



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE GEOLOGÍA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

**EVALUACIÓN DE DAÑO GENOTÓXICO, CAUSADO POR EXPOSICIÓN A
PLAGUICIDAS EN UNA POBLACIÓN RURAL.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DENISSE JOSEFINA BADILLO VELÁZQUEZ

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS:

DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO, CENTRO DE CIENCIAS DE LA ATMÓSFERA, UNAM.

COMITÉ TUTOR:

DR. LUIS FELIPE JIMÉNEZ GARCÍA, FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM.

DR. PEDRO RAFAEL VALENCIA QUINTANA, FACULTAD DE AGROBIOLOGÍA, UAT.

MÉXICO, CD. MX. MAYO, 2017.



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.



Lic. Ivonne Ramirez Wence
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted, que el Subcomité de Biología Experimental y Biomedicina del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día 13 de febrero de 2017, aprobó el jurado para la presentación de su examen para obtener el grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **BADILLO VELÁZQUEZ DENISSE JOSEFINA** con número de cuenta 99037077 con la tesis titulada "Evaluación de daño genotóxico, causado por exposición a plaguicidas en una población rural", realizada bajo la dirección de la **DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO**:

Presidente: DRA. ROSARIO RODRÍGUEZ ARNAIZ
Vocal: DRA. MARÍA DEL CARMEN LETICIA CALDERÓN EZQUERRO
Secretario: DR. LUIS FELIPE JIMÉNEZ GARCÍA
Suplente: DR. JUAN JOSÉ RODRÍGUEZ MERCADO
Suplente: DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 12 de mayo de 2017,

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM, por brindarme la oportunidad de mi preparación profesional durante mis estudios de maestría.

Al programa de becas del Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico otorgado para la realización del presente trabajo (CVU: 132168).

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

A los integrantes del comité tutorial:

A la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo por el apoyo incondicional, GRACIAS INFINITAS por la oportunidad de permitirme formar parte de su equipo de trabajo.

Al Dr. Luis Felipe Jiménez García, por todo el apoyo y el tiempo dedicado al presente trabajo, GRACIAS.

Al Dr. Pedro Rafael Valencia Quintana por sus aportaciones al presente trabajo.

Gracias a mis sinodales, por tomarse el tiempo de revisar el presente trabajo.

Dra. Rosario Rodríguez Arnaiz, por sus atinados comentarios y observaciones, sin duda contribuyeron a mejorarlo.

Dr. Juan José Rodríguez Mercado, por la paciencia al revisarlo y por poner a funcionar mi cerebro con sus cuestionamientos, por su colaboración en mi formación durante el posgrado.

Dr. Luis Felipe Jiménez García, por toda la ayuda, el apoyo y las ideas para mejorar este trabajo.

Dra. María Del Carmen Leticia Calderón Ezquerro, por sus valiosas contribuciones al presente trabajo, sin duda cambio gracias a usted.

AGRADECIMIENTOS

A mi hijo Ian, latita de leche, gracias por toda tu comprensión y por todos esos gestos de amor hacia mí, por los abrazos, por los besos y sobre todo por las palabras de aliento, tan necesarias en más de una ocasión, eres el motor de mi vida y mi juez más duro, espero ser esa guía que necesitas para ser feliz en la vida. TE AMO más que a nada hijo mío.

A mi esposo Carlos, por el apoyo incondicional que siempre me has brindado sin importar de que se trate, siempre conmigo, ahí, cerca, gracias amor, por todo. TE AMO.

A mi madre, que me impulso a regresar a este maravilloso mundo que amo, gracias ma, no solo por el apoyo y la ayuda tan valiosa que me has brindado, sino también por el ejemplo de valor, fuerza y humildad que me das todos los días, sé que el camino ha sido difícil, pero seguimos en él y lo más importante.....juntas, no olvides que este trabajo es mío tanto como tuyo. gracias, gracias, gracias por todo mami. ¡TE AMO!!!

¡papi gracias por todo, por siempre estar, ¡por impulsarme y por creer en mí. te amo!!! hermano, tan lejos pero tan cerca, gracias por ser pieza importante de mi historia. te extraño.....TE AMO!!!!

Abue Sejo, donde quiera que te encuentres, GRACIAS por una infancia maravillosa, siempre te voy a extrañar.

Gracias a la familia Navarro Gallegos (Rosalba, Carlos e Irving) por todo el apoyo sincero e incondicional que me han brindado, sin el cual no hubiese podido concluir esta etapa.

Dra. Sandra, GRACIAS por su calidad humana, por el apoyo incondicional y por la confianza ciega puesta en mí, ha sido una gran experiencia pertenecer a su grupo de estudiantes.

Chicos, Zeltzin Adriana, Paola, Gaby, Gabs, Julio gracias por estar en Michoacán, por las risas, el compañerismo y por prestar sus cerebros cuando fue necesario.

Miguel, Dany, Susana y Sandra, ustedes si son mis niños, gracias por permitirme guiarlos un poquito en este mundo maravilloso que son los cromosomas.

Vicky chula, gracias por toda tu ayuda, sin ti, seguramente más de una vez nos hubiésemos perdido, gracias por todas las palabras y consejos, sin duda eres un gran ser humano.

Sandra Ramos Angeles (INP), GRACIAS INFINITAS por ser mi guía desde hace más de 10 años, por transmitirme esa pasión por los cromosomas que solo he visto en ti, espero algún día ser como tú.

A todo el equipo del laboratorio DIAGEN S. C. (Dra. Grether, Tati, Sra. Vicky, Carito) que siempre me han apoyado, GRACIAS, a pesar del poco tiempo que compartimos, les debo mucho.

Al Dr. Valentin Lozano Zavaleta (INCan), por haber creído en mí desde hace 12 años, por las palabras de aliento, las enseñanzas, el afecto y sobre todo por siempre estar ahí, a pesar del tiempo y la distancia, GRACIAS.

*DEDICADO A MI HIJO IAN
Y
A MI MADRE.*

INDICE.....	2
RESUMEN.....	4
ABSTRACT.....	5
INTRODUCCIÓN.....	7
1. Concepto de plaguicida.....	7
2. Origen, empleo y producción de plaguicidas en el mundo.....	8
3. Origen del uso y producción de plaguicidas en México.....	10
4. Regulación del uso de plaguicidas.....	11
4.1 Regulación del uso de plaguicidas en México.....	13
5. Clasificaciones de plaguicidas.....	13
6. Características de plaguicidas por grupo químico.....	18
6.1 Organoclorados.....	18
6.2 Organofosforados.....	19
6.3 Carbamatos.....	20
6.4 Tiocarbamatos.....	21
6.5 Piretrinas y piretroides.....	21
6.6 Bupiridilos.....	22
6.7 Derivados del ácido fenoxiacético.....	23
6.8 Derivados de las triazinas.....	23
6.9 Compuestos orgánicos del estaño.....	24
6.10 Compuestos inorgánicos.....	24
6.11 Compuestos de origen botánico.....	24
ANTECEDENTES.....	25
1. Biomonitorio de poblaciones expuestas a plaguicidas.....	25
1.1 Biomonitorio de poblaciones expuestas a plaguicidas en México.....	27
JUSTIFICACIÓN.....	29
HIPOTESIS.....	30

OBJETIVOS.....	30
MATERIALES Y MÉTODOS.....	31
1. Descripción de la zona de estudio.....	31
2. Entrevistas y firma de carta de consentimiento informado.....	33
3. Toma de muestras.....	34
4. Cultivo de linfocitos.....	35
5. Preparación de laminillas.....	36
6. Tinción de laminillas.....	36
7. Análisis de aberraciones.....	36
7.1 índice Mitótico.....	37
8. Análisis estadístico.....	38
RESULTADOS.....	39
1. Entrevistas.....	39
2. Análisis de aberraciones cromosómicas.....	42
DISCUSIÓN.....	47
CONCLUSIONES.....	56
REFERENCIAS.....	57
ANEXOS.....	70

RESUMEN

El empleo de plaguicidas a nivel mundial sigue siendo importante, no solo para controlar plagas que afectan a los cultivos de importancia económica sino también para evitar la propagación a través de vectores de padecimientos que perjudican la salud humana. A pesar de que se conocen diversos efectos adversos que son ocasionados por el contacto con estos compuestos, la evaluación costo-beneficio sigue inclinándose hacia su uso. En México existen zonas agrícolas de importancia comercial, una de ellas, la Ciénega de Chapala, cuyos productos son principalmente granos, hortalizas y cereales, es una región donde se emplean grandes cantidades de plaguicidas y son utilizadas pocas o casi nulas medidas de protección por aquellas personas que los aplican.

El objetivo del presente estudio fue evaluar el daño causado por la exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas, de la población de Cojumatlán Michoacán, por medio del análisis de aberraciones cromosómicas. Se procesaron 66 muestras de sangre periférica en total, 33 pertenecieron a la población expuesta y 33 a la población testigo de Sahuayo de Morelos Michoacán; la sangre fue cultivada por 72 h en medio RPMI, a las 70 h se les agregó colchicina, agente que evita la polimerización de los microtubulos, lo que permite la visualización de los cromosomas en metafase. Posteriormente, se extendieron en portaobjetos que después fueron teñidos con el colorante Giemsa; se analizaron 100 metafases por individuo, evaluándose parámetros como el número, forma y tamaño de los 46 cromosomas de cada metafase.

Los resultados obtenidos muestran que no hay diferencia entre los grupos de individuos expuestos y no expuestos, lo anterior indica que, hasta el momento, no se detecta daño genotóxico ocasionado por el contacto con plaguicidas en los habitantes de esta población, esto puede deberse, a que las áreas asperjadas son pequeñas en comparación con otras regiones agrícolas del país, posiblemente a que la exposición a agroquímicos suele ser en cantidades altas durante periodos cortos de tiempo, además la mayoría de las ocasiones, no se preparan las mismas mezclas, lo cual está dado principalmente por la época del año en la cual se aplica y el tipo de plaga que se pretende combatir. Sin embargo, de acuerdo con los datos obtenidos de los cuestionarios aplicados, se pudo constatar que se han

presentado diversos síntomas asociados al empleo de estas sustancias, por lo que sigue siendo un riesgo para la salud de los habitantes.

ABSTRACT

The use of pesticides worldwide continues to be important, not only to control pests that affect crops of economic importance but also to prevent the spread through vectors of diseases that harm human health. Although several adverse effects are known to be caused by contact with these compounds, the cost-benefit assessment continues to tip the scale towards its use. In Mexico there are agricultural areas of commercial importance, one of them, the Ciénega de Chapala, whose products are mainly grains, vegetables and cereals, is a region where large amounts of pesticides are used and little or no protection measures are used by those people who apply them.

The objective of the present study was to evaluate the damage caused by exposure to pesticides in agricultural workers, from the population of Cojumatlán Michoacán, through the analysis of chromosomal aberrations. A total of 66 peripheral blood samples were processed, 33 belonged to the exposed population and 33 to the control population of Sahuayo de Morelos Michoacán; The blood was cultured for 72 h in RPMI medium, at 70 h, colchicine, an agent that prevents microtubule polymerization, was added, allowing the visualization of chromosomes in metaphase. Subsequently, they were spread on slides which were then stained with Giemsa dye; we analyzed 100 metaphases per individual, evaluating parameters such as the number, shape and size of the 46 chromosomes of each metaphase.

The results obtained show that there is no deference between the groups of exposed and non-exposed individuals, the above indicates that, so far, no genotoxic damage caused by contact with pesticides in the inhabitants of this population has been detected, this may be due to That the sprayed areas are small in comparison to other agricultural regions of the country, possibly because the exposure to agrochemicals is usually in high amounts for short periods of time, in most cases, the same mixtures are not prepared, which is Given mainly by the time of the year in which it is applied and the type of pest to be fought.

However, according to the data obtained from the questionnaires applied, it was found that there have been several symptoms associated with the use of these substances, so it remains a risk to the health of the inhabitants.

INTRODUCCIÓN

1. Concepto de plaguicida.

Según la FAO (1995) una plaga es un organismo que causará o podrá causar daño inaceptable a un cultivo o productos almacenados, o que amenaza la salud humana o animal y que es un blanco para un tratamiento de protección vegetal, de salud pública o de productos domésticos, e incluye entre otros, los insectos, los ácaros, nemátodos, enfermedades, malezas, roedores y pájaros.

Un plaguicida es cualquier sustancia o mezcla de éstas destinadas a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de animales, las especies de plantas y animales indeseables que causan prejuicios o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y derivados de madera o alimentación para animales que puedan administrarse a los mismos para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, defoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o agentes para evitar la caída prematura de la fruta y las sustancias aplicadas a los cultivos antes y después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte (OMC 1994).

Un plaguicida prohibido, es aquel compuesto del que han sido restringidos en su totalidad todos sus usos, mediante una medida de reglamentación, con el fin de proteger la salud humana o el ambiente. El término incluye a todo plaguicida para el que no ha sido aprobado su empleo, por primera vez o que haya sido retirado del mercado cuando las pruebas realizadas sobre éste, indiquen que produce algún perjuicio o altere el equilibrio ecológico. Un plaguicida rigurosamente restringido es todo compuesto del que, para proteger la salud humana o el ambiente, se han prohibido prácticamente todos los usos, pero siguen autorizándose ciertos empleos específicos. Comprende los plaguicidas a los que prácticamente para todas sus aplicaciones se haya negado la aprobación o que la industria haya retirado ya sea del mercado interno o de consideración ulterior como resultado del

proceso nacional de aprobación cuando las pruebas realizadas demuestren que éste causa un perjuicio al ser humano o al ambiente (FAO 2002).

2. Origen, empleo y producción de plaguicidas en el mundo.

La ciencia del control de plagas está considerada como de origen reciente, datando del siglo XIX, aunque no es de dudar que existieran prácticas para el control de plagas desde los inicios de la agricultura.

En un principio y con la ausencia de la industria química, los productos usados para el control de plagas, eran de origen vegetal, animal y si éstos eran de origen mineral, tendrían que estar disponibles fácilmente para su obtención, incluso algunos métodos de control estaban basados en religión y magia.

Todo lo anterior es recopilado en un libro llamado *GEOPONICA*, mismo donde se encuentran reunidos muchos escritos sobre agricultura; en este libro se menciona que las prácticas religiosas fueron quizás de los primeros métodos de control y protección de cultivos por medio de oraciones y ofrendas. Cuando la encomienda a los dioses no era efectiva, se solían lanzar hechizos a los cultivos para protegerlos o deshacerse de ciertas plagas y se describe la práctica de ciertos rituales en los cuales se utilizaban animales como serpientes, en *GEOPONICA* también se describen varios métodos para mantener los campos sanos, dentro de estos Plinio menciona el uso de ciertos humos. Además de las prácticas religiosas se indican métodos mecánicos y químicos, dentro de este último rubro, Theophrastus escribió que los árboles se pueden exterminar con un baño de aceite, presumiblemente de oliva (Smith y Secoy 1975).

El estatus del control de pestes en el siglo XIX en Europa y Norte América es revelado por T. W. Harrys en su "*Report on the insects of Massachusetts injurious to vegetation (1841)*", en este documento se describen varias recomendaciones para el control de plagas, dentro de las que se encuentran, la recolección a mano, la quema, las cortinas de humo producidos por la combustión de diversos materiales, cebos envenenados, variedades resistentes de semillas, sulfuro y tabaco (Smith y Kennedy 2002).

El uso de agentes químicos para el control masivo de plagas inicio en la década de los 40 con el descubrimiento de las propiedades del DDT, por Paul Miller, con meros fines

comerciales durante la Segunda Guerra Mundial, pues éste tuvo un papel militar de suma importancia en cuanto al control de enfermedades transmitidas por vectores. Cuando el conflicto bélico terminó se pudo comprobar la alta efectividad de dicho compuesto contra una amplia gama de especies de insectos dañinos para la salud y la agricultura, por medio de una red de distribución en centros de pruebas, en la década siguiente se descubrieron las propiedades de otros compuestos sintéticos (hexaclorociclohexano, ditiocarbamatos, compuestos organofosforados, etc.) para el año 2009 se conocían más de 1500 ingredientes activos diferentes en más de 2500 fórmulas presentes en el mercado a nivel mundial (Smith y Kennedy 2002, Zeljezic y Mladinic 2011).

El aumento en la cantidad de individuos en la población humana, ha ocasionado el incremento de la producción de alimentos de buena calidad a nivel mundial lo que ha traído como consecuencia la elevación en el uso y la elaboración de plaguicidas (y agroquímicos). En la década de los 80 y 90 la población humana paso de 3 mil millones de personas a más de 6 mil millones de habitantes (Ongley 1997).

En cuanto a la producción de alimentos en África en esta misma década se intensificó en un 140%, mientras que en América latina lo hizo en un 200%, en países industrializados dicha producción aumento en una base mayor, en EU se duplicó en los últimos 40 años, en Europa creció en un 68% (García 1997).

