfallate in human cell cultures. *Mutat. Res.* **103**, 385-390.
- Bhunya, S. P. y Behera, J. 1975. Centromeric sensitivity of mouse chromosomes to the systemic insecticide dimethoate. *Curr. Sci.* **44**, 859-860.
- Bhunya, S. P. y Pati, P. C. 1988. Genotoxic effects of a synthetic pyrethroid insecticide cypermethrin in mice *in vivo*. *Toxicol. Lett.* **41**, 223-230.
- Bhunya, S. P. y Pati, P. C. 1990. Effect of deltamethrin, a synthetic pyrethroid, on the induction of chromosome aberrations, micronuclei and sperm abnormalities in mice. *Mutagenesis* **5**, 229-232.

- Bidwell, K., Weber, E., Nienhold, I., Connor, T. y Legator, M. 1975. Comprehensive evaluation for mutagenic activity of dieldrin. *Mutat. Res.* **31**, 314-321.
- Blair, D., Hoadley, E. y Hutson, D. 1975. The distribution of dichlorvos in the tissues of mammals after its inhalation or intravenous administration. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **31**, 243-253.
- Blas, V. J. 1995. Evaluación de la frecuencia de micronúcleos en células uroepiteliales de individuos con exposición ambiental a arsénico. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, UNAM, México.
- Blevins, R., Lee, M. y Regan, J. 1977a. Mutagenicity screening of five methyl carbamate insecticides and their nitroso derivatives using mutants of *Salmonella typhimurium* LT2. *Mutat. Res.* **56**, 1-6.
- Blevins, R., Lijinsky, W. y Regan, J. 1977b. Nitrosated methylcarbamate insecticides: effect on the DNA of human cells. *Mutat. Res.* **76**, 169-190.
- Bolognesi, C., Parrini, M.S., Bonassi, G.I. y Salanitto, A. 1993. Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat. Res.* **285**, 239-249.
- Bonatti, S., Cercignani, G., Rocco, M. y Abbondandolo, A. 1990. Aneuploidy induction by alkylated bases and nucleosides in mammalian cells. En: M.L. Mendelsohn y R.J. Albertini (Eds.). *Mutation and the Environment. Parte B. Metabolism, Testing Methods, and Chromosomes. Prog. Clin. Biol. Res.* **340 B**, 237-246.
- Brendel, M. y Rubland, A. 1984. Relationships between functionality and genetic toxicology of selected DNA-damaging agents. *Mutat. Res.* **133**, 51-85.
- Brook, G. T. 1984. **Chlorinated Insecticides.** RCR Press, Cleveland.
- Brooks, T. M. 1976. Toxicity studies with WL 43467 in the host mediated assay and in microorganisms *in vitro*. Unpublished report from Shell Research Ltd. (JMPR, 1979, 167).
- Buselmaier, W., Rohrborn, G. y Propping, R. 1973. Comparative investigations on the mutagenicity of pesticides in mammalian test system. *Mutat. Res.* **21**, 25-26.
- Cabral, J. R. P., Galendo, D., Laval, M. y Lyandrat, N. 1990. Carcinogenicity studies with deltamethrin in mice and rats. *Cancer Lett.* **49**, 147-152.

- Cairns, J. 1975. Mutational selection and the natural history of cancer. *Nature (Lond.)* **255**, 197-200.
- Carrano, A. V. y Thompson, L. H. 1982. Sister chromatid exchanges and single gene mutation. En: S. Wolff (Ed.), *Sister Chromatid Exchange*. Wiley, Nueva York, pp. 59-86.
- Carrano, A. V., Thompson, L. H., Lindl, P. A. y Minkler, J. L. 1982. Sister-chromatid exchanges as an indicator of mutagenesis. *Nature (Lond.)* **271**, 551.
- Carbonell, E., Puig, M., Xamena, N., Creus, A. y Marcos, R. 1990. Sister chromatid exchange in lymphocytes of agricultural worker exposed to pesticides. *Mutagenesis* **5**, 403-405.
- Carbonell, E., Xamena, N., Creus, A. y Marcos, R. 1993. Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutat. Res.* **8**, 511-517.
- Carbonell, E., Peris, F., Xamena, N., Creus, A. y Marcos, R. 1996. Chromosomal aberration analysis in 85 control individuals. *Mutat. Res.* **370**, 29-37.
- Centro Panamericano de Ecología y Salud 1984. Evaluación epidemiológica de riesgos causados por agentes químicos ambientales. Vol.1. Plaguicidas. México.
- Chauhan, L. K. S., Dikshith, T. S. S. y Sundoraraman, V. 1986. Effect of deltamethrin in plant cells. I. Cytological effects on roots meristem of *Allium cepa*; *Mutat. Res.* **171**, 25-30.
- Chen, H., Hsueh, J. L., Siranni, S. R. y Huang, C. C. 1981. Induction of sister chromatid exchanges and cell cycle delay in cultured mammalian cells treated with eight organophosphorus pesticides. *Mutat. Res.* **88**, 307-316.
- Chen, H., Siranni, S. y Huang, C. 1982. Sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells treated with seventeen organophosphorus compounds in the presence of a metabolic activation system. *Environ. Mutagen.* **4**, 621-624.
- Clark, J. 1974. Mutagenicity of DDT in mice, *Drosophila melanogaster* and *Neurospora crassa*. *Aust. J. Biol. Sci.* **27**, 427-440.
- Córdoba, P. D. 1986. *Toxicología*. Corporación de Estudios Médicos. Medellín, Colombia.

- Córdoba, P. D. 1994. **Toxicología**. Corporación de Estudios Médicos. Medellín, Colombia.
- Countryman, P. I. y Heddle, J. A. 1976. The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res.* **41**, 321-332.
- Crebelli, R., Fuselli, S., Conti, G., Conti, L. y Carere, A. 1991. Mutagenicity spectra in bacterial strains of airborne and engine exhaust particulate extracts. *Mutat. Res.* **261**, 237-248.
- Crossen, P. E. y Morgan, W. F. 1977. Proliferation of PHA stimulation lymphocyte measured by combined autoradiography and sister chromatid differential staining. *Exp. Cell Res.* **118**, 423-426.
- Dean, B., Doak, S. y Somerville, H. 1975. The potential mutagenicity of dieldrin (HEOD) in mammals. *Food Cosmet. Toxicol.* **13**, 317-323.
- De Campos, A. 1987. **La investigación en México sobre el impacto en la salud por los contaminantes químicos ambientales**. Salud Pública. México, 591 p.
- De Ferrari, M., Artuso, M., Bonassi, S., Bonatti, S., Cavaliere, Z., Pescatore, D., Marchini, E., Pisano, V. y Abbondandolo, A. 1991. Cytogenetic monitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister-chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat. Res.* **260**, 105-113.
- De la Jara, A. F. 1982a. La interacción de los herbicidas con el ambiente. Boletín Técnico D.S.M. Shell de México.
- De la Jara, A. F. 1982b. La Contaminación por plaguicidas. Boletín Técnico D.S.M., Shell de México.
- De Kergommeaux, D. J., Grant, W.F. y Sandhu, S.S. 1983. Clastogenic and physiological response of chromosomes to nine pesticides in the *Vicia faba* in vivo root tip assay system. *Mutat. Res.* **124**, 69-84.
- DGEIE (Dirección General de Estadística Informática y Evaluación). 1995. Informe Anual Agrícola. México D.F.
- Díaz, S., Fonseca, G. y Fernández, I. 1990. Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas* **113**, 77-80.

- Dillehay, E. D., Denstman, S. C., Williams, R. J. 1987. Cell cycle dependence of sister chromatid exchange induction by DNA topoisomerase II inhibitors in Chinese hamster V79 cells. *Cancer. Res.* **47**, 206-209.
- Dulout, F. N., Olivero, O. A. y Pastori, M. C. 1982. The mutagenic effect of thiram analysed by the micronucleus test and the anaphase-telophase test. *Mutat. Res.* **105**, 409-412.
- Dulout, F. N., Pastori, M. C., Olivero, O. A., González-Cid, M., Loria, D., Matos, E., Sobel, N., De Bujan, E. C. y Albiano, N. 1985. Sister-chromatid exchange and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. *Mutat. Res.* **143**, 237-244.
- Ecobichon, D. F. y Joy, R. 1984. **Pesticides and Neurological Diseases**. C.R.C. Press, Boca Ratón, Florida.
- Eisenbrand, G., Ungerer, O. y Preussmann, R. 1975. The reaction of nitrite with pesticides. II. Formation, chemical properties and carcinogenic activity of the N-nitroso derivatives of N-methyl-1-naphthylcarbamate (carbaryl). *Food Cosmet. Toxicol.* **13**, 365-367.
- Eisenbrand, G., Schmäl, D. y Preussmann, R. 1976. Carcinogenicity in rats of high oral doses of N-nitrosocarbaryl, a nitrosated pesticide. *Cancer Lett.* **1**, 281-284.
- Elizondo, G., Montero, R, Herrera, J. E., Hang, E. y Ostrosky-Wegman, P. 1994. Lymphocyte proliferation kinetics and sister chromatid exchanges in individuals treated with metronidazole. *Mutat. Res.* **305**, 133-137.
- EMS (Environmental Mutagen Society) 1975. Environmental mutagenic hazards. *Science* **187**, 503-514.
- EPA 1986. Guidelines for Mutagenicity Risk Assessment. Federal Register. Parte III. United States Environmental Protection Agency (FRL-2983-9), pp. 1-22.
- Epstein, S., Arnold, E., Andrea, J., Bass, W., Bishop, Y. y Mantel, N. 1972. Detection of chemical mutagens by the dominant lethal assay in the mouse. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **23**, 288-325.
- Eto, M., Seifert, J., Engel, J. y Casida, J. 1980. Organophosphorous and methyl carbamate teratogens: structural requirements for inducing embryonic abnormalities in chickens and kynurenine formamidase inhibition in mouse liver. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **55**, 20-30.

