



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**EL ENSAYO COMETA COMO UN BIOMARCADOR DE  
GENOTOXICIDAD EN LA EXPOSICIÓN A  
PLAGUICIDAS DE UNA POBLACIÓN DE CAMPESINOS  
DE LA CIÉNEGA DE CHAPALA, MICHOACÁN, MÉXICO.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**B I Ó L O G A**

**P R E S E N T A:**

**ADRIANA GARCÍA ROMERO**

**DIRECTORA DE TESIS:**

**Dra. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO**

**2016**

**Ciudad Universitaria, CDMX**





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

1. Datos de alumno

García  
Romero  
Adriana  
5518162970  
Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
308210299

2. Datos del tutor

Dra.  
Sandra Luz  
Gómez  
Arroyo

3. Datos del sinodal 1

Dr.  
Luis Felipe  
Jiménez  
García

4. Datos del sinodal 2

Dr.  
Pedro Rafael  
Valencia  
Quintana

5. Datos del sinodal 3

Dra.  
María Isabel  
Rodríguez  
Romero

6. Datos del sinodal 4

Dra.  
María Antonieta  
Ochoa  
Ocaña

7. Datos del trabajo escrito.

El ensayo cometa como un biomarcador de genotoxicidad en la exposición a plaguicidas de una población de campesinos de la Ciénega de Chapala, Michoacán, México.

70 p.  
2016

**A mis papás, por darme la libertad de cometer mis errores,  
apoyar mis decisiones y ayudarme a cumplir mis anhelos.**

**A mi papá, por ser mi cómplice en aventuras y batallas  
sin importar cuales sean.**

**A mi mamá, por enseñarme a sonreír sin importar la situación  
y que no tengo límites.**

**A Camelia y Ancelmo, por darme la mejor y  
más increíble familia.**

**A Benita, por que ella sería la más contenta  
si estuviera aquí...**

## AGRADECIMIENTOS

A la **Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo**, por cada enseñanza y consejo, por el tiempo y la dedicación, por sus palabras y apoyo; por darme la mayor oportunidad académica de todas, que fue el permitirme entrar al Laboratorio de Citogenética Humana. La admiro mucho, sin usted este trabajo no hubiera sido posible.

A mis sinodales:

Dr. Luis Felipe Jiménez García

Dr. Pedro Rafael Valencia Quintana

Dra. Ma. Isabel Rodríguez Romero

Dra. Ma. Antonieta Ochoa Ocaña

Por el tiempo y la paciencia necesarios para la revisión de esta tesis.

A la Dra. Ma. Antonieta Ochoa Ocaña, por toda su ayuda en el proceso de la realización de este trabajo y por su hospitalidad en Cojumatlán y Sahuayo.

A la Dra. Josefina Cortés Eslava, por su apoyo y paciencia durante mi aprendizaje en el laboratorio y la realización de este trabajo.

A la M. en C. Ana Rosa Flores Márquez por su asesoría técnica en la enseñanza de la metodología, tanto en la elaboración como en la lectura de las laminillas.

A Victoria Carillo (Vicky), por todo el apoyo moral y académico que me ha dado estos años. Por su ayuda, consejos, optimismo y cariño.

Al Equipo Michoacán: Zel, Denisse, Pao, Xime, Gaby, Gabs y Julio ¡Chicos sin ustedes no habría tesis! Y también a todos los que forman el equipo del Laboratorio de Citogenética Humana: Zelt, Pao, Xime, Denisse, Julio, Cyn, Gaby, Gabs y Javs, por el apoyo, las risas y enseñanzas compartidas.

Al Centro de Ciencias de la Atmósfera por el apoyo financiero recibido del Fondo Especial de Ingresos Extraordinarios del CCA, para concluir los trámites y obtener el título de Bióloga.

A mi incondicional **PAO**, por TODO. Por estar ahí siempre. Por ayudarme en horas y deshoras, por la compañía, la espera y la paciencia. Por las risas y las lágrimas. Por compartir alegrías y frustraciones. Por tu amistad y cariño, **por ser el apoyo que no sabía que necesitaba.**

A **Zeltzin**, mi inseparable del laboratorio, por todos esos aprendizajes a base de ensayo y error, por las risas y las aventuras (buenas y malas), por el apoyo, ayuda, enseñanzas y consejos, pero sobre todo por su amistad y presencia (dentro y fuera del lab).

A Xime, Zel y Denisse, chicas gracias por compartir esta gran aventura conmigo. Las quiero mucho.

A las Ridículas. A Yu por sus ocurrencias y drama. A Zel por darnos el nombre perfecto. A July por escuchar y siempre tener un consejo. A Pao por parecer cuerda y ser de lo peor. Yu y Zel gracias por integrarme a esta locura.

A mis bebés (Penny, Yaz y Juanjo), juntos desde el primer día de la carrera. Si ésta ha sido la mejor época de mi vida mucho ha sido gracias a ustedes, los quiero muchísimo.

A Snyder, por todos estos años de amistad con lapsos perdidos pero con reencuentros constantes. Te quiero media onda.

***Y al final...***

**Mamá gracias por ser mi mejor compañía (mamá/cómplice/amiga). Por las alegrías, risas y aventuras. Por esas enseñanzas que me das sin darte cuenta. Por creer siempre en mí y jamás dejar que me de por vencida. Te amo.**

**Papá gracias por ser mi mayor apoyo. Por hacer que hasta las peores situaciones parezcan aventuras. Por la seguridad que me da tu cariño. Por hacerme creer soy más grande que cualquier batalla que este por venir. Te amo.**

## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	<b>6</b>
<b>1. RESUMEN</b> .....	<b>7</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>8</b>
<b>2.1. Plaguicidas</b> .....	<b>8</b>
<b>2.2. Clasificación de los plaguicidas</b> .....	<b>9</b>
2.2.1. Organoclorados .....	9
2.2.2. Organofosforados.....	12
2.2.3. Carbamatos.....	14
2.2.4. Piretroides .....	15
<b>2.3. Plaguicidas y agricultura en México</b> .....	<b>18</b>
<b>2.4. Biomarcadores</b> .....	<b>22</b>
<b>2.5. Ensayo cometa</b> .....	<b>22</b>
<b>2.6. Ciénega de Chapala</b> .....	<b>24</b>
2.6.1. Cojumatlán de Regules .....	26
2.6.2. Sahuayo de Morelos.....	26
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>28</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>28</b>
<b>5. OBJETIVO GENERAL</b> .....	<b>28</b>
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>28</b>
<b>6.1. Selección de las poblaciones</b> .....	<b>29</b>
<b>6.2. Toma de muestras</b> .....	<b>29</b>
<b>6.3. Elaboración de las laminillas</b> .....	<b>30</b>
<b>6.4. Análisis de las laminillas</b> .....	<b>30</b>
<b>7. RESULTADOS</b> .....	<b>32</b>
<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	<b>42</b>
<b>9. CONCLUSIONES</b> .....	<b>47</b>
<b>10. REFERENCIAS</b> .....	<b>48</b>
<b>11. ANEXOS</b> .....	<b>58</b>

## 1. RESUMEN

La Ciénega de Chapala, Michoacán es importante en la producción de cereales y hortalizas, debido a esta actividad hay gran consumo de plaguicidas. Estas sustancias son responsables de varios y diversos efectos secundarios en la salud humana, que pueden causar intoxicaciones o muerte; situación provocada por el mal manejo, falta de información y carencia de equipo de protección. Por otro lado, la electroforesis unicelular o ensayo cometa es un biomarcador útil por ser una técnica sensible, que detecta a nivel de células individuales rompimientos de DNA donde los fragmentos migran durante la electroforesis, formando una cauda. El objetivo del trabajo fue evaluar el daño al DNA en leucocitos de trabajadores agrícolas de esta región mediante el ensayo cometa. Para ello se tomaron muestras de sangre periférica de 46 agricultores laboralmente expuestos a plaguicidas y de 30 individuos testigo (personas sin contacto con estas sustancias). Se elaboraron 3 laminillas por cada individuo, que se tiñeron con bromuro de etidio y se observaron en un microscopio de fluorescencia con el analizador de imágenes "Comet Assay IV", tomando como parámetros de daño la longitud, la intensidad y el momento de la cauda de 100 núcleos al azar por preparación. Los datos que se obtuvieron de ambas poblaciones se analizaron estadísticamente por medio de *t* de Student y la prueba de Newman-Keuls cuyo resultado fue significativo. Se realizó además una comparación entre las poblaciones femeninas (expuesta y testigo) encontrando diferencias significativas. Indicando así que hay daño genotóxico detectable por medio de este biomarcador en las poblaciones expuestas a plaguicidas.



## 2. ANTECEDENTES

### 2.1. Plaguicidas

Un plaguicida es una sustancia o cualquier mezcla de sustancias que se utilizan con la finalidad de repeler, matar o controlar aquellos organismos que se consideran plagas.

Alrededor del mundo los plaguicidas son algunos de los productos químicos más utilizados, debido a que tanto su consumo como su variedad han ido aumentando de manera proporcional al incremento de la población y de la producción agrícola (Costa *et al.*, 2006; Gómez-Arroyo *et al.*, 2013; WHO, 2015).

En las últimas décadas más de 50,000 fórmulas de plaguicidas han sido usadas para deshacerse de organismos no deseados; sin embargo, mientras estos compuestos han ayudado a incrementar la producción de los cultivos, disminuido los costos de los alimentos y reducido las muertes provocadas por vectores de enfermedades, han sido también responsables de numerosas intoxicaciones humanas (Forde *et al.*, 2015).

Son empleados con el propósito de matar, destruir o repeler organismos nocivos; algunas veces además de dañar las especies deseadas, estas sustancias afectan a otros organismos incluyendo a los seres humanos. Las intoxicaciones y las muertes causadas por estos compuestos se deben a la ausencia de equipos de protección y la falta de información sobre la manipulación. Los plaguicidas son responsables de diversos efectos secundarios en la salud humana además de las intoxicaciones. Dichas alteraciones se han reportado en los sistemas inmune, nervioso, endócrino y reproductor. El daño al DNA también se ha relacionado con la exposición a plaguicidas; los cuales pueden provocar abortos, enfermedades degenerativas y finalmente cáncer como resultado de la ausencia del proceso de reparación de daño (Karabay y Oguz, 2005; Costa *et al.*, 2006).

Dentro del término de plaguicidas se encuentra una amplia variedad de sustancias de diferentes propiedades y composiciones que se pueden clasificar según el organismo blanco (alguicidas, antimicrobianos, biopesticidas, biocidas, fungicidas, herbicidas, insecticidas, acaricidas, bactericidas, molusquicidas,

nematicidas, ovicidas, rodenticidas, entre otros) o de sus cualidades químicas basándose en su fuente de origen o el método de obtención, los principales grupos son: organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides (US EPA y NIH, 2015).

## **2.2. Clasificación de los plaguicidas**

A continuación se presentan las características generales de los plaguicidas de acuerdo con su clasificación química:

### **2.2.1. Organoclorados**

El DDT (dicloro-difenil-tricloroetano) y el HCH (hexaclorociclohexano) son los principales representantes de este grupo de plaguicidas. Desde los años 40 en que comenzó su empleo, sus beneficios han sido considerables en agricultura, y en la salud (eliminación de vectores de enfermedades). En países de regiones tropicales fueron muy usados el siglo pasado de manera eficiente en programas de salud pública por su bajo costo y efectividad (Waliszewski *et al.*, 2004; Chávez-Almazán *et al.*, 2014).

Se utilizaron por más de medio siglo, hasta que en los años 70 con el descubrimiento de su alta persistencia ambiental y de su bio-acumulación en el tejido adiposo de animales y seres humanos debido a su naturaleza lipofílica, así como su biomagnificación dentro de la cadena alimenticia, hace que se restrinjan y prohíban; su acumulación en el organismo se debe a que ingresan a través de la dieta, al tiempo de exposición, la edad y la capacidad del metabolismo para su eliminación (Waliszewski *et al.*, 2000, 2004; Chávez-Almazán *et al.*, 2014).

En México se emplearon hasta 1999 y proveyeron de grandes beneficios en el control de vectores que transmitían enfermedades infecciosas y en el control de plagas agrícolas. Desde 1959 hasta 1999 se utilizaron en el país para combatir los vectores de la malaria (Herrero-Mercado *et al.*, 2010).

El DDT se aplicó en México por primera vez en 1946 en Temixco, Morelos; esto tuvo como consecuencia una reducción del 99% del mosquito *Anopheles*.

Entre 1947-1948 se comenzó a utilizar en otras regiones del país (Veracruz, Baja California y la Ciudad de México). Para 1948 se notó la primera evidencia clara

del control de la malaria, ya que la tasa global del vector de la enfermedad en el estado de Morelos era del 10% y se redujo al 1% en las zonas rociadas con el plaguicida. En 1956 se generalizó la campaña y de esta manera se redujeron los casos de malaria (de 41,000 en 1955 a 4,000 en 1960). Desde 1998, el DDT ha sido substituido por piretroides en el programa de control de la malaria (Díaz-Barriga et al., 2002). En México los plaguicidas organoclorados aún son muy usados en los programas tanto de salud pública como agrícolas, lo que tiene como consecuencia una exposición crónica de la población (Chávez-Almazán et al., 2014). Además de sus diversos usos en el ámbito sanitario, los principales cultivos donde se utilizan estos plaguicidas son los de uva, lechuga, jitomate, alfalfa, maíz, arroz, sorgo, algodón y sobre madera, para su preservación (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007).

Los organoclorados se absorben por el intestino, pulmón y piel. Para su absorción primero pasan por una barrera de difusión, como una mucosidad o una membrana biológica, para poder llegar a los fluidos circulantes; la relativa solubilidad de estas sustancias en agua puede hacer que actúen como sustitutos de los lípidos. Otro factor importante para su absorción es su tamaño molecular, lo que afecta su tendencia a bioacumularse. Una vez que entran en el sistema circulatorio y son transportados a través de los componentes lipídicos y lipoprotéicos del suero sanguíneo, se depositan en el tejido adiposo. Se considera que estas sustancias lipofílicas están en un estado de equilibrio en todo el cuerpo: sangre, grasa, órganos, etc. En épocas de nutrición deficiente los depósitos adiposos al ser movilizados liberan los compuestos organoclorados almacenados y pasan al torrente sanguíneo, donde pueden producir efectos tóxicos si las concentraciones son elevadas, de otra manera solo se eliminan del cuerpo (Calva y Torres, 1998; Caba *et al.*, 2015).

Los plaguicidas organoclorados al ser altamente tóxicos inducen mutagénesis, teratogénesis y alteraciones en funciones metabólicas y reproductivas; la mayoría son capaces de cruzar la barrera placentaria haciendo que el feto sea susceptible a los efectos tóxicos de los compuestos (pesticidas y metabolitos) y teniendo efectos subsecuentes en la salud. En el embarazo la principal preocupación son los niveles de estas sustancias en sangre materna y el

cordón umbilical. Por ser lipofílicos pueden ser excretados en la leche materna ya que es la principal ruta de eliminación de los depósitos de organoclorados del cuerpo de una madre, exponiendo posteriormente de igual manera al infante. Los plaguicidas de este grupo poseen propiedades anti androgénicas y estrogénicas; que tienen efectos en la actividad sexual y el desarrollo de cáncer de mama (Calva y Torres, 1998; Waliszewski *et al.*, 2000, 2001, 2004; Herrero-Mercado *et al.*, 2010; Chávez-Almazán *et al.*, 2014).