Con la fabricación masiva de DDT y el descubrimiento de propiedades de diferentes compuestos sintéticos en la mitad del siglo XX, comienza la verdadera revolución en el uso de agentes químicos para el manejo de plagas, sin embargo, para 1962 con la publicación de “PRIMAVERA SILENCIOSA” de Rachel Carson se vuelve evidente la preocupación sobre los aspectos adversos que el uso de agroquímicos produce al ambiente y se forma la EPA. En 1946 aparecen los primeros casos de resistencia de plagas al DDT en Dinamarca y Suecia. Según la base de datos de la Sociedad Química Americana (American Chemical Society) en 1993 se habían identificado más de 13 millones de sustancias a las que cada año se le suman 500 000 nuevos compuestos. El volumen de plaguicidas formulados en el mundo para 2005 alcanzó casi 6×10^6 toneladas y sigue aumentando; se ha estimado que en 2020 se alcanzará una producción de 6.5×10^6 toneladas de i. a. (ingredientes activos) (Handford et al. 2015).

En América Central se estima una importación anual (1980-1989) de cerca de 54 millones de Kg o litros de plaguicidas en producto bruto. La venta mundial de plaguicidas en 2007 según la EPA fue de $37\,000 \times 10^6$ dólares. Aproximadamente el 90% del mercado mundial de plaguicidas está dividido entre 10 empresas: Syngenta (Suiza), Bayer (Alemania), Basf (Alemania), Dow (USA), Monsanto (USA), DuPont (USA), Makhteshim Agan (Israel), Nufarm (Australia), Sumitomo Chemical (Japón) y Arysta Lifescience (Japón) (Pretty 2008).

Desde 1960 el consumo de fertilizantes aumentó 4 veces, mientras que el uso de plaguicidas en la agricultura también incrementó dramáticamente y ahora se emplean alrededor de 256 mil millones de kg por año. La aplicación de los herbicidas aumento un 49%, los insecticidas 25% los fungicidas 22% mientras que otro tipo de plaguicidas en un 3%.

Anteriormente, la tasa de consumo mayor era para países industrializados, pero a partir de la última década hay un marcado incremento en Asia y América Latina (March 2014).

3. Origen del uso y producción de plaguicidas en México.

En México el uso de plaguicidas data de finales del siglo XIX, en la década de los 60 comienza el empleo del DDT en campañas sanitarias contra la malaria, también inicia la producción de ingredientes activos. En la década de los 70 el DDT y otros compuestos organoclorados fueron ampliamente utilizados con 60 609 toneladas de producto asperjados en los campos y en campañas sanitarias donde el 10% fue DDT y para 1994, México se convierte en el principal exportador de plaguicidas en América Latina y se ubica en el cuarto lugar en cuanto a la aplicación de los mismos (Albert 1996). Actualmente nuestro país ocupa el 6to lugar en la aplicación de DDT con 250 mil ton de 1947 a 2000; en 1995 se consumieron cerca de 16 400 toneladas de plaguicidas pertenecientes a diferentes familias químicas, para 1999 su uso fue de más de 23 300 toneladas aumentando más de 40% en este lapso de tiempo (Schoijet 2001).

En el periodo de los 70 a 80 la capacidad de producción de DDT en México fue de 8000 toneladas por año lo que equivale al 40-45% de dicha capacidad para compuestos organoclorados en el país. A principios de los años 80 hubo un decremento tanto en la elaboración como en el consumo, debido a cuestiones políticas y económicas, sin embargo, para la segunda mitad de esta década la producción y el consumo volvieron a tener un repunte.

Para la década de los 90, la Secretaria de Salud crea un comité que se dedica a erradicar el empleo del DDT en todo el país, por lo menos cuando sea utilizado en campañas sanitarias contra la malaria (Albert 2005).

Sin embargo, se sabe que el consumo de DDT y otros compuestos derivados de éste se siguen usando ampliamente y sin ningún tipo de regulación en nuestro país (López Carrillo et al. 1996).

Hoy en día al menos el 25% de la población mexicana se dedica a la agricultura, mientras que 6% de los plaguicidas clasificados como peligrosos para la salud y el ambiente, son de empleo común en nuestro país y cerca de la mitad son producidos en la República Mexicana lo que revela el uso de compuestos que están prohibidos en otros países (Albert 1996).

Los estados del país que utilizan más plaguicidas son: Sonora, Veracruz, Jalisco. Sinaloa, Colima, Baja California, Nayarit, Tabasco, Michoacán, Tamaulipas, Puebla, Oaxaca y Estado de México; cerca del 80% de los plaguicidas son asperjados en estas regiones de México (Gómez-Arroyo et al. 2013).

4. Regulación del uso de plaguicidas.

Los plaguicidas cumplen con una función muy importante para la salud humana, cuando son aplicados para controlar vectores transmisores de enfermedades que afectan a la especie humana, así como para los cultivos que es el defenderlos de enfermedades, depredadores y además mejorar la producción. Lo anterior se pensaba antes de que comenzara la preocupación sobre el daño que los plaguicidas pueden causar a la salud humana y el ambiente (Kristoforovich-Ili 2004).

Este grupo de compuestos químicos comerciales fueron los primeros en regular su uso por la ley, para evitar efectos indeseables en el ambiente y la salud, aunque la legislación a nivel mundial varía de manera significativa, debido a que existen países o regiones con diferentes requerimientos y límites legales; los países más desarrollados tienen mayores restricciones sobre el uso y manejo de plaguicidas que los países en vías de desarrollo; es importante mencionar que cada país y/o región del mundo tiene su propia legislación, sin embargo lo que se ha buscado en los últimos años es una armonía mundial en cuanto a este tema se refiere, ya que no ha sido fácil crear para cada país una regulación. La legislación se comienza a dar en los años 40 con el uso de plaguicidas sintéticos como el DDT, el programa ambiental de las Naciones Unidas en asociación con la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la Asociación de Alimentos y Agricultura (FAO) trabajaron para tener un manejo de plagas integral (IPM) por medio de técnicas para controlarlas, además de promover estrategias alternativas para el empleo de contaminantes persistentes (Handford et al. 2015).

Todas estas leyes o legislaciones están basadas en estudios de toxicología y cuya consecuencia principal es la generación de clasificaciones para evidenciar la peligrosidad de estos compuestos. En 1985 la FAO adoptó el Código Internacional de Conducta, Distribución y Uso de Plaguicidas, mismo que fue renovado en 2014, el cual constituye un grupo de reglas o estándares que son sumamente útiles en regiones que carecen de una legislación en la materia. A pesar de existir una legislación al respecto y que gracias a estos acuerdos y leyes se han prohibido muchos de los compuestos utilizados en la industria, es importante mencionar que no hay acatamiento de las leyes en cuanto a producción y uso de plaguicidas lo que hace difícil tener una sola legislación mundial, pero se está trabajando en ello (Schmidt-Bleek et al. 1993).

4.1 Regulación del uso de plaguicidas en México.

En México la primera ley publicada en el Diario General de la Nación sobre el empleo de plaguicidas fue la Ley de Plagas que se dio en diciembre de 1924; este documento

establecía lineamientos para la aplicación de compuestos en el control de plagas desde el punto de vista económico.

Para 1940 se expide la Ley de Sanidad Fitopecuaria que establecía la protección de animales y agricultura que ayudan al hombre a un mejor desarrollo.

En 1974 se publica la Ley de Sanidad Fitopecuaria de los Estados Unidos Mexicanos la cual abrogó las leyes fitosanitarias y de plagas, en ésta se introdujo la idea de protección al suelo considerándolo un elemento indispensable para la vida; en 1982 se expide el reglamento en materia de sanidad vegetal, mismo que hasta la fecha contiene el mayor número de disposiciones relativas al uso y manejo de plaguicidas (COFEPRIS 2004).

En los años 80 se crea la CICOPALAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas y Sustancias Tóxicas), que es la institución encargada de regular el uso y manejo de plaguicidas. Publicó entre 1991 y 1998 el catálogo de plaguicidas mismo que contiene la lista de productos registrados y sus aplicaciones autorizadas, además de las características y lineamientos para su empleo e información sobre los riesgos que implican y el tratamiento en caso de intoxicaciones. Es importante mencionar que los únicos plaguicidas autorizados para comercialización, uso e importación son aquellos que se encuentren registrados por la CICOPALAFEST (Albert y Aranda 1986, Gómez-Arroyo et al. 2011).

5. Clasificaciones de plaguicidas.

Los plaguicidas se clasifican según algunas de sus propiedades, ya sea por su estructura química, su peligrosidad, su persistencia en el ambiente o vida media, uso, etc. De acuerdo a su vida media o persistencia en el ambiente, como se muestra en la tabla 1, se pueden clasificar en: no persistentes, moderadamente persistentes, persistentes y permanentes. Tomando como persistencia la capacidad de un compuesto de mantenerse en un sustrato en particular, después de cumplido el objetivo para el cual se aplicó. La vida media se refiere al lapso de tiempo necesario para que se degrade la mitad del compuesto o mezcla aplicada (Ramírez y Lacasaña 2001).

Tabla 1. Clasificación de plaguicidas según su vida media de efectividad.

PERSISTENCIA	VIDA MEDIA	EJEMPLOS
No persistente	De día hasta 12 semanas	Malatión, diazinón, carbarilo, diametrín
Moderadamente persistente	De 1 a 18 meses	Paratión, lannate
Persistente	De varios meses a 20 años	DDT, aldrín, dieldrín
Permanente	Indefinidamente	Productos a base de mercurio o plomo.

Tomado de: Ramírez y Lacasaña 2001

En 1978 la OMS (OMS 1990) establece una clasificación basada en su grado de toxicidad aguda (capacidad del plaguicida de producir un daño a través de una o múltiples exposiciones en un tiempo determinado) misma que se aprecia en la tabla 2, esta toxicidad se mide a través de la dosis letal media (DL_{50}) lo que va a depender de varios factores como la presentación del producto (gas, líquido, polvo), la vía de entrada (respiratoria, dérmica, gástrica), estilo de vida, factores ambientales, aspectos genéticos en el individuo, entre otros (Ramírez y Lacasaña 2001).

Tabla 2. Clasificación de plaguicidas por toxicidad (OMS 1978).

CLASE	TOXICIDAD	EJEMPLOS
Clase IA	Extremadamente peligrosos	Paratión, dieldrín
Clase IB	Altamente peligrosos	Eldrín, diclorvos
Clase II	Moderadamente peligrosos	DDT, clordano
Clase III	Ligeramente peligrosos	Malatión

También se pueden clasificar según el organismo que controlan como se puede observar en la tabla 3 (FAO 2002).

Tabla 3. Clasificación según el organismo que controlan.

TIPO DE PLAGUICIDA	ORGANISMO QUE CONTROLA
Insecticida	insectos
Acaricida	ácaros
Fungicida	hongos
Bactericida	bacterias
Antibiótico	bacterias
Herbicida	malezas
Rodenticida	roedores
Molusquicida	moluscos

Por concentración se clasifican en:

Plaguicida técnico: la máxima concentración del ingrediente activo obtenida como resultado final de su fabricación, de la cual se parte para preparar un plaguicida formulado.

Plaguicida formulado: mezcla de uno o más plaguicidas técnicos, con uno o más ingredientes conocidos como inertes, cuyo objeto es dar estabilidad al ingrediente activo o hacerlo útil y eficaz; constituye la forma usual de aplicación de los plaguicidas.

Por modo de acción se clasifican en:

De contacto: actúa principalmente al ser absorbido por los tejidos externos del organismo en cuestión.

De ingestión: debe ser consumido por el organismo considerado como plaga para que su forma de funcionar sea efectiva.

Sistémico: al aplicarse en plantas o animales, se absorbe y traslada por el sistema vascular a puntos remotos del lugar de aplicación y en los cuales actúa.

Fumigante: se difunde en estado gaseoso o de vapor y penetra por todas las vías de absorción.

Repelente: impide que las plagas ataquen, alejándolas.

Defoliante: causa la caída del follaje de las plantas (FAO 2002).

Los plaguicidas se pueden clasificar también por uso destinado (OMS 1992):

Agrícola: empleo en diversas extensiones en sistemas de producción agrícola y en productos y subproductos de origen vegetal.

Forestales: uso en bosques y maderas.

Urbanos: de aplicación exclusiva en áreas urbanas, industriales, zonas no cultivadas, drenes, canales de riego, lagos, presas, lagunas y vías de comunicación.

Jardinería: para utilizar en jardines y plantas de ornato.

Pecuarios: destinados a proteger animales o instalaciones de producción intensiva o extensiva cuyo producto será empleado para el consumo humano o a usos industriales. Incluye la aplicación en animales domésticos.

Domésticos: para controlar y desaparecer organismos no deseados en el interior del hogar.

Industriales: Se utiliza como materia prima en el proceso industrial para la formulación de plaguicidas o productos de uso directo.

Por composición química (OMS 1992, Ramírez y Lacasaña 2001):

Compuestos inorgánicos: estos son productos que carecen de carbono. Pueden ser aquellos derivados de cobre, azufre, zinc y aluminio.

Compuestos orgánicos: son aquellos que contienen átomos de carbono en su estructura química, la mayoría son de origen sintético, fabricados a partir de compuestos químicos básicos; algunos son extraídos de plantas, por lo que se conocen como botánicos.

Plaguicidas biológicos: se denominan así a los virus, microorganismos y sus metabolitos, formulados como insumos, que pueden controlar a una plaga en particular.

Otra de las clasificaciones más comunes de los plaguicidas es aquella que los agrupa por familia química, en esta clasificación se encuentran compuestos orgánicos e inorgánicos, los cuales se pueden apreciar en la tabla 4 (Ramírez y Lacasaña 2001, COFEPRIS 2004).

Tabla 4. Clasificación de plaguicidas por familia química.

FAMILIA QUÍMICA	EJEMPLOS
Organoclorados	DDT, aldrín, endosulfán, endrín
Organofosforados	bromofos, diclorvos, malatión
Carbamatos	carbarilo, metomilo, propoxur
Tiocarbamatos	ditiocarbamato, mancozeb, maneb
Piretroides	cipermetrina, fenvalerato, permetrina
Derivados bipiridilos	cloromequat, diquat, paraquat
Derivados de ácido fenoxiacético	dicloroprop, piclarm, silvex
Derivados de triazinas	atrazina, ametrina, desmetrina, simazina
Compuestos orgánicos del estaño	cihexatina, dowco, plictrán
Compuestos inorgánicos	arsénico pentóxido, obpa, fosfito de magnesio, arsenato de plomo, bromuro de metilo, antimonio, mercurio, selenio, talio y fosforo blanco
Compuestos de origen botánico	rotenona, nicotina, aceite de canola

En cuanto a los efectos carcinogénicos que puedan producir los plaguicidas en los seres humanos, diversas agencias tanto de Estados Unidos de América como internacionales han clasificado a los plaguicidas en varios grupos.

En México, dentro del catálogo de plaguicidas de COFEPRIS (2004) aparecen dos clasificaciones de carcinógenos una perteneciente a la EPA (Siglas de la Agencia Norteamericana de Protección al Ambiente) y la otra a la IARC (siglas de la Agencia Internacional sobre la Investigación del Cáncer) de 2016.

La EPA clasifica de la siguiente manera a los carcinógenos. **GRUPO A:** carcinógeno para los seres humanos. **GRUPO B1:** Probable carcinógeno para los seres humanos (suficiente evidencia en animales). **GRUPO B2:** Probable carcinógeno para los seres humanos. (insuficiente evidencia en animales). **GRUPO C:** Posible carcinógeno para los seres humanos. **GRUPO D:** No clasificable como carcinógeno para los seres humanos. **GRUPO E:** Evidencia de no carcinogenicidad para los seres humanos.

La IARC clasifica a los carcinógenos de la siguiente forma. **GRUPO 1:** Carcinógeno para los seres humanos. **GRUPO 2A:** Probable carcinógeno para los seres humanos. **GRUPO 2B:** Posible carcinógeno para los seres humanos. **GRUPO 3:** No clasificable como carcinógeno para los seres humanos. **GRUPO 4:** Es probable que no sea carcinógeno para los seres humanos (PAN International 2014).

6. Características de los plaguicidas por grupo químico.

6.1 Organoclorados.

Dentro de este grupo se incluyen una serie de compuestos sintéticos que son en general hidrocarburos clorados, aunque en su estructura no solo hay átomos de cloro sino también de oxígeno y/o azufre. Son compuestos con baja solubilidad en agua, pero alta en disolventes orgánicos, lo que los hace compuestos (y sus productos de transformación) que se almacenan en tejido graso de organismos vivos, que es una característica propia de los plaguicidas de este grupo; poseen una alta estabilidad química y son resistentes al ataque de microorganismos, características que les confieren alta persistencia en el ambiente. Dentro de este grupo de plaguicidas, hay subgrupos formados de acuerdo a similitudes en varias características como de estructura, síntesis, etc. entre varios de ellos teniendo: aromáticos clorados (DDT, clorobencilato, metoxicloro, dicofol), cicloalcanos clorados (hexaclorociclohexano), ciclodiénicos clorados (aldrín, dieldrín, endrín, clordano, heptacloro, endosulfán, mirex) y terpenos clorados (toxafeno) (Rogg 2000).