- Eto, M. 1984. **Organophosphorous Pesticides: Organic and Biologic Chemistry.** C.R.C. Press, Cleveland.
- Evans, J. H. y O'Riordan, M. L. 1975. Human peripheral blood lymphocytes for analysis of chromosome aberration in mutagens test. *Mutat. Res.* **31**, 135-148.
- Flodstrom, S., Warngard, L., Ljungquist, S. y Ahlberg, U. G. 1988. Inhibition of metabolic cooperation *in vitro* and enhancement of enzyme altered incidence in rat liver by pyrethroid insecticide fenvalerate. *Arch. Toxicol.* **61**, 218-223.
- Georgian, L. 1975. The comparative cytogenetic effects of aldrin and phosphamidon, in cultured human lymphocytes. *Mutat. Res.* **31**, 103-108.
- Gerstengarbe, S. 1975. Die Mutagenitat von Dimethoat-nachgewiesen mit dem Dominanten Letaltest an der Hausmaus (*Mus musculus L.*), *Wiss. Z. Martin-Luther-Univ. (Halle-Wittenber) Math. Naturwiss. Reihe.* **224**, 87-88.
- Gómez-Arroyo, S., Baiza, A., López, G. y Villalobos-Pietrini, R. 1985. A comparative study of the cytogenetic effects of the insecticides heptachlor, malathion, and methyl paration in *Vicia faba*. *Contam. Ambient.* **1**, 7-16.
- Gómez-Arroyo, S., Noriega-Aldana, N., Osorio, A., Galicia, F., Ling, S. y Villalobos-Petrini, R. 1992. Sister-chromatid exchanges analysis in a rural population of México exposed to pesticides. *Mutat. Res.* **281**, 173-179.
- Gonsebatt, M. E., Vega, L., Guzmán, P., Blas, J., Montero, R., Albores, A., García Vargas, G., Del Razo, L.M., Cebrian, M.E. y Ostrosky-Wegman, P. 1990. Genotoxicity of Arsenic. *Mutat. Res.* **32**, 121-127.
- González-Cid, M., Loria, D. y Matos, E. 1988. Nitroso-aldicarb induces sister-chromatid exchanges in human lymphocytes *in vitro*: *Mutat. Res.* **204**, 665-668.
- Griffin, D. y Hill, W. 1978. *In vitro* breakage of plasmid DNA by mutagens and pesticides. *Mutat. Res.* **52**, 161-169.
- Gupta, A. y Singh, J. 1974. Diclorvos (DDVP) induced breaks in the salivary gland chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Curr. Sci.* **43**, 661-662.
- Gupta, R. K., Mehr, Z. A., Korte, D. W. y Ruledge, L. C. 1990. Mutagenic potential of permethrin in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) sex linked recessive lethal test. *J. Econ. Entomol.* **83**, 721-724.
- Hanna, P. y Dyer, K. 1975. Mutagenicity of organophosphorus compounds in bacteria and *Drosophila*. *Mutat. Res.* **28**, 405-420.

- Hayes, W. J. 1975. **Toxicology of Pesticides in the Enviroment**. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, Nueva Jersey, pp. 354.
- Heddle, J. A., Benz, A. y Countryman, P. I. 1978. Measurement of chromosomal breakage in cultured cells by the micronucleus technique. En: H.J. Evans y D.C. Lloyd (Eds.). **Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man**. Edimburgo University Press, Edimburgo, 191 p.
- Henao, H. S. 1986. Vigilancia Epidemiológica en Población Expuesta a Plaguicidas Organofosforados y Carbamatos. División de Salud y Ambiente. Serie Ambiental No.11, Washington, D.C.
- Henao, H. S., Finkelman, J., Albert, L. y Koning, H. 1993. Plaguicidas y Salud en las Américas. Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud, División de Salud y Ambiente. Serie Ambiental No.12. Washington D.C.
- Hoffman, M., Hagberg, S., Karlsson, A., Nilsson, J., Ranstam, J. y Högstedt, B. 1984. Inorganic exposure does not effect lymphocytes micronuclei in car radiation repair workers. *Hereditas* **101**, 223-226.
- Högstedt, B. 1984. Micronuclei in lymphocytes with preserved cytoplasm. A method for assessment of cytogenetic damage in man. *Mutat. Res.* **130**, 63-72.
- Hollingworth, R. M. 1981. Comparative metabolism and selectivity of organophosphates and carbamates insecticides. *Bull WHO* **44**, 155-170.
- Ishii, Y. y Bender, M. A. 1980. Effects of inhibitors of DNA synthesis on spontaneous and ultraviolet light-induced sister-chromatid exchanges in Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* **79**, 19-32.
- Ishidate, M. y Odashima, G. 1977. Chromosome test with 134 compounds in Chinese hamster cells *in vitro*. A screening for chemical carcinogens. *Mutat. Res.* **48**, 337-354.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática) 1988. Atlas Ejidal del Estado de Morelos. Encuesta Nacional Agropecuaria Ejidal.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática). 1993. Cuautla, Estado de Morelos. Cuaderno Estadístico Municipal.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística Geográfica e Informática). 1994. Cuautla, Estado de Morelos. Cuaderno Estadístico Municipal.

- Iveti, J. L. y Tice, R. R. 1982. Average generation time: a new method of analysis and quantitation of cellular proliferation kinetics. *Environ. Mutagen.* **4**, 358-262.
- Jasinka, J., Steffen, J. y Michaelowski, A. 1970. Studies on *in vitro* lymphocyte proliferation in cultures synchronized by inhibition of ADN synthesis, II. Kinetic of initiation of proliferative response. *Exp. Cell Res.* **61**, 333-341.
- Kaczmarek, L., Cañabretta, B., Elfenbein, I.B. y Mercer, E. 1987. Cell cycle analysis of human peripheral blood T lymphocytes in long term culture. *Exp. Cell Res.* **173**, 70-79.
- Karsak, R. J. 1987. Effects of chronic organophosphatate pesticide exposure of the nervous system. *Clin. Toxicol.* **12**, 33-35
- Kato, H. I. 1980. Evidence that the replication point is the site of sister chromatid exchange. *Cancer Genet. Cytogenet.* **2**, 69-77.
- Kelly-Garvert, F. y Legator, M. 1973. Cytogenetic and mutagenic effects of DDT and DDE in a Chinese hamster cell line. *Mutat. Res.* **17**, 223-229.
- Khalil, A. M., Qassem, W. y Kamalio, M. 1994. No significant increase in sister chromatid exchanges in cultured blood lymphocytes from workers in a large oil refinery. *Mutat. Res.* **312**, 187-191.
- Kierszenbaum, F., Cuna, W. R., Beltz, L. A. y Szein, M. B. 1990. Trypanosoma immunosuppressive factor: a secretion product(s) of *Trypanosoma cruzi* that inhibits proliferation and IL-2 receptor expression by activated human peripheral blood mononuclear cells. *J. Immunol.* **144**, 4000-4004.
- Kinsella, A. R. y Radman, M. 1978. Tumor promoter induces sister chromatid exchanges: relevance to mechanism of carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **75**, 6141-6153.
- Kiraly, J., Szentesi, Y., Ruzicska, M. y Czeizel, A. 1979. Chromosome studies in workers producing organophosphate insecticides. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **8**, 309-319.
- Klingman, G. C., Ashton, F. M. 1984. **Estudio de las plantas nocivas. Principios y prácticas.** Ed. Limusa, México, D.F.

- Klingerman, A. D., Erexon, G. L. y Wilmer, J. L. 1984. Development of rodent peripheral blood lymphocyte culture systems to detect cytogenetic damage in vivo; En: R.R. Tice. y A. Hollander (Eds.) **Sister Chromatid Exchanges**. Plenum Press. Nueva York, pp. 569-584.
- Krishna, G., Xu, J., Nath, J., Petersen, M. y Ong, T. 1985. In vivo cytogenetic studies on mice exposed to ethylene dibromide. *Mutat. Res.* **158**, 81-87.
- LaDou, J. 1993. Plaguicidas. En *Medicina Laboral*. Ed. El Manual Moderno, México.
- Lambert, B., Lindbland, A., Holmberg, L. y Francesconi, D. 1982. The use of sister-chromatid exchange to monitor human populations for exposure to toxicologically harmful agents. En: S. Wolff (Ed.). **Sister-Chromatid Exchange**. Wiley, Nueva York, pp. 149-182.
- Lamberti, L., Bigatti, P. P. y Ardito, G. 1983. Cell kinetics and sister-chromatid-exchange frequency in human lymphocytes. *Mutat. Res.* **120**, 193-199.
- Larramendy, M. L., Reigosa, A. y Bianchi, M. S. 1990. Erythrocytes modulate the baseline frequency of sister-chromatid exchanges and the kinetics of lymphocyte division in culture. *Mutat. Res.* **232**, 63-70.
- Latt, S. A. 1973. Microfluorometric detection of DNA replication in human metaphase chromosome. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **70**, 3395-3399
- Latt, S. A., Allen J., Blom, S.E., Carrano, A., Falke, E., Kram, D., Schneider, E., Schreck, R., Tice, R., Whitfield, B. y Wolff, S. 1981. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes after exposure to diagnostic ultrasound. *Science* **205**, 1273-1275.
- Laws, E. R. y Biros, F.J. 1967. Men with intensive occupational exposure to DDT. *Arch. Environ. Health* **15**, 766-775.
- Lesson, T. S. y Lesson, C. R. 1989. **Texto/Atlas de histología**. Interamericana, Mc. Graw Hill, México, 741 p.
- Lerner, R. A. y Dixon, F. J. 1973. The human lymphocyte as an experimental animal. *Saent. Amur.* **228**, 82-91.
- Ling, N. R. y Kay, J. E. 1975. **Lymphocyte stimulation**. 2a. Ed. North Holland. Publ. Amsterdam.