Actualmente, la Agencia para la Protección del Medio Ambiente de los Estados Unidos (EPA) suspendió la disponibilidad de insecticidas clorados en especial de: DDT, aldrín, dieldrín, heptacloro, mirex, clordecona y clordano; aunque aún hay ingredientes activos de varios productos que todavía son utilizados en varias áreas como casas, jardines, así como para combatir plagas ambientales, agrícolas y en materiales de construcción (Reigart y Roberts, 1999).

El HCH y los ciclodiénicos (aldrín, dieldrín, endrín, clordano, heptacloro), así como el endosulfán son absorbidos eficientemente a través de la piel, mientras que la eficiencia de la absorción cutánea del DDT, docofol, marlate, toxafeno y mirex es menor; la grasa y los disolventes de grasa aumentan la absorción gastrointestinal y probablemente dérmica. Son neurotoxinas excitantes, actúan en el sistema nervioso central y afectan el proceso sináptico. El dieldrín causa daño renal, cambios de conducta y mutaciones cromosómicas, su toxicidad se ve ligeramente afectada según la ruta de administración ya sea dérmica u oral. Los plaguicidas organoclorados son en su mayoría estimulantes del sistema nervioso, generalmente el primer síntoma de una intoxicación aguda son los temblores o convulsiones. Una intoxicación que llega a este grado rápidamente puede ser letal (Stringer y Johnston, 2001).

El lindano, al igual que el metoxicloro, dienoclor, endrín, clorobencilato, dicofol, tozafeno, pertano y endosulfán tienen una rápida eliminación metabólica, lo que evita que sean detectados como residuos en la grasa corporal, sangre o leche materna (Reigart y Roberts, 1999).

El sistema nervioso sufre principalmente la toxicidad de los cloruros orgánicos; se presenta como una sobreexcitación del cerebro y produce

convulsiones. Los ciclodienos, el mirex y el lindano por su parte están asociados con ataques convulsivos fuertes y muerte. Cuando las concentraciones del organoclorado en los tejidos disminuyen radicalmente, se presenta la recuperación del envenenamiento. El mirex es altamente bioacumulado y es de los organoclorados más persistentes, permanece durante periodos muy amplios en tejido lipídico, su metabolización es muy lenta; afecta el sistema nervioso central y la conducta. Este plaguicida a diferencia de los demás clorados no provoca ataques convulsivos (Reigart y Roberts, 1999; Stringer y Johnston, 2001).

La mayoría de los cloruros no son altamente volátiles, los pesticidas en aerosol o las partículas de polvo atrapadas en la mucosa respiratoria son posteriormente ingeridas y pueden resultar en una absorción gastrointestinal.

Los niveles elevados de algunos cloruros orgánicos (en especial DDT y DDE), han demostrado inducir las enzimas microsómicas hepáticas que los metabolizan. Esto acelera la excreción de los mismos pesticidas, pero también puede estimular la biotransformación de sustancias naturales críticas, como hormonas esteroidales. La absorción humana de cloruros para causar inducción enzimática generalmente ocurre como resultado de una alta y prolongada exposición (Reigart y Roberts, 1999; Repetto y Repetto, 2009).

### **2.2.2. Organofosforados**

Estos fueron sintetizados durante los primeros años del siglo XX, pero sus efectos fueron descubiertos hasta 1932; los cuales son muy similares en insectos y seres humanos. Algunos son muy venenosos y fueron usados durante la Segunda Guerra Mundial como agentes neurotóxicos. En general no son persistentes en el ambiente.

Después de que se retiraron del mercado los insecticidas organoclorados, los organofosforados se han convertido en los más usados y disponibles; son empleados mundialmente debido a su bajo costo y a que son multifuncionales ya que son usados en la agricultura, en el hogar, en jardines y también en la práctica veterinaria (Reigart y Roberts, 1999; Iyer *et al.*, 2015). En el ámbito agrícola se utilizan principalmente para cultivos de: hortalizas, árboles frutales, granos, algodón, caña de azúcar, entre otros (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007).

La exposición a estos plaguicidas puede ocurrir de diferentes maneras: ocupacionalmente por aplicación en residencias, ambiental en comunidades cercanas a zonas de intensa producción agrícola y por control de plagas (Forde *et al.*, 2015).

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud (OMS) se reportan cada año cerca de un millón de intoxicaciones accidentales (Jokanović y Kosanović, 2010).

Los organofosforados se pueden absorber de manera eficaz por inhalación, ingesta y penetración por la piel; afectan el sistema nervioso al interrumpir a la enzima acetilcolinoesterasa, reguladora de la acetilcolina, un neurotransmisor. Son compuestos altamente lipofílicos y migran rápidamente al sistema nervioso donde la intoxicación comienza por la unión y posterior inactivación de la acetilcolinoesterasa. Estas sustancias comprometen el desarrollo neuronal y son capaces de atravesar la barrera placentaria y se sabe que interfieren con el desarrollo hormonal y neurológico, el sistema inmune y otras funciones fisiológicas (Forde *et al.*, 2015; Iyer *et al.*, 2015).

Estos insecticidas envenenan principalmente insectos y mamíferos por la fosforilación de la enzima acetilcolinoesterasa en las terminaciones nerviosas y así inhiben sus funciones; el resultado es una pérdida de esta enzima de manera que el órgano efector se ve sobre estimulado por el exceso de acetilcolina en las terminaciones nerviosas. La enzima es un punto de control normal de la transmisión de los impulsos de las fibras nerviosas al musculo liso y esquelético, células glandulares, ganglios autónomos y el sistema nervioso central. La pérdida de la función enzimática permite la acumulación de acetilcolina en las uniones colinérgicas neuroefectoras, uniones del musculo esquelético y ganglios autónomos, así como centrales. Altas concentraciones de acetilcolina causan contracciones, espasmos musculares, secreciones musculares y también debilidad o parálisis de la célula por despolarización. En lo que se refiere a las consecuencias mutagénicas estos plaguicidas actúan directamente sobre el DNA, añadiendo grupos alquilo en su mayoría metilo y etilo a las bases nitrogenadas (Reigart y Roberts, 1999; Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007).

En el sistema nervioso central, altas concentraciones de acetilcolina causan alteraciones de memoria, concentración y aprendizaje, problemas de atención, procesamiento de información, coordinación ojos-manos y de tiempo de reacción, ansiedad, depresión, síntomas sicóticos, inestabilidad emocional, fatiga crónica, temblores, inestabilidad de la postura y rigidez en los músculos faciales. A esto se suman secreciones pulmonares y hay fallas respiratorias, todo esto provoca la muerte (Reigart y Roberts, 1999; Jokanović y Kosanović, 2010).

### **2.2.3. Carbamatos**

Fueron desarrollados en 1950 como respuesta a la búsqueda de plaguicidas con actividad anticolinesterásica pero con una mayor especificidad y menor toxicidad a los seres humanos que los organofosforados. Comparten con éstos la capacidad de inhibir la enzima colinesterasa y por ello la sintomatología que se presenta por exposición crónica e intoxicaciones es similar. Se utilizan principalmente en los países y zonas que dependen sobre todo de la agricultura como actividad económica, son importantes para el control de plagas y como sustitutos de los organofosforados y se usan también en casas y jardines (Reigart y Roberts, 1999; Vale y Lotti, 2015).

Presentan una elevada toxicidad que puede darse por cualquier vía, gastrointestinal, respiratoria y cutánea, puede haber también traspaso de la barrera placentaria (Torres, 2002; Vale y Lotti, 2015). Su mecanismo de acción está basado en la inhibición de la acetilcolinesterasa. El exceso de acetilcolina provoca síntomas similares a los causados por organofosforados; mientras que la acumulación de la colinesterasa, tanto en seres humanos como en animales, es reversible y de corta duración, ya que el complejo que se forma entre la colinesterasa y el plaguicida se rompe rápidamente, por lo tanto las funciones se restauran a la normalidad. Son metabolizados por el hígado y se degradan pronto, además se excretan rápidamente por el riñón; y en la mayoría de los casos hay una completa recuperación. Por esto es muy difícil notar un descenso en los niveles de colinesterasa por los carbamatos (SS, 2014; Torres, 2002).

No producen daño neurológico a largo plazo, pero ocurre una intoxicación severa casi de manera inmediata posterior a la exposición (en aproximadamente

1h), esto se debe a que no requieren de bioactivación y puede conducir rápidamente a la muerte; no se ha mostrado que tengan tendencia a acumularse en tejidos, ni en el ambiente. La intoxicación con estas sustancias puede ser grave si se asocia con el consumo de alcohol (Torres, 2002; SS, 2014; Vale y Lotti, 2015).

La mayoría de estos plaguicidas no traspasan la barrera hemato-encefálica, como hacen los organofosforados, por lo que su efecto es menor. Disminuyen la síntesis de fosfolípidos en el cerebro y por esto el efecto en el cerebro de la actividad de la acetilcolinesterasa es considerablemente menor que cuando se involucran organofosforados; además se alteran los niveles de serotonina en plasma (Vale y Lotti, 2015).

Se ha relacionado a los carbamatos con la incidencia de algunas enfermedades como: reacciones de hipersensibilidad, enfermedades autoinmunes y cáncer; estas sustancias potencializan procesos inmunológicos. Tales reacciones se dan como resultado del estrés oxidante, que modifica varias señalizaciones de la célula y promueve mutaciones carcinógenas por medio de inducción de daño al DNA (Dhouib *et al.*, 2016).

#### **2.2.4. Piretroides**

La piretrinas fueron desarrolladas a partir de extractos de *Chrysanthemum cinerariaefolium*; debido a que eran fácilmente degradados por la luz, se sintetizaron análogos más resistentes, sus estructuras básicas fueron modificadas para que fueran más estables en el ambiente. El primer pesticida piretroide fue la aletrina, identificada en 1949. Se utilizan en la agricultura, casas y jardines, además en tratamientos de enfermedades por exoparásitos (piojos o moscas). Actualmente existen aproximadamente 3,500 tipos de insecticidas de este grupo; su uso se ha incrementado durante la última década al ser retirados del mercado de los organofosforados y organoclorados, por ser más tóxicos (Reigart y Roberts, 1999; Bradberry *et al.*, 2005; Lee *et al.*, 2015; EPA, 2016).

Estos plaguicidas se subdividen en dos grupos dependiendo de la ausencia (Piretrinas tipo I) o presencia (Piretrinas tipo II) de un grupo –ciano. Se considera que los piretroides de tipo II son más potentes y tóxicos (Bradberry *et al.*, 2005; Cha *et al.*, 2014).



Los piretroides no son inhibidores de la colinesterasa y sus principales efectos son prolongaciones de las aperturas en los canales de sodio y cloro debido a una unión del insecticida al canal lo que provoca una despolarización prolongada, que tiene efectos recíprocos y su función es regular la excitabilidad de las células. Como resultado las células excitables (nerviosas y musculares) son los principales objetivos de la toxicidad y se manifiesta principalmente como desórdenes funcionales, en lugar de estructurales (Bradberry *et al.*, 2005).

Muchos piretroides han sido relacionados con trastornos en el sistema endócrino ya que algunos de ellos actúan como análogos del estrógeno y antagonistas de la progesterona, lo cual tiene consecuencias en el desarrollo sexual y reproductivo, además pueden interferir con el sistema inmune y aumentar las probabilidades de padecer cáncer de mama (Garey y Wolff, 1998; Jurewicz *et al.*, 2014).

Estos insecticidas modifican la función de los canales que son sensibles a voltaje, principalmente se afectan los canales de sodio y en menor medida los de cloro. Para alterar la función neuronal solo se requieren bajas concentraciones de estas sustancias. Los piretroides cambian las características de apertura de los canales de los mamíferos y en invertebrados la membrana neuronal, en ambos el cierre del canal se retrasa; esto permite que se prolongue la entrada de los iones, el alargamiento del evento depende de la concentración de piretroide presente (Bradberry *et al.*, 2005; Cha *et al.*, 2014).

Los compuestos del tipo I retrasan los canales de sodio, causando disparos repetidos del potencial de acción. Los piretroides del tipo II afectan los canales de sodio y cloro, lo que tiene como consecuencia una despolarización del potencial de membrana y ningún disparo del potencial de acción. Además reducen las corrientes de cloro dependientes de los canales y esta acción contribuye a la mayoría de las intoxicaciones que se provocan. A concentraciones relativamente altas también se pueden afectar los canales de cloro en cerebro, nervios, músculos y glándulas salivales y puede además afectar canales regulados por el neurotransmisor GABA, esto produce ataques epilépticos (Bradberry *et al.*, 2005; Iyyadurai *et al.*, 2014; Cha *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2015).

Este tipo de plaguicidas son 2,250 veces más tóxicos para los insectos que para los mamíferos debido a que los primeros tienen mayor sensibilidad en los canales de sodio, un tamaño corporal muy reducido y menor temperatura corporal. Los mamíferos están protegidos por una escasa absorción dérmica y un metabolismo rápido a los productos no tóxicos; además de que los canales en los seres humanos tienen muchas isoformas lo que también ayuda a la protección (Bradberry *et al.*, 2005; Cha *et al.*, 2014).

Para la exposición ocupacional la principal ruta de absorción es por inhalación y a través de la piel; la inhalación es mucho más importante cuando se da en lugares cerrados como invernaderos y más aún si son aerosoles. Son tóxicos por vía oral, pero la toxicidad por inhalación y la absorción dérmica es baja. Aunque la absorción limitada puede ser responsable de la baja toxicidad de algunos piretroides, el factor principal de este fenómeno puede ser la rápida biodegradación por las enzimas hepáticas de los mamíferos (hidrólisis y oxidación). La mayoría de los metabolitos de los piretroides son en parte excretados con rapidez por el riñón. El metabolismo de los piretroides se inhibe por los insecticidas organofosforados y si se combinan podría incrementar de manera potencial la toxicidad de ambos plaguicidas, de la misma manera que si se llegara a ingerir una gran cantidad de estos. Se metabolizan rápidamente en el hígado por oxidación y son excretados de manera rápida y mayoritariamente por la orina (Reigart y Roberts, 1999; Bradberry *et al.*, 2005; Iyyadurai *et al.*, 2014; Ratelle *et al.*, 2015).

Los piretroides se formulan como concentrados emulsificables, polvos humectables, gránulos y concentrados para aplicación en volumen ultra bajo. Pueden estar combinados o ser mezclados en el momento de la aplicación con otros pesticidas (algunas veces muy tóxicos) (Reigart y Roberts, 1999).

En países tropicales las redes contra los mosquitos están normalmente bañadas en soluciones con piretroides como parte de las estrategias contra la malaria, por ello es una fuente potencial para que gente de todas las edades tenga una exposición crónica a estas sustancias (Bradberry *et al.*, 2005).

### **2.3. Plaguicidas y agricultura en México**

Los agricultores mexicanos están expuestos a diferentes mezclas de plaguicidas, incluyendo organofosforados, organoclorados, piretroides y carbamatos; que aumentan la incidencia de enfermedades y cáncer. Las diversas vías de exposición de tejidos y órganos son responsables por las variaciones de los patrones biológicos y la potencia tóxica de estas sustancias. Los efectos de dichas exposiciones dependen de varios factores como son: estilo de vida, dieta, predisposición genética, expresiones polimórficas de diferentes enzimas y salud general (Calderón-Segura *et al.*, 2012; Bolognesi, 2003).

En América Latina y en el Caribe, de acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), en 2010 se utilizaron 222,367.59 toneladas de plaguicidas, siendo los herbicidas los más empleados (11,788.14 toneladas), seguidos por los insecticidas (46,994.62 toneladas) y por último los fungicidas y bactericidas (61,584.83 toneladas). De los plaguicidas que se utilizan con mayor frecuencia, destacan los organofosforados, seguidos por los carbamatos y los piretroides (FAO, 2013).