Este grupo de plaguicidas (insecticidas) ha sido ampliamente utilizado en la lucha contra el control de enfermedades transmitidas por vectores y en la protección de recursos agropecuarios. En general son empleados como insecticidas y acaricidas específicos.

Actúan sobre el sistema nervioso central en donde producen un aumento en la excitabilidad de la membrana celular, lo que facilita la transmisión del impulso nervioso. Los análogos del DDT actúan sobre el axón nervioso interfiriendo con el transporte de iones de Na^+ y K^+ forzando la apertura del canal de Na^+ por inhibición de la enzima Ca^{++} -ATPasa.

Insecticidas como el DDT (introducido en 1942), han sido aplicados en campañas de higiene, su alta efectividad produjo que su uso se considerara de carácter preventivo en el control de enfermedades transmitidas por vectores (González 2011).

El lindano se ha empleado para el control de moscas, mosquitos e insectos que parasitan al hombre. El clordano y heptacloro han sido útiles en el combate a algunas plagas domésticas. Compuestos como el dieldrín han sido aplicados para el control de insectos en zonas tropicales (mosca tse-tsé). Aunque tuvieron una alta efectividad, han tenido que ser sustituidos por otros compuestos debido a la alta resistencia que se genera en sus organismos blanco (Calva y Torres 1998).

En cuanto a la protección de recursos agropecuarios, el DDT, fue aplicado a gran escala ya que redujo considerablemente las pérdidas en este sector. Como se mencionó anteriormente, son compuestos altamente persistentes, diversos estudios afirman que el DDT, puede permanecer en el ambiente hasta 30 años, el aldrín 6 años, beta (HCH) más de 3 años, toxafeno aproximadamente 11 años y endrín 10 años (OPS 2009).

6.2 Organofosforados.

Dentro de este grupo se encuentran más de 200 compuestos que son ésteres de ácido fosfórico y alcoholes. La mayor parte de éstos son liposolubles lo que favorece su entrada al organismo por la vía cutánea, son poco volátiles y su estabilidad depende del pH del medio, a un pH alcalino se descomponen fácilmente (Vale 1998).

Dentro de los organofosforados se distinguen dos subgrupos los oxones que son potentes inhibidores de las esterasas, principalmente de la colinesterasa, lo que afecta el sistema nervioso del organismo blanco; sin embargo son factibles de hidrólisis lo que los hace poco persistentes, mientras que el grupo de los tionos son menos potentes en cuanto a la acción sobre las esterasas, pero es mucho más sencillo que atraviesen barreras biológicas y una vez dentro del organismo se convierten en oxones por acción de las enzimas P450 que se encuentran en el hígado, lo que los hace sumamente tóxicos ya que son capaces de

atravesar barreras biológicas con cierta facilidad y una vez dentro ejercer el efecto de un oxon sobre el sistema nervioso del organismo. En el ambiente los tiones se convierten en oxones por acción de la luz solar (Badii y Varela 2008).

Son generalmente utilizados como insecticidas y nemátocidas, aunque algunos compuestos son fungicidas o herbicidas. La vida media de estas sustancias y sus productos de transformación es generalmente corta, de alrededor de 48 h, el paratión tiene una vida de 1 a 30 días, el tamarón de 1 a 5 días, el diazinón de 6 semanas, entre otros. El malatión es un insecticida muy utilizado en el campo, en productos almacenados, hogares y lugares de recreación al aire libre, se emplea para erradicar ectoparásitos de ovejas y animales domésticos, también es aplicado para tratar la pediculosis en seres humanos.

El gusatión es un insecticida de amplio uso en agricultura contra insectos masticadores, cuya persistencia en el ambiente es corta (Fernández et al. 2010).

6.3 Carbamatos.

Se trata de un grupo pequeño de compuestos que son ésteres derivados de los ácidos N-metil o dimetil carbámico.

Los N-alquilcarbamatos son generalmente insecticidas mientras que los N-arilcarbamatos son herbicidas.

Al igual que los organofosforados son altamente hidrolizables en el ambiente lo que los hace inestables y poco persistentes, es importante mencionar que estos compuestos no se acumulan en el organismo; aunque su acción al igual que los organofosforados es sobre las esterasas (colinesterasa principalmente) esta interacción es reversible lo que hace la sintomatología más corta; a diferencia de los organofosforados estos compuestos penetran muy poco al sistema nervioso central por lo que no hay manifestaciones a ese nivel (Ferrer 2003).

En general se utilizan como insecticidas, nemátocidas, fungicidas y herbicidas. El lannate es un insecticida que combate larvas e insectos chupadores en cultivos. Tiene una vida media

de 14 días. El vidate es un nemátocida y acaricida utilizado en campo con una persistencia en el ambiente corta (FAO 2002).

6.4 Tiocarbamatos.

Los tiocarbamatos son fungicidas relacionados en su estructura química con los insecticidas y nemátocidas carbamatos, pero no son iguales y por esta misma razón no tienen efecto como los carbamatos sobre las esterasas (colinesterasa). En general son insolubles en agua, pero solubles en disolventes no polares, se han encontrado en varios órganos como: en hígado, riñones y tiroides, pero por su rápido metabolismo es imposible su acumulación.

Plaguicidas como el mancozeb tiene un mecanismo de acción multisitio, por que induce inhibición enzimática múltiple, respiración, inactiva grupos sulfidrilos (-SH) desnatura enzimas, afecta ciclo de Krebs, impide la formación de ATP, afectan a lípidos de la membrana. Inhibe la germinación de las esporas y la formación del tubo germinativo sobre la superficie de la hoja; no afecta el crecimiento de micelio ni esporulación.

Dentro de este grupo se ubican también compuestos como el maneb, thiram, metam-sodio, ziram, ferbam, entre otros (Israeli et al. 1983).

En general son utilizados en el campo, para proteger productos almacenados, principalmente semillas, cultivos maduros y flores, en algunos casos en el hogar para cubrir superficies pintadas, para el control del limo en la pasta del papel, en la industria del pegamento y son aplicados en alfombras de hogares. Su vida media es corta (días) y no son productos acumulables (WHO 1988).

6.5 Piretrinas y piretroides.

Las piretrinas son insecticidas de origen natural, obtenidas de la planta del crisantemo y son utilizados desde hace mucho tiempo (1850), son compuestos inestables a la luz solar y al calor, lo que les resta efectividad a largo plazo por lo que su uso en agricultura ha ido

disminuyendo, son compuestos altamente hidrolizables y poco solubles en agua. Son aplicados en general con coadyuvantes que les confieren mayor estabilidad química retrasando su degradación e incluso pueden aumentar la efectividad de los mismos.

Los plaguicidas piretroides son compuestos sintéticos derivados de las piretrinas, similares en estructura, pero más estables en el ambiente, además se disuelven mejor en agua y son hidrolizables al igual que las piretrinas (Rogg 2000).

En general son empleados como insecticidas, que pueden mezclarse con otros compuestos teniendo una acción sinérgica, su vida media en el ambiente es corta. Los piretroides estimulan las células nerviosas produciendo repetidas descargas y parálisis. Estos efectos son causados por acción en los canales de Na, a través de los poros por donde se permite la entrada a los axones para causar la excitación. Estas alteraciones son producidas en el cordón nervioso de los insectos, los cuales presentan ganglios y sinapsis. En esencia, los piretroides son moduladores en los canales de sodio. Estos compuestos interfieren en los canales de sodio del sistema nervioso central y periférico, provocando repetidas descargas nerviosas, causando parálisis y la muerte del insecto (Reigarth y Roberts 1999).

6.6 Bipiridilos.

Son compuestos derivados del bipiridilo, que se desarrollaron en 1955, son solubles en agua y no tienen actividad en el suelo, éstos actúan al captar electrones (aceptación de electrones en el fotosistema) y formar radicales libres que producen la desorganización de las membranas celulares, son compuestos no selectivos, pero desecan toda la materia verde con la que entren en contacto y en presencia de luz solar, si no hay luz el compuesto se queda intacto en las hojas. Dentro de este grupo se encuentra el diquat y el paraquat.

Son empleados como herbicidas de contacto que matan a las plantas en conjunto con un surfactante en un par de días, se utilizan para controlar malezas.

El paraquat actúa compitiendo con el NADP por electrones en la cadena respiratoria en el cloroplasto, transformándose en un radical libre resonante que en presencia de oxígeno regenera el paraquat y produce productos tóxicos reactivos (Bonavía et al. 1991).

6.7 Derivados del ácido fenoxiacético.

El ácido fenoxiacético, es un compuesto orgánico, sus propiedades herbicidas fueron descubiertas en 1942 y a partir de esa fecha comienza la producción de sus derivados. Tienen una acción herbicida muy fuerte por lo que se utilizan en pequeñas dosis y son selectivos acabando con plantas anuales y perennes, tienen actividad en el suelo, cuando son absorbidos por las raíces penetran a las plántulas y las matan. Actúan en la planta como si fueran auxinas, interviniendo con el crecimiento de las mismas, funcionan de forma sistémica, son compuestos muy móviles en el suelo y poco persistentes, suelen ser utilizados como herbicidas en cultivos de gramíneas y cultivos leñosos. Dentro de este grupo se encuentran herbicidas como el dicloroprop, silvex y piclarm (Yúfera 1977).

6.8 Derivados de las triazinas.

Son un grupo de compuestos sintéticos poco solubles en agua y pueden persistir de meses a años dependiendo de las condiciones del suelo, la atrazina por ejemplo tiene una vida media de 30 días en un suelo a pH 5-7, se puede mover a cuerpos de agua y puede ser un contaminante; debido a esto es considerado como un herbicida de alto riesgo. Actúan inhibiendo el proceso fotosintético, interviniendo en el transporte de electrones en el fotosistema I o II, hay un cambio en la secuencia de aminoácidos modificando una serina (ser) por una glicina (gly) lo que produce la destrucción de los carotenoides (clorofila). Son ampliamente utilizados en cultivos de gramíneas y caña de azúcar. A este grupo pertenecen compuestos como: atrazina, desmetrina y ametrina (Kettles et al. 1997, Reigarth y Roberts 1999).

6.9 Compuestos orgánicos del estaño.

Grupo de sustancias utilizadas como acaricidas no sistémicos de contacto, se degradan con luz UV y tienen una baja solubilidad en agua, la persistencia es baja en suelo y son bioacumulables. Actúan inhibiendo la fosforilación oxidante y son disruptores de la formación de ATP. A este grupo pertenecen los acaricidas: fenbutaestan, cihexatina y plictrán (Carrero y Planes 2008, Anderson et al. 1998).

6.10 Compuestos inorgánicos.

Dentro de este grupo se encuentran todos aquellos compuestos sintéticos en cuya estructura no hay carbono, fabricados a base de minerales como: arsénico, zinc, etc. Son los plaguicidas más antiguos en la agricultura (Zeljezic y Mladinic 2011). Dentro de este grupo se consideran los arsenicales: anhídrido arsenioso, acetoarsenito de cobre, trisulfuro arsénico, metarsenito de zinc, etc. Derivados del fluor: sódico, bórico, silicofluoruros, fluorarsenato. Compuestos del selenio, selenosulfuro de potasio y amonio, seleniato sódico. Azufre: anhídrido sulfuroso, polisulfuro, nitrito de azufre, sulfatos, también se pueden emplear otras sales minerales como bromuro de metilo, bicloruro de mercurio, fosforo blanco, etc. En general suelen utilizarse como insecticidas y fungicidas, son compuestos persistentes-permanentes y altamente tóxicos, lo que hace su uso demasiado restringido (Rogg 2000).

6.11 Compuestos de origen botánico.

A este grupo pertenecen todos aquellos compuestos derivados de plantas, los cuales han sido empleados desde la antigüedad, pero perdieron popularidad cuando se comienzan a aplicar compuestos como el DDT. Sustancias como el piretro derivado del crisantemo, la rotenona derivado de leguminosas (genero *Derris elíptica*, Fam. Fabaceae) riania (derivado de *Riania speciosa* Fam. Flacourtiaceae), tabaco (derivado de *Nicotiana tabacum*, Fam.

Solanaceae), nim (derivado de *Azadirachta indica*; Meliaceae), causia (derivado de *Quassia amara*, Simaroubaceae), higuera (*Ricinus communis*, Euphorbiaceae), etc, pertenecen a este grupo. En general se usan como insecticidas, al ser sustancias de origen natural se cree que son inocuas para el ser humano, aunque no hay suficiente evidencia que respalde esta idea (Silva et al. 2002, Pérez 2012).

ANTECEDENTES

1. Biomonitorio de poblaciones expuestas a plaguicidas

Hoy se sabe, gracias a los estudios realizados desde hace algunas décadas, que el ciclo de los plaguicidas no comienza cuando salen al mercado y termina con la aplicación de los mismos sobre los cultivos, ya que el proceso de manufactura y el manejo de desechos como envases y sobrantes de producto tienen un papel importante relacionado a exposición aunado a lo anterior la mala aplicación, la inadecuada selección de productos y el excesivo uso de plaguicidas, propician la acumulación de grandes cantidades de residuos que llegan a consumirse a través de agua, alimentos contaminados, productos animales (contaminados por bioacumulación), contacto por piel, etc.

Existen diferentes técnicas de biomonitorio, desafortunadamente hay muy pocos métodos directos para medir las mutaciones y otras formas de daño en seres humanos expuestos; uno de ellos es la medida de los grandes cambios en el ADN que pueden ser visualizados en cromosomas, a través de un microscopio óptico, las alteraciones cromosómicas estructurales son producidas por agentes físicos y agentes químicos, resultando en rompimiento y re-arreglo de cromosomas completos de manera anormal, son inducidas eficientemente por aquellos compuestos que rompen el esqueleto (azúcar-fosfato) del ADN como pueden ser la radiación ionizante y agentes químicos radiomiméticos o aquellos que distorsionan significativamente la hélice de ADN como los agentes intercalantes.

Es importante mencionar que estas aberraciones cromosómicas estructurales no solo resultan del rompimiento directo de la doble hélice, también pueden ser el resultado de replicación de ADN dañado, así como de la inhibición de la síntesis de ADN por diferentes

mecanismos como la inhibición de la función de la topoisomerasa II, etc. (Albertini et al., 2000). Estas alteraciones pueden ser inestables (dicéntricos, anillos, fragmentos acéntricos y otros re-arreglos asimétricos) que pueden resultar en la pérdida de material genético en las células hijas y estables (translocaciones balanceadas, inversiones y re-arreglos simétricos) ya que se pueden transmitir a las siguientes generaciones celulares (Carrano y Natarajan 1988, Patiño et al. 2000).

La identificación de marcadores biológicos para el reconocimiento del efecto temprano a la exposición, resulta de utilidad para la evaluación de grupos de riesgo como en el caso del uso de plaguicidas. Estos marcadores son útiles cuando la exposición es por accidente la cual generalmente es aguda y la dosis de exposición es grande, los efectos en los expuestos pueden ser intensos, incluso causar la muerte, así como cuando la exposición suele ser crónica (dosis pequeñas en un periodo de tiempo largo y de manera constante) los efectos en estos individuos pueden ser neoplasias, trastornos en la función reproductiva o incluso en la descendencia (Ceballos-Quintal et al. 2002), existe evidencia epidemiológica y experimental que asocia las aberraciones cromosómicas estructurales y numéricas en el proceso de carcinogénesis (Mitelman 1994, Albertini et al. 2000).

Se han descrito diferentes métodos que son de utilidad, para realizar biomonitoreo citogenético como lo son la técnica de bandas G con tripsina y la tinción cromosómica con Giemsa que son empleadas con el fin de encontrar el nivel de daño genético en sujetos expuestos directa e indirectamente a estos compuestos, este daño puede estar asociado a alguna patología o aumentar la predisposición a cierto padecimiento; estos métodos, son útiles para analizar el genoma completo y sitios específicos en el caso de las bandas G lo que permite el análisis detallado, dicha técnica ha sido ampliamente usada para detectar aneuploidías y anomalías cromosómicas recurrentes en cáncer, un ejemplo de ello fue el descubrimiento del cromosoma Filadelfia asociado con leucemia mieloide crónica (Mitelman y Mertens 1997, Bonassi et al. 2008), además de ser utilizada en diagnóstico prenatal, en poblaciones expuestas a agentes físicos y químicos como pueden ser los compuestos químicos derivados de actividades humanas (plaguicidas, disolventes, etc.) con lo que es posible establecer el daño causado por la exposición a estos compuestos y la probable relación con la incidencia de varias enfermedades, como ha sido sugerido por Bishop (2010) para este tipo de poblaciones.