- Linnainma, K. 1983. Sister-chromatid exchanges among workers occupationally exposed to phenoxy acid herbicides 2,4-D and MCPA. *Carcinogen. Mutagen.* **3**, 269-279.
- Liu, L. F., Liu, C. C. y Alberts, B. A. 1980. Type II DNA topoisomerasas : enzymes which unknot a topologically knotte DNA molecule via a reversible double strand break. *Cell* **19**, 697-701.
- Livingston, G. K., Reed, B. L., Olson, B. L. y Lockey, J. E. 1990. Induction of nuclear aberrations by smokeless in epithelial cells of human oral mucosa. *Environ. Mol. Mutagen.* **15**, 136-144.
- Lombera, M. 1993. Los plaguicidas en México, un problema de salud pública. *Boletín de Morbilidad y Mortalidad. Dirección General de Epidemiología. Semana 18, Vol.1. No.15.*
- López, A. M. 1986. Clasificación de los plaguicidas empleados en México. Tesis de licenciatura de Ingeniero Agrícola, Universidad Autónoma de Metropolitana.
- Maibach, H. I. y Feldmann, R. J. 1974. Systemic absorption of pesticides through the skin of man. En: *Occupational Exposure to Pesticides: Report to the Federal working group on pest management from the task group on occupational exposure to pesticides. Appendix. B*, pp. 120-127.
- Malarango, M. I. y Smith, M. de A. 1990. Sister-chromatid exchange and proliferation pattern in lymphocytes from newborns, elderly subjects and in premature ageing syndromes. *Mech. Ageing Dev.* **15**, 43-53.
- Mandrad, A. M., Duigou, F., Marnay, P., Masson, S.L., Qui, J.S., Barrellier, Y. y Lebigot, G. 1987. Analysis of the results of micronucleus test in patients presenting upper digestive tract cancer and in non-cancerous subjects. *Int. J. Cancer* **39**, 442-444.
- Margison, G. P. y Kleihues, P. 1975. Chemical carcinogenesis in the nervous system: preferential accumulation of 06-methylguanine in rat brain DNA during repetitive administration of N-methyl nitrosourea. *Biochem. J.* **148**, 521-525.
- Márisco, O. J. 1980. **Herbicidas y fundamentos del control de maleza.** Ed. Hemisferio Sur, Argentina.
- Matos, E. 1983. Efectos del uso prolongado de plaguicidas sobre la salud. II Congreso y III Jornadas Argentinas Interdisciplinarias de Toxicología, México, D.F.

- Matsumura, F. 1985. **Toxicology of Insecticides**. Plenum Press, Nueva York, pp. 165-252.
- Moutschen, J., Moutschen-Dahmen, H. y Degraeve, N. 1984. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of insecticides. En: M., Kirsch-Volders. (Ed.). **Mutagenicity, Carcinogenicity and Teratogenicity of Industrial Pollutants**. Cap. 3. Plenum Press, Nueva York, pp. 127-203.
- Nassi, L., Schiffmann, D., Adam, W., Beinhauer, A. y Griesbeck, A. 1987. Induction of morphological transformation and micronuclei in Syrian hamster embryo fibroblast by 1,2-dioxetanes. Correlation with DNA single strand breaks in HL-60 cells. *Carcinogenesis* **8**, 947-953.
- Natajara, A. T., Simons, J.W., Vogel, E. W. y Van Zeeland, A. A. 1984. Relationship between cell killing, chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and point mutations induced by monofunctional alkylating agents in Chinese hamster cell. A correlation with different ethylation products in DNA. *Mutat. Res.* **128**, 31-40.
- Nehéz, M., Berencsi, G., Paldy, A., Selyes, A., Czeizel, A., Szentesi, I., Csankó, J., Lévy, K., Maurer, J. y Nagy, E. 1981. Data on the chromosome examinations of workers exposed to pesticides. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **1**, 116-122.
- Obe, G. y Beek, B. 1984. Human peripheral lymphocytes in mutation research, En: G., Obe (Ed.). **Mutations in Man**. Springer Verlag, Berlín, pp. 177-197.
- O'Brien, R. D. 1987. **Insecticides: action and metabolism**. Academic Press, Londres.
- Oikawa, A., Thoda, H., Kanai, M., Miwa, M. y Sugimura T. 1980. Inhibitors (of poly adenosine diphosphate ribose), polymerase induce sister chromatid exchanges. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* **97**, 1311-1316.
- OMS 1986.(Organización Mundial de la Salud). Plaguicidas. Informe Técnico No. 12.
- OMS 1990.(Organización Mundial de la Salud). Plaguicidas. Informe Técnico.No. 3.
- Ortelee, M. F. 1958. Study of men with prolonged intensive occupational exposure to DDT. *Arch. Ind. Health.* **18**, 433-440.
- Painter, R. B. 1982. A replication model for sister chromatid exchanges. En: A. A., Sandberg (Ed.) **Progress and Topics in Cytogenetics. Sister Chromatid Exchange**. Liss, Nueva York, Vol.2, pp.115-121.

- Paldy, A., Puskas, N., Vicze, K. y Hadhazi, M. 1987. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutat. Res.* **187**, 127-132.
- Palma, V., Tudón, H., Buentello, L. N., Ostrosky-Wegman, P. y Salamanca, F. 1993. Methods for the analysis of cellular kinetics in PHA stimulated blood lymphocytes using BrdU incorporation. A comparative study. *Mutat. Res.* **283**, 91-95.
- Palmer, K., Green, S. y Legator, M. 1972. Cytogenetic effects of DDT and derivatives of DDT in cultured mammalian cell line. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **22**, 355-247.
- PAN International (Pesticide Action Network International) 1990. *Consult Manual*.
- Pandita, T. K. 1983. Mutagenic studies on the insecticide metasystox-R with different genetic systems. *Mutat. Res.* **124**, 97-102
- Papadopoulou-Mourkidou, E. 1983. Analysis of established pyrethroid insecticides. *Residue. Rev.* **89**, 179-208.
- Parker, C. M., Patterson, D. R. y Van Gelder, G. A. 1984. Chronic toxicity and carcinogenicity evaluation of fenvalerate in rats. *J. Toxicol. Environ. Health* **13**, 83-97.
- Pearson, J. C., Kromhout, L., King, E. B. 1981. Evaluation of collection and preservation techniques for urinary cytology. *Acta Cytol.* **25**, 328-333.
- Perera, F. P., Santella, R. M., Brenner, D., Poirier, M. C., Munshi, A. A., Fischman, H. K. y Van Ryzin, J. 1987. DNA adducts, protein adducts and sister chromatid exchanges in cigarette smokers and nonsmokers. *INCI* **79**, 449-455.
- Perry, P. y Wolff, S. 1974. New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature (Lond.)* **251**, 156-158.
- Perry, P. y Evans, H. J. 1975. Cytological detection of mutagen, carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature (Lond.)* **258**, 121-124.
- Pindborg, J. J., Path, F. R., Reibel, J., Roed-Petersen, B. y Metha, F. S. 1980. Tobacco-induced changes in oral leukoplasic epithelium. *Cancer* **45**, 2230-2336.
- Plewa, M. J., Wagner, E. D. y Gentile, J. M. 1988. The plant cell microbe assay for the analysis of plant-activated promutagens. *Mutat. Res.* **197**, 207-209.