En México, el uso de plaguicidas agrícolas comienza a finales del siglo XIX la aplicación intensa se inició cerca de 1948 con la introducción del DDT y de otros organoclorados, para 1994 se convirtió en el principal importador en América Latina. En 2000, se elaboraron y asperjaron 244.1 mil toneladas de insecticidas, fungicidas y desinfectantes; para 2010 se elaboraron 25,546 toneladas de insecticidas, 25,862 de fungicidas y 18,980 de herbicidas, sumando un total de 58,451 toneladas de plaguicidas de empleo agrícola (Albert, 2005; Gómez-Arroyo *et al.*, 2013).

En México, la tierra disponible para la agricultura es de aproximadamente 23 millones de hectáreas, lo que representa el 12% de la superficie total del país. Los cultivos más importantes son maíz, frijol, sorgo, trigo, cebada, papa y hortalizas. En gran medida, la estructura agraria todavía se basa en el ejido y la pequeña propiedad (Albert, 2005).

En 2012 se reportaron 37,501 toneladas de insecticidas de uso agrícola y 37,684 toneladas de herbicidas y defoliantes. México cada día depende más de la importación de alimentos debido a la crisis agrícola que se ha mantenido por un

tiempo. En nuestro país, así como en otros, la aplicación de estos productos ha aumentado debido a que la agricultura es crucial para la producción de alimentos y para el desarrollo socioeconómico (Gómez-Arroyo *et al.*, 2013).

La población dedicada a la agricultura es de aproximadamente 7 millones de personas, sin considerar la población rural que también está expuesta a plaguicidas y se calcula que es el 25.4% de la población del país (Albert, 2005).

Como consecuencia del empleo de plaguicidas una grave contaminación afecta al ambiente, así como la salud de los jornaleros y consumidores, lo que podría tener como consecuencia un impacto negativo en lo referente a las exportaciones de alimentos hacia países que tienen regulaciones estrictas y métodos eficientes de verificación.

En México existen alrededor de 275 empresas nacionales e internacionales que fabrican, formulan, maquilan e importan plaguicidas para uso agrícola y la cantidad de plaguicidas o ingredientes activos que se utilizan, se calcula aproximadamente en 55 mil toneladas anuales de las cuales 5 son para empleo urbano (AMIFAC, 2012).

Para 2005 las regiones con mayor uso de plaguicidas son: Sinaloa, Chiapas, Veracruz, Jalisco-Nayarit-Colima, Sonora-Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México y Puebla-Oaxaca. En ellas se aplica el 80% total de plaguicidas que se utilizan en el país (Albert, 2005).

Según el Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, en el lapso comprendido entre 2005 y 2009 las cifras de intoxicaciones por plaguicidas se elevaron de 3174 a 3229 casos, ocurriendo principalmente en los estados de Jalisco, Michoacán, Veracruz, Nayarit, Guerrero, Chiapas, Edo. de México, Sinaloa y Morelos.

En 2010 se reportaron 3068 casos por intoxicación con plaguicidas en toda la República Mexicana, en donde Jalisco es el que presenta la mayor cantidad, seguido del Edo. de México, Guerrero, Chiapas, Veracruz, Nayarit, Michoacán, Morelos y Oaxaca. La mayor parte de dichas intoxicaciones fue en hombres con 2167 casos y en mujeres 901 casos (Gómez-Arroyo *et al.*, 2013).

Las frecuencias de intoxicaciones en relación con la vía de ingreso son del 40% oral, 30% por inhalación, 29% cutánea y 1% ocular. Si se considera el grupo químico al que pertenecen: los piretroides causan el 22% de las intoxicaciones, el 20% los organofosforados, 15% los carbamatos, 7% los bupiridilos, 6% los rodenticidas, 5% los fosfóricos, 2% la glicina, 2% la ampicina, con el 1% están los fluoroacetatos, triazinas, fenoxi, organoclorados y clorofenólicos y el 16% restante se desconoce (Gómez-Arroyo *et al.*, 2013).

Los trabajadores agrícolas no prestan atención a las instrucciones de aplicación de los plaguicidas y cosechan los cultivos antes de lo recomendado, además ignoran las normas de higiene y protección como el uso de equipo de protección y lavarse las manos antes de comer o después de manejar los plaguicidas; lo que se mantiene debido al analfabetismo y el bajo nivel educativo o por la ignorancia de los riesgos a que están expuestos, que prevalece en el medio rural (Albert, 2005; Martínez-Valenzuela *et al.*, 2009).

Muchos estudios han demostrado que la exposición ocupacional a plaguicidas induce daño al DNA, que se puede observar en intercambio de cromátidas hermanas, formación de micronúcleos, aberraciones cromosómicas, aductos en el DNA y rompimientos de DNA (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007).

Algunas investigaciones asocian el daño al DNA con un incremento en alteraciones al sistema nervioso, respiratorio, reproductor y sistema inmune. El daño al DNA también está asociado al incremento del riesgo de sufrir cáncer. Las lesiones del DNA pueden ser el inicio del proceso químico de la carcinogénesis y del desarrollo de los tumores (Bernstein *et al.*, 2013).

En México las entidades reguladoras de los plaguicidas, tanto para su consumo como su distribución y su seguridad son: la Secretaría de Hacienda y Crédito Público (SHCP); del Trabajo y Previsión Social (STPS); de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR); de Comercio y Fomento Industrial (SECOFI); de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca (SEMARNAP); de Salud (SSA); de Comunicaciones y Transportes (SCT); de Marina (SEDEMAR); así como la Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas,

Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) (INE, 2016). En la tabla 1 se detalla la función de cada una de las dependencias.

**Tabla 1.** Entidades reguladoras de plaguicidas en México (INE, 2016)

<b>Fase de los plaguicidas</b>	<b>Instituciones responsables</b>
Importación y exportación	SAGAR/ SSA/ SEMARNAP/ SECOFI/ SHCP
Registro	SSA
Proceso y uso	SEMARNAP/ SSA/ SAGAR/ STPS
Almacenamiento	SSA/ SCT/ STPS
Transporte	SCT/ SSA/ SEMARNAP/ STPS
Comercialización	SAGAR/ SECOFI/ SSA
Efectividad Biológica	SAGAR
Establecimiento de límites máximos de residuos de plaguicidas en productos agrícolas	SSA/ SAGAR
Control de residuos en productos agrícolas	SSA
Control de calidad de los plaguicidas	SSA
Descargas al agua	SEMARNAP/ SSA/ SEDEMAR
Emisiones al aire	SEMARNAP/ SSA
Residuos peligrosos	SEMARNAP/ SSA/ SCT
Ambiente laboral	STPS/ SSA
Salud ocupacional	SSA/ STPS
Salud ambiental	SSA
Saneamiento e impacto ambiental	SEMARNAP

El CICOPLAFEST por su parte, debe coordinar a las instituciones antes mencionadas en lo referente a los plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas, fue creado por un decreto del Diario Oficial de la Federación en 1987, con el objetivo de regularlos y controlarlos.

## **2.4. Biomarcadores**

Para la evaluación de daño genético en poblaciones expuestas a los plaguicidas utilizados para control de plagas se han desarrollado diferentes pruebas que analizan diferentes biomarcadores (Kaur *et al.*, 2011).

El biomonitoreo de poblaciones humanas expuestas a mutágenos o carcinógenos potenciales puede proveer un sistema de detección temprana del inicio de una desregulación de las células que derive en cáncer (Valverde y Rojas, 2009). Los biomarcadores más frecuentes son: aberraciones cromosómicas, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y ensayo cometa (Kaur *et al.*, 2011).

## **2.5. Ensayo cometa**

Las pruebas para estudios de daño al DNA han ido cambiando e incrementando su sensibilidad, por ello actualmente se usan metodologías tales como el ensayo cometa debido a su gran capacidad de detección de daño a bajas concentraciones de exposición, la rápida realización del estudio, el análisis de datos a nivel de células individuales, el empleo de un tamaño pequeño de muestra y el costo relativamente bajo (Zeljezic y Garaj-Vrhovac, 2001; Arencibia Arrebola y Rosario Fernández, 2003).

Mientras que las aberraciones cromosómicas y los intercambios de cromátidas hermanas se limitan a células proliferantes o a linfocitos en circulación sanguínea, el ensayo cometa puede ser aplicado a células proliferantes o no proliferantes o a células pertenecientes a tejidos que tienen el primer contacto con las sustancias carcinógenas o mutagénicas (Kassie *et al.*, 2000).

El ensayo cometa es una técnica de electroforesis de alta sensibilidad en geles de agarosa para detectar diferentes tipos de daño al DNA a nivel de células individuales. Evidencia rupturas de cadena sencilla y doble del DNA, sitios álcali lábiles (sitiosapurínicos y apirimídicos) y entrecruzamientos DNA/DNA o DNA/proteína asociados con sitios de reparación incompleta por escisión en células individuales (Valverde y Rojas, 2009; Aiassa *et al.*, 2012).

El ensayo se basa en la migración del DNA en un campo eléctrico, como resultado del proceso de lisis las hebras con rompimiento se relajan y las que no tienen daño permanecen súper enrolladas. El material genético con rupturas migra del núcleo de la célula al ánodo (dando apariencia de cometa) y su desplazamiento puede ser utilizado para identificar alteraciones; ya que a mayor fragmentación se observa más cantidad de DNA en la cauda y esto se debe a que las cadenas rotas migran libremente a diferencia de las que se encuentran súper enrolladas (Kassie *et al.*, 2000; Duez *et al.*, 2003; Gómez-Arroyo *et al.*, 2013).

Aunque este ensayo ha sido usado de manera amplia en estudios de reparación de DNA, toxicología y de biomonitoreo, en los últimos 20 años han ido aumentando las cifras en los estudios de efectos genotóxicos por exposición ocupacional a plaguicidas (Kaur *et al.*, 2011).

Actualmente el ensayo cometa es uno de los biomarcadores mas empleados en el biomonitoreo de la exposición ocupacional a plaguicidas en donde se han encontrado resultados positivos (Lebally *et al.*, 1998 a, b; Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2000, 2001, 2002; Ündegër y Bašaran, 2002; Ramirez y Cuenca, 2002; Grover *et al.*, 2003; Paz-y-Miño *et al.*, 2004; Ascarrunz *et al.*, 2006; Castillo-Cadena *et al.*, 2006; DaSilva *et al.*, 2008; Remor *et al.*, 2009 y Rohr *et al.*, 2011) y negativos (Lebally *et al.*, 2003; Piperakis *et al.*, 2003, 2006); demostrando ser un ensayo sensible y confiable.

Los parámetros que se consideran principalmente en este ensayo son: la longitud, el momento (el producto de la medida de la longitud de la cauda y la cantidad de DNA en la misma) y la intensidad de la cauda (Burlison *et al.*, 2007).

La definición de estos parámetros es la siguiente:

- Longitud de la cauda

Medida de la migración del DNA, se basa en que está relacionado a los tamaños de la fragmentación y que será proporcional al nivel de los rompimientos de cadena sencilla y de doble cadena. Se mide la distancia desde el perímetro de la cabeza del cometa, hasta la última señal visible de la cauda (Fig. 1).

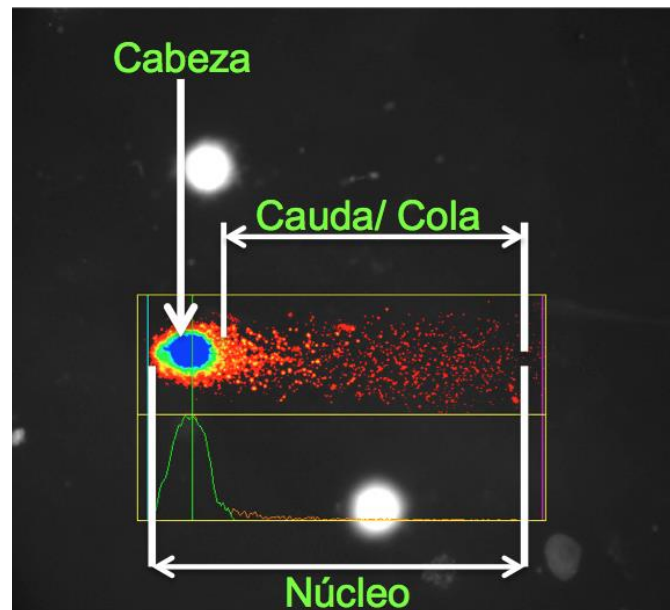


- Momento de la cauda

Es uno de los conceptos más utilizados para la evaluación de daño con el ensayo cometa. Hace referencia a la medida de la longitud multiplicado por la cantidad de DNA en la cauda.

- Intensidad de la cauda

Hace referencia a la cantidad de DNA presente en la cauda (Tice *et al.*, 2000; Burlinson *et al.*, 2007).



**Figura 1.** Desglose de un núcleo con cometa en un programa de análisis de imagen.

Los parámetros se pueden medir de manera manual o por programas especializados como el “Comet Assay IV”, que basándose en la fluorescencia de la tinción recopilan los datos.

## 2.6. Ciénega de Chapala

La región de la Ciénega de Chapala del estado de Michoacán constituye una de las zonas más importantes en la producción agrícola del estado, destacan sobre todo el cultivo de cereales y hortalizas; el crecimiento de esta actividad económica ha representado el aumento del consumo de plaguicidas para obtener un mayor rendimiento y mejor calidad de productos, para así elevar las ventas. Debido al

incremento en la aplicación de estos compuestos se han iniciado estudios en la zona por el impacto que estas sustancias pueden tener en la salud de las personas.

Se ubica al oriente del lago de Chapala, el área está compartida por los estados de Jalisco y Michoacán y está constituida por los municipios de Jamay, Ocotlán, Poncitlán, Chapala, Jocotepec, Tuxcueca y Tizapán en Jalisco; en Michoacán la conforman Cojumatlán de Regules, Venustiano Carranza, Briseñas, Jiquilpan, Sahuayo y Villamar.

En la Ciénega de Chapala, el agua para actividades agrícolas y uso doméstico suman el mayor consumo, mientras que las actividades pesqueras se han reducido a las pocas poblaciones ribereñas y a la acuacultura de granja que se desarrolla en algunos sitios de Sahuayo y Venustiano Carranza.

La utilización del agua se ha ido relacionando a la organización social. Para el caso del empleo público/urbano hay dos tipos de organización: el comunitario y la dependiente de la red municipal en los centros urbanos. Para la aplicación agrícola del agua se identifican también dos tipos: organizaciones civiles (Distrito de Riego de la Ciénega de Chapa) y organizaciones de pequeño riego, las cuales agrupan a productores agrícolas abastecidos de pozos artesanos.

La vocación productiva de la Ciénega de Chapala es básicamente agrícola; los principales cultivos de la región son maíz, trigo, sorgo, cártamo, hortalizas y garbanzo con la mayor superficie sembrada y en menor proporción otras como alfalfa, frijol, cebolla, forrajes, jitomate, caña, fresa, frutales y pradera. El maíz que se da durante el ciclo primavera/verano es el cultivo más importante ya que es de poco más de 5000 ha en promedio al año, seguida de trigo, cártamo y sorgo. La región está dedicada básicamente a la producción de granos. La hortofruticultura representa 12% del total y se ubica principalmente en las áreas más cercanas al lago, en los municipios de Cojumatlán y Venustiano Carranza.