Las aberraciones cromosómicas estructurales se han usado como biomarcadores de exposición ocupacional o ambiental por más de 30 años para evaluar el daño genotóxico (Mateuca et al. 2012). Se han considerado como un biomarcador de efectos tempranos en la predicción de cáncer ya que suelen ser persistentes y afectan significativamente la integridad cromosómica y por lo tanto la del genoma (Obe et al. 2002, Hagmar et al. 2004, Bonassi et al. 2008).

Se ha visto que aquellas poblaciones ocupacionalmente expuestas a productos químicos genotóxicos tienen una frecuencia mayor de daño cromosómico en sus linfocitos, lo que ha sido demostrado a través del análisis de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (MN), el estudio de aberraciones cromosómicas (AC), el intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y recientemente se ha introducido el ensayo cometa (CO) (Carrano y Natarajan 1988). Sobre estos estudios no solo se ha encontrado la presencia de alteraciones si no también relación entre la exposición a mezclas complejas y la cantidad de daño, así como con el tiempo de exposición, existen otras investigaciones cuyos resultados no evidencian una diferencia considerable en comparación con la población testigo, en cuanto a número y tipo de alteración, lo que puede sugerir por un lado, que los daños ocasionados por la exposición a plaguicidas no fueron tan grandes como para inducir una mutación o que éstos pudieron haber sido reparados eficientemente lo que explicaría la ausencia de aberraciones cromosómicas estructurales y/o numéricas en dichas poblaciones (Bolognesi 2003, Costa et al. 2006, Paiva et al. 2011).

1.1 Biomonitorio de poblaciones expuestas a plaguicidas en México.

En México de 1985-2013 se han llevado a cabo diversos estudios en algunas zonas del país donde se ha establecido el daño causado por la exposición a plaguicidas. Por ejemplo, el realizado en 94 trabajadores agrícolas expuestos a mezclas de insecticidas organofosforados, organoclorados y carbamatos además de fungicidas en el estado de Tlaxcala donde se evaluó el daño a través del intercambio de cromátidas hermanas (ICH) el resultado fue negativo (Gómez-Arroyo et al. 1992), otro realizado en 30 floricultores de

invernaderos expuestos a mezclas de plaguicidas principalmente organofosforados, organoclorados y carbamatos, en el estado de Morelos donde se evaluaron ICH en linfocitos y MN en epitelio bucal cuyo resultado fue positivo (Gómez-Arroyo et al. 2000). Asimismo, en otro estudio llevado a cabo en el Estado de México, se encontraron datos positivos en 52 floricultores de invernadero expuestos a organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides, por medio de CO (Castillo-Cadena et al. 2006), uno más llevado a cabo en 70 trabajadores agrícolas del estado de Sinaloa, expuestos a mezclas de plaguicidas organofosforados, carbamatos y piretroides, donde se evaluaron MN e ICH (Martínez-Valenzuela et al. 2009) cuyo resultado fue positivo, así como otro trabajo en el estado de Guerrero en el que participaron 111 trabajadores agrícolas expuestos a metamidofos, malatión, paratión metilmetomilo, propoxur, cipermetrina, atrazina, compuestos biperidílicos, paraquat, glifosato, entre otros, por medio de MN y CO en células exfoliadas de mucosa oral, con resultados positivos (Carbajal-López et al. 2016). En cuanto a estudios con resultados negativos en México, se realizó un estudio donde se evaluó la frecuencia de MN en sangre de cordón umbilical y sangre periférica en 4 grupos de madres-recién nacidos de diferentes zonas del país; los grupos I y II comprendieron 35 recién nacidos sanos de dos ciudades diferentes, el grupo III lo conformaron 16 recién nacidos vivos de un área agrícola y 15 recién nacidos vivos productos de embarazos de alto riesgo, al comparar las frecuencias entre los 4 grupos, no se encontraron diferencias significativas (Levario-Carrillo et al. 2005).

JUSTIFICACION

En la actualidad se ha corroborado que el empleo de plaguicidas causa daño al ambiente y a los organismos que habitan en él, así como a los seres humanos que se encuentran en contacto con éstos ya sea de forma directa o indirecta, los efectos ocasionados por dicha exposición puede ser acumulado a través de los años; tener manifestaciones en la salud en mayor o menor grado y relacionarse con el desarrollo silencioso de cáncer (Zeljezic y Mladinic 2011); por ejemplo, en el caso del dieldrin (organoclorado) se ha comenzado a relacionar con la incidencia de padecimientos degenerativos como Alzheimer y se ha encontrado como parte de mezclas, en mujeres con cáncer de seno que han estado expuestas a plaguicidas (Boada et al. 2012, Singh et al. 2013), en general los plaguicidas pueden estar asociados a la incidencia de otros padecimientos como diabetes y obesidad (Karami-Mohajeri y Abdollahi 2010).

En México, particularmente la Ciénega de Chapala, es una de las regiones más importantes del estado de Michoacán en cuanto a producción agrícola, (granos, hortalizas y cereales principalmente); el elevado consumo de agentes químicos empleados en la agricultura hace susceptible de daño a las poblaciones expuestas a éstos, lo que puede resultar en algún padecimiento crónico (diabetes, obesidad, cáncer, etc), ello aunado a los pocos estudios de evaluación de riesgo realizados en la región, vuelve importante el desarrollo de trabajos relacionados con dicha exposición, para reducir en la medida de lo posible, el contacto innecesario con estos agentes y por lo tanto el daño que estos ocasionan.

HIPOTESIS

La exposición crónica a plaguicidas en las personas expuestas de manera directa o indirecta en la Ciénega de Chapala es un factor que incrementará la frecuencia de aberraciones cromosómicas estructurales.

OBJETIVOS

1. Objetivo general.

- Detectar el grado de daño citogenético por medio del análisis de aberraciones cromosómicas a través de la tinción de cromosomas con Giemsa en los pobladores expuestos directamente e indirectamente a plaguicidas.

1.1 Objetivos particulares.

- Establecer la posible relación entre el uso de estos compuestos y la frecuencia de aberraciones cromosómicas.
- Conocer por medio de entrevistas epidemiológicas el historial laboral, médico y familiar de los trabajadores agrícolas de la región para determinar prácticas de riesgo, hábitos de trabajo, etc.
- Establecer los posibles efectos del empleo de plaguicidas en la salud reproductiva de los trabajadores agrícolas y sus familias.
- Coadyuvar al conocimiento del empleo potencial de las aberraciones cromosómicas para evaluar el riesgo que implica el contacto con plaguicidas y comprender de mejor manera la importancia de los re-arreglos cromosómicos generados por dicha exposición.

MATERIALES Y MÉTODOS.

1. Descripción de la zona de estudio.

Cojumatlán de Régules se encuentra ubicada al noroeste del Estado de Michoacán, en las coordenadas 20°07' de latitud norte y 102°51' de longitud oeste, a una altura de 1540 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con el Estado de Jalisco, al este con Venustiano Carranza y Sahuayo, al sur Marcos Castellanos, y al oeste con el Estado de Jalisco, su ubicación geográfica se puede observar en la figura 1. Su distancia a la capital del Estado es de 237 Km. Representa el 0.21% de la superficie del mismo.

En el Municipio predominan dos climas: semicálido subhúmedo con lluvias en verano, de menor humedad (43.41% de la superficie municipal) y templado subhúmedo con lluvias en verano, de humedad media (56.59% de la superficie municipal). El rango de temperatura va de 16° a 20°C con una precipitación de 700 a 1000 mm; tiene una vegetación correspondiente a selva (41.44%), pastizal (28.38%) y bosque (6.42%).

Cojumatlán de Régules tiene una población de 9451 habitantes (4986 mujeres y 4465 hombres) (INEGI 2000).



Fig. 1 Mapa del municipio de Cojumatlán de Régules, Michoacán de Ocampo. Tomado de: www.google.com.mx/maps/place/Cojumatlán,+Mich./@20.1166906,-102.8677719,14z/data=!3m1!4b1!4m5!3m4!1s0x842f1c36d7d81397:0x21a5733846018140!8m2!3d20.1158954!4d-102.8543598

Entre sus actividades económicas se encuentra la industria de la producción de forraje para ganado. En cuanto a agricultura se cultiva principalmente: maíz blanco y amarillo, frijol, cebolla, garbanzo, jitomate, col, pepino, calabaza y lechuga, sorgo en grano y para forraje, trigo en grano, limón y avena forrajera; como se aprecia en la figura 2 en el municipio predominan dos tipos de agricultura: de riego y de temporal (INEGI 2007).

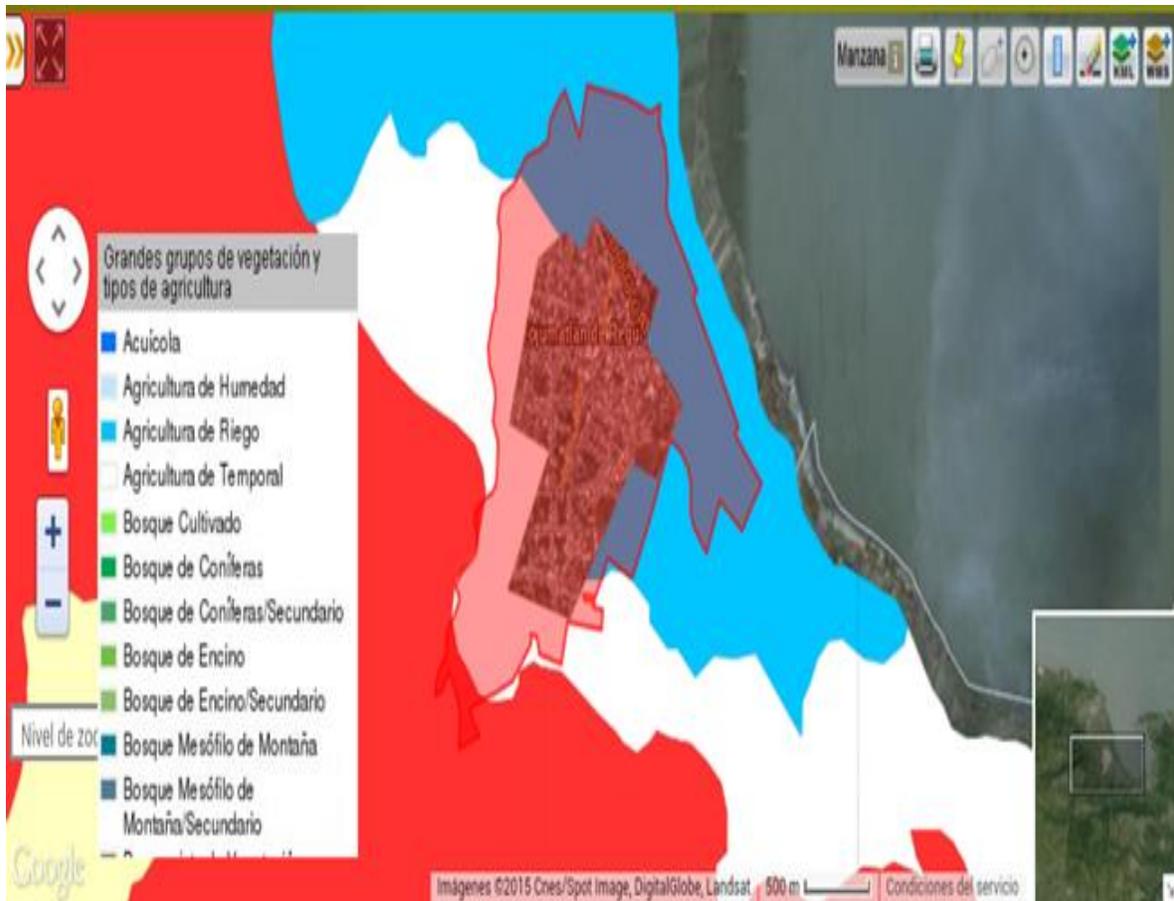


Fig. 2 Mapa de los tipos de agricultura en Cojumatlán de Régules, Michoacán de Ocampo. Tomado de:

<http://www.beta.inegi.org.mx/app/mapa/espacioydatos/default.aspx?ag=16074>

2. Entrevistas y firma de carta de consentimiento informado.

El estudio se llevó a cabo en la población de Cojumatlán de Régules en el estado de Michoacán, en el mes de septiembre de 2014 y julio de 2015 se visitó la localidad, para la toma de muestras de sangre periférica y la realización de las entrevistas (ver anexos 2 y 3), se invitó a participar a una población testigo de condiciones socioeconómicas similares, pero con actividades diferentes y que no estuvieron en contacto con plaguicidas llamada Sahuayo de Morelos. Este estudio se realizó conforme a los principios de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por la Comisión Estatal de Bioética de Michoacán. (ver anexo 1)

Antes de iniciar la toma de muestras, se les comunicó sobre el propósito del estudio y se les solicitó la firma de una carta de consentimiento informado (ver anexos 2 y 3), todo lo anterior se llevó a cabo en las instalaciones del Centro de Salud de la comunidad (SSA).

Dentro de los criterios de inclusión se consideró que fueran personas expuestas directamente (trabajadores agrícolas y personas que tienen huertas en casa y aplican plaguicidas con frecuencia y sin asesoría técnica ni medidas de protección) e indirectamente (con vivienda o lugar de trabajo cerca de campos de cultivo o expuestas a fumigaciones con fines sanitarios por ejemplo contra el Dengue), que aceptaron participar voluntariamente en el estudio. Los criterios de exclusión estuvieron dirigidos a menores de edad, aquellas personas que presenten alguna enfermedad como cáncer y las que manifiesten toxicomanías declaradas.

Una vez que aceptaron se les aplicó un cuestionario que ayudó a caracterizar su forma de trabajo, historia de exposición, actividades laborales, uso de equipos de protección, tiempo de jornadas de trabajo, hábitos alimenticios (patrones de dieta asociados con actividad antioxidante), estilos de vida (ingesta de alcohol, hábito de fumar, toxicomanías, tratamiento a enfermedades como cáncer). (Ver anexos 2 y 3).

A partir de este momento fueron asignados números a cada uno de los individuos, para que el manejo de los datos fuera estrictamente confidencial y sin prejuicios.

3. Toma de muestras.

Una vez que se firmara la carta de consentimiento y la realización de la entrevista, se efectuó la toma de la muestra.

Se colocaron 0.2 mL de heparina (Pisa) en una jeringa nueva, desechable y estéril (en presencia del individuo), se colocó una liga en el antebrazo para ayudar a localizar la vena a puncionar, se limpió la piel de la zona donde se encontró la vena con un algodón con alcohol al 70%, posteriormente se puncionó la vena para obtener 5 mL de sangre periférica.

Las muestras fueron almacenadas con una clave numérica (número de entrevista) en su empaque original, cubiertas de la luz y a temperatura ambiente, para su posterior transporte.

4. Cultivo de linfocitos de sangre periférica.

Para llevar a cabo el análisis de aberraciones cromosómicas, se realizaron cultivos de linfocitos de sangre periférica de los sujetos en cuestión, los cuales fueron de 72 h.

En condiciones de esterilidad se colocaron de 4.5- 5 mL de medio de cultivo RPMI 1640 (Microlab) en tubos cónicos a los cuales se les añadió fitohemaglutinina (Microlab) al 2% y se mantuvieron en congelación hasta su uso.

Se realizó la siembra en condiciones de esterilidad, colocándose de 8-10 gotas de sangre periférica heparinizada en los tubos preparados con anterioridad, la siembra se efectuó por cuadruplicado, posteriormente fueron colocados en una incubadora a 37 °C durante 72 h.

A las 70 h se añadió 0.2 mL de solución de colchicina (GIBCO) a cada tubo y se incubaron hasta completar las 72 h. Posteriormente, los tubos se centrifugaron durante 10 min a 1500 revoluciones por minuto (rpm), se retiró el sobrenadante hasta el inicio del botón, se resuspendió con una pipeta Pasteur, se agregaron 10 mL de solución hipotónica de KCl (0.075M) a 37 °C y se incubaron durante 20 min; a continuación se agregó 1 mL de fijador Carnoy frío y se centrifugaron durante 10 min a 1500 rpm, transcurrido el tiempo, los tubos se sacaron y se eliminó el sobrenadante hasta el inicio del botón y se resuspendió con una pipeta Pasteur, se agregaron 10 mL de fijador Carnoy frío y se mezcló con el botón resuspendido, se centrifugaron los tubos durante 10 min a 1500 rpm, se sacaron y se les quitó el sobrenadante nuevamente se resuspendió el botón, se agregaron 10 mL de fijador Carnoy y se mezcló con el botón resuspendido, se sometieron a centrifugación durante 10 min a 150 rpm (para ver la preparación exacta de cada solución ir al anexo 5), el procedimiento anterior se realizó 3 veces o hasta que el botón se observa blanco y el sobrenadante transparente. Por último, los tubos fueron almacenados en refrigeración hasta la preparación de las laminillas. En el anexo 5 se encuentran las cantidades y formas de preparación de cada una de las soluciones mencionadas con anterioridad.