- Pluijmen, M., Devron, C., Montesano, R., Malaveille, C., Hautefeuille, A. y Bartsch, H. 1984. Lack of mutagenicity of synthetic pyrethroids in *Salmonella typhimurium* strains and V79 Chinese hamster cells. *Mutat. Res.* **137**, 7-15.
- Polacová, H. y Vargová, M. 1983. Evaluation of the mutagenic effects of decamethrin: cytogenetic analysis of bone marrow. *Mutat. Res.* **120**, 167-171.
- Prescott, D. M. 1976. *Reproduction of the eucaryotic cells.* Academic Press. Nueva York.
- Rabello, M. M., De Almeida, W. F., Pigati, P., Ungaro, M., Murata, T. y Prereira, C. 1975. Cytogenetic study on individuals occupationally exposed to DDT. *Mutat. Res.* **28**, 339-354.
- Rainaldi, R. y Mariani, T. 1982. The distribution of induced sister-chromatid exchanges: a tool for indentifying agents directly interacting with DNA. *Mutat. Res.* **103**, 333-337.
- Ravidran, P. 1971. Cytological effects of folidol. *Cytologia* **36**, 504-508.
- Realí, D., Marino, F. D., Bahramandpour, S., Carducci, A., Barale, R., y Loprieno, N. 1987. Micronuclei in exfoliated cells and urine mutagenicity in smokers. *Mutat. Res.* **192**, 145-149.
- Reddy, M. y Rao, B. 1969. The cytological effects of insecticides(dimecron-100 and roor-40) on *Vicia faba*. *Cytologia* **34**, 408-417.
- Rehana, Z., Malik, A. y Ahmed, M. 1995. Mutagenicity activity of the Ganges water with special reference to the pesticide pollution in the river between Kachla to Kannauj, India. *Mutat. Res.* **321**, 203-211.
- Restrepo, I. y Franco, S. 1988. **Naturaleza muerta: Los plaguicidas en México.** Ed. Océano, México, D.F.
- Reuber, M. 1981. Carcinogenicity of dichlorvos. *Clin. Toxicol.* **18**, 47-84.
- Ribeiro, L. R., Cerqueira, E. M., Salvadori, D., Barbosa, H. y Whorton, E. 1990. Monitoring of individuals occupationally exposed to aromatic amines. *Mutat. Environ.* **387-396**.
- Rivera, J. y Rivera, M. 1990. Organophosphate poisoning. *Boletín de la Asociación Médica de Puerto Rico.* Vol. **82**.
- Rosin, M. P. y Gilbert, A. M. 1990. Modulation of genotoxic effects in humans. *Environ. Mutagen.* **245**, 351-359.

- Rosin, M. P. y Anwar, W. 1992. Chromosomal damage in urothelial cells from Egyptians with chronic *Schistosoma haematobium* infections. *Int. J. Cancer.* **50**,539-543.
- Rupa, D. S., Reddi, P. P. y Reddy, O. S. 1989. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton field workers exposed to pesticides. *Environ. Res.* **49**, 1-6.
- Sarto, F., Faccioli, M. C., Cominato, Y. y Levis, A. G. 1985. Aging and smoking increase the frequency of sister chromatid exchanges (SCE) in man. *Mutat. Res.* **144**, 183-187.
- Sarto, F., Finotto, S., Giacomelli, L., Manzotti, R. Tamanin, L. y Levis, A. G. 1987. The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutat. Res.* **8**,11-17.
- Scarpato, R., Mighore, L., Angotzi, G., Fedi, A., Miligi, L. y Loprieno, N. 1996. Cytogenetic monitoring of a group of Italian floriculturists: no evidence of DNA damage related to pesticide exposure. *Mutat. Res.* **367**, 73-82.
- Schmid, W. 1976. The micronucleus test. *Mutat. Res.* **31**, 9-15.
- Schwartz, J. I., Banda, M. J y Wolff, S. 1982. 12-O-tetradecanoyl phorbol-13-acetate(TPA) induce sister chromatid exchanges and delays in cell progression in Chinese hamster ovary and human cell lines. *Mutat. Res.* **92**, 393-397.
- Shallenberger, G. L., Acquavella, F. J. y Donoleski, D. 1992. An update mortality study of worker in three major United States refineries and chemical plants. *Brit. J. Ind. Med.* **49**, 345-354.
- Shirasu, Y., Moriya, M., Kato, K. y Kada T. 1976. Mutagenicity screening of pesticides in microbial system. *Mutat. Res.* **40**, 19-30.
- Singh, B., Singh, R., Singh, R., Singh, Y. y Singh J. 1979. Effect of insecticides on germination, early growth and cytogenetic behaviour of barley (*Hordeum vulgare*). *Environ. Exp. Bot.* **19**, 51-62.
- Smith, A., Hopenhayn-Rich, C., Warner, M., Biggs, M., Moore, L y Smith, M. 1993. Rationale for selecting exfoliated bladder cell micronuclei as potential biomarkers for arsenic genotoxicity. *J. Toxicol. Environ. Health* **40**,223-234.
- Sobti, R., Krishan, C. y Pfaffenberger, C.D. 1982. Cytokinetic and cytogenetic effects of some agricultural chemical on human lymphoid cells *in vitro*: organophosphates. *Mutat. Res.* **102**, 89-102.

- Soper, K. A., Stolley, P. D., Galloway, S. M., Smith, J. G., Nichols, W. W. y Woman, S. R. 1984. Sister chromatid exchange (SCE) report on control subjects in a study of occupationally exposed workers. *Mutat. Res.* **129**, 77-88.
- Speit, G., Deuring, R. y Mehnert, K. 1986. Variation in the frequency of sister-chromatid exchanges in repeated human lymphocyte cultures. *Human Genet.* **72**, 179-181.
- SS (Secretaría de Salud). Anuario Estadístico. 1992. Dirección General de Estadística Informática y Evaluación. Octubre, 1993.
- SS (Secretaría de Salud). Anuario Estadístico. 1993. Dirección General de Estadística Informática y Evaluación. Julio, 1994.
- Stellman, J. M. y Daum, S. M. 1986. **El trabajo peligroso para la salud**. Editorial Siglo XXI. México, D.F. pp. 232-235.
- Sternberg, S. S. 1979. The carcinogenesis, mutagenesis and teratogenesis of insecticides, review of studies in animals and man. *Pharmacology* **6**, 147-166.
- Stich, H. F., Curtis, J. y Parida, B. 1982a. Applications of the micronucleus test to exfoliated cells of high cancer risk groups: tobacco chewers. *Int. J. Cancer* **30**, 553-559.
- Stich, H. F., Stich, W. y Panda, B. B. 1982b. Elevated frequency of micronucleated cells in the buccal mucosa of individuals at high risk for oral cancer. Betel quid chewers. *Cancer Lett.* **17**, 125-134.
- Stich, H. F., San, R. y Rosin, M. 1983. Adaptation of the DNA repair and micronucleus test to human cell suspensions and exfoliated cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* **407**, 93-105.
- Stich, H. F., Rosin, M. 1983. Quantitating the synergistic effect of smoking and alcohol consumption with the micronucleus test on human buccal mucosa cells. *Inst. J. Cancer* **31**, 305-308.
- Stich, H. F., Stich, W. y Rosin, M. P. 1985. The micronucleus test on exfoliated human cells. En: A. Muhammed. y R. C., Von Borstel (Eds.). **Basic and Applied Mutagenesis**. Plenum Press, Nueva York, pp. 337-342.
- Surarllés, J., Xamena, N., Creus, A., Catalán, J., Norppa, H. y Marcos, R. 1995. Induction of micronuclei by five pyrethroid insecticides in whole blood and isolated human lymphocyte cultures. *Mutat. Res.* **341**, 169-184.

- Suzuki, H. 1977. Studies on the mutagenicity of some pyrethroids on *Salmonella* strains in the present of mouse hepatic S9 fraction. Unpublished report from Sumitomo Co.(JMPR, 179, 168).
- Sztein, M. B., Cuna, W. R. y Kierzenbaum, F. 1990. *Trypanosoma cruzi* inhibits the expression of CD₃, CD₄, CD₈ y IL-2R by mitogen activated helper and cytotoxic human lymphocytes. *J. Immunol.* **144**, 3558-3562.
- Takahashi, M. 1985. Atlas color: **Citología del Cáncer**. Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires.
- Tarjarán, R. y Kemény, T. 1969. Multigeneration studies on DDT in mice. *Food Cosmet. Toxicol.* **7**, 215-222.
- Taylor, J. H., Woods, P. S. y Hughes, W. L. 1957. The organization and duplication of chromosome as revealed by autoradiographic studies using tritium-labeled thymidine. *Proc. Natl. Acad. Sci.(USA)*.**43**,122-128.
- Tice, R. R., Chailet, J. y Schneider, E. L. 1975. Evidence derived from sister chromatid exchanges of restricted rejoining of chromatid subunits. *Nature (Lond.)* **256**, 641-643.
- Tice, R. R., Schneider, E. L. y Ray, J. M. 1976. The utilization of bromodeoxiuridine incorporation in the DNA for the analysis of cellular kinetics. *Exp.Cell Res.* **102**, 232-236.
- Tice, R. R. y Hollaender, A. (Eds.)1984. Sister chromatid exchanges: 25 years of experimental research. Part A: the nature of SCEs. Plenum Press, Nueva York.
- Tolbert, E. P., Shy, M. C. y Allen, W. J. 1991. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: field test in snuff user. *Am. J. Epidemiol.* **134**, 840-850.
- Tolbert, E. P., Shy, M. C. y Allen, W. J. 1992. Micronuclei and other nuclear anomalies in bucal smears: methods development. *Mutat. Res.* **271**, 69-77.
- Usha, R. M., Reedy, O. y Reddy, P. 1980. Mutagenicity studies involving aldrin, endosulfan, dimethoate, phosphamidon, carbryl and ceresan. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* **25**, 277-282.
- Vaarama, A. 1947. Experimental studies on the influence of DDT insecticide upon plant mitosis. *Hereditas.* **33**, 191-210.