En las zonas de temporal hace poco más de 20 años que comenzaron a usarse pesticidas, mientras que en las zonas de riego se han utilizado desde mediados del siglo pasado. Actualmente su empleo ha ido incrementándose sin asesoría técnica (Sandoval-Moreno y Ochoa-Ocaña, 2010).

### 2.6.1. Cojumatlán de Regules

Municipio de Michoacán ubicado en la región de la Ciénega de Chapala. Se localiza entre los paralelos 20° 02' y 20° 11' de latitud norte; los meridianos 102° 46' y 102° 58' de longitud oeste; altitud entre 1,600 y 2,400m (INEGI, 2009a). Colinda al norte con el estado de Jalisco; al este con el estado de Jalisco y los municipios de Venustiano Carranza y Sahuayo; al sur con los municipios de Sahuayo, Jiquilpan y Marcos Castellanos; al oeste con el municipio de Marcos Castellanos y el estado de Jalisco. Ocupa el 0.22% de la superficie del estado, cuenta con 14 localidades y una población total de 9,980 habitantes; de los cuales 4,863 son hombres y 5,117 son mujeres. El uso de su suelo está destinado el 20.86% a la agricultura y 2.20% a zona urbana (INEGI, 2009a). Los cultivos que se mantienen en este municipio son: alfalfa verde, avena forrajera, chile verde, frijol, maíz de grano, sorgo, trigo, jitomate, tomate y pastos. La superficie dedicada a la agricultura es de 29.56 km<sup>2</sup> (INEGI, 2009a).



**Figura 2.** Localización de Cojumatlán de Régules (Google maps)

### 2.6.2. Sahuayo de Morelos

Se encuentra entre los paralelos 20° 00' y 20° 06' de latitud norte; los meridianos 102° 40' y 102° 52' de longitud oeste; altitud entre 1,600 y 2,200 m. Colinda al norte con los municipios de Cojumatlán de Régules y Venustiano Carranza; al este con el municipio de Jiquilpan; al oeste con los municipios de Jiquilpan y Cojumatlán de Régules. Ocupa un total del 0.22% de la superficie del estado (INEGI, 2009b). Cuenta con 29 localidades y una población total de 72,841

individuos; de los cuales 35,298 son hombres y 37,543 son mujeres (INEGI, 2009c). De las actividades económicas de la población la mayoría son de índole comercial y naturaleza industrial como son: la fabricación de alimento para ganado, salsas picantes, descremación y procesamiento de lácteos; empaçado de carnes frías, fabricación de sombreros de palma, calzado de piel, huaraches, jabón corriente, muebles de madera, mochilas, petacas, pirotécnia y productos para la construcción (mosaicos, tejas y tabiques); extracción de grava y arena; embotellado de agua purificada y fabricación de hielo entre otras (PMDS, 2012).



**Figura 3.** Localización de Sahuayo de Morelos (Google maps)

### **3. JUSTIFICACIÓN**

A partir del surgimiento de los plaguicidas ha existido un interés particular en conocer las consecuencias de éstos en el ser humano y a lo largo de las décadas se han ido probando de manera experimental en diferentes organismos y con distintos biomarcadores para comprobar las diversas respuestas.

Actualmente en México hay un creciente interés por parte de varias instituciones y público en general en conocer los resultados de la exposición a los plaguicidas; sobre todo en poblaciones que se exponen de manera laboral o de forma cotidiana por localización de su sitio de residencia o por el manejo inadecuado de los envases y por el descuido para la limpieza del material contaminado.

En la región de la Ciénega de Chapala, la agricultura juega un papel principal como punto base de la economía y por ello mantienen un alto consumo de plaguicidas para garantizar la producción de la zona, la que se expone de manera amplia a la población a estos compuestos. Es por ello que se decidió analizar a la población en busca de algún indicio de daño al DNA por medio del ensayo cometa.

### **4. HIPÓTESIS**

- La exposición ocupacional de los trabajadores agrícolas a plaguicidas es un factor causante de daño al DNA, que se evidenciará en el aumento de la longitud, el momento e intensidad de la cauda mediante el ensayo cometa.

### **5. OBJETIVO GENERAL**

- Evaluar el daño al DNA por medio del ensayo cometa en trabajadores agrícolas de la región de la Ciénega de Chapala, Michoacán.

### **6. MATERIALES Y MÉTODOS**

## **6.1. Selección de las poblaciones**

El estudio se realizó con dos poblaciones de la Ciénega de Chapala, Michoacán; la primera de trabajadores expuestos laboralmente a pesticidas (Cojumatlán de Régules), que estaba conformada por 46 individuos y la segunda, que se consideró como testigo (Sahuayo de Morelos) con 30 individuos; ambas poblaciones fueron similares en promedio de edad y situación socioeconómica.

Antes de la realización del estudio se llevó a cabo una plática informativa en la cual se explicó el propósito de la investigación y mediante la aplicación de un cuestionario se recabaron datos sobre el historial médico y de exposición a plaguicidas de los individuos; además se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado de la toma de muestra y del uso de la información obtenida.

Como criterios de inclusión se consideró que estuvieran laboralmente expuestos a plaguicidas, que fueran mayores de 18 años, que no presentaran enfermedades crónico-degenerativas y que la participación en el estudio fuera voluntaria. Aquellas personas que presentaron obesidad, toxicomanías, exposición a rayos X (lapso menor a 3 meses previos a la toma de muestras) y enfermedades crónicas (cáncer, SIDA, herpes y hepatitis) fueron excluidas.

Una vez hecho esto se agruparon las siguientes poblaciones:

- Expuestos
- Testigos

## **6.2. Toma de muestras**

Se tomó una muestra de sangre periférica de 5 mL de cada uno de los participantes del estudio. Las muestras se almacenaron en un recipiente de unicel, cada una de ellas se marcó con el código correspondiente al cuestionario de cada individuo.

La sangre se trasladó en paquetes de 10 muestras, en bolsas de plástico y colocadas en camas de algodón dentro del recipiente. Se intentó que mantuvieran una temperatura constante durante el transporte entre los municipios y

posteriormente a la Ciudad de México. Las muestras se procesaron al día siguiente de que se tomaron.

### **6.3. Elaboración de las laminillas**

El ensayo cometa se realizó conforme procedimientos previamente descritos (Singh *et al.*, 1988; Tice *et al.*, 2000) con algunas variaciones.

Para el ensayo se utilizaron 10  $\mu$ L de la muestra sanguínea y a ésta se añadieron 90  $\mu$ L de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% a 37 °C), se mezcló cuidadosamente con la micropipeta para después colocar esta suspensión en un portaobjetos previamente cubierto con capa de agarosa de punto de fusión normal (1%) y se dejó solidificar a una temperatura de 4 °C. Posteriormente fue recubierta por una tercera capa de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% a 37 °C), que se dejó solidificar a 4 °C. Se elaboraron 3 laminillas por cada sujeto de estudio.

Después de la solidificación de la agarosa las laminillas se introdujeron en una solución de lisis (NaCl 2.5 M, EDTA 100 mM, Tris 10 mM, Tritón X-100 1% y DMSO 10% [pH=10]) a 4 °C en obscuridad durante 1 hora. Una vez transcurrido el tiempo de lisis celular las preparaciones se colocaron en una cámara de electroforesis horizontal con amortiguador alcalino frío de electroforesis (300 mM NaOH, 1 mM EDTA [pH $\geq$ 13]) por 20 minutos para que se llevara a cabo el desenrollamiento del DNA. Finalizado este tiempo se llevó a cabo la electroforesis por 20 minutos (25 V; 300 mA) en oscuridad para la migración del DNA previamente desenrollado y con daño (de ser el caso). Posteriormente se lavaron las laminillas con amortiguador neutro frío (Tris 0.4 M [pH=7.5]) durante 5 minutos 3 veces, este proceso también se realizó en obscuridad. Las laminillas se fijaron con etanol 100% en una caja Coplin por 15 minutos. Una vez fijadas las muestras se guardaron para su posterior análisis.

### **6.4. Análisis de las laminillas**

Las laminillas se tiñeron con 50  $\mu$ L de bromuro de etidio 2  $\mu$ g/mL y fueron observadas a 400x en un microscopio de fluorescencia Axiostar Plus (Carl Zeiss) equipado con un filtro de excitación de 515-560 nm y un filtro barrera de 590 nm. Se

revisaron 100 núcleos por preparación utilizando el programa "Comet assay IV". Al final se obtuvieron datos de 300 núcleos por muestra. Se consideraron tres parámetros de daño al DNA: la longitud, la intensidad y el momento de la cauda del cometa. Todas las laminillas y muestras se mantuvieron bajo un código para evitar prejuicios en la lectura.

Para el análisis de datos se aplicó la prueba de  $t$  de Student y análisis de varianza, cuando los valores de  $F$  fueron significativos (con una  $p < 0.001$ ) se realizó la prueba de Newman-Keuls en el programa computacional Statistica.



## 7. RESULTADOS

De la información obtenida por los cuestionarios y entrevistas, se obtuvieron los datos de 24 plaguicidas utilizados en la región, la tabla 2 presenta sus diversas clasificaciones por varias agencias nacionales e internacionales en cuanto a potencial carcinogénico; dichas categorías son descritas en la tabla 3.

**Tabla 2.** Plaguicidas utilizados en la región de Cojumatlán de Régules, Michoacán.

	Ingrediente activo	Clas. de la IARC	Clas. de la EPA	Clas. de la OMS	Situación en México	Clas. química
Insecticidas	Endosulfán	-	N	II	R	Organoclorados
	Aldrín	3	B2	O	P	
	Dieldrín	3	B2	O	P	
	Mirex	2B	-	O	P	
	Malatión	2A	S	III	+	Organofosforados
	Metamidofos	-	N	Ib	R	
	Metil paratión	3	N	Ia	+	
	Carbofurán	-	N	II	+	Carbamatos
	Metomilo	-	E	Ib	+	
	Oxamilo	-	E	Ib	+	
	Alfa-cipermetrina	-	-	II	+	Piretroides
	Cipermetrina	-	C	II	+	
	Lamda-cialotrina	-	D	II	+	
	Beta-ciflutrina	-	-	II	+	
	Permetrina	3	S	II	+	
	Fipronil	-	C	II		Otros
	Fosforo de aluminio	-	-	FM	R	
	Diflopbenzuron	-	E	III		
Tiacloprid	-	B1	II			
Herbicidas	Paraquat	-	-	II	R	Otros
	Terbutrina	-	D	U	+	
	Glifosato	2A	E	U	+	
Fungicidas	Clorotalonil	-	B2	U	+	Otros
	Hidróxido cúprico	-	-	U	+	

Es posible notar que se utilizan plaguicidas prohibidos o restringidos actualmente en México, como son: el aldrín, dieldrín, mirex, metamidofos, el fosforo de aluminio y finalmente el paraquat.

**Tabla 3.** Clasificación de carcinógenos de acuerdo a diferentes organizaciones.

<p style="text-align: center;"><b>• Clasificación de la IARC</b></p> <p><b>1:</b> Carcinogénico para los seres humanos  <b>2A:</b> Probablemente carcinogénico en seres humanos  <b>2B:</b> Posiblemente carcinogénico en seres humanos  <b>3:</b> No es clasificable en cuanto a su carcinogenicidad en seres humanos  <b>4:</b> Probablemente no carcinogénico en seres humanos</p>	<p style="text-align: center;"><b>• Clasificación de la EPA en 2004</b></p> <p><b>A:</b> Carcinógeno en seres humanos  <b>B1:</b> Posiblemente sea carcinógeno en seres humanos  <b>B2:</b> Probable carcinogénico para los seres humanos (evidencia insuficiente en animales)  <b>C:</b> Posible carcinogénico para los seres humanos  <b>D:</b> No clasificable como carcinogénico para los seres humanos  <b>E:</b> Evidencia de no carcinogenicidad para los seres humanos  <b>N:</b> No es probable que sea carcinógeno en seres humanos  <b>S:</b> Hay evidencia que sugiere carcinogenicidad, pero no la suficiente para evaluar el potencial carcinogénico en seres humanos</p>
<p style="text-align: center;"><b>• Clasificación de la OMS</b></p> <p><b>Ia:</b> Extremadamente peligroso  <b>Ib:</b> Altamente peligroso  <b>II:</b> Moderadamente peligroso  <b>III:</b> Ligeramente peligroso  <b>O:</b> Obsoleto como pesticida/ sin clasificar  <b>U:</b> Improbable que sea peligroso en condiciones normales de uso  <b>FM:</b> Fumigante/ no clasificado</p>	<p style="text-align: center;"><b>• Instituto Nacional de Ecología y Cicoplafest</b></p> <p><b>P:</b> Prohibido en México desde 1991  <b>R:</b> Restringido en México desde 1991  * De acuerdo al Diario Oficial de la Federación.</p>

A continuación se presentan los resultados obtenidos de los 76 casos analizados. Se consideraron dos poblaciones, una expuesta y otra testigo, de acuerdo a los cuestionarios aplicados. Ambas integradas por personas de ambos sexos y diversas edades.

### **Población Expuesta**

Basados en la información obtenida de los cuestionarios aplicados se elaboró la tabla 4, la cual muestra los datos demográficos de la población expuesta de Cojumatlán de Régules constituida por un total de 46 individuos, de los cuales 21 son mujeres y 25 hombres, con un promedio de edad de 41.33 años. Los valores de longitud, intensidad y momento de la cauda, también presentes en la tabla 4, se obtuvieron por medio de análisis de imagen de las laminillas con el programa “Comet assay IV”.