5. Preparación de laminillas.

Para la realización de las preparaciones, se colocaron los portaobjetos en una mezcla fría de etanol: agua y se mantuvieron en refrigeración, se colocó un baño de agua a temperatura de ebullición, se centrifugaron los tubos y se retiró el sobrenadante dejando 0.5 mL, se resuspendió el botón con una pipeta Pasteur y se reservó, se tomó una laminilla sumergida en la mezcla de etanol: agua y se secó parcialmente, se dejaron caer unas gotas de ácido acético encima, se escurrió un poco sobre una toalla de papel. Posteriormente, se colocaron de 2 a 3 gotas de botón celular, enseguida se expuso al vapor producido por el baño de agua durante 5 segundos, se dejaron caer sobre la laminilla de 2 a 3 gotas de ácido acético y se prosiguió a dejar secar completamente para revisarla al microscopio óptico, se guardaron en una caja para laminillas cubiertas de la luz hasta la tinción de las mismas.

6. Tinción de laminillas.

Para la tinción se colocó un vaso coplin con una solución de colorante Giemsa (SIGMA), otro vaso con agua corriente, se colocaron aproximadamente 10 laminillas por corrida en el vaso coplin de colorante durante 3-5 min, transcurrido el tiempo se enjuagaron en agua corriente y se dejaron secar a temperatura ambiente, por último, se guardaron hasta su análisis al microscopio en cajas para laminillas, cubiertas de la luz. La metodología realizada en los apartados 4 y 6 fue obtenida de Barch (1991).

7. Análisis de aberraciones.

El análisis se realizó bajo clave desconocida por el observador (para evitar prejuicios en el análisis) con un microscopio óptico con un objetivo de 100X en un microscopio óptico (Carl Zeiss Axiostar plus) se registraron 100 metafases de la siguiente manera:

- ✓ Se analizaron 25 metafases por laminilla al azar y se revisaron 4 o más laminillas por individuo.
- ✓ En las primeras 50 metafases se determina el número cromosómico y la pertenencia de cada uno de ellos a sus grupos correspondientes (por tamaño y posición del centrómero), además de verificar si existe alguna aberración como cromosomas dicéntricos, fragmentos acéntricos, cromosomas en anillo, rompimientos cromosómicos, rompimientos cromatídicos y/o cualquier anomalía en la estructura o en el número de cromosomas.
- ✓ Las siguientes 50 metafases se cuentan y se verifica si existe alguna aberración como cromosomas dicéntricos, fragmentos acéntricos, cromosomas en anillo, rompimientos cromosómicos, rompimientos cromatídicos y/o cualquier anomalía en la estructura o en el número de cromosomas.

7.1 índice Mitótico.

Para obtener los índices mitóticos (I. M.) y evaluar el daño citotóxico, se contaron 1000 células de las cuales se analizó si se encontraban en interfase o metafase; posteriormente se aplicó la siguiente formula. I.M.= número de metafases/total de células contadas.

Todos los hallazgos fueron registrados en una bitácora como se muestra en la figura. 3 para cada una de las metafases de manera individual.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	X	Y	ACE	DIC	ANI	R CROM	R CROMAT	COMP CROM			
1	ee	e	e							1	46,XY nl																						
2	ee									46,XX nl																							
3																																	
4																																	
100																																	

Fig. 3. Bitácora de registro de aberraciones cromosómicas y notas adicionales.

8. Análisis estadístico.

Para el análisis estadístico de los índices mitóticos se aplicó la prueba de t de Student en el programa STATISTICA; esta prueba será aplicada de igual manera para los resultados obtenidos de los abortos en ambas poblaciones, proporcionados por los individuos en las entrevistas.

RESULTADOS

A partir de las visitas a la cienéga de Chapala en los meses de septiembre de 2014 y julio de 2015, se trabajó con dos poblaciones: una perteneciente al municipio de Cojumatlán de Régules que correspondía a la población expuesta directamente y se conformó con individuos que se dedican a asperjar y/o recolectar en el campo, se consideraron con exposición indirecta aquellos individuos que viven y/o trabajan cerca de un campo de cultivo o son familiares de trabajadores agrícolas. La población testigo fue integrada por individuos de Sahuayo de Morelos ubicada muy cerca del área de estudio, cuya actividad económica principal es el comercio y no se practica la agricultura en este sitio.

Se realizaron de manera minuciosa un total de 66 entrevistas de las cuales 33 correspondieron a trabajadores agrícolas y 33 a individuos de la población testigo.

1. Entrevistas.

Población expuesta.

La población en contacto con plaguicidas está integrada por un total de 33 individuos cuya distribución por sexo se observa en la figura 4. En la tabla 7 se presentan los datos obtenidos de las entrevistas realizadas, en la que participaron un número mayor de mujeres que de hombres, debido a que el acercamiento a los varones fue más difícil, el promedio de edades para el caso de las mujeres fue de 41.3 años, mientras que para los varones de 38.9 años, el promedio para ambos sexos de 40.2 años.

En un principio, solo se consideró obtener muestras de trabajadores agrícolas, sin embargo, al realizar las entrevistas se obtuvo información importante en cuanto a aquellos individuos que no trabajan en el campo cuya exposición a estos compuestos es por medio de residuos en ropa, de almacenaje de plaguicidas en casa, de visitas periódicas a las tierras laborables, etc., por lo que fue importante saber que sucede con ellos, debido a lo anterior también se

tomaron en cuenta. En este estudio solo se obtuvieron 5 de estos individuos los cuales fueron considerados como expuestos indirectamente.

En cuanto al tiempo de exposición, en el caso de las mujeres fue de 10.4 años, mientras que para los hombres es de 19.8 años, para ambos sexos es de 14.7 años. Se obtuvo información sobre el número de pérdidas gestacionales que presentaron las mujeres en este grupo con un promedio de 0.30 abortos ocurridos antes de la semana 12 de gestación, todos los varones entrevistados, no mencionaron la ocurrencia de abortos de sus esposas.

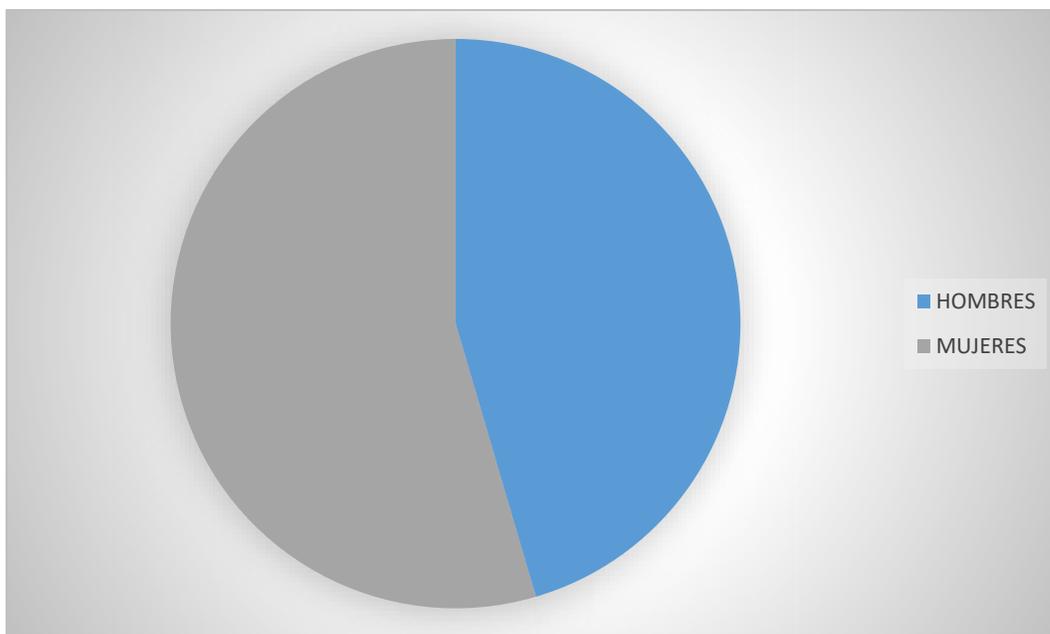


Fig. 4 Distribución por sexo de la población expuesta de Cojumatlán de Régules (18 mujeres y 15 hombres).

Población testigo.

La población testigo perteneciente a la localidad de Sahuayo, está compuesta de un total de 33 individuos de los cuales 24 son mujeres y 9 son hombres como se observa en la figura 5, en la tabla 8 se presentan los datos obtenidos en las entrevistas realizadas a esta población no expuesta, se contó con un número mayor de mujeres que de hombres, el promedio de edades en el caso de las mujeres fue de 42.9 años y para los varones de 44.3 años mientras

que el promedio de edad de la población completa es de 43.3 años. Se obtuvo información sobre el número de pérdidas gestacionales que presentaron las mujeres en este grupo de individuos, cuyo promedio fue de 0.27 abortos ocurridos antes de la semana 12 de gestación. Los hombres entrevistados no mencionaron la ocurrencia de éstos en sus esposas.

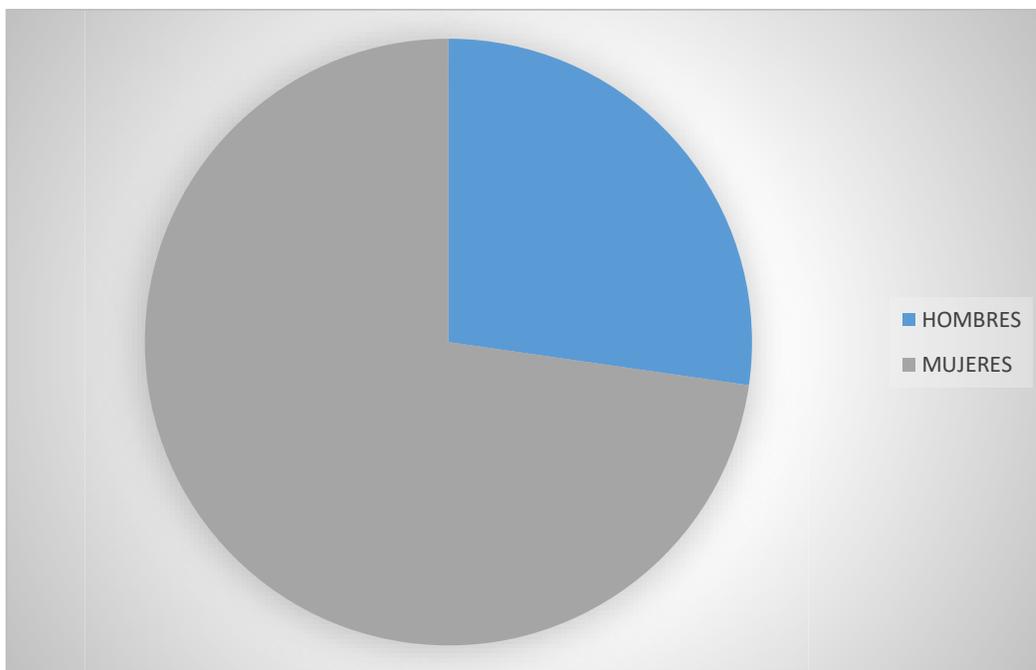


Fig. 5 Distribución por sexo de la población no expuesta de Sahuayo de Morelos (24 mujeres, 9 hombres).

Al realizar el análisis exhaustivo de los datos obtenidos en las entrevistas se registraron un total de 24 diferentes plaguicidas, los cuales fueron agrupados por familia química y por organismo sobre el que actúan (Tabla 5).

Tabla 5. Plaguicidas comúnmente utilizados por los pobladores de Cojumatlán de Régules.

ORGANOCOLORADOS	ORGANOFOSFORADOS	CARBAMATOS	PIRETROIDES	OTROS
INSECTICIDAS				
mirex (1a) ¹	metamidofos (1b)	carbofurán (1b)	cipermetrina (III) ²	fipornil (U)
dieldrin (1a) ¹	malatión (III)	oxamilo (1b)	alfa cipermetrina (U)	fosfuro de aluminio (U)
aldrin (1a) ¹	metil paratión (1a)	metomilo (1b)	permetrina (II) ³	diflobenzuron (U)
endosulfán (II)			beta ciflutrina (1b)	tiacloprid (B1)
			lambda cialotrina (U)	
HERBICIDAS				
				glifosato (U) ³
				paraquat (II) ³
				terbutrina (U)
FUNGICIDAS				
				hidróxido cúprico (U)
				clorotalonil (B1)

¹: IARC (2016): probable carcinógeno para seres humanos (2a).

²: IARC (2016): posible carcinógeno para seres humanos (2b).

³: EPA (2009): probable carcinógeno en seres humanos (B1).

Clasif. WHO (2010): 1a: extremadamente peligroso, 1b: altamente peligroso.

(II): moderadamente peligroso.

(III): ligeramente peligroso.

(U): no presenta riesgo en uso normal.

2. Análisis de aberraciones cromosómicas.

Se cultivaron 66 muestras en total, realizándose de 6 a 8 preparaciones para un total de 500 laminillas de las cuales 4 a 5 de cada caso se procesaron para el análisis de aberraciones cromosómicas; las laminillas que no se procesaron para el análisis de aberraciones cromosómicas fueron almacenadas como respaldo, para ser utilizadas posteriormente de ser necesario.

Se analizaron 6600 metafases encontrándose lo siguiente: 2 rompimientos cromatídicos y un fragmento acéntrico. El individuo número 13: 1 rompimiento cromatídico y un fragmento acéntrico en la misma metafase que se presenta en la figura 6. La metafase del individuo testigo número 7 con un rompimiento cromatídico que se muestra en la figura 7.

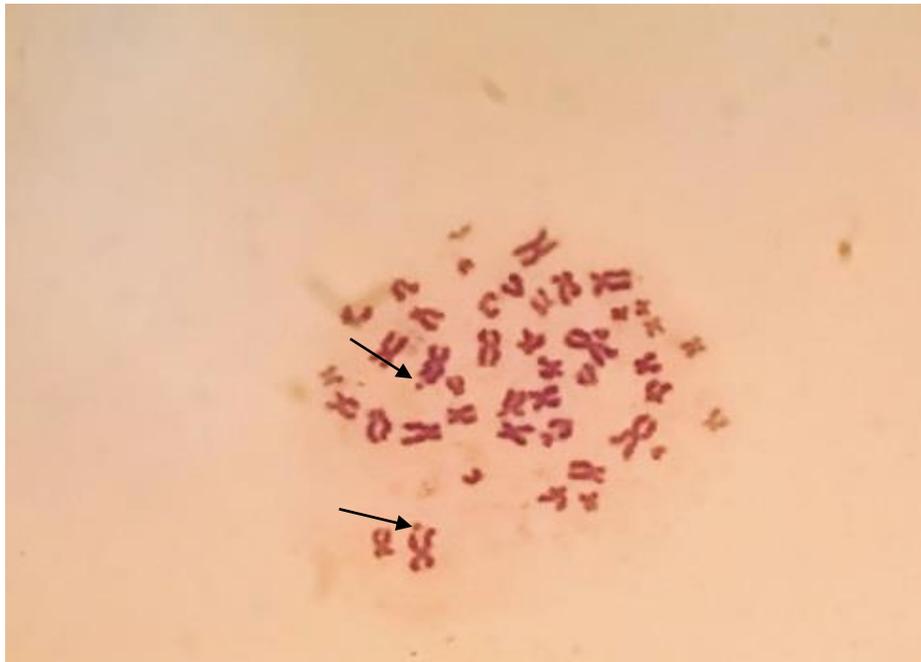


Fig.6. Metafase del individuo con el número 13 de la población testigo donde se pueden observar (señaladas con una flecha) el fragmento acéntrico (parte superior izquierda) y un rompimiento cromatídico (parte inferior izquierda) en 100X.

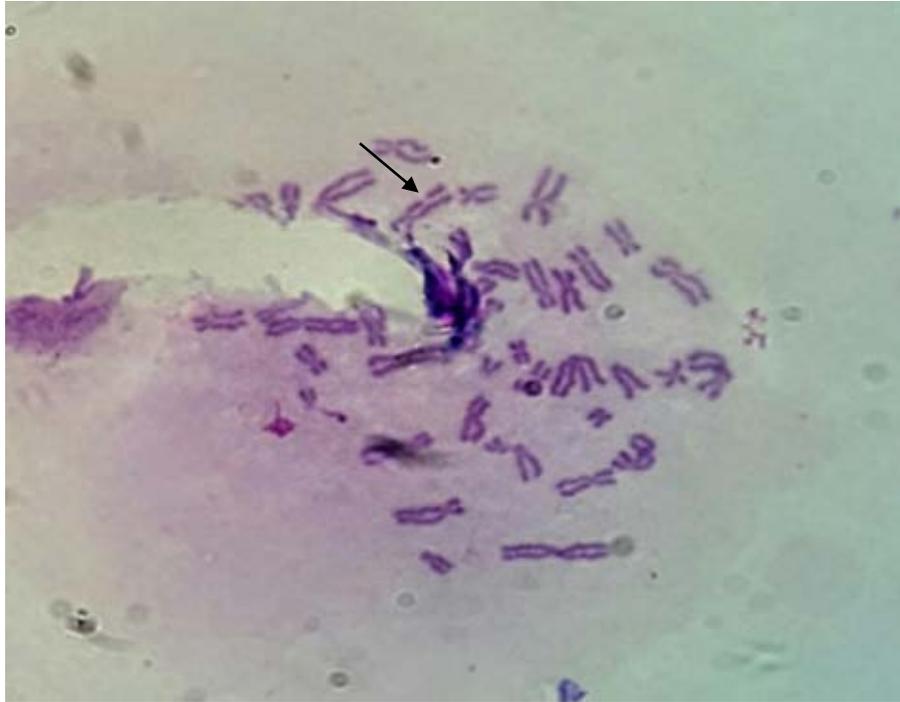


Fig. 7. Metafase del individuo número 7 de la población testigo donde se puede observar (señalado con una flecha) el rompimiento cromatídico (parte superior ligeramente a la izquierda) en 100X.