- Van. Bao, T., Szabo, Y., Ruzicska, P. y Czeizel, A. 1974. Chromosome aberrations in patients suffering acute organic phosphate insecticide intoxication. *Humangentik* 24, 33-57.
- Vega, V., Sanin J. y Mc.Clung, A. C. 1963. Influencia de la colocación de 2 fertilizantes fosfatados en la absorción de fósforo y en el desarrollo de la cebada, usando el radioisótopo P-32. *Boletín de Divulgación, Miniagricultura, DIA, Bogotá*.
- Vega, S. G. 1985. **Evaluación del riesgo en la exposición de sustancias tóxicas.** Toxicología VI. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud.
- Vogel, E. 1972. Mutagenic activity of the insecticide oxydemeton methyl in a resistant strain of *Drosophila melanogaster*. *Mutat. Res.* 16, 157-164.
- Wade, M., Moyer, J. y Hine, C. 1979. Mutagenic action of dichlorvos. *Mutat. Res.* 66, 367-371.
- Wendt, E. 1959. Ledendbeobachtungen an bestrahlten interphaskemen. *Zschi. Zellforsch.* 49, 677-687.
- Wester, R. C. y Maibach, H. I. 1985. *In vivo* percutaneous absorption and decontamination of pesticides in humans. *J. Toxicol. Environ. Health* 16, 25-37
- When, W. N. y Liew, T. L. 1983. The effect of age and cell proliferation on the frequency of sister-chromatid exchange in human lymphocytes cultured *in vivo*. *Mech. Ageing Dev.* 21, 37-40.
- WHO/IPCS 1985. Environmental health criteria 46. Guidelines for the study of genetic effects in human populations. Introduction. Ginebra.
- Wolff, S. 1974. Sister chromatid exchanges: the most sensitive mammalian system for determining the effects of mutagenic, carcinogenic. *Expert. Conference Oslo, Noruega*, pp. 11-13.
- Woodruff, R. C., Phillips, J. P. e Irwin, D. 1983. Pesticide-induced complete and partial chromosome loss in screens repair-defective females of *Drosophila melanogaster*. *Environ. Mutagen.* 5, 835-846.
- Wuu, K. D. y Grant, W. F. 1966. Morphological and somatic chromosomal aberrations induced by pesticides in barley (*Hordeum vulgare*). *Can. J. Genet. Cytol.* 8, 481-501.

- Wuu, K. D. y Grant, W. F. 1967. Chromosomal aberrations induced by pesticides in meiotic cells of barley. *Cytologia* **32**, 31-41.
- Wylie, A. 1981. Cell death: a new classification separating apoptosis from necrosis, En: I., Bowen. y R. Locksin,(Eds.). **Cell Death in Biology and Pathology**. Chapman y Hall, Londres, pp. 1-34.
- Wynder, E. L., Bross, Y. J. y Feldman, R. M. 1975. A study of the etiological factors in cancer of the mouth. *Cancer* **10**, 1300-1323.
- Yoder, J., Watson, M. y Benson, W. W. 1973. Lymphocyte chromosomes analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides. *Mutat. Res.* **21**, 335-340.
- Zhurkov, V. S. y Yakovenko, K. N. 1976. The culture of human lymphocytes as a test for evaluation of mutagenic activity of chemicals. *Mutat. Res.* **41**, 107-112.

Tablas

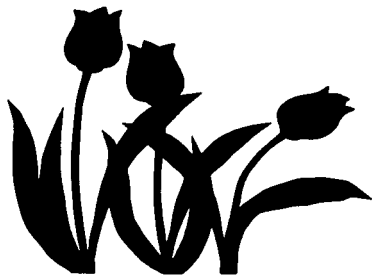


TABLA 1. CLASIFICACION DE LOS PLAGUICIDAS DE ACUERDO CON EL GRUPO QUIMICO.

Insecticidas	Ingrediente Activo
Organoclorados	Hidrocarburos cíclicos
Organofosforados	Esteres del ácido fosfórico
Carbamatos	Derivados del ácido carbámico
Piretrinas	Sustancias orgánicas de origen natural
Piretroides	Compuestos sintéticos análogos de las piretrinas

Tomado de Córdoba (1994)

TABLA 2. VIAS DE INGRESO DE LOS PLAGUICIDAS EN LAS PERSONAS EXPUESTAS

ORAL

1. Comer o beber durante la aplicación de plaguicidas
2. Fumar durante el uso de plaguicidas
3. Comer o beber un plaguicida por almacenamiento en recipientes inadecuados (envases de refrescos)
4. Comer o beber alimentos contaminados

RESPIRATORIA


1. Inhalación durante su formulación y aplicación
2. Inhalación de vapores al rociar un plaguicida

CUTANEA Y CONJUNTIVA

1. Exposición de la piel o de la conjuntiva al rocío o al polvo

Tomado de Wester y Maibach (1985)

TABLA 3. ESCALA DE TOXICIDAD DE PLAGUICIDAS

Término comunmente utilizado	Una sola dosis oral aguda a ratas DL ₅₀ mg de ia*/kg	Categoría toxicológica	Color adscripción de advertencia	Probable dosis letal para un adulto, vía oral o cutánea
Extremadamente tóxicos	0 - 50	I	Rojo  "Peligro veneno"	Una gota, un gramo = 64.8mg de ia
Altamente tóxicos	50 - 500	II	Amarillo "Cuidado"	28.75 g = 30 g de ia
Moderadamente tóxicos	500 - 5000	III	Azul "Cuidado"	250 g de ia puro
Ligeramente tóxico	mayor de 5000	IV	Verde "sin palabras de advertencia"	1 litro, 1 kg de ia puro

*ia ingrediente activo

Tomado de López (1986)

TABLA 4. PLAGUICIDAS DE MAYOR USO EN EL ESTADO DE MORELOS

ORGANOCLORADOS	ORGANOFOSFORADOS	CARBAMICOS	OTROS
Insecticidas			
Aldrin	Basudín	Furadán	Talstar
Amivo	Diazinón	Lannate	
BHC	Di-syxtox	Manzate	
DDT	Foley	Pinmor	
Dieldrín	Folidol	Sevin	
Endrín	Folimat		
Lindano	Gusatión		
Thiodán	Lucafós		
Thionex	Malatión		
Tordón	Metasystox		
	Paratión		
	Tamarón		
Herbicidas			
Karmex	Kalimán	Benlate	Aliete
			Gesapax
			Hierbestler
			Jávelin
			Nuacrón
			Sansón
Fungicidas			
Bravo		Captán	Ridomi!

TABLA 5. DATOS OBTENIDOS DEL CUESTIONARIO APLICADO A LOS GRUPOS EXPUESTO A PLAGUICIDAS Y TESTIGO

		EXPUESTO	TESTIGO
Ocupación	Hogar	0	30
	Fumigación	30	0
¿Toma bebidas alcohólicas?	Nada	21	28
	Ocasionalmente	9	2
	Frecuentemente	0	0
Fuma ¿cuantos cigarros al día?	Ninguno	22	27
	Menos de 10	8	3
	Más de 10	0	0
¿Ha sufrido alguna infección en los últimos 2 meses?	Si	10	15
	No	20	15
¿Ha tomado medicamento en los últimos 2 meses?	Si	10	12
	No	20	28
¿Le han tomado radiografías en los últimos 2 meses?	Si	0	2
	No	30	28
¿Ha tenido abortos?	Si	6	2
¿Su esposa ha tenido abortos?	No	24	28
¿Sus hijos son sanos?	Si	30	30
	No	0	0

TABLA 6. DATOS GENERALES DEL GRUPO EXPUESTO * Y
FRECUENCIAS DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS

Individuo	Sexo	Edad (años)	Antigüedad (años)	ICH / metafase $\bar{x} \pm E.E.$
1	F	39	10	8 \pm 0.580
2	F	40	10	7 \pm 0.557
3	F	34	10	6 \pm 0.365
4	F	45	10	4 \pm 0.470
5	M	22	10	7 \pm 0.580
6	F	61	10	9 \pm 0.645
7	F	28	10	7 \pm 0.688
8	M	63	10	8 \pm 0.613
9	F	30	10	5 \pm 0.501
10	F	40	10	6 \pm 0.480
11	F	50	10	7 \pm 0.200
12	F	45	10	7 \pm 0.282
13	F	49	10	6 \pm 0.305
14	F	49	10	7 \pm 0.282
15	F	49	10	8 \pm 0.282
16	F	30	10	7 \pm 0.253
17	F	40	10	7 \pm 0.280
18	F	32	10	8 \pm 0.310
19	F	44	10	7 \pm 0.280
20	F	26	1	7 \pm 0.387
21	M	20	1.5	7 \pm 0.364
22	M	24	1.5	8 \pm 0.520
23	M	26	1.5	8 \pm 0.270
24	M	18	1.5	8 \pm 0.346
25	M	20	1.5	8 \pm 0.264
26	M	25	1.5	8 \pm 0.443
Suma total		949	200	185
Promedio		36.5	7.7	7.2
D.E.		\pm 12.628	\pm 3.878	\pm 1.040
E.E.		\pm 2.477	\pm 0.761	\pm 0.189
Rango				4 \pm 0.470 a 9 \pm 0.645

* No presentaron adición al cigarro ni al alcohol.