**Tabla 4.** Datos generales de los individuos de la población expuesta.

Individuo	Sexo	Edad (años)	Tiempo de exposición (años)	Longitud de la cauda ( $\mu\text{m}$ )*	Intensidad de la cauda (%)*	Momento de la cauda*
1	M	21	11	29.61	7.88	0.72
2	M	28	17	28.87	7.33	0.72
3	M	23	12	23.91	6.21	0.53
4	M	28	10	39.39	8.00	0.99
5	M	30	9	31.21	7.52	0.78
6	M	34	19	29.27	7.79	0.81
7	M	31	12	36.67	9.27	0.93
8	M	31	16	49.29	12.04	1.38
9	M	40	20	29.70	7.32	0.78
10	M	42	27	22.83	5.25	0.46
11	M	49	41	28.61	7.16	0.76
12	M	45	34	29.94	8.23	0.90
13	M	53	34	29.09	5.70	0.56
14	M	63	57	26.85	6.36	0.52
15	M	63	50	32.09	4.53	0.54
16	M	67	40	34.84	7.88	0.86

Individuo	Sexo	Edad (años)	Tiempo de exposición (años)	Longitud de la cauda ( $\mu\text{m}$ )*	Intensidad de la cauda (%)*	Momento de la cauda*
17	M	64	10	23.99	7.37	0.63
18	M	75	67	26.33	6.69	0.64
19	M	49	10	27.27	7.60	0.72
20	M	41	10	28.17	7.39	0.69
21	M	43	10	33.19	9.84	1.07
22	M	32	10	31.12	5.57	0.53
23	M	34	10	28.32	3.38	0.34
24	M	55	40	28.13	7.23	0.63
25	M	19	10	34.52	10.28	1.09
26	F	37	10	26.91	7.88	0.80
27	F	41	10	28.91	7.78	0.81
28	F	32	7	40.97	6.18	0.77
29	F	29	2	30.83	5.46	0.53
30	F	66	10	27.16	7.15	0.64
31	F	54	10	32.09	6.48	0.64
32	F	33	10	24.88	4.31	0.39
33	F	54	10	27.25	7.19	0.70
34	F	34	10	35.68	10.68	1.45
35	F	25	10	28.59	13.48	1.65
36	F	44	10	32.66	11.57	1.38
37	F	30	10	28.38	10.13	1.23
38	F	54	10	35.52	14.80	1.91
39	F	30	10	33.84	15.32	1.83
40	F	41	10	19.79	5.56	0.56
41	F	24	10	42.57	14.31	2.03
42	F	23	10	24.12	8.96	1.09
43	F	60	10	23.17	6.80	0.75
44	F	37	10	37.45	14.31	1.68
45	F	38	10	29.11	13.07	2.04
46	F	55	10	27.52	11.82	1.51
<b>( <math>\bar{x} \pm E.E</math> )</b>		41.33	17.07	30.45 $\pm$ 0.32	8.41 $\pm$ 0.17	0.93 $\pm$ 0.03

\*n= 300 núcleos analizados

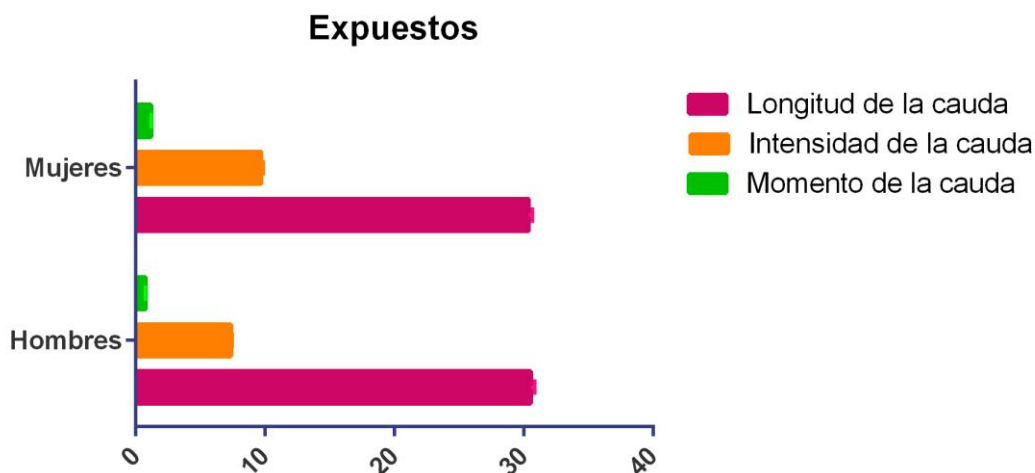
Se realizó una comparación entre las subpoblaciones masculina y femenina del grupo expuesto, en la cual se encontró una diferencia significativa de daño al DNA en los criterios de intensidad y momento de la cauda (Tabla 4.1). En la Fig. 4 se puede apreciar que es en el grupo de las mujeres donde hay valores más elevados de daño.

**Tabla 4.1.** Medias de la población expuesta de acuerdo al género.

Población expuesta	Edad ( $\bar{x}$ años)	Tiempo de exposición (años)	Longitud de la cauda ( $\mu\text{m}$ )* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )	Intensidad de la cauda (%)* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )	Momento de la cauda* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )
<b>Mujeres (21)</b>	40.05	9.48	30.35 $\pm$ 0.33	9.68 $\pm$ 0.20 <sup>(+)</sup>	1.16 $\pm$ 0.03 <sup>(+)</sup>
<b>Hombres (25)</b>	42.40	23.44	30.53 $\pm$ 0.28	7.35 $\pm$ 0.23 <sup>(+)</sup>	0.74 $\pm$ 0.03 <sup>(+)</sup>

\*n= 300 núcleos analizados

<sup>(+)</sup> Diferencia significativa  $p < 0.01$



**Figura 4.** Comparación entre hombres y mujeres de la población expuesta.

## Población testigo

Compuesta por 22 mujeres y 8 hombres, tiene un promedio de edad de 39.23 años y residencia en la localidad de Sahuayo de Morelos (Tabla 5). La longitud, el momento y la intensidad de la cauda fueron obtenidos por análisis de imagen de los núcleos con el "Comet Assay IV".

**Tabla 5.** Datos individuales de la población testigo.

Individuo	Sexo	Edad (años)	Longitud de la cauda ( $\mu\text{m}$ )*	Intensidad de la cauda (%)*	Momento de la cauda*
1	F	49.00	23.30	4.53	0.39
2	F	44.00	27.88	4.19	0.40
3	F	45.00	28.49	4.54	0.40
4	F	49.00	27.85	9.11	0.82
5	F	31.00	24.65	7.36	0.64
6	F	34.00	28.62	6.20	0.53
7	F	36.00	29.52	10.37	0.94
8	F	39.00	29.32	7.84	0.72
9	F	31.00	28.50	6.44	0.65
10	F	39.00	23.25	5.14	0.41
11	F	37.00	26.32	3.52	0.33
12	F	36.00	20.48	3.28	0.28
13	F	20.00	28.85	6.36	0.58
14	F	22.00	18.39	4.10	0.29
15	F	53.00	20.90	7.73	0.63
16	F	53.00	27.58	8.05	0.72
17	F	58.00	22.62	5.63	0.46
18	F	54.00	27.98	5.01	0.49
19	F	48.00	21.76	3.81	0.31
20	F	34.00	23.42	20.37	1.76
21	F	35.00	19.34	6.19	0.62
22	F	29.00	22.43	7.67	0.98
23	M	40.00	24.54	5.68	0.50
24	M	30.00	21.65	5.25	0.48
25	M	67.00	27.19	14.29	1.64

Individuo	Sexo	Edad (años)	Longitud de la cauda ( $\mu\text{m}$ )*	Intensidad de la cauda (%)*	Momento de la cauda*
26	M	30.00	22.14	7.27	0.92
27	M	32.00	38.01	16.04	1.88
28	M	38.00	28.06	14.17	2.11
29	M	33.00	26.10	8.51	1.18
30	M	31.00	25.98	12.04	1.57
<b>( <math>\bar{x} \pm \text{E.E}</math> )</b>		39.23	25.50 $\pm$ 0.23	7.69 $\pm$ 0.23	0.79 $\pm$ 0.03

\*n= 300 núcleos analizados

En el caso de los testigos no se realizó una comparación estadística entre las subpoblaciones de hombres y mujeres, debido a que el número de hombres de la muestra no es estadísticamente representativo.

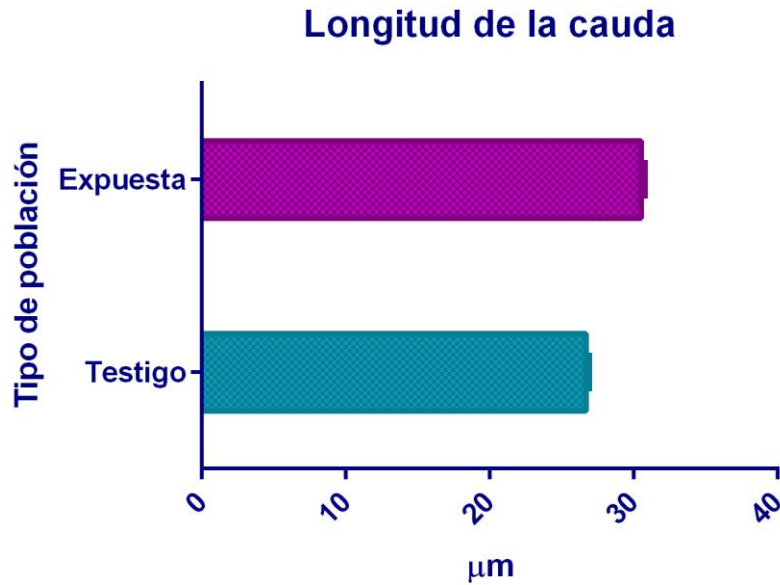
Se compararon la longitud, intensidad y momento de la cauda de las poblaciones testigo y expuesta (Tabla 6) y se encontró una diferencia significativa en el parámetro de la longitud, siendo la población expuesta la que presenta un mayor nivel de daño (Fig. 5).

**Tabla 6.** Comparación de las medias de ambas poblaciones

Población	Edad (años) $\bar{x}$	Longitud de la cauda ( $\mu\text{m}$ )* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )	Intensidad de la cauda (%)* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )	Momento de la cauda* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )
<b>Testigo (30)</b>	39.23	25.50 $\pm$ 0.23 (*)	7.69 $\pm$ 0.23	0.79 $\pm$ 0.03
<b>Expuesta (46)</b>	41.33	30.45 $\pm$ 0.32 (*)	8.41 $\pm$ 0.17	0.93 $\pm$ 0.03

\*n= 300 núcleos analizados

(\*) Diferencias significativas entre las poblaciones testigo y expuesta obtenida por la prueba de *t* de Student  $p < 0.001$ .



**Figura 5.** Longitud de la cauda de las poblaciones testigo y expuesta.

Debido a las diferencias significativas que se encontraron entre las subpoblaciones del grupo expuesto se realizó una comparación entre las mujeres expuestas y testigo; en ella se encontró una diferencia en dos de los criterios evaluados (Tabla 7), siendo las expuestas las que presentan valores más elevados en la longitud y momento de la cauda (Figs. 8 y 9).

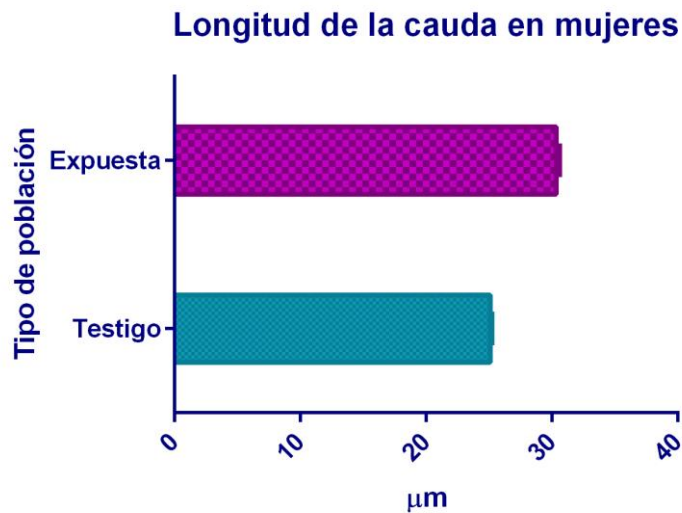
**Tabla 7.** Medias de las poblaciones de mujeres.

Población de Mujeres	Edad ( $\bar{x}$ años)	Longitud de la cauda ( $\mu\text{m}$ )* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )	Intensidad de la cauda (%)* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )	Momento de la cauda* ( $\bar{x} \pm \text{E.E}$ )
<b>Expuesto (21)</b>	40.05	30.35 ± 0.33 (*)	9.68 ± 0.20	1.16 ± 0.03 (*)
<b>Testigo (22)</b>	39.82	25.07 ± 0.20 (*)	6.70 ± 0.20	0.61 ± 0.02 (*)

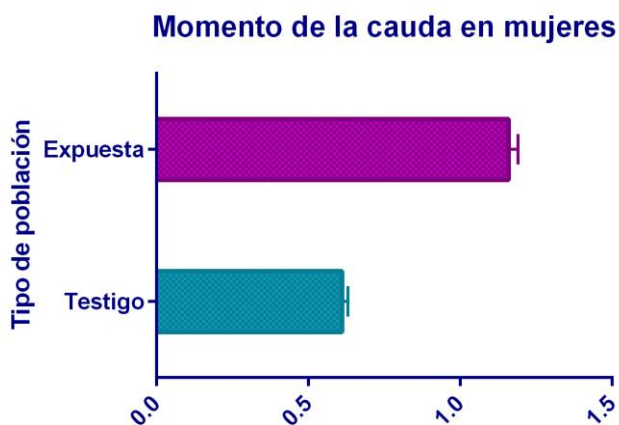
\*n= 300 núcleos analizados

(\*) Diferencias significativas entre las poblaciones femeninas de los grupos expuesto y testigo obtenidas por la prueba de *t* de Student con una  $p < 0.001$ .





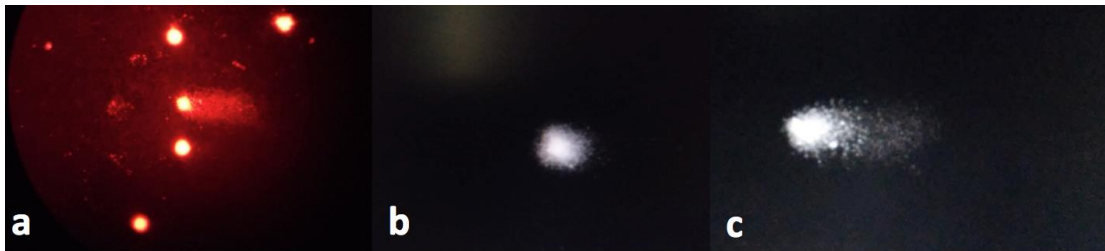
**Figura 8.** Longitud de la cauda de las poblaciones de mujeres.



**Figura 9.** Momento de la cauda de ambas poblaciones de mujeres.

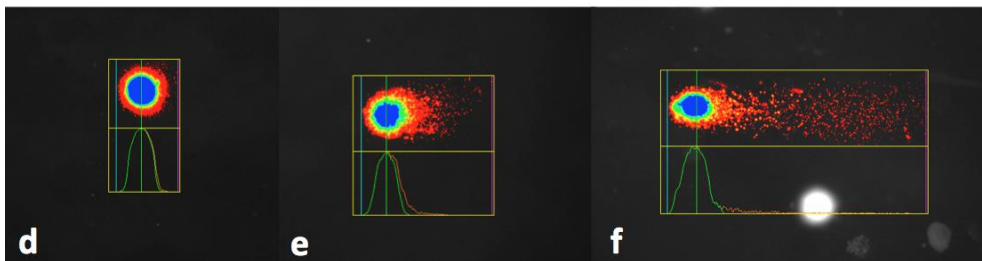
El análisis comparativo entre los hombres de los grupos testigo y expuesto no se realizó debido a que el tamaño de la población no es representativo.

Del análisis de las laminillas en el microscopio se obtuvo la figura 13, en ella se pueden apreciar varios núcleos celulares. La imagen **a** muestra 4 núcleos intactos y otro con daño observados en el microscopio de fluorescencia a 400x, en la imagen **b** se presenta un núcleo íntegro y en la **c** otro dañado, ambos tomados en el monitor de la computadora previos al análisis de imagen.



**Figura 13.** Núcleos celulares.

La revisión de las preparaciones con el “Comet assay IV” se representa en la Fig. 14; en ella se puede apreciar de color azul el material genético sin daño y de rojo y naranja los fragmentos de DNA así como la migración de los mismos. La imagen **d** muestra un núcleo intacto, las imágenes **e** y **f** presentan diferentes niveles de daño al DNA.



**Figura 14.** Núcleos analizados con el “Comet assay IV”.

## 8. DISCUSIÓN

Las poblaciones humanas están en constante aumento así como su demanda por los alimentos, por ello los pesticidas son ampliamente utilizados alrededor del mundo para elevar su producción y el control de vectores de enfermedades. Recientemente su uso ha incrementado de manera drástica; estas sustancias por desgracia son liberadas al ambiente donde muchas de ellas afectan organismos que no son su objetivo, lo que resulta en un riesgo potencial a la salud humana. Algunos de los numerosos efectos negativos de los plaguicidas en la salud humana pueden ser dermatológicos, gastrointestinales, neurológicos, carcinogénicos, respiratorios, reproductivos y endócrinos (Gómez-Arroyo *et al.*, 2011; Kaur *et al.*, 2011; Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016).