En la tabla 6 se presentan los resultados del análisis de aberraciones cromosómicas por individuo para la población expuesta, a ésta se anexó la columna donde se indica el Índice Mitótico (I.M.) por individuo cuyo promedio fue de 0.80. En la tabla 7 se presentan los resultados del análisis de aberraciones cromosómicas por individuo para la población no expuesta, en la cual se anexa la columna de I. M. por individuo, cuyo promedio fue de 1.28. Al aplicar la prueba de *t de Student* a los valores de I. M. se observó una $P= 0.011$, por lo que no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa entre los índices de ambos grupos (anexo 4, Tabla 8). Para el caso de los abortos al aplicarse la prueba de *t de Student* a dichos valores se obtuvo una $P= 0.469$ lo cual indica que no hubo diferencia significativa entre los abortos que se presentaron en ambos grupos (anexo 4 Tabla 9).

Tabla 6. Datos de la población expuesta obtenidos de las entrevistas realizadas y resultados del análisis de aberraciones cromosómicas por individuo.

INDIVIDUO	EDAD	TIPO DE EXPOSICIÓN		TIEMPO DE EXPOSICIÓN EN AÑOS	AC		I.M.	ABORTOS
		DIRECTA	INDIRECTA		NEGATIVO	POSITIVO		
MUJERES								
1	24	X		5	X		0.49	0
2	41	X		10	X		1.32	0
3	55	X		5	X		0.87	1
4	54	X		7	X		1.32	1
5	81	X		5	X		0.82	0
6	39	X		5	X		0.78	0
7	41	X		10	X		0.5	0
8	37		X	17	X		0.93	1
9	68	X		10	X		0.74	2
10	30	X		10	X		0.04	0
11	29		X	29	X		0.34	1
12	38	X		5	X		0.28	1
13	29	X		5	X		0.6	1
14	34	X		10	X		0.69	0
15	41	X		5	X		0.38	0
16	55		X	20	X		0.64	1
17	25		X	25	X		0.9	1
18	23	X		5	X		0.75	0
HOMBRES								
19	44	X		24	X		1.84	0
20	40	X		20	X		1.56	0
21	43	X		31	X		1.2	0
22	67	X		60	X		1.32	0
23	28	X		7	X		0.5	0
24	64	X		40	X		0.74	0
25	33		X	8	X		0.84	0
26	31	X		6	X		0.54	0
27	55	X		40	X		0.68	0
28	18	X		14	X		0.33	0
29	24	X		5	X		0.84	0
30	28	X		9	X		0.99	0
31	34	X		19	X		1.32	0
32	30	X		5	X		0.88	0
33	45	X		10	X		0.5	0
PROMEDIOS	40.24			14.727			0.802	0.303

Tabla 7. Datos de la población no expuesta, obtenidos de las entrevistas realizadas y resultado del análisis de aberraciones cromosómicas por individuo.

INDIVIDUO POBLACION TESTIGO	EDAD	ABERRACIONES		I. M.	ABORTOS
		CROMOSÓMICAS			
		NEGATIVO	POSITIVO		
MUJERES					
1	39	X		0.96	1
2	55	X		1.1	1
3	48	X		1.04	0
4	57	X		1.28	1
5	27	X		2.37	0
6	40	X		0.5	1
7	36	X		0.7	0
8	35	X		0.6	0
9	81	X		0.32	1
10	32	X		0.64	0
11	51	X		0.64	2
12	50	X		1.056	0
13	31	X		1.3	0
14	58	X		5.52	0
15	31	X		1.26	0
16	36	X		0.96	1
17	29	X		1.6	1
18	53	X		0.96	0
19	22	X		1.5	0
20	53	X		0.6	0
21	45	X		0.3	0
22	45	X		0.84	0
23	37	X		2.1	0
24	39	X		1.02	0
HOMBRES*					
25	38	X		1.12	0
26	32	X		1.44	0
27	36	X		0.86	0
28	67	X		0.51	0
29	63	X		0.5	0
30	40	X		1.8	0
31	57	X		3	0
32	32	X		2.34	0
33	34	X		1.62	0
PROMEDIOS	43.30			1.283	0.272

DISCUSIÓN

Los plaguicidas constituyen un grupo de compuestos químicos heterogéneo que han sido utilizados para controlar o repeler organismos que son considerados como plagas desde hace décadas, también se han empleado en salud pública y en el mantenimiento de áreas verdes en las ciudades; recientemente se han añadido en las formulaciones de jabones para mascotas e incluso se han encontrado en el material para construcción.

Es innegable el beneficio que su uso trae consigo, pues gracias a ellos se ha evitado en gran medida la transmisión de enfermedades por vectores y ha favorecido el crecimiento económico de estas regiones. Por otro lado, el rápido aumento en la población humana ha tenido el mismo efecto en la producción alimentaria, trayendo como consecuencia la aplicación de plaguicidas y agroquímicos a gran escala, cuya promesa es una mayor producción y menor pérdida causada por plagas y de este modo cubrir la creciente demanda de alimentos a nivel mundial (March 2014). Sin embargo, no solo subsanar la escasez de alimento debe ser tema de preocupación, también lo es el que estos agentes son liberados al ambiente sin ninguna medida de control en los países en vías de desarrollo, lo que produce que no únicamente tengan un efecto sobre los cultivos, ya que los plaguicidas no actúan específicamente sobre los organismos a los que están dirigidos, existen riesgos ambientales y para la salud asociados con la exposición a dichos compuestos por varias rutas (respiratoria, oral, cutánea, etc.) debido a que éstos suelen ser persistentes y además se acumulan en suelos, aguas subterráneas y superficiales (Kumar y Paneerselvam 2008, Kim et al. 2016, Nicoloupoulou-Stamati et al. 2016), aunado a lo anterior en el presente estudio las características geográficas del lugar (situado en una cuenca) permiten que los agentes químicos asperjados permanezcan más tiempo en el ambiente lo que aumenta la exposición a éstos.

A nivel mundial se han realizado diferentes estudios en los que se reportan la presencia de residuos de plaguicidas tanto en su forma comercial como de sus metabolitos en alimentos como el brócoli en su forma cruda, en harina, jugos de frutas, vino, agua, alimentos cocidos, refrescos, así como en productos de origen animal (sobre todo aquellos

compuestos lipofílicos que suelen acumularse en tejido graso) incluso se han encontrado residuos de estas sustancias en leche materna (Cabras y Angioni 2000, Burnett y Welford 2007, Hajjar y Al-Salam 2016, Wanwimolruk et al. 2016), lo que podría constituir otra fuente de exposición en la población de la presente investigación.

Es importante mencionar que en la Ciénega de Chapala donde la actividad principal es la agricultura, se han realizado estudios sobre el tipo de contaminación presente no solo en el agua utilizada para riego de campos de cultivo (proveniente en su mayoría del lago de Chapala), sino también en el suelo confirmándose la presencia de residuos de plaguicidas y otro tipo de contaminantes (Sandoval-Moreno y Ochoa-Ocaña 2010), aumentando así la exposición a plaguicidas y sus metabolitos en dicho lugar.

En la población de Cojumatlán de Régules, además de los factores antes mencionados sobre exposición a estos compuestos, se observó que los individuos no solo están en riesgo por asperjar los campos de cultivo de manera cotidiana, sino también porque en ocasiones son almacenados en lugares concurridos de los hogares como la cocina y bodegas cercanas lo que trae como consecuencia que aquellos miembros de la familia que no se dediquen al campo estén en contacto con estas sustancias, por ello fue necesario considerar a todas aquellas personas expuestas indirectamente a plaguicidas, dentro del presente estudio. Otra condición que se observó durante la investigación en el campo fue que durante la jornada laboral, las medidas de higiene llevadas a cabo por los trabajadores son escasas, casi nulas pues en la mayoría de los casos toman sus alimentos en el sitio de trabajo y al final de la jornada muy pocos de ellos se bañan y se cambian la ropa para llegar a sus hogares, misma que es lavada con toda la ropa de la familia, lo que provoca que los residuos de plaguicidas que se hayan quedado en sus prendas son una fuente de exposición indirecta.

Lo anterior coincide con lo reportado por Ortega y cols. (2014) quienes mencionan las pocas medidas de higiene y de protección de trabajadores de invernaderos en el estado de Puebla, demostrando que estas condiciones laborales aumentan la exposición a plaguicidas y por lo tanto el riesgo de los efectos que puedan causar, por lo que es importante evaluar el daño en estos trabajadores agrícolas, lo anterior sucede ya sea por cultura o por falta de información sobre el riesgo, volviéndose una constante en todos aquellos países en vías de desarrollo que tienen una actividad agrícola importante, existen

investigaciones en donde se ha demostrado que por ejemplo, para el malatión existe una absorción dérmica de residuos de éste y sus metabolitos cuando no se utilizan guantes para la cosecha a mano de la fresa, comprobándose así que la exposición al mismo aumenta cuando se manejan sin medidas de protección (Sankaran et al. 2015).

Un aspecto importante que se observó en la zona de estudio de esta investigación es que los residuos de plaguicidas y sus envases no tienen un manejo adecuado posterior a su uso, ni existe una regulación por ninguna autoridad competente, la mayoría de ellos son abandonados a las orillas de los campos y con frecuencia son reutilizados como envases para servir agua, por ejemplo y otras veces los más grandes son utilizados como boyas en el lago de Chapala, lo que amplía el rango de exposición a estos compuestos a diferentes niveles de la cadena trófica, siendo otra fuente de contaminación por dichas sustancias. Por otro lado, en México existen muy pocos reportes de intoxicaciones provocadas por plaguicidas en trabajadores agrícolas; ya sea por su condición social y/o cultural tienden a minimizar el riesgo para la salud que el contacto con estos compuestos implica, en algunos casos se suele ignorar el peligro al que se enfrentan con dicha exposición.

A nivel mundial, el número de muertes por intoxicación fue de 220 000 en el 2002, según Nigatu y cols. (2016) cerca de 25 millones de trabajadores agrícolas sufren algún episodio de intoxicación cada año. La misma falta de conocimiento técnico sobre el tema trae como consecuencia no solo intoxicaciones como ya se mencionó, también puede afectarse la efectividad de los plaguicidas disminuyendo su acción, lo que hace importante una capacitación continua y a todos los niveles, sobre su uso y manejo (Ortega et al. 2014), misma que en Cojumatlán de Régules no se da, por falta de interés de los trabajadores agrícolas, ya que las empresas comercializadoras y distribuidoras, periódicamente programan jornadas de información y capacitación, sin éxito. Asimismo, se encontró que todos los trabajadores agrícolas participantes en este estudio han presentado síntomas de intoxicación, aunque al realizar las entrevistas y cuestionarlos sobre este fenómeno solo el 20% estaba consciente de ello, el resto solo mencionaron la sintomatología y en algunos casos denominaban a esta condición como “enhierbar”, solo aquellos individuos expuestos indirectamente no presentaron síntomas de intoxicación, sin embargo y a pesar de que en esta investigación los resultados fueron negativos los datos obtenidos son de suma

importancia para estudios posteriores sobre exposición a estos agentes, debido a que al continuar su empleo el riesgo que implica la exposición a plaguicidas podría tener como consecuencia la incidencia de enfermedades crónicas como se discutirá más adelante.

De los datos obtenidos de las entrevistas se observó que la población está expuesta a por lo menos 24 ingredientes activos, sin mencionar los agentes coadyuvantes mismos que son mezclados con los agroquímicos, la composición y aplicación de dichas mezclas dependen de la época del año y del cultivo al que se aplica, la misma condición ha sido sugerida como práctica común en países europeos y algunas regiones de Estados Unidos por Belden y cols. (2007) y por Schreiner y cols. (2016).

De los 24 plaguicidas utilizados en la región solo 3 son considerados como probables carcinógenos en seres humanos por la EPA, (fipronil, glifosato y paraquat), aunque todos los demás plaguicidas no son estimados en esta categoría, existe evidencia de que pueden estar involucrados en ciertas disfunciones celulares como es el caso del paratió (organofosforado) que está asociado con disrupción endocrina importante y de metabolismo de proteínas, carbohidratos y grasas a través de la inhibición de la acetilcolinesterasa, actuando en órganos blanco clave, además de ser causante de estrés oxidante (Karami-Mohajeri et al. 2010). Este compuesto es utilizado en la población de Cojumatlán de Régules, lo anterior sucede de manera general con los carbamatos, que también han sido asociados a problemas en la reproducción y disrupción del metabolismo mitocondrial; existen estudios que relacionan la exposición a plaguicidas con una baja respuesta reproductiva y en algunos casos con la incidencia de abortos recurrentes y problemas de concepción (Toft 2014, Frazier 2007), en un estudio realizado en el estado de Guerrero, Carbajal-López y cols.(2016) encontraron una alta incidencia de abortos espontáneos en las esposas de los trabajadores agrícolas de aquella región, así como de muertes prematuras de infantes, lo cual fue más evidente cuando los individuos se exponían durante dos ciclos agrícolas en el año, por lo que la exposición era mayor que en el presente estudio en el que no se observó una alta incidencia de pérdidas y de muertes de productos en el grupo expuesto cuando fueron comparados con el grupo testigo; cabe señalar que se ha encontrado una asociación entre la exposición a plaguicidas y efectos en la salud

reproductiva de varones, pues se ha demostrado que dicha exposición puede alterar parámetros espermáticos tales como conteo, motilidad, forma, etc. (Michalakis et al. 2014).

Es importante mencionar que también los defectos al nacimiento y la exposición a estas sustancias se encuentran relacionados estrechamente; un ejemplo claro es el caso del “agente naranja” en los años 60, que fue causante de innumerables casos de malformaciones congénitas en individuos que tuvieron contacto con dicha sustancia durante la guerra en Vietnam; recientemente se ha aportado una gran cantidad de evidencia que confirma dicha relación (Weselak et al. 2007), aunque en la población de la presente investigación no se reportó ningún caso de malformaciones.

Lo más preocupante sobre el impacto que los plaguicidas tienen sobre la salud es debido a que se han reportado recientemente innumerables estudios que respaldan la idea de que estos compuestos están asociados a la incidencia y progreso de enfermedades crónicas, que en la actualidad afectan a casi el 60% de la población humana, es importante destacar que los organismos no están expuestos a un solo compuesto, generalmente es a mezclas y en ellas no solo hay plaguicidas, sino también disolventes y sustancias como coadyuvantes que pueden tener un efecto sinérgico en la mezcla y potencializar así el efecto de los mismos o evitar que las plagas ofrezcan una resistencia a éstos (Ortega et al. 2014), lo cual podría tener el mismo efecto en los organismos no blanco y por lo tanto en los seres humanos.

El daño al ADN y la inducción de estrés oxidante producidos por la exposición a plaguicidas se ha propuesto como un posible mecanismo de inicio y progreso de enfermedades y efectos adversos en la salud humana (Kapka-Skrzypczak et al. 2011). La exposición a plaguicidas está asociada a la presencia de enfermedades neurodegenerativas como Alzheimer y Parkinson ya sea por aumentar la susceptibilidad genética interactuando con el material hereditario de sus células o alterando la homeostasis celular interfiriendo con funciones celulares importantes, se han reportado fallas en el metabolismo mitocondrial, que desencadena la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) causantes de favorecer la progresión de las enfermedades neurodegenerativas antes mencionadas (Van Maele-Fabry et al. 2012). En una investigación llevada a cabo por Parron y cols. (2011) se encontró que en áreas donde se usan plaguicidas de manera

cotidiana, hay un elevado riesgo de padecer Alzheimer, en el presente estudio no existen datos sobre este tema, aunque podría ser un objetivo de análisis posteriores en dicha región. En el caso de padecimientos como la diabetes, en los últimos años han surgido reportes que señalan que la exposición a plaguicidas puede ser un factor de riesgo para desarrollar dicha enfermedad (Montgomery et al. 2008, Everett et al. 2010).