TABLA 7. DATOS GENERALES DEL GRUPO TESTIGO * Y
 FRECUENCIAS DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS

Individuo	Sexo	Edad (años)	ICH / metafase $\bar{x} \pm E.E.$
1	F	31	3 \pm 0.295
2	M	34	3 \pm 0.257
3	F	22	3 \pm 0.264
4	F	65	3 \pm 0.302
5	F	42	3 \pm 0.369
6	F	28	3 \pm 0.232
7	F	33	3 \pm 0.256
8	F	20	3 \pm 0.301
9	F	26	3 \pm 0.278
10	F	18	3 \pm 0.258
11	F	25	3 \pm 0.336
12	F	39	3 \pm 0.216
13	F	30	3 \pm 0.266
14	F	30	3 \pm 0.266
15	F	42	3 \pm 0.266
16	F	47	3 \pm 0.251
17	F	54	3 \pm 0.365
18	F	64	3 \pm 0.291
19	F	50	3 \pm 0.248
20	M	53	3 \pm 0.260
21	F	36	3 \pm 0.392
22	F	41	3 \pm 0.248
23	F	40	4 \pm 0.337
24	F	49	4 \pm 0.264
25	F	54	3 \pm 0.247
26	F	49	3 \pm 0.216
27	F	40	4 \pm 0.247
28	F	44	4 \pm 0.381
29	F	40	5 \pm 0.380
30	F	43	3 \pm 0.350
Suma total		1189	96
Promedio		39.6	3.2
D.E.		\pm 12.119	\pm 0.484
E.E.		\pm 2.213	\pm 0.088
Rango			3 \pm 0.216 a 5 \pm 0.380

* No presentaron adicción al cigarro ni al alcohol.

TABLA 8. ANALISIS ESTADISTICO DE LA PRUEBA DE INTERCAMBIO DE CROMATIDAS HERMANAS EN LOS GRUPOS EXPUESTO A PLAGUCIDAS Y TESTIGO

	\bar{X}	\pm	E.E.	Rango
Expuesto*	7.2	\pm	0.189	4 \pm 0.470 a 9 \pm 0.645
Testigo	3.2	\pm	0.088	3 \pm 0.216 a 5 \pm 0.380

* Significativo a $p < 0.001$ al aplicar la prueba de "t" de Student

TABLA 9. FRECUENCIAS DE ICH DEL GRUPO EXPUESTO
A PLAGUICIDAS EN HOMBRES Y MUJERES

Hombres		Mujeres	
Individuo	$\bar{x} \pm E.E.$	Individuo	$\bar{x} \pm E.E.$
5	7 \pm 0.580	1	8 \pm 0.580
8	8 \pm 0.613	2	7 \pm 0.557
21	7 \pm 0.364	3	6 \pm 0.365
22	8 \pm 0.520	4	4 \pm 0.470
23	8 \pm 0.270	6	9 \pm 0.645
24	8 \pm 0.346	7	7 \pm 0.688
25	8 \pm 0.264	9	5 \pm 0.501
26	8 \pm 0.443	10	6 \pm 0.480
		11	7 \pm 0.200
		12	7 \pm 0.282
		13	6 \pm 0.305
		14	7 \pm 0.282
		15	8 \pm 0.282
		16	7 \pm 0.253
		17	7 \pm 0.280
		18	8 \pm 0.310
		19	7 \pm 0.280
		20	7 \pm 0.387
Suma total	62		123
Promedio	7.7*		6.8
D.E.	\pm 0.462		\pm 1.150
E.E.	\pm 0.164		\pm 0.271

*Significativo a $p < 0.001$ al aplicar la prueba de *T* de Student

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

**TABLA 10. FRECUENCIAS DE LA KINETICA DE PROLIFERACION CELULAR (CPC)
DE LOS GRUPOS EXPUESTO A PLAGUICIDAS Y TESTIGO, ASI COMO
LOS INDICES DE REPLICACION (IR) Y MITOTICO (IM)**

Individuo	Cinética de proliferación celular del grupo expuesto					Cinética de proliferación celular del grupo testigo				
	1a.	2a.	3a.	IM	IR	1a.	2a.	3a.	IM	IR
1	23	37	40	0.079	2.17	25	48	27	0.044	2.20
2	28	35	37	0.097	2.09	32	44	24	0.039	1.92
3	16	32	52	0.091	2.35	30	41	29	0.036	2.00
4	30	36	35	0.096	2.07	33	45	22	0.045	1.89
5	16	26	58	0.101	2.42	34	40	26	0.050	1.92
6	25	33	42	0.137	2.17	30	42	28	0.040	1.98
7	32	37	31	0.033	1.99	20	42	38	0.044	2.18
8	15	35	49	0.120	2.34	32	40	28	0.043	1.96
9	36	38	30	0.109	1.99	27	43	30	0.028	1.85
10	15	31	54	0.067	2.39	31	42	27	0.045	1.96
11	30	35	31	0.064	2.00	32	41	27	0.053	1.99
12	28	43	35	0.042	2.01	23	43	34	0.044	2.11
13	33	40	27	0.052	1.84	33	40	27	0.034	1.94
14	28	41	34	0.057	2.03	33	39	28	0.040	1.95
15	23	41	38	0.054	2.13	33	40	27	0.034	1.94
16	24	40	36	0.055	2.12	23	45	32	0.031	2.09
17	21	42	37	0.042	2.13	29	43	28	0.042	1.99
18	18	33	49	0.067	2.36	27	43	30	0.037	2.03
19	22	38	30	0.046	2.18	26	45	29	0.039	2.03
20	24	38	38	0.043	2.23	31	47	22	0.042	1.91
21	19	41	38	0.047	2.42	16	46	38	0.051	2.22
22	47	33	40	0.039	1.73	33	44	23	0.032	1.90
23	19	35	46	0.040	2.27	28	43	29	0.038	1.96
24	19	42	39	0.046	2.20	27	42	31	0.044	2.04
25	63	20	32	0.030	1.54	26	41	33	0.031	2.07
26	28	41	33	0.045	1.64	32	40	28	0.051	1.96
27						32	37	31	0.035	1.99
28						26	39	35	0.034	2.09
29						17	39	44	0.047	2.42
30						34	38	28	0.037	1.94
Suma total	682	943	1011	1.699	54.81	855	1262	883	1.210	60.43
Promedio	26.23	36.20*	38.88*	0.07*	2.11	28.50	42.07	29.43	0.04	2.01
D.E.	± 10.51	± 5.25	± 8.03	± 0.03	± 0.23	± 4.91	± 2.68	± 4.81	± 0.01	± 0.12
E.E.	± 2.06	± 1.03	± 1.57	± 0.01	± 0.04	± 0.90	± 0.50	± 0.88	± 0.00	± 0.02

Se aplicó la χ^2 para la CPC y el IM y para el IR, la "t" de Student.

*Significativo

**TABLA 11. FRECUENCIA DE MICRONUCLEOS EN CELULAS DE
DESCAMACION DE MUCOSA ORAL DE LOS GRUPOS
EXPUESTO Y TESTIGO**

Individuo	Expuesto	Testigo
	MN	MN
1	0.033	0.033
2	0.067	0.067
3	0.100	0.033
4	0.100	0.067
5	0.100	0.067
6	0.100	0.033
7	0.100	0.033
8	0.013	0.067
9	0.133	0.067
10	0.133	0.033
11	0.100	0.067
12	0.133	0.067
13	0.100	0.033
14	0.067	0.067
15	0.100	0.000
16	0.100	0.033
17	0.100	0.033
18	0.100	0.033
19	0.067	0.033
20	0.133	0.033
21	0.133	0.000
22	0.067	0.033
23	0.067	0.033
24	0.067	0.033
25	0.133	0.033
26	0.067	0.033
27		0.033
28		0.033
29		0.000
30		0.000
Suma total	2.413	1.133
Promedio	0.092*	0.038
D.E.	± 0.031	± 0.021
E.E.	± 0.006	± 0.004

* Significativo a $p < 0.001$ al aplicar la prueba de "t" de Student

**TABLA 12. ANALISIS ESTADISTICO DE CELULAS DE EPITELIO BUCAL
EN LOS GRUPOS EXPUESTO A PLAGUICIDAS Y TESTIGO**

	TESTIGO	±	E.E.	EXPUESTO	±	E.E.
Micronúcleos	0.038	±	0.003	0.093*	±	0.006
Cel. binucleadas	0.155	±	0.010	0.246	±	0.015
Cromatina condensada	0.186	±	0.013	0.189	±	0.027
Cariólisis	0.031	±	0.006	0.078*	±	0.014
Picnosis	0.015	±	0.003	0.038*	±	0.009
Cariorexix	0.005	±	0.002	0.019*	±	0.005
Rompimiento de huevo	0.001	±	0.001	0.007	±	0.002
Trinucleadas	0.000	±	0.000	0.001	±	0.001
Binucleada con micronúcleos	0.000	±	0.000	0.001	±	0.001

*Significativo a $p < 0.001$

Figuras



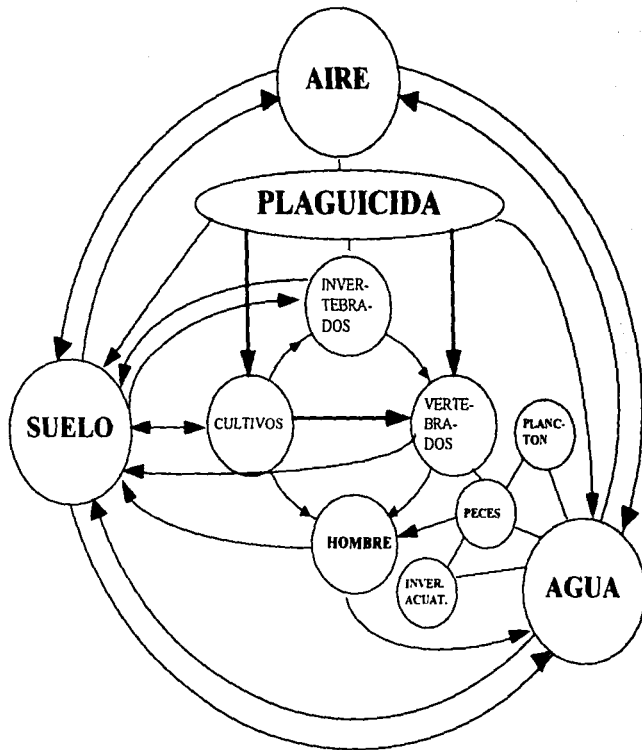


Fig. 1 Relación plaguicida - ambiente (Tomado de De la Jara, 1982)