Se sabe que en exposiciones ocupacionales, accidentales o intencionales las consecuencias han resultado en hospitalizaciones o muerte. La de tipo laboral puede ocurrir de varias maneras, ya sea en la formulación, elaboración o aplicación de los mismos; pero también existe el contacto con el ambiente, que se presenta en las regiones cercanas a los campos de cultivo o colindantes a las fábricas (Gómez-Arroyo *et al.*, 2011; Nicolopoulou-Stamati *et al.*, 2016).

En la República Mexicana se utilizan el 60% de los 22 plaguicidas que están clasificados como perjudiciales a la salud y el ambiente; de los cuales el 42% se fabrica en nuestro país y se emplean 30 de los 90 pesticidas que se han prohibido o restringido en EUA (INEGI, 1998). Además de los que se importan, hay plantas productoras en México que se encuentran en Coahuila, Chihuahua, Guanajuato, Veracruz, Estado de México, Querétaro y Tlaxcala (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007).

Actualmente los cultivos a los que se aplica el mayor volumen de estos productos son maíz, algodón, chile, jitomate, frijol, trigo, aguacate, café y tabaco (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007). De éstos, los que abundan en la Ciénega de Chapala son maíz (el más importante ya que es de poco más de 5000 ha en promedio al año), jitomate, cebolla, frijol, y trigo; lo que implica un gran uso de plaguicidas en la región (Sandoval-Moreno y Ochoa-Ocaña, 2010).

Con base en los resultados positivos obtenidos en varios estudios poblacionales de riesgo ocupacional por exposición a plaguicidas (Lebally *et al.*, 1998 a, b; Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2000, 2001, 2002; Ündegör y Başaran, 2002; Ramírez y Cuenca, 2002; Grover *et al.*, 2003; Paz-y-Miño *et al.*, 2004; Azcarrunz *et al.*, 2006; Castillo-Cadena *et al.*, 2006; DaSilva *et al.*, 2008; Remor *et al.*, 2009; Rohr *et al.*, 2011) se utilizó el ensayo cometa como biomarcador en la población agrícola de Cojumatlán de Régules perteneciente a la región de la Ciénega de Chapala en el estado de Michoacán.

De acuerdo con la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (World Health Organization, WHO) la mayoría de los pesticidas que se utilizan en la región son moderadamente peligrosos (Tabla 2), lo que representa un riesgo para la salud. Muchas de estas sustancias fueron clasificadas como prohibidas/restringidas desde hace más de 20 años en el Diario Oficial de la Federación (INE, 2016).

La mayoría de las exposiciones ocupacionales y ambientales corresponden a mezclas de 2 o más tipos de plaguicidas, por lo que la evaluación de estos compuestos de manera individual no se puede extrapolar a los seres humanos. Por ello, las evaluaciones genotóxicas en poblaciones humanas son una herramienta útil para estimar el riesgo de contacto con ellos de manera ocupacional (Kaur *et al.*, 2011).

Debido a los peligros a los que está expuesta la población agrícola de la región se evaluaron los niveles de daño que podrían presentarse por el contacto con pesticidas. Para ello se reunió una población expuesta compuesta por 46 personas y una testigo que se integró por 30 individuos que no tuvieran relación directa con estos productos.

Al analizar los parámetros de longitud, intensidad y momento de la cauda se encontraron diferencias significativas en la longitud ( $p < 0.001$ ), siendo la población expuesta la de valores más elevados. Estos datos coinciden con los publicados por Garaj-Vrhovac y Zeljezic (2000, 2001, 2002) y Paz-y-Miño *et al.* (2004), entre otros; en donde la longitud de la cauda es el parámetro que resulta significativamente diferente; lo que se puede explicar con la presencia de un gran número de rupturas en el DNA de la célula y que de acuerdo con Fairbairn *et al.* (1995) se determina por

el número y el tamaño de las rupturas presentes en el DNA y la distancia que migren durante el ensayo; esta aumenta proporcionalmente con el nivel de daño, pero tiene un punto límite de migración determinado por las condiciones de la electroforesis. Esto significa que la población ocupacionalmente expuesta, está presentando un daño en DNA más elevado que la población que no tiene interacción con los pesticidas. De acuerdo con los trabajos de Garaj-Vhrovac y Zeljezic (2000) y Lebally *et al.* (1998a, b), independientemente de que los trabajadores lleven tiempo fuera de campo (en el caso de estos estudios el tiempo es de 6-8 meses) el daño al DNA persiste, si bien disminuye significativamente después de pasar tiempo alejado de estas sustancias, se mantiene un daño basal que sigue siendo mayor que el que presenta una población testigo.

Con base en las conversaciones que se mantuvieron durante la aplicación los cuestionarios, así como las pláticas que se tuvieron con varios agricultores y expendedores de pesticidas de la localidad de Cojumatlán de Régules, se pudo notar que algunos de los factores que se relacionan de manera directa con la inminente exposición, así como el consumo de plaguicidas restringidos o prohibidos, que son: el escaso nivel escolar de la población, el desinterés por su salud y el bajo nivel socioeconómico. De manera puntual se pueden encontrar personas que tengan interés en disminuir los riesgos y la exposición de la comunidad, pero la falta de recursos así como la carencia de sanciones, no permiten el progreso de estas iniciativas. Si a esto se suma la carente disposición de los trabajadores en tomar las medidas adecuadas para prevenir una mayor exposición (utilizar mascarilla, zapato cerrado, sombrero, guantes, pantalón, camisa de manga larga, además de lavarse las manos o bañarse después de asperjar), el riesgo que corren aumenta. A este respecto, de acuerdo con Muñoz Aristizábal (2009) en un análisis entre una población de floricultores y otra de agricultores, estos últimos presentan mayor daño en DNA debido a su negativa de utilizar protección, lo que se aprecia en los niveles más bajos de daño por parte de los floricultores que toman algunas medidas de protección.

En varios estudios de biomonitorio se ha considerado que el sexo puede ser un factor relevante para las técnicas de biomonitorio para exposición a plaguicidas,

lo cual sustentan Bonassi *et al.* desde 1995 y ha sido retomado por Møller (2000, 2006) en algunos trabajos. Esto presenta a las mujeres como un grupo potencialmente susceptible a daño genotóxico por diversas sustancias en comparación con los hombres (Bonassi *et al.*, 1995; Fenech y Bonassi, 2011; Arellano *et al.*, 2012).

Por lo anterior se realizaron dos comparaciones, la primera entre sexos en la población expuesta, dando como resultado una diferencia significativa ( $p < 0.01$ ), en la cual las mujeres presentan mayor nivel de daño en la intensidad y momento de la cauda (Fig. 4); esto coincide con el trabajo de Zeljezic y Graraj-Vrhovac (2001) donde las mujeres presentaron un mayor daño comparado con la población masculina.

La segunda comparación que se realizó entre las dos poblaciones de mujeres (testigo y expuesta), evaluó si había alguna diferencia significativa entre ellas; lo que mostró resultados positivos ( $p < 0.001$ ). El grupo expuesto presentó valores más altos en el momento y la longitud de la cauda que el testigo (Figs. 8 y 9), lo que sugiere de un gran número de rompimientos y fragmentos pequeños de DNA.

Las mujeres han mostrado en algunos estudios, sobre todo en el ensayo de micronúcleos, una mayor sensibilidad debido a las fragmentaciones que sufre el cromosoma X. Fenech y Bonassi (2011) han explicado este fenómeno por la inestabilidad de los cromosomas X, así como el que las mujeres posean el doble de este material que los hombres. De acuerdo con su trabajo realizado, el cromosoma X sufre más frecuentemente rupturas en comparación con los demás cromosomas somáticos, e incluso más que el cromosoma Y, lo que podría considerarse tanto como una ventaja de sensibilidad o un inconveniente como lo menciona Møller (2000), debido a que podría ser una variante no regulable en las evaluaciones citogenéticas. Teniendo en cuenta que el principio del ensayo cometa es la evaluación de rupturas de cadena del DNA como base del daño genotóxico, se puede tomar como una relación de causa directa de aumento en los valores de daño en el ensayo.

Los resultados positivos que se obtuvieron comprueban que los plaguicidas son causantes de daño genotóxico, lo que resulta preocupante debido a que la

mayor parte de la población del municipio de Cojumatlán se dedica a actividades laborales que involucran a estos compuestos como son: jornaleros, agricultores, vendedores de plaguicidas y los cosechadores de los cultivos. Es por ello que este tipo de estudios de biomonitorio son tan relevantes, ya que se sabe que el territorio del país dedicado a la agricultura es amplio y que esta actividad es indispensable para la economía.

## 9. CONCLUSIONES

- El nivel de daño al DNA en la población expuesta es mayor que en la testigo.
- El uso de los plaguicidas por parte de los agricultores de la región de Cojumatlán se correlaciona con daño al DNA.
- El nivel de daño presente en los individuos de la población expuesta es mayor en mujeres que en hombres.
- Las mujeres del grupo expuesto poseen altos niveles de daño en el material genético en comparación con el grupo testigo
- El bajo nivel escolar, la falta de información y de recursos económicos pueden ser los causantes de la exposición laboral sin protección a los plaguicidas.
- No hay programas funcionales para manejo adecuado y el desecho de los recipientes de los plaguicidas.



## 10. REFERENCIAS

- Aiassa D, Mañas F, Bosch B, Gentile N, Bernanrdi N y Gorla N. (2012) **Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas.** Acta Biol Colomb 17:485-510
- Albert LA. (2005) **Panorama de los plaguicidas en México.** RETEL (Revista de Toxicología en línea) (15/05/2016) Disponible en:  
<http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=124>
- AMIFAC. (2012) Asociación Mexicana de la industria Fitosanitaria, A. C. (28/06/2013) Disponible en:  
<http://www.amifac.org.mx/medio-ambiente.html>.
- Arencibia Arrebola DF y Rosario Fernández LA. (2003) **Actualización sobre el ensayo cometa y de micronúcleos *in vitro*.** RETEL (Revista de Toxicología en línea) (23/06/2016) En:  
<http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=665>
- Arellano ME, Camarena L, Von-Glascoe CA, Ruiz B, Zúñiga E y Montaña T. (2012) **Daño genotóxico en mujeres y hombres expuestos a plaguicidas en cuatro localidades de Baja California.** Género, ambiente y contaminación por sustancias químicas. SEMARNAT. pp. 95-113
- Ascarrunz ME, Tirado N, González AR, Cuti M, Cervantes R, Huichi O y Jors E. (2006) **Evaluación de riesgo genotóxico: biomonitorización de trabajadores agrícolas de Caranavi, Guanay, Palca y Mecapaca, expuestos a plaguicidas.** Cuadernos Hosp Clin. 51:1-15
- Bernstein C, Prasad AR, Nfonam V y Bernstein H. (2013) **DNA Damage, DNA Repair and Cancer.** New Research Directions in DNA Repair. Ed. Prof. Clark Chen, InTech. (10/07/2016) Disponible en:  
<http://www.intechopen.com/books/new-research-directions-in-dna-repair/dna-damage-dna-repair-and-cancer>
- Bolognesi C. (2003) **Genotoxicity of pesticides: a review of human**

**biomonitoring studies.** Mutat Res. 543: 251-272

Bonassi S, Bolognesi C, Abbondandolo A, Barale R, Bigatti P, Camurri L, Dalpra L, De Ferrari M, Forni A, Lando C, Padovani P, Pasquini R, Stella M y Puntoni R. (1995) **Influence of sex on cytogenetic end points: evidence from a large human simple and review of the literature.** Cancer Epidemiol Biomarkers Prev. 4:671-679

Bradberry SM, Cage SA, Proudfoot AT y Vale JA. (2005) **Poisoning due to pyrethroids.** Toxicol Rev. 24:93-106

Burlison B, Tice RR, Speit G, Agurell E, Brendler-Schwaab SY, Collins AR, Escobar P, Honma M, Kumaravel TS, Nakajima M, Sasaki YF, Thybaud V, Uno Y, Vasquez M y Hartmann A. (2007) **Fourth international work group on genotoxicity testing: Results of the *in vivo* comet assay work group.** Mutat Res. 627:31-35

Caba M, Meza E, Waliszewski SM y Martínez- Valenzuela C. (2015) **Inverse correlation among organochlorine pesticide levels to total lipid serum contents: a preliminary study in Veracruz, México.** Environ Monit Asses. 187:467

Calderón-Segura ME, Gómez-Arroyo S, Villalobos-Pietrini R, Martínez-Valenzuela C, Carbajal-López Y, Calderón-Esquerro MC, Cortés-Eslava J, García-Martínez R, Flores-Rámirez D, Rodríguez-Romero MI, Méndez-Pérez P y Bañuelos-Ruíz E. (2012) **Evaluation of genotoxic and citotoxic effects in human peropheral blood lymphocytes exposed *in vitro* to neonicotinoid insecticides new.** J Toxicol. 11 pp. Disponible en:

<http://dx.doi.org/10.1155/2012/612647>

Calva LG y Torres M R. (1998) **Plaguicidas organoclorados.** Contacto S. 30:35-46

Castillo-Cadena J, Tenorio-Vieyra LE, Quintana-Carabia AI, García-Fabila MM, Ramírez-San Juan E y Madrigal-Bujaidar E. (2006) **Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides.** J Biomed Biotechnol. 2:1-12

- Cha YS, Kim H, Cho NH, Jung WJ, Kim YW, Kim TH, Kim OH, Cha KC, Lee KH, Hwang SO y Nelson LS. (2014) **Pyrethroid poisoning: features and predictors of atypical presentations**. Emerg Med J. 31:899-903
- Chávez-Almazán LA, Diaz-Ortiz J, Alarcón-Romero M, Dávila-Vazquez G, Saldarriaga-Noreña S y Waliszewski SM. (2014) **Organochlorine pesticide levels in breast milk in Guerrero, México**. Bull Environ Contam Tox. 93:294-298
- Costa C, Teixeira J, Silva S, Roma-Torres J, Coelho P, Gaspar J, Alves M, Laffon B, Rueff J y Mayan O. (2006) **Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides**. Mutagenesis. 21:343-350
- DaSilva J, Moraes CR, Heuser VD, Andrade VM, Silva FR, Kvitko K, Emmel V, Rohr P, Bordin DL, Andrezza AC, Salvador M, Henriques JA y Erdtmann B. (2008) **Evaluation of genetic damage in a Brazilian population occupationally exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes**. Mutagenesis. 23:415-422
- Dhouib I, Jallouli J, Annabi A, Marzouki S, Gharbi N, Elfazaa S y Lasram MM. (2016) **From immunotoxicity to carcinogenicity: the effects of carbamate pesticides on the immune system**. Environ Sci Pollut Res. 23:9448-9458
- Díaz-Barriga F, Borja-Aburto V, Waliszewski S y Yáñez L. (2002) **DDT in México. Persistent organic pollutants**. Ed. Springer Science & Business Media. Edit. Fiedler H, pp. 371-378
- Duez P, Dehon G, Kumps A y Dubois J. (2003) **Statistics of the comet assay: a key to discriminate between genotoxic effects**. Mutagenesis. 18:159-166
- EPA. **Pyrethrins and pyrethroids**. (8/07/2016) Disponible en:  
<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/pyrethrins-and-pyrethroids>
- EPA. **Chemicals evaluated for carcinogenic potential by the office of pesticide programs**. (2006) (10/08/2015) Disponible en:  
<http://www.fluoridealert.org/wpcontent/pesticides/pesticides.cancer.potential.2006.pdf>
- Fairbairn DW, Olive PL, O'Neill KL. (1995) **The Comet assay: a comprehensive**