En la región de la ciénega de Chapala se ha demostrado que existe una alta incidencia de este padecimiento, en Cojumatlán de Régules hasta 2014 (SSA 2014) la diabetes mellitus 2 fue la tercera causa de morbilidad y mortalidad, un estudio realizado por Ochoa-Ocaña y Pérez-Maldonado (2015) propone que existe una asociación entre el empleo de organoclorados y la incidencia de esta enfermedad, sin embargo el propio diseño del presente análisis no permitió incluir a estos individuos por lo que fue imposible conocer el nivel de daño en el material genético de esta parte de la población, que dados los antecedentes puede ser un objetivo de estudio a largo plazo.

Uno de los padecimientos que más importancia han tomado en las últimas décadas es el cáncer, el cual puede tener diferentes orígenes. Existen estudios que relacionan la exposición a plaguicidas y la incidencia de esta enfermedad desde hace 50 años, aunque recientemente se han asociado distintos tipos de neoplasias a dicha exposición como en cánceres de seno, próstata, pulmón, colorectal, pancreático, de piel y linfoma no Hodgking; para este último incluso se ha identificado la prevalencia de la translocación t(14;18) en jornaleros (Chiu y Blair 2009, Alavanja y Bonner 2012, Mostafalou y Abdollahi 2013).

Como resultado de las entrevistas realizadas a los pobladores de Cojumatlán se pudo conocer que existe una incidencia considerable de cáncer de seno en mujeres, no obstante el hecho de que estos padecimientos presentan una inestabilidad genómica consecuencia de la propia enfermedad y/o su tratamiento, fueron excluidas del estudio, sin embargo sería interesante conocer el estatus de daño a nivel de ADN presente en éste, además de medir residuos de dichos compuestos en sangre, como ha sido reportado por Boada y cols. (2012), cuyo trabajo revela la presencia de plaguicidas organoclorados en el suero sanguíneo de mujeres con cáncer de seno y al respecto en el presente trabajo se observó que en Cojumatlán también se emplean compuestos pertenecientes a este grupo y se han

encontrado presentes en sangre de individuos con Diabetes mellitus 2 (Ochoa-Ocaña y Pérez-Maldonado 2015).

Por otro lado, también hay reportes que han demostrado que compuestos organoclorados como el dieldrin y el aldrín, pueden causar hepatocarcinogénesis en animales de laboratorio, sin que se haya podido comprobar el mismo efecto en seres humanos (Stevenson et al. 1999), lo cual no los excluye de un riesgo latente de padecer enfermedades, ya que por su naturaleza química éstos tienden a acumularse en tejido graso y permanecer ahí por años, dicho tejido abunda en individuos con obesidad cuya incidencia en la población de estudio perteneciente a Cojumatlán también es alta (Ochoa-Ocaña y Pérez-Maldonado 2015), a pesar de los resultados negativos arrojados en el presente estudio, en cuanto a la interacción de plaguicidas con el ADN, el riesgo de padecer enfermedades crónicas debido a dicha exposición sigue latente, ya que como se ha mencionado anteriormente, el inicio y progresión de éstas puede deberse a la falla en funciones celulares importantes y no solo a la interacción de éstos con el material genético.

El análisis de las aberraciones cromosómicas es considerado como relevante y en la actualidad sigue siendo utilizada como una prueba de diagnóstico temprano de riesgo para cáncer en el ser humano, lo que hace importante su estudio en poblaciones expuestas a agentes genotóxicos (Kapka-Skrzypczak et al. 2011). En un estudio anterior realizado en la zona de la ciénega de Chapala se evaluó el nivel de genotoxicidad causado por la exposición a plaguicidas por medio del ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (Muñoz 2016) en el cual se encontraron diferencias significativas entre las poblaciones expuesta y testigo en relación con la frecuencia de micronúcleos por individuo, el hecho de que en dicha investigación no se detectó si estos micronúcleos correspondan a cromosomas completos o fragmentos y dado que en el presente estudio los resultados fueron negativos en cuanto a la inducción de aberraciones cromosómicas estructurales, es posible sugerir que se trata de cromosomas completos que se pueden estar perdiendo por alguna falla en el mecanismo de movimiento cromosómico o problemas con la maquinaria proteica involucrada en tal proceso y formar los micronúcleos observados, estos datos coinciden con los descritos por Joksic y cols. (1997) quienes proponen que los resultados positivos en la prueba de micronúcleos y negativo en aberraciones

cromosómicas, para una misma población puede deberse a que los micronúcleos corresponden a cromosomas completos, más que a aberraciones inestables (rompimientos y fragmentos) ocasionados por la exposición a plaguicidas y por esta razón el resultado en esta prueba de aberraciones cromosómicas sea negativo, es importante mencionar que la comparación de los índices mitóticos (IMs) de ambas poblaciones, arrojó resultados estadísticamente no significativos, este último coincide también con los resultados del estudio de Muñoz (2016) en esta región.

Asimismo, Hoyos y cols. (1996) reportaron de igual manera resultados negativos en la prueba de aberraciones cromosómicas en la población de Cauca, Colombia. En general sus hallazgos indican que no existen efectos citogenéticos relacionados con la exposición a plaguicidas, las condiciones en las que se llevó a cabo el estudio son similares al presente trabajo en la mayor parte de los aspectos tomados en cuenta (número de individuos y condiciones laborales), además hay coincidencia en un compuesto de los utilizados en aquella región en comparación con los empleados en este estudio (paración), el cual es considerado altamente peligroso según WHO (1990) pero tomando en cuenta que es usado en mezclas con otras sustancias, su concentración en éstas debe ser baja, lo que podría soportar la idea sugerida por estos autores en la región de Cauca, quienes mencionan que los resultados negativos se pueden deber a diferentes factores, entre ellos a una exposición a bajas concentraciones de plaguicida. Lo anterior conduce a la necesidad de un monitoreo exhaustivo y constante de las condiciones ambientales y de trabajo de los jornaleros, lo que podría realizarse en la región de Cojumatlán puesto que en diversos reportes a nivel mundial no existe una gran coincidencia de empleo de compuestos utilizados, aunado a esto las diferencias en las condiciones agroclimáticas, al tipo de cultivo y del área a cultivar (Ortega et al. 2014) por lo que el hecho de que no se puedan asperjar los mismos compuestos y/o mezclas, son factores que impiden generalizar cuando se estudia de daño causado por exposición a plaguicidas.

Costa y cols. (2006) reportaron hallazgos negativos con la prueba de aberraciones cromosómicas en la población de Oporto en Portugal expuesta a plaguicidas, en este caso se identificaron coincidencias entre los compuestos utilizados en este sitio y la ciénega de Chapala (endosulfán, lamda-cialotrina, metomilo y glifosato), ninguno de éstos

considerados como altamente peligroso, lo anterior puede sugerir que aquellas sustancias empleadas en estas dos regiones no pueden asociarse a daño a nivel genómico, o que en ambos casos los niveles de exposición no son suficientes para provocarlo. Por otro lado, es importante tomar en cuenta que la sensibilidad de la prueba utilizada puede ser baja y por lo tanto impedir la detección de diferencias pequeñas entre las poblaciones expuesta y no expuesta, lo que podría explicar la razón por la que en el estudio de Muñoz (2016) se encontró una diferencia significativa en el número de micronúcleos en comparación con el presente, lo que coincide también con los resultados de Costa et al. (2006), que muestran resultados positivos cuando la evaluación se realiza por medio del ensayo de micronúcleos e intercambio de cromátidas hermanas y arroja resultados negativos cuando la evaluación se da por medio de aberraciones cromosómicas estructurales (ACe).

Los resultados negativos de ACs en las personas expuestas de Cojumatlán también coinciden con los datos de D'Arce y Syllos Collus (2000) en Brasil en el cual se utilizaron tres de los plaguicidas que se emplearon en la cienega de Chapala (endosulfán, metil paratión y lannate o metomilo).

En otra población mexicana, en el estado de Tlaxcala Gómez-Arroyo y cols (1992) también describen resultados negativos en horticultores expuestos a mezclas de plaguicidas, en este caso la evaluación citogenética se realizó mediante el análisis de intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y al comparar los productos que se emplearon coincidieron malatión, metil paratión y carbofurán. Estos autores concluyeron que los resultados negativos posiblemente fueron debidos a que los individuos estuvieron expuestos a los plaguicidas crónicamente, pero por periodos cortos cada año y el nivel de exposición no fue suficiente para inducir ICH.

CONCLUSIONES

No se observó daño significativo en la población expuesta a plaguicidas (Cojumatlán de Régules) a través del análisis de aberraciones cromosómicas estructurales. No se detectó diferencia entre la población expuesta directamente e indirectamente.

No se estableció una relación entre el uso prolongado de estos compuestos y la frecuencia de aberraciones cromosómicas.

A través de las entrevistas se pudieron obtener datos sobre prácticas comunes en el campo; se comprobó que los trabajadores agrícolas no utilizan suficientes medidas de protección e higiene durante la jornada laboral.

No se estableció relación entre el empleo de plaguicidas y la salud reproductiva de los trabajadores agrícolas y sus familias.

Aunque los resultados en la inducción de aberraciones cromosómicas estructurales hasta el momento fueron negativos, no quiere decir que no exista un riesgo latente, ya que la mayor parte de los individuos estudiados han presentado signos y síntomas de daño causado por los plaguicidas.

Es de suma importancia recomendar a la población expuesta que se deben poner en práctica medidas de protección para evitar daños mayores en un futuro.

REFERENCIAS.

Alavanja M. C., Bonner M. R. (2012). *Occupational pesticide exposures and cancer risk: A review*. J Toxicol Environ Health B Crit Rev 15: 238-263.

Albert L., Aranda E. (1986). *La Legislación Mexicana sobre Plaguicidas. Análisis y Propuesta de Modificaciones*. Folia Entomol Mex 68: 75-87.

Albert L. A. (1996). *Persistent pesticides in Mexico*. Rev Environ Contam Toxicol 147: 1-44.

Albert, L. A. (2005). *Panorama de los plaguicidas en México*. Rev Toxicol. (En línea).
Disponible en: <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf>

Albertini R. J., Anderson D., Douglas G. R., Hagmar L., Hemminki K., Merlo F., Natarajan A. T., Norppa H., Shuker D. E. G., Tice R., Waters M. D., Aitio A. (2000). *IPCS guidelines for the monitoring on genotoxic effects or carcinogens in humans*. Mutat Res 463: 111-172.

Anderson W. A. C., Thorpe S. A., Owen L. M., Anderson S. E., Crews H. M., Reynolds S. L. (2008). *The analisis in cyhexantin residues in apples, pears and kiwi fruit using inductively coupled plasma mass spectrometry as an initial screen for total tin, with confirmation by gas chromatography-mass spectrometry*. Food Addit Contam 3: 288-292.

Badii M. H., Varela S. (2008). *Insecticidas organofosforados: Efectos sobre la salud y el ambiente*. CULCyT 28: 5-17.

Barch M. J. edit. (1991). *The ACT Cytogenetics Laboratory Manual*. 2da ed. Raven Press NY. 625 p.

Belden J. B., Gilliom R. J., Martin J. D., Lydy M. J. (2007). ***Relative toxicity and occurrence patterns of pesticides mixtures in streams draining agricultural watersheds dominated by corn and soy bean production.*** Integr Environ Assess Manag 3: 90-100.

Bishop R. (2010). ***Applications of fluorescence in situ hybridization (FISH) in detecting genetic aberrations of medical significance.*** Biosc Horizons 3: 85-95.

Boada L. D., Zumbado M., Henriquez-Hernandez L. A., Almeida-González M., Alvarez-Leon E. E., Serra-Majem L., Luzardo O. P. (2012). ***Complex organochlorine pesticides mixture as determinant factor for breast cancer risk: a population-based case-control study in Canary Islands (Spain).*** Env Health 11: 1-9.

Bolognesi C. (2003). ***Genotoxicity of a pesticides: a review of human biomonitoring studies.*** Mutat Res 543: 251-72.

Bonassi S., Norppa H., Ceppi M., Strongberg U., Vermeulen R., Znaor A., Cebulska-Wasilewska A., Fabianova E., Fucic A., Gundy S., Hansteen I.L., Knudsen L.E., Latzuka J., Rossner P., Sram R.J., Boffeta P. (2008). ***Chromosomal aberrations frequency in lymphocytes predicts the risk of cancer: results from a pooled cohort study of 22,358 subjects in 11 countries.*** Carcinogenesis 29: 1178-1183.

Bonavía R., Sáenz V., Guitart P., López C., Rodón J., Trilla V., Antonín J. (1991). ***Intoxicación por Paracuat.*** Clin Vet Peq Anim 3: 137-158.

Burnett M., Welford R. (2007). ***Case study: coca-cola and water in India. Episode: 2.*** Corp Soc Responsib Environ Mgmt 14: 298-304.

Cabras P., Angioni A. (2000). ***Pesticides residues in grapes, wine and the processing products.*** J Agric Food Chem 48: 967-73.

Calva L. G., Torres R. M. (1998). *Plaguicidas Organoclorados*. Contactos 30: 35-46.

Carbajal-López Y., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Calderón-Segura M.E., Martínez-Arroyo A. (2016). *Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide mixtures in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronucleus test*. Environ Sci Pollut Res 23: 2513-2520.

Carrano A. V., Natarajan A. T. (1988). *Considerations for population monitoring using cytogenetics techniques*. Mutat Res 204: 379-406.

Carrero J.M., Planes S. (2008) *Plagas del campo*. 13 ed. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 775 p.

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

Ceballos-Quintal J. M., Pinto-Escalante D., Canto-Herrera J. (2002). *Incremento de aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátides hermanas en personas sanas con exposición laboral a rayos X*. Rev Biomed 13: 76-82.

Chiu B. C., Blair A., (2009). *Pesticide, Chromosomal aberrations, and Non-Hodgkin's Lymphoma*. J Agromed 14: 250-255.

COFEPRIS, *Catalogo de plaguicidas. (2004) México*. www.cofepris.gob.mx Recuperado el 15 de Julio de 2016.

Costa C., Teixeira J. P., Silva S., Roma-Torres J., Coelho P., Gaspar J., Alves M., Laffon B., Rueff J., Mayan O. (2006.) *Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides*. Mutagenesis 5: 343-350.

D'Arce L. P. G., Syllós Collus I. M (2000) *Cytogenetic and molecular biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in Brazil*. *Teratogen Carcinogen Mutagen* 20: 167-170.

Everett C. J., Matheson E. M. (2010). *Biomarkers of pesticides exposure and diabetes in the 1999-2004 national health and nutrition examination survey*. *Environ Int* 36: 398-401.

FAO (1995). *Glosario de términos fitosanitarios*. Versión revisada 1995. ROMA. Boletín fitosanitario de la FAO. 38:5-23. <http://www.fao.org/docrep/W3587E/w3587e03.htm> Recuperado el 29 de Mayo de 2016.

FAO. (2002). *Código Internacional de conducta sobre la distribución y utilización de plaguicidas*. Versión revisada. Adoptada en la 123 Sesión del Consejo de la FAO en noviembre de 2002 (reimpresión 2006). Roma. www.fao.org/fileadmin/templates/agphome/documents/Pests_Pesticides/Code/SP_Advertisingfinal10.pdf Recuperado el 18 de Julio de 2016.

Fernández A. D. G., Mancipe G. L. C., Fernández A. D. C. (2010). *Intoxicación por organofosforados*. *Rev Fac Med* 18: 84-92.

Ferrer A. (2003). *Intoxicación por plaguicidas*. *ANALES Sis San Navarra* 26: 155-171.

Frazier L. M. (2007). *Reproductive disorders associated with pesticides exposure*. *J Agromed* 12: 27-37.

García J. E. (1997). *Consecuencias indeseables de los plaguicidas en el ambiente*. *Agro Mesoam* 8: 119-135.

Gómez-Arroyo S., Noriega-Aldana N., Osorio A., Galicia F., Ling S., Villalobos-Pietrini R. (1992). *Sister-chromatid exchange analysis in a rural population of Mexico exposed to pesticides*. Mutat Res 281: 173-179.

Gómez-Arroyo S., Díaz-Sánchez Y., Meneses-Pérez M.A., Villalobos-Pietrini R., De León-Rodríguez J. (2000). *Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides*. Mutat Res 466: 117-124.

Gómez-Arroyo S., Martínez-Valenzuela C., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S. (2011). *Pesticides: Genotoxic Risk of Occupational Exposure, en Stoytcheva M. (ed.)* En: Pesticides – The Impacts of Pesticide Exposure. 1ra ed. InTech Rijeka, Croacia.,458 p.

Gómez-Arroyo S., Martínez-Valenzuela C., Carbajal-López Y., Martínez-Arroyo A., Calderón-Segura M. E., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S. M. (2013.) *Riesgo genotóxico por la exposición a plaguicidas en América Latina*. Rev Int Contam Ambie 29 (número especial sobre plaguicidas) 159-180.