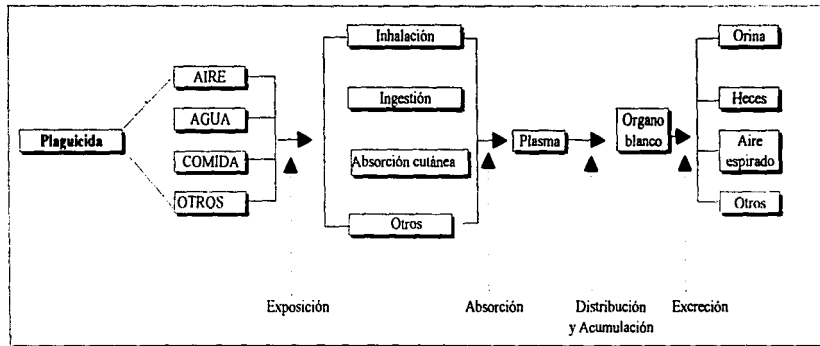


Fig. 2 Vías de penetración y distribución de un plaguicida en el organismo
(Tomado de Córdoba, 1986)

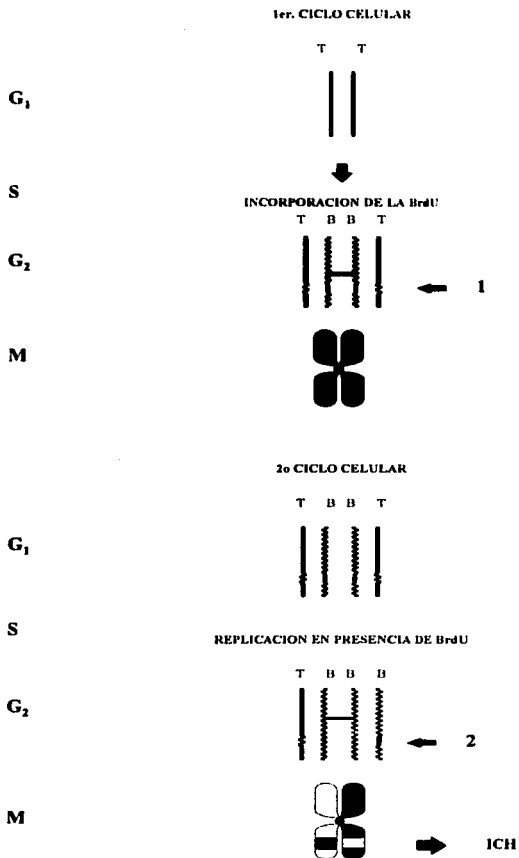


Fig. 3 Diagrama de la tinción diferencial con BrdU

1 ICH NO DETECTABLE EN LA PRIMERA MITOSIS POR NO HABER TINCION DIFERENCIAL
 2 ICH DOBLE DE PRIMERA MITOSIS DETECTABLE POR HABER TINCION DIFERENCIAL

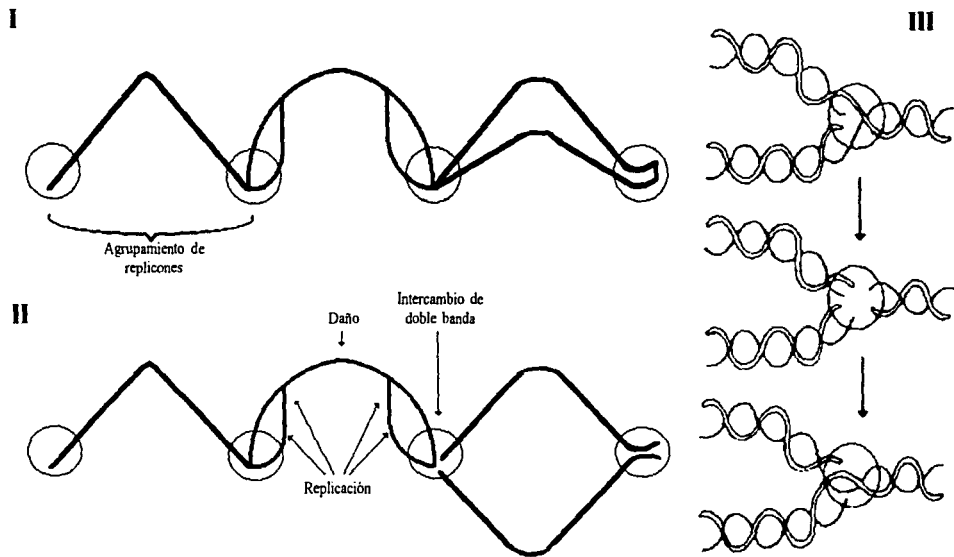


Fig. 4 Modelo de inducción de ICH de Painter (1980)

I Progresión de la duplicación del ADN entre los agrupamientos de replications (círculos) que separan replicones subsiguientes.

II Retardo en la duplicación debido a daño, e incremento de la posibilidad de intercambio de doble banda.

III Ruptura de doble banda y reunión de la banda hija de la molécula replicada a la molécula no replicada dando lugar al intercambio de doble banda.

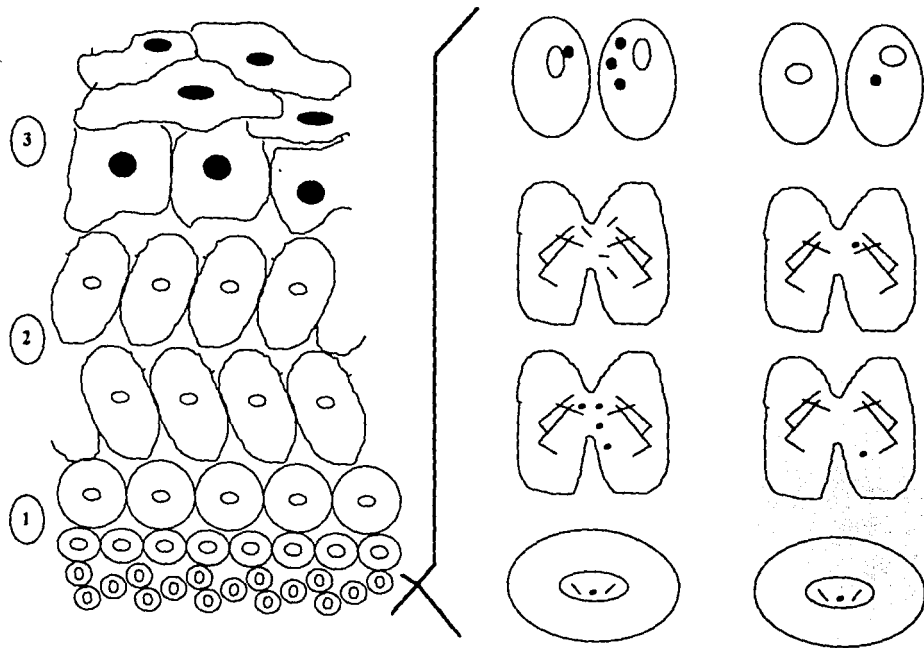


Fig. 5 Formación de micronúcleos en el epitelio estratificado escamoso. Las capas son: (1) células basales en división, (2) células intermedias sin división, más maduras y (3) células superficiales. Los MN son producidos por daño cromosómico en las células basales (Tomado de Rosin *et al.*, 1992)

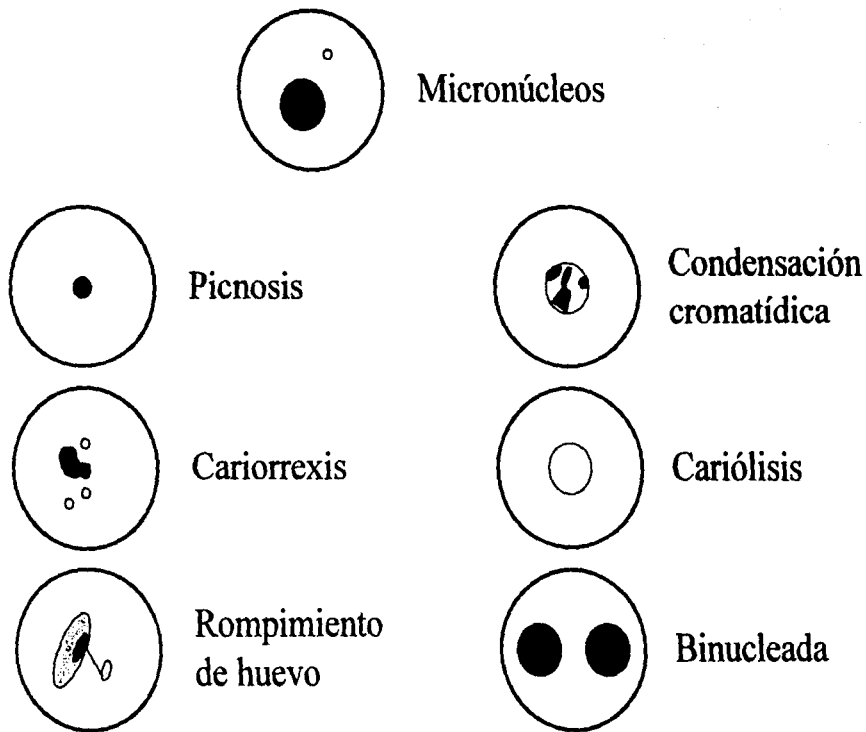


Fig. 6 Diagrama de la apariencia morfológica de una célula micronucleada y de células con otras anomalías nucleares (Tomado de Tolbert *et al.*, 1992)