- review.** Mutat Res. 339: 37-59
- FAO. (2013) **Uso de plaguicidas en América Latinay El Caribe (2010).** The Statistics Division of the FAO. United Nations Food and Agriculture Organization. (17/03/2016) Tomado de:  
<http://faostat.fao.org.site/339/default.aspx>
- Fenech M y Bonassi S. (2011) **The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleous frequency in human peripheral blood lymphocytes.** Mutagenesis. 26:43-49
- Forde M, Robertson L, Laouan Sidi E A, Côté S, Gaudreau E, Descher O y Ayotte P. (2015) **Evaluation of exposure to organophosphate, carbamate, phenoxy acid, and chlorophenol pesticides in pregnant women from 10 Caribbean countries.** Environ Sci Proc Imp. 17:1661-1671
- Garaj-Vrhovac V y Zeljezic D. (2000) **Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay. Pesticide genotoxicity revealed by comet assay.** Mutat Res. 469:279-285
- Garaj-Vrhovac V y Zeljezic D. (2001) **Cytogenetic monitoring of croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides.** Toxicology. 165:153-162
- Garaj-Vrhovac V y Zeljezic D. (2002) **Assessment of genome damage in a population of croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleous assay and comet assay.** J Appl Toxicol. 22:249-255
- Garey J y Wolff MS. (1998) **Estrogenic and antiprogestagenic activities of pyrethroid insecticides.** Biochem Biophys Res Commun. 251:855-859
- Gómez-Arroyo S, Martínez-Valenzuela C, Villalobos-Pietrini R y Waliszewski S. (2011) **Pesticides: genotoxic risk of occupational exposure.** Pesticides - The Impacts of Pesticides Exposure. Ed. InTech. pp. 303-340
- Gómez-Arroyo S, Martínez-Valenzuela C, Carbajal-López Y, Martínez-Arroyo A, Calderón-Segura ME, Villalobos-Pietrini R y Waliszewski S. (2013) **Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América**

- Latina.** Rev Int Contam Ambient. 29 (Número especial): 159-180
- Grover P, Danadevi K, Mahboob M, Rozati R, Banu BS y Rahman MF. (2003) **Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the comet assay.** Mutagenesis. 18:201-205
- Herrero-Mercado M, Waliszewski SM, Valencia-Quintana R, Caba M, Hernández-Chalate F, García-Aguilar E y Villalba R. (2010) **Organochlorine pesticide levels in adipose tissue of pregnant women in Veracruz, México.** Bull Environ Contam Toxicol. 84:652-656
- IARC. **Monographs of the evaluation of carcinogenic risks to humans.** (25/02/2016) Disponible en PDF en:  
<http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>
- INE. Instituto Nacional de Ecología. **Lo que debe usted saber sobre la gestión de los plaguicidas. Vol. 4.** (6/09/2016) Disponible en:  
<http://www2.inecc.gob.mx/publicaciones/folletos/97/97.html>
- INE. Instituto Nacional de Ecología. **Sistema de consultas de investigadores en plaguicidas.** (6/09/2016)  
Lista de plaguicidas restringidos en México:  
<http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/lrestring.html>  
Lista de plaguicidas prohibidos en México:  
<http://www2.inecc.gob.mx/sistemas/plaguicidas/lprohibi.html>
- INEGI. (1998). **Informe 1997. Estadística del medio ambiente.** Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, México.
- a) INEGI. (2009) **Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Cojumatlán de Régules, Michoacán de Ocampo.** Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, México. (11/11/2015) Disponible en:  
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/16/16074.pdf>
- b) INEGI. (2009) **Estadísticas de Michoacán de Ocampo, Sahuayo.** (28/10/2015) Disponible en:  
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/Movil/MexicoCifras/mexicoCifras.aspx?e>

m=16076&i=e&tema=est

- c) INEGI. (2009) **Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos. Sahuayo, Michoacán de Ocampo.** (25/10/2015) Disponible en:  
<http://www3.inegi.org.mx/sistemas/mexicocifras/datos-geograficos/16/16076.pdf>
- Iyer R, Iken B y Leon A. (2015) **Developments in alternative treatments for organophosphate poisoning.** *Tox Lett.* 233:200-206
- Iyyadurai R, Peter JV, Immanuel S, Begum A, Zachariah A, Jasmine S y Abhilash KPP. (2014) **Organophosphate-pyrethroid combination pesticides may be associated with increased toxicity in human poisoning compared to either pesticide alone.** *Clin Tox.* 52:538-541
- Jokanović M y Kosanović M. (2010) **Neurotoxic effects in patients poisoned with organophosphorus pesticides.** *Environ Tox Pharma.* 29:195-201
- Jurewicz J, Radwan M, Wielgomas B, Sobala W, Piskunowicz M, Radwan P, Bochenek M y Hanke W. (2014) **The effect of environmental exposure to pyrethroids and DNA damage in human sperm.** *Syst Biol Reprod Med.* 61:37-43
- Karabay NU y Oguz MG. (2005) **Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos.** *Genet Mol Res.* 4:653-662
- Kaur R, Kaur S y Lata M. (2011) **Evaluation of DNA damage in agricultural workers exposed to pesticides using single cell gel electrophoresis (comet) assay.** *Indian J Hum Genet.* 17:179-187
- Kassie K, Paszefall W y Knasmüller S. (2000) **Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies.** *Mutat Res.* 463:13-31
- a) Lebally P, Vigreux C, Lechevrel C, Ledemeney D, Godard T, Sichel F, LeTalaër JY, Henry-Amar M y Gauduchon P. (1998) **DNA damage in mononuclear leukocytes of farmers measured using the alkaline comet assay: discussion of critical parameters and evaluation of seasonal variations**

- in relation to pesticide exposure.** Cancer Epidemiol Biomark Prevent. 7:917-927
- b) Lebally P, Vigreux C, Lechevrel C, Ledemeney D, Godard T, Sichel F, LeTalaër JY, Henry-Amar M y Gauduchon P. (1998) **DNA damage in mononuclear leukocytes of farmers measured using the alkaline comet assay: modifications of DNA damage levels after a one-day field spraying period with selected pesticides.** Cancer Epidemiol Biomark Prevent. 7:929-940
- Lebally P, Devaux A, Pottier D, DeMeo M, Andre V, Baldi I, Severin F, Bernaud J, Durand B, Henry-Amar M y Gauduchon P. (2003) **Urine mutagenicity and lymphocyte DNA damage in fruit growers occupationally exposed to the fungicide captan.** Occup Environ Med. 60:910-917
- Lee I, Eriksson P, Frediksson A, Buratovic S y Viberg H. (2015) **Developmental neurotoxic effects of two pesticides: behavior and neuroprotein studies on endosulfan and cypermethrin.** Toxicology. 355:1-10
- Martínez-Valenzuela C y Gómez-Arroyo S. (2007) **Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas.** Rev Int Contam Ambient. 23:185-200
- Møller P, Knudsen LE, Loft S y Wallin H. (2000) **The comet assay as a rapid test in biomonitoring occupational exposure to DNA-damaging agents and effect of confounding factors.** Cancer Epidemiol Biomark Prev. 9:1005-1015
- Møller P. (2006) **The alkaline Comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures.** Basic Clin Pharmacol Toxicol. 98: 336-345
- Muñoz Aristizábal FA. (2009) **Evaluación del daño en el ADN en dos poblaciones colombianas de agricultores y floricultores.** Actualidad y Divulgación Científica. 12:7-16
- Nicolopoulou-Stamati P, Maipas S, Kotampasi C, Stamatis P y Hens L. (2016) **Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture.** Front Public Health. 4:148
- NIH. (2015) **National Institute of Environmental Health Sciences.** (12/09/2016)  
Disponible en: <http://www.niehs.nih.gov/health/topics/agents/pesticides/>

- Paz-y-Miño C, Arévalo M, Sanchez ME y Leone PE. (2004) **Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP 1A1 gene in Ecuador.** Mutat Res. 562:77-89
- Piperakis SM, Petrakou E, Tsilimigaki S, Sagnou M, Monogiudis E, Haniotakis G, Karkaseli H y Sarikaki E. (2003) **Biomonitoring with the comet assay of Greek greenhouse workers exposed to pesticides.** Environ Mol Mutagen. 41:104-110
- Piperakis SM, Kontogianni K, Piperakis MM, Marcos R y Tsilimigaki S. (2006) **Effects of pesticides on occupationally exposed humans.** Sci World J. 6:1211-1220
- PMDS. **Plan Municipal de Desarrollo. Sahuayo de Morelos 2012-2015.** 97 pp.  
Disponible en:  
[http://www.sahuayomich.gob.mx/transparencia/documentos/2015/10-1/atribuciones/plan\\_mpal\\_2012o.pdf](http://www.sahuayomich.gob.mx/transparencia/documentos/2015/10-1/atribuciones/plan_mpal_2012o.pdf)
- Ramírez V y Cuenca P. (2002) **Daño del ADN en trabajadoras bananeras expuestas a plaguicidas en Limón, Costa Rica.** Rev Biol Trop. 50:507-518
- Ratelle M, Côté J y Bouchard M. (2015) **Toxicokinetics of permethrin biomarkers of exposure in orally exposed volunteers.** Tox Lett. 232:369-375
- Reigart JR y Roberts JR. (1999) **Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas.** J. R. 5ª ed. 1999. (4/07/2015) Disponible en:  
<http://www.epa.gov/oppfead1/safety/healthcare/handbook/handbook.htm>
- Remor AP, Totti CC, Moreira DA, Dutra GP, Heuser VD y Boeira JM. (2009) **Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity.** Environ Int. 35:273-278
- Repetto JM y Repetto KG. (2009) **Toxicología fundamental.** Ed. Díaz de Santos. 4ª ed. pp. 147-157
- Rohr P, DaSilva J, Erdtmann B, Saffi J, Guecheva TN, Heriques JA, y Kvitko K. (2011) **BER gene polymorphisms (OGG1 Ser326Cys and XRCC1 Arg**



- 194Trp) and modulation of DNA damage due to pesticides exposure.**  
Environ Mol Mutagen. 52: 20-27
- Sandoval-Moreno A y Ochoa-Ocaña MA. (2010) **Grupos locales, acceso al agua y su problemática de contaminación en la Ciénega de Chapala, Michoacán.** Ec Soc Terr. 34:683-719.
- SS. Secretaria de Salud del Estado de Veracruz. (2014) **Guía de diagnóstico y tratamiento de intoxicación por insecticidas organofosforados y carbamatos.** (19/02/2016) Disponible en:  
<http://web.ssaver.gob.mx/citver/files/2014/11/Intoxicación-por-organofosforados-y-carbamatos.pdf>
- Singh NP, McCoy MT, Tice RR y Schneider EL. (1988) **A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.** Exp Cell Res. 175:184-191
- Stringer R y Johnston P. (2001) **Chlorine and the environment. An overview of the chlorine industry.** Ed. Springer Science & Business Media. pp. 239-275
- Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC y Sasaki YF. (2000) **Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing.** Environ Mol Mutagen. 35:206-221
- Torres LM. (2002) **Tratado de cuidados críticos y emergencias. Tomo II.** Ed. Arán ediciones S.L. pp. 1520-1522
- Ündegër U y Bařaran N. (2002) **Assessment of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticide mistures by the alkaline comet assay.** Arch Toxicol. 76:430-436
- US EPA. United States. Enviromental Protection Agency. (28/01/2015) Disponible en: <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm#type>
- US EPA. **United States. Enviromental Protection Agency.** (29/01/2015) Disponible en:  
<https://www.epa.gov/ingredients-used-pesticide-products/basic-information-about-pesticide-ingredients>

- Valverde M y Rojas E. (2009) **Environmental and occupational biomonitoring using the comet assay.** Mutat Res. 681:93-109
- Waliszewski SM, Aguirre AA, Infanzón RM y Siliceo J. (2000) **Carry-over of persistent organochlorine pesticides through placenta to fetus.** Salud Pública de México. 42:384-390
- Waliszewski SM, Aguirre AA, Infanzón RM, Silva CS y Siliceo J. (2001) **Organochlorine pesticide levels in maternal adipose tissue, maternal blood serum, umbilical blood serum, and milk from inhabitants of Veracruz, México.** Arch Environ Contam Toxicol. 40:432-438
- Waliszewski SM, Gómez-Arroyo S, Carvajal O, Villalobos-Pietrini R y Infanzón RM. (2004) **Uso del ácido sulfúrico en las determinaciones de plaguicidas organoclorados.** Rev Int Contam Ambient. 20:185-192
- WHO. World Health Organization. **The WHO recommended classification os pesticides by hazard and guidelines to classification 2009.** (24/03/2016)  
Disponible en:  
[http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides\\_hazard\\_2009.pdf](http://www.who.int/ipcs/publications/pesticides_hazard_2009.pdf)
- WHO. World Health Organization. (2015) **Pesticides.** (15/03/2015) Disponible en:  
<http://www.who.int/topics/pesticides/en/>
- Zeljezic D y Garaj-Vrhovac V. (2001) **Chromosomal aberration and single cell gel electrophoresis (comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides.** Mutagenesis. 16:359-363

## 11. ANEXOS

### ANEXO I

#### Soluciones para Ensayo Cometa en Sangre Periférica

##### Agarosa de punto de fusión normal

###### (NMPA) (1%)

NMPA..... 0.25 g

Agua des ionizada.....25 mL

##### Agarosa de bajo punto de fusión

###### (LMPA) (0.5%)

LMPA..... 0.32 g

PBS..... 64 mL

##### NaOH 10N (500 mL)

NaOH..... 200 g

Agua desionizada..... 500 mL

##### EDTA (pH= 10) (90 mL)

EDTA..... 6.66 g

Agua desionizada..... 90 mL

##### Amortiguador de Electroforesis

###### (pH ≥13) (16 L)

NaOH (10 N)..... 480 mL

EDTA..... 80 mL

Agua desionizada..... 14 L

Medir pH≥13 y ajustar al volumen final.

##### TRIS

**(pH=7.5) (1600 mL)**

TRIS..... 77.6 g

Agua desionizada..... 1500 mL

**Solución de Lisis**

**(pH=10) (800 mL)**

**\* Al final agregar Tritón y DMSO; y aforar.**

NaCl.....116.8 g

EDTA.....29.76 g

TRIS.....0.96 g

NaOH.....6.4 g

DMSO.....80 mL

Tritón X-100.....8 mL

Agua Desionizada....700 mL

**Vol. Final.....800 mL**

## ANEXO II

### CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA INVESTIGACIÓN

Por medio de la presenta, el (la) que suscribe \_\_\_\_\_, de manera libre y sin coerción alguna, autorizo a ser sometido (a) a la toma de muestra de sangre y de células descamadas de la mucosa oral que será practicado el día \_\_\_\_ del mes \_\_\_\_\_ del año \_\_\_\_\_ a las \_\_\_\_\_ horas, para que se realice en ellas los estudios denominados:

*Ensayo de micronúcleos por bloqueo de citocinesis, ensayo de electroforesis alcalina e hibridación in situ con fluorescencia en linfocitos de sangre periférica así como ensayo de micronúcleos, ensayo de electroforesis alcalina y extracción de microRNAs en células de mucosa oral.*

De igual forma, se me informó que no tiene ningún riesgo para mi salud, ya que consiste en la toma de muestra sanguínea de 5 mL del antebrazo con materiales nuevos y estériles, también se hará la exfoliación de las células epiteliales de mis mejillas mediante una cucharilla limpia y única que será desechada a la basura en mi presencia.