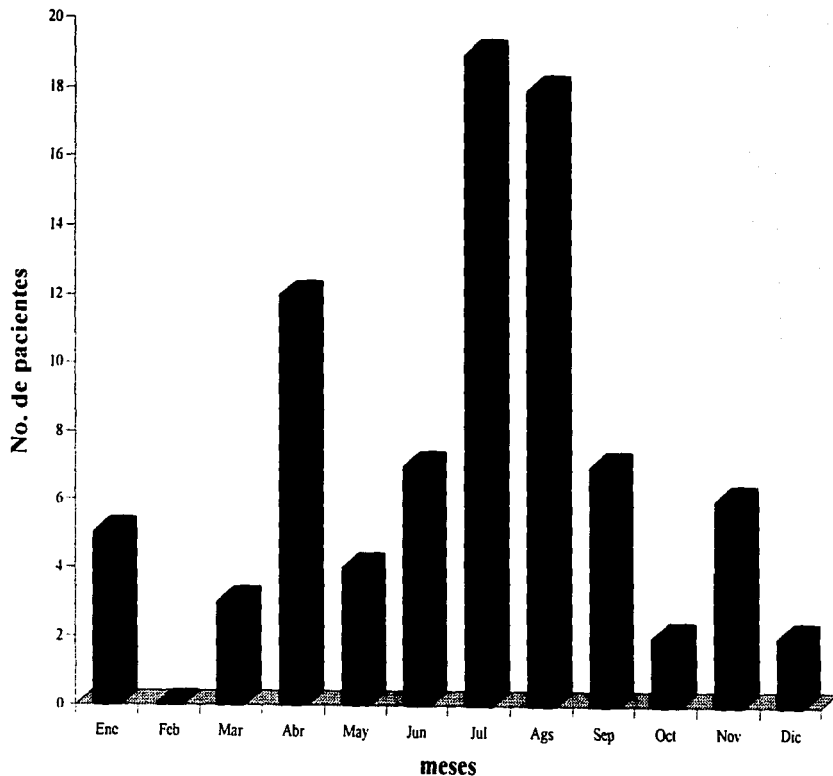
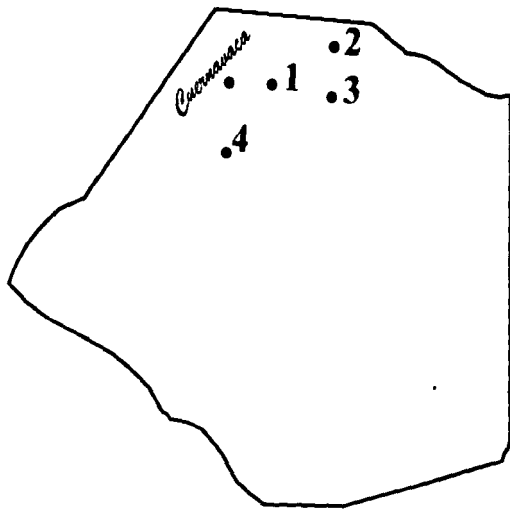


Fig. 7 Casos de intoxicación aguda con plaguicidas atendidos durante 1995 en el Hospital Dr. Mauro Beluzarán de Cuautla, Morelos



1. Santa Catarina
2. San Gaspar
3. Yecapiztla
4. Temixco

Fig. 8 Zonas de Estudio en el Estado de Morelos,
México



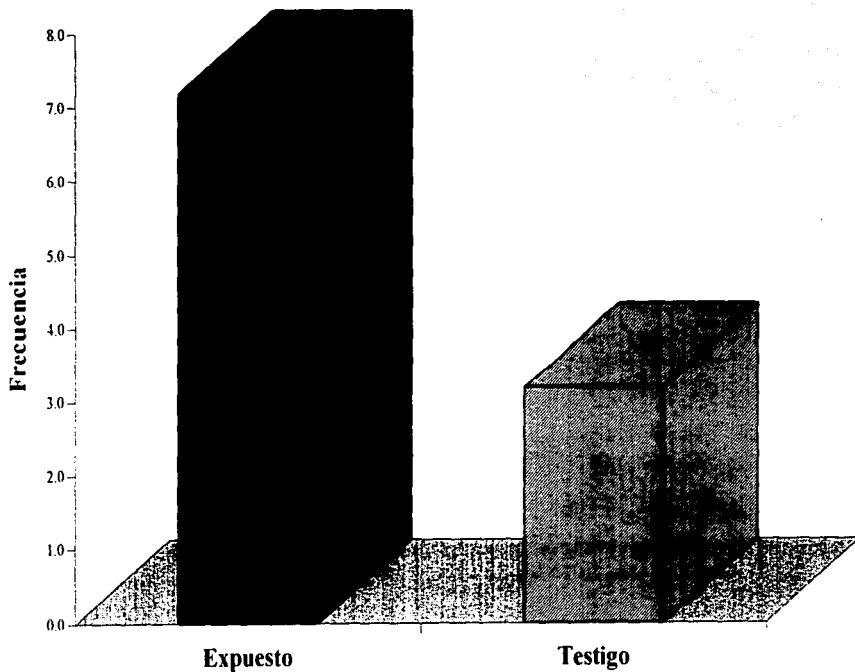


Fig. 9 Frecuencia de ICH de los grupos expuesto a plaguicidas y testigo

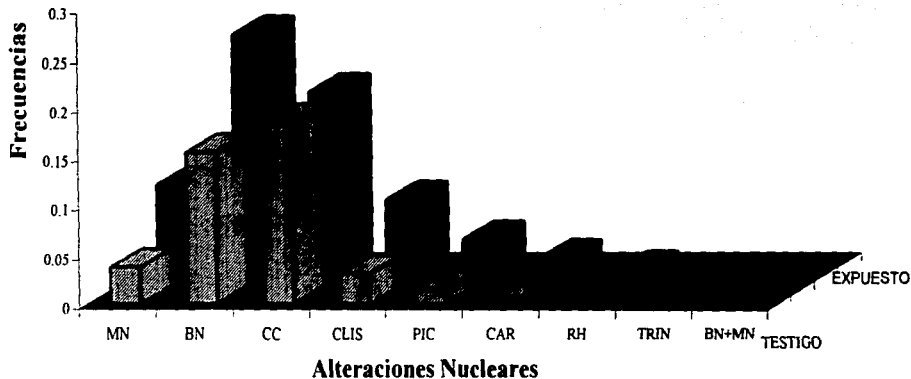


Fig. 10 Frecuencias de alteraciones nucleares del grupo expuesto a plaguicidas y el grupo testigo en células de epitelio bucal

Anexo



Cuestionario sobre la evaluación del riesgo toxicológico por plaguicidas en el Estado de Morelos.

Nombre _____

Dirección _____

Edad _____ Estado Civil _____

Ocupación _____ Escolaridad _____

¿Fuma? si _____ no _____ ¿Cuántos cigarrillos al día? _____
menos de 10 _____ más de 10 _____

¿Toma bebidas alcohólicas? no _____ ocasionalmente _____ frecuentemente _____

¿Le han aplicado alguna vacuna recientemente? si _____ no _____

¿Ha sufrido alguna infección en los 2 últimos meses? si _____ no _____

¿Cuál y diga que medicamentos ha tomado? _____

¿Se le han tomado radiografías recientemente? si _____ no _____

¿Alguno de sus familiares cercanos a usted ha tenido o tiene cáncer? si _____ no _____

parentesco _____

¿Qué trabajo desempeña actualmente? _____ ¿Desde hace cuanto? _____

¿Cuánto tiempo ha usado plaguicidas? _____

¿Cuántas veces al año aplica plaguicidas? _____ ¿A qué tipo de cultivo? _____

¿Cuántos días dura cada aplicación? _____

¿Qué plaguicidas aplica usted? _____

¿Utiliza alguna protección cuando realiza su trabajo? _____ ¿Cuál? _____

¿Vive cerca de una zona donde se aplican plaguicidas? _____ ¿a que distancia aproximadamente? _____

¿Cuántos hijos tiene? _____

Nombre	Edad	Enfermedad importante
--------	------	-----------------------

_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

¿Todos sus hijos han nacido sanos? _____

¿Su esposa ha tenido abortos? _____

¿Alguno de sus familiares ha muerto a causa de intoxicación por plaguicidas? si _____ no _____

Parentesco _____ Edad _____ ¿Por cuánto tiempo aplicó plaguicidas y en que tipo de cultivo? _____