Además se me ha dado la oportunidad de despejar todas mis dudas. Atendiendo al principio de confidencialidad autorizo que se publique la información que proporcione únicamente para los fines de investigación, respetándose en todo momento mi integridad y privacidad.

Designo a \_\_\_\_\_ para que él (ella) reciba la información sobre el resultado del procedimiento.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma

# CUESTIONARIO DE POBLACIÓN TESTIGO

## HISTORIA CLÍNICA Y CUESTIONARIO PARA POBLACIÓN TESTIGO

Folio: \_\_\_\_\_

**Nota:** antes de llenar el cuestionario es importante descartar enfermedades como: **cáncer, sida, hepatitis, herpes, obesidad, además de toxicomanías,** ya que son motivo de exclusión del estudio. Cualquier enfermedad sera registrada en antecedentes personales patológicos.

### FICHA DE IDENTIFICACIÓN

Nombre: \_\_\_\_\_ Sexo: M ( ) F ( )

Apellido paterno, materno y nombre (s)

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_

(día/ mes/ año) (años)

Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_

(municipio y estado)

Residencia: \_\_\_\_\_ Tiempo de residencia: \_\_\_\_\_

### ANTECEDENTES FAMILIARES

- Padre: vivo ( ) Finado ( )  
Causa de la muerte: Enf. Cardiovasculares ( ) Enf. Respiratoria ( ) Cáncer ( )  
Diabetes ( ) otra (especifique): \_\_\_\_\_  
Ocupación del padre: \_\_\_\_\_
- Madre: viva ( ) Finada ( )  
Causa de la muerte: Enf. Cardiovasculares ( ) Enf. Respiratoria ( ) Cáncer ( )  
Diabetes ( ) otra (especifique): \_\_\_\_\_  
Ocupación de la madre: \_\_\_\_\_

- Hermanos: si ( ) no ( ) Cuantos (No. \_\_\_\_\_) Sanos (No. \_\_\_\_\_)

Enfermos( _____ )	Finados ( _____ )
Cardiaca ( ) Respiratoria ( ) Neurológica ( ) Cáncer ( ) Diabetes ( )	Causas:

Con quien vive actualmente: \_\_\_\_\_  
 desde hace cuánto tiempo \_\_\_\_\_, ocupación de la(s) personas con  
 quien (es) vive \_\_\_\_\_.

**ANTECEDENTES PERSONALES**

Tabaquismo: actualmente si ( ) no ( ) en el pasado ha fumado si ( ) no ( )

Cuánto tiempo ha fumado: \_\_\_\_\_ (años o meses).

Numero de cigarrillos por día: \_\_\_\_\_.

Mastica o fuma tabaco en pipa: si ( ) no ( ) con qué frecuencia: \_\_\_\_\_.

En donde suele fumar: casa ( ) trabajo ( ) vía pública ( )

Ingesta de bebidas alcohólicas: actualmente si ( ) no ( )

En el pasado si ( ) no ( ) cuánto tiempo ha consumido bebidas alcohólicas  
 \_\_\_\_\_ (años o meses). Cuántos días de la semana consume bebidas  
 alcohólicas: \_\_\_\_\_

Qué tipo de bebidas ingiere: Cerveza( ) Vino( ) otros licores ( ) especifique: \_\_\_\_\_

**\*Toxicomanias son criterio de exclusión.**

**DIETA**

Cuántas veces a la semana consume:

Carnes (pescado, pollo, res, cerdo): \_\_\_\_\_

Verduras: \_\_\_\_\_

Frutas: \_\_\_\_\_

Cereales: \_\_\_\_\_

Realiza algún cultivo en su domicilio si ( ) no ( ); aplica algún plaguicida en el: sí ( ) no ( )

Lugar donde compra sus alimentos: mercado ( ) supermercado ( ) cultivados en casa ( )

Lugar donde consume sus alimentos: casa ( ) trabajo ( ) vía pública ( )

Se lava las manos antes de consumir alimentos: si ( ) no ( )

Se lava las manos al llegar a su domicilio: si ( ) no ( )

### **ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS**

**\*Cáncer, SIDA y Hepatitis son criterios de exclusión.**

Padece alguna enfermedad: si ( ) no ( ) cual (es)

---

Que tratamiento recibe:

---

Ha visitado al médico en los últimos tres meses: no ( ) si ( )

Ha sido hospitalizado alguna vez en su vida: no ( ) si ( )

Actualmente ingiere algún medicamento: no ( ) si ( ) cual (es)

---

Le han tomado alguna placa de rayos X (dental o de otro tipo) en los últimos tres meses: no ( ) si ( ) fecha: \_\_\_\_\_.

Ha recibido alguna transfusión de sangre: no ( ) si ( ) fecha: \_\_\_\_\_

### **ANTECEDENTES GINECOBSTETRICOS**

Cree estar embarazada actualmente: si ( ) no ( )

Ha estado embarazada: si ( ) no ( ) número: \_\_\_\_\_

Abortos no ( ) si ( ) número \_\_\_\_\_

Tiempo de gestación aproximado al momento de la pérdida: \_\_\_\_\_

Alguno de sus hijos presento al nacer:

Bajo peso: no ( ) si ( )

Malformaciones: no ( ) si ( )

Nacimiento prematuro no ( ) si ( ) meses de gestación: \_\_\_\_\_



Muerte dentro de las primeras 48 hrs de vida no ( ) si ( ) causa

\_\_\_\_\_

Tuvo o tiene dificultad para concebir: no ( ) si ( )

Conoce el motivo: \_\_\_\_\_

### **ANTECEDENTES LABORALES**

Edad a la que comenzó a trabajar: \_\_\_\_\_

Lugar de trabajo: \_\_\_\_\_

Puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Antigüedad en el puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Durante su actividad laboral tiene contacto con:

Plaguicidas ( ) solventes ( ) pinturas ( ) hidrocarburos ( ) asbestos ( )

### **NOTAS ADICIONALES.**

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**CUESTIONARIO DE POBLACIÓN EXPUESTA**  
**HISTORIA CLÍNICA Y CUESTIONARIO PARA POBLACIÓN LABORALMENTE**  
**EXPUESTA**

**Folio:** \_\_\_\_\_

**Nota:** *antes de llenar el cuestionario es importante descartar enfermedades como: **cáncer, sida, hepatitis, herpes y toxicomanías** ya que **son motivos de exclusión del ensayo**, cualquier enfermedad será registrada en antecedentes personales patológicos.*

**FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

Nombre: \_\_\_\_\_ Sexo: M ( ) F ( )

Apellido paterno, materno y nombre (s)

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
(día/mes/año) (años)

Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_  
(municipio y estado)

Residencia: \_\_\_\_\_ Tiempo de residencia: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES FAMILIARES**

- Padre: Vivo ( ) Finado ( )

Causa de la muerte: Enf. Cardiovasculares ( ) Enf. Respiratorias ( ) Cáncer ( )

Diabetes ( ) otra (especificar): \_\_\_\_\_

Ocupación del padre: \_\_\_\_\_

- Madre: Viva ( ) Finada ( )

Causa de la muerte: Enf. Cardiovasculares ( ) Enf. Respiratorias ( ) Cáncer ( )

Diabetes ( ) otra (especificar): \_\_\_\_\_

Ocupación de la madre: \_\_\_\_\_

- Hermanos: Si ( ) No ( ) Cuántos (No. \_\_\_\_\_) Sanos (No. \_\_\_\_\_)

Enfermos( _____ )	Finados ( _____ )
Cardíaca ( ) Respiratoria ( ) Neurológica ( ) Cáncer ( ) Diabetes ( )	Causas:

Con quien vive actualmente:

---

Desde hace cuánto tiempo \_\_\_\_\_

Ocupación de la(s) personas con quien(es) vive:

---

### ANTECEDENTES PERSONALES

- Tabaquismo

Fuma actualmente: Si ( ) \*No ( ) \*En el pasado ha fumado si ( ) no ( )

Durante cuánto tiempo ha fumado: \_\_\_\_\_ (años o meses).

Número de cigarrillos por día: \_\_\_\_\_

Mastica o fuma tabaco en pipa: Si ( ) No ( ) Con qué frecuencia: \_\_\_\_\_

En donde suele fumar: Casa ( ) Trabajo ( ) Vía pública ( )

- Bebidas alcohólicas

Consume bebidas alcohólicas: Si ( ) \*No ( )

\*En el pasado consumió: \*Si ( ) No ( )

\*Cuántas copas al día consumía: No. \_\_\_\_\_

\*Que tipo de bebida consumía: \_\_\_\_\_

Hace cuanto tiempo que consume bebidas alcohólicas: \_\_\_\_\_(años o meses)

Cuántos días a la semana consume bebidas alcohólicas: \_\_\_\_\_

Cuántas copas por día: No. \_\_\_\_\_

Qué tipo de bebida consume: \_\_\_\_\_

\*Las toxicomanías son criterio de exclusión

## DIETA

Cuántas veces a la semana consume:

Carnes (pescado, pollo, res, cerdo): \_\_\_\_\_

Verduras: \_\_\_\_\_ Frutas: \_\_\_\_\_

Cereales: \_\_\_\_\_

Tiene algún cultivo en su domicilio: Si ( ) No ( )

Aplica algún plaguicida Si ( ) No ( ) Cuál: \_\_\_\_\_

Lugar donde compra sus alimentos: Mercado ( ) Supermercado ( )

Cultivos propios ( )

Lugar donde consume sus alimentos: Casa ( ) Trabajo ( ) Vía pública ( )

Se lava las manos antes de consumir alimentos: Si ( ) No ( )

Se lava las manos al llegar a su domicilio: Si ( ) No ( )

## ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS

**\*Cáncer, SIDA y Hepatitis son criterios de exclusión**

Padece alguna enfermedad: Si ( ) No ( )

Cual(es): \_\_\_\_\_

Que tratamiento recibe:

\_\_\_\_\_

Ha visitado al médico en los últimos tres meses: Si ( ) No ( )

Porque: \_\_\_\_\_

Ha sido hospitalizado alguna vez en su vida: Si ( ) No ( )

Ha ingerido medicamentos de forma constante en los últimos 6 meses:

Si ( ) No ( ) Cual y cuánto tiempo:

\_\_\_\_\_

Actualmente ingiere algún medicamento: Si ( ) No ( )

Cual(es): \_\_\_\_\_

Le han tomado alguna placa de rayos X (dental o de otro tipo) en los últimos tres meses: Si ( ) No ( ) Fecha: \_\_\_\_\_

## ANTECEDENTES GINECOBSTETRICOS

Ha estado embarazada: Si ( ) No ( )

Cuántas veces ha estado embarazada: \_\_\_\_\_

Cree estar embarazada actualmente: Si ( ) No ( )

Ha tenido algún aborto: Si ( ) No ( ) No. \_\_\_\_\_

Tiempo de gestación aproximada al momento de la pérdida: \_\_\_\_\_

Tiene hijos: Si ( ) No ( ) Cuántos: \_\_\_\_\_

Alguno de sus hijos presentó al nacer:

Bajo peso: Si ( ) No ( )

Malformaciones: Sí ( ) No ( )

Enfermedades congénitas: Sí ( ) No ( )

Nacimiento prematuro: Si ( ) No ( ) Meses de gestación: \_\_\_\_\_

Muerte dentro de las primeras 48 horas de vida; Sí ( ) No ( )

Causa: \_\_\_\_\_

Tuvo o tiene alguna dificultad para embarazarse: Sí ( ) No ( )

Conoce el motivo: \_\_\_\_\_

## ANTECEDENTES LABORALES

**Trabajador de expendio ( ) Campesino ( ) Recolector ( )**

Edad a la que comenzó a trabajar: \_\_\_\_\_

Lugar de trabajo: \_\_\_\_\_

Puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Antigüedad en el puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Actividad laboral: \_\_\_\_\_

Durante su actividad laboral tiene contacto con: Plaguicidas( ) \*Solventes( )

\*Pinturas( ) \*Gasolina, petróleo, thinner, ether( ) \*Metales pesados( )

\* **Criterio de exclusión**

De cuantas horas es su jornada laboral: \_\_\_\_\_

Consume sus alimentos en el lugar de trabajo Si ( ) No ( )

Cuántos días y cuántas horas a la semana está en contacto con plaguicidas:

\_\_\_\_\_

El plaguicida(s) que usted generalmente utiliza es: Líquido ( ) Sólido ( )

Gas ( ) Spray ( )

Que cantidad de plaguicida aplica a la semana : \_\_\_\_\_(Kg, L)

Cuántos días a la semana aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Cuántas semanas al mes aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Cuántos meses al año aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Cuántas horas al día aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Superficie aproximada de aplicación: \_\_\_\_\_ metros

Cuándo fue la última vez que aplicó plaguicidas: \_\_\_\_\_ (día/mes/año)

Lee las instrucciones antes de aplicar un plaguicida: Si ( ) No ( )

Ha recibido alguna capacitación para el manejo de los plaguicidas: Sí( ) No( )

En alguna ocasión se ha intoxicado con un plaguicidas: Si ( ) No ( )

Cuántas veces: \_\_\_\_\_

**\*REVISAR LA TABLA DEL FINAL PARA SINTOMATOLOGÍA\***

Al terminar de usar plaguicidas que hace con el envase:

Tirarlo a la basura municipal ( ) Tirarlo a la calle ( ) Reutilizarlo para almacenar líquidos [tipo de líquidos] ( ) Quemarlo ( ) Venderlo ( )

Donde almacena los envases con plaguicidas:

En casa ( ) En un lugar aislado ( ) Especifique: \_\_\_\_\_

Generalmente usted mezcla dos o más plaguicidas: Si ( ) No ( )

Cuales: \_\_\_\_\_

¿Qué equipo utiliza para aplicar plaguicidas?

Bomba de espalda manual ( ) Bomba de espalda a motor( ) Nebulizadora( )

Mano( ) Jícara( ) Otros: \_\_\_\_\_

¿Qué tipo de protección personal utiliza durante la aplicación de plaguicidas?

Sombrero ( ) Mascarilla ( ) Pañuelo ( ) Camisa de manga larga ( )

Guantes ( ) Pantalón por debajo de los tobillos ( ) Zapato cerrado ( )

Traje especializado ( )

¿Que manejo le da a la ropa que utiliza para aplicar plaguicidas?

Se lava con toda la ropa de casa ( ) Se lava aparte ( ) No se lava y se reutiliza ( )

¿Durante la aplicación de plaguicidas usted realiza alguna de las siguientes actividades? Comer ( ) Beber ( )

Mujeres: Amamantar ( ) Dar de comer a niños pequeños ( )

Al terminar de aplicar plaguicidas usted:

Se lava las manos: Si ( ) No ( )

Se baña: Si ( ) No ( )

Se lava la cara: Si ( ) No ( )

Se cambia de ropa: Si ( ) No ( )

**\*Durante las horas posteriores a la aplicación de plaguicidas usted presenta alguno de los siguientes síntomas:**

SÍNTOMAS	SI	NO
Dolor de cabeza		
Mareo		
Convulsiones		
Desmayo		
Ardor de ojos y/o lagrimeo		
Visión borrosa		
Resequedad de boca		
Salivación excesiva		
Nauseas y/o vomito		
Dolor abdominal o diarrea		
Dificultad para respirar		
Tos		
Dolor en el tórax		
Sudoración excesiva		
Sed		
Comezón, ronchas o ardor en la piel		
Hormigueo, temblor o debilidad de alguna extremidad		
Otros:		