González M. J. F. (2011) *Principios de Toxicología veterinaria*. Laberma. Colombia. 180 p. disponible en: www.issuu.com/laberma/docs/toxicología_veterinaria

Hagmar I., Stromberg U., Bonassi S., Hansteen I., Knudsen I.E., Lindholm C., Norppa H. (2004). *Impact of types of lymphocyte chromosomal aberrations on human cancer risk: results from Nordic and Italian cohorts*. Cancer Res 64: 2258-2263.

Hajjar M. J., Al-Salam A. (2016). *Organochlorine pesticide residues in human milk and estimated daily intake (EDI) for the infants from eastern region of Saudi Arabia*. Chemosphere 164: 643-648.

Handford C. E., Elliott C. T., Campbell K. (2015). *A Review of the Global Pesticide Legislation and the Scale of Challenge in Reaching the Global Harmonization of Food Safety Standards*. Integr Environ Assess Manag 11: 525-536.

Harmonized integrated hazard classification system for humane health and environmental effects of Chemical Substances, OCDE, (1998). www.oecd.org/env/ehs/risk-management/37182285.pdf Recuperado el 18 de Julio de 2016.

Hoyos L. S., Carvajal S., Solano L., Rodríguez J., Orozco L., López Y., Au W. W. (1996). *Cytogenetic monitoring of farmers exposed to pesticides in Colombia.* Environ Health Perspect 104: 535-538.

IARC International Agency for Research of Cancer. (2016). *Organización Mundial de la Salud.* www.monographs.iarc.fr/ENG/classification/index.php Recuperado el 2 de Julio de 2016.

INEGI (2000). *Cojumatlán de Régules estado de Michoacán. Cuaderno estadístico municipal 1999-2000.* www.inegi.org.mx/contenidos/productos//prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/historicos/2104/702825931353/702825931353_1.pdf recuperado el 4 de agosto de 2016.

INEGI (2007). *Censo agrícola, ganadero y forestal.* <http://www3.inegi.org.mx/sistemas/tabuladosbasicos/default.aspx?c=17177&s=est> Recuperado el 4 de agosto de 2016.

Israeli R. MD., Sculsky M. MD., Tiberin P. MD. (1983) *Acute intoxication due to Maneb and Zineb.* Scand J Work Environ Health 9: 47-51.

Joksic G., Vidakovic A., Spasojevic-Tisma V. (1997) *Cytogenetic Monitoring of Pesticides Sprayers.* Environ Res 75: 113-118.

Kapka-Skrzypczak L., Cyranka M., Skrzypczak M., Kruszewski M. (2011) *Biomonitoring and biomarkers of organophosphate pesticides exposure-state of the art.* Ann Agric Environ Med 2: 294-303.

Karami-Mohajeri S., Abdollahi M. (2010) *Toxic influence of organophosphate, carbamate and organochlorine pesticides on cellular metabolism of lipids, proteins and carbohydrates: A systematic review*. Hum Exp Toxicol 30: 1119-1140.

Kettles M. A., Browning S. R., Prince T. S., Horstman S. W. (1997) *Triazine herbicide exposure and breast cancer incidence: an ecologic study of Kentucky counties*. Environ Health Perspect 105: 1222-1227.

Kim K., Kabir E., Jahan S. A. (2016) *Exposure to pesticides and the associated human health effects*. Sci Total Environ 575: 525-535.

Kristoforovic-Ilic M (2004) *Pesticides and the environment*. Med Pregl 52: 523-535.

Kumar L. P., Paneerselvam N. (2008) *Toxic effects of pesticides: A review on cytogenetic biomonitoring studies*. Fact Univ Med Biol 2: 46-50.

Levario-Carrillo M., Sordo M., Rocha F., González-Horta C., Amato D., Ostrosky-Wegman P. (2005). *Micronucleus frequency in human umbilical cord lymphocytes*. Mutat Res 586: 68-75.

Lopez-Carrillo L., Torres-Arreola L., Torres-Sanchez L., Espinosa-Torres F., Jimenez C., Cebrian M., Waliszewski S., Saldate O. (1996). *Is DDT use a public health problem in Mexico?* Environ Health Perspect 104: 584-588.

March G. J. (2014). *Agricultura y plaguicidas. Un análisis global*. 1ra ed. Rio Cuarto, FADA, Fundación Agropecuaria para el Desarrollo de Argentina. 247 p.

Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S., Calderón-Segura M.E., Félix-Gastélum R., Álvarez-Torres A. (2009). *Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa state, Mexico*. Environ Int 35: 1155-1159.

Mateuca R.A., Decordier I., Kirsch-Volders M. (2012). *Cytogenetics methods in human biomonitoring: principles and uses. En: Genetic Toxicology: Principles and Methods, in Molecular Biology.* (J.M. Parry y E.M. Parry, Eds.). Springer, p. 305-333.

Michalakis M., Tzatzarakis M. N., Kovatsi L., Alegakis A. K., Tsakalof A.K., Eretis I., Tsatsakis A. (2014). *Hypospadias in offspring is associated with chronic exposure of parents to organophosphate and organochlorine pesticides.* Toxicol Lett 230: 139-145.

Mitelman F. (1994). *Chromosomes, genes and cancer.* CA Cancer J Clin 44: 133-135.

Mitelman F., Mertens F., Johansson. (1997). *A break point map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia.* Nature (Genetics) 15: 417-474.

Montgomery, M. P., Kamel F., Saldana T. M., Alavanja M.C., Sandler D. P. (2008). *Incident diabetes and pesticide exposure among licensed pesticides applicators: Agricultural Health Study, 1993- 2003.* Am J Epidemiol 167: 1235-1246.

Mostafalou S., Abdollahi M. (2013). *Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives.* Toxicol Appl Pharmacol 268: 157-177.

Muñoz J. Z. (2016). *Evaluación de daño genético ocasionado por plaguicidas en una población expuesta de la Ciénega de Chápala, Michoacán, México.* (tesis de licenciatura) Facultad de Ciencias, UNAM. Ciudad de México, 50 p.

Nicolopoulou-Stamati P., Maipas S., Kotampasi C., Stamatis P., Hens L. (2016). *Chemical pesticides and human health: the urgent need for a new concept in agriculture.* Front Public Health 148: 1-8.

Nigatu A. W., Bratveit M., Moen B. E. (2016). *Self- reported acute pesticides intoxications in Ethiopia.* BMC Pub Health 16: 1-8.

Obe G., Pfeiffer P., Savage J.R.K., Johannes C., Godecke W., Jeppesen P., Natarajan A.T., Martínez-López W., Folle G.A., Drets M.E. (2002). *Chromosomal aberrations formation, identification and distribution*. Mutat Res 504: 17-36.

Ochoa-Ocaña M.A., Pérez-Maldonado I.N. (2015). *Plaguicidas organoclorados, su asociación a la presencia de Diabetes mellitus 2 en Cojumatlán de Régules, Michoacán*. (artículo en publicación).

OMC (1994). *Acuerdo sobre los aspectos de los derechos sobre la propiedad intelectual relacionada con el comercio*. Ginebra, Organización Mundial del Comercio. www.two.org/english/docs_e/legal_e/final_e.htm Recuperado 29 de Mayo de 2016.

OMS (1992). *Consecuencias sanitarias del empleo de plaguicidas en la agricultura*. Organización Mundial de la Salud. Ginebra. 128 p.

Ongley E. D. (1997). *Lucha contra la contaminación agrícola de los recursos hídricos*. Estudio FAO riego y drenaje-55 GEMS/Water collaborating Center Burlington Canada. 115 p.

OPS OMS Organización Panamericana de la Salud. (2009). *Características de plaguicidas organoclorados*. www.paho.org/bvsacd/eco/033965/033965-02-A1.pdf Recuperado el 24 de julio de 2016.

Ortega L. D., Martínez C., Huerta de la Peña A., Ocampo J., Sandoval E., Jaramillo J. L. (2014). *Uso y manejo de plaguicidas en invernaderos de la región norte del estado de Puebla, México*. Act Univ 24: 3-12.

Paiva J.C., Cabral I.O., Soares B.M., Sombra C.M., Ferreira J.R., Moraes M.O., Cavalcanti B.C., Pessoa C. (2011). *Biomonitoring of rural workers exposed to a complex mixture of pesticides in the municipalities of Tianguá and Ubajara (Ceará state, Brazil): genotóxico and cytogenetic studies*. Environ Mol Mutagen 52: 492-501.

PAN International (2014). *List of highly hazardous pesticides. Pesticide Action Network International*. www.pan-germany-org/download/PAN_PAP_List_090116.pdf Recuperado el 26 de Julio de 2016.

Parron T., Requena M., Hernández A. F., Alarcón R. (2011). *Association between enviromental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases*. Toxicol Appl Pharmacol 256: 379-385.

Patiño A., López R., Sierrasesúmaga L. (2000). *Alteraciones genéticas inducidas por los tratamientos antitumorales en pacientes pediátricos con cáncer*. ANALES Sis San Navarra 1: 7-17.

Pérez L. E. (2012). *Plaguicidas botánicos. Una alternativa a tener en cuenta*. Fitosanidad 16: 51-59.

Pretty J. (2008). *Agricultural Sustainability concepts, principles and evidence*. Phil Trans R Soc B 363: 447-465.

Ramírez J.A., Lacasaña M. (2001). *Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición*. Arch Prev Riesgos Labor 4: 67-75.

Reigarth J. R. M.D., Roberts J. R. M. D. M.P.H. (1999). *Reconocimiento y manejo de los envenenamientos por pesticidas*. 5ta ed. Pp. 72-83. Disponible en: www.epa.gov/pesticides/safety/healthcare

Rogg H. W. (2000). *Manual de entomología agrícola de Ecuador*. Ediciones ABYA-YALA. Quito Ecuador. 685 p.

Sandoval-Moreno A., Ochoa-Ocaña M. A., (2010). *Grupos locales, acceso al agua y su problemática de contaminación en la ciénega de Chapala, Michoacán*. Econon Soci Territ 34: 683-719.

Sankaran G., Chen L., Chen Z., Liu Y., Lopez T., Ross J., Phagura S., Eastmond D., Krieger R. (2015). *The importance of hand exposures to absorbed dosage of hand harvesters*. J Toxicol Environ Health Part A 78: 1369-1383.

Schmidt-Bleek F., Marchal M.M. (1993). *Comparing regulatory regimes for pesticide control in 22 countries: Toward a new generation of pesticide regulation*. Regul Toxicol Pharmacol 17: 262-281.

Schoijet M. (2011). *La problemática de los plaguicidas químicos: elementos históricos y actuales*. Seg época 10: 53-68.

Schreiner V. C., Szöcs E., Bhowmik A. K. Vijver M. G., Scäfer R. B. (2016). *Pesticide mixtures in streams of several European countries and the USA*. Sci Tot Environ 573: 680-689.

Secretaría de Salud. Jurisdicción Sanitaria Núm. 2 Zamora, Michoacán. México: Reportes Epidemiológicos Anuales, 2014.

Silva A. G., Lagunes T. A., Rodríguez M. J. C., Rodríguez L. D. (2002). *Insecticidas vegetales, una vieja y una nueva alternativa para el manejo de plagas*. Manej Int de Plag y Agroecol (Costa Rica) 66: 4-12.

Singh N., Chhillar N., Banerjee B., Bala K., Basu M., Mustafa M. (2013). *Organochlorine pesticide levels and risk of Alzheimer's disease in north Indian population*. Hum Exp Toxicol 32: 24-30.

Smith, E.H. & Kennedy, G.G. (2002). *History of Pesticides, in: Encyclopedia of Pest Management*. Pimentel D. (Ed.), 0824706326, p. 376-380, Taylor & Francis, Londres.

Smith, A. F., Secoy, D.M. (1975). *Forerunners of pesticides in classical Greece and Rome*. Agric Food Chem 6: 1050. FALTAN PÁGINAS

Stevenson D. E., Walborg Jr. E. F., Warner North D., Sielken Jr. R. L., Ross C. E., Wright A. S., Xu Y., Kamendulis L. M., Klaunig J. E. (1999). *Monograph: Reassessment of human cancer risk of aldrin/dieldrin*. Toxicol Lett 109:123-186.

The WHO recommended classification of pesticides by hazards and guidelines to classification (2010). WHO Library Catalogue-in-Publication Data, 81 p.

Toft G. (2014). *Persistent organochlorine pollutants and human reproductive health*. Dan Med J 61: 4967.

Vale J. A. (1998). *Toxicokinetic and toxicodynamic aspects of organophosphorus (OP) insecticide poisoning*. Toxicol Lett 28: 649-652.

Van-Maele Fabry G., Hoet P., Vilain F., Lison D. (2012). *Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: a systemic review and meta-analysis of cohort studies*. Environ Int 46: 30-43.

Wanwimolruk S., Phopin K., Boonpangrak S., Prachayasittikul V. (2016). *Food safety in Thailand 4: comparison of pesticide residues found in three commonly consumed vegetables purchased from local markets and supermarkets in Thailand*. PeerJ 4:2432 1-23.

Weselak M., Arbuckle T. E., Foster W. (2007). *Pesticides exposures and developmental outcomes: the epidemiological evidence*. J Toxicol Environ Health B Crit Rev 10: 41-80.

World Health Organization. (1988). *Dithiocarbamate Pesticides Ethylenethiourea, and Propylenethiourea: A General Introduction. Environmental Health Criteria 78. Geneva: World Health Organization*, pp. 17–102.

WHO. *Public Health Impact of Pesticides Used in Agriculture. Ginebra: WHO 1990.*
<http://www.who.int/heli/risks/toxics/chemicals/en/index.htm>

Yúfera, P. (1977). *Tecnología de los grupos Alimenticios, Química Agrícola II.* En P. Yúfera, Plaguicidas y Fitorreguladores. Alhambra, Madrid, 640 p.

Zeljezic D., Mladinic M. (2011). *Novel approaches in genetic toxicology of pesticides applying fluorescent in situ hybridization technique.* En: *Pesticides- The Impact of Pesticide Exposure.* M. Stoytcheva (Ed.). Intech, Rijeka, Croacia, pp. 277-302.

ANEXO 1



Gobierno del Estado
de Michoacán de Ocampo

Sub-dependencia **CEBM**
Oficina
No. de oficio **107/16**
Expediente
Asunto: **COMISIÓN OFICIAL**

PRESIDENTE

DRA. SILVIA
HERNÁNDEZ CAPI
SECRETARIO TÉCNICO
DR. J. DANIEL HERRERA
GUZMÁN

Morelia Michoacán a 19 de diciembre de 2016

DR. EDUARDO ALEJANDRO LÓPEZ SÁNCHEZ
COORDINADOR DE LA UNIDAD ACADÉMICA
DE ESTUDIOS REGIONALES UNAM JIQUILPAN MICHOACÁN.
P R E S E N T E

VOCALÍAS:

IMSS
ISSSTE
COLÉGIO DE MÉDICO
U.M.S.N.H.
* FAC. DE FILOSOFÍA
"Dr. Samuel Ramos"
* FAC. DE CIENCIAS
MÉDICAS Y BIOLÓGICAS
"Dr. Ignacio Chávez"
* FACULTAD DE
DERECHO Y C.S
* FACULTAD DE
ODONTOLOGÍA
* FACULTAD DE
MEDICINA,
VETERINARIA Y
ZOOTECNIA
* ESCUELA DE
LICENCIATURA EN
ENFERMERÍA

Por medio de la presente le informamos que han sido aprobados los proyectos de investigación denominados "Evaluación de daño genotóxico ocasionado por plaguicidas en una población ocupacionalmente expuesta de la ciénega de Chapala, Michoacán, México" a cargo de la Dra. María Antonieta Ochoa Ocaña y la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo. Así como el proyecto "Obesidad y Diabetes mellitus asociadas a la presencia de residuos de compuestos organoclorados en población adulta de la Ciénega de Chapala, Michoacán. Una perspectiva biosocial". Por lo anterior, esta Comisión, no tiene objeción alguna para que se realicen dichas investigaciones ya que no se encontraron consideraciones éticas que afecten a los participantes de los mismos.

Sin más por el momento agradezco la atención prestada y me despido enviándole un cordial saludo.

ATENTAMENTE


DR. J. DANIEL HERRERA GUZMÁN
SECRETARIO TÉCNICO DE LA CEBM
DIRECTOR DEL CEMISAM

C.c.p. CEBM
JDHG*mary



"2015, Bicentenario Luctuoso de José María Morelos y Pavón, Siervo de la Nación"

Michoacán #EstáEnTi

ANEXO 2

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA INVESTIGACIÓN

Por medio de la presente, 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 de descamados de la mucosa oral que será practicado el día _____ del mes de _____ del año _____ a las _____ hrs. 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 informo que no tiene riesgo para mi salud, ya que consiste en la toma de una muestra sanguínea de 5ml 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 solo él (ella) reciba información sobre el resultado del procedimiento.

Nombre y Firma

HISTORIA CLÍNICA Y CUESTIONARIO PARA POBLACIÓN LABORALMENTE EXPUETA

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: _____ Estatura: _____ Peso: _____
(Día/mes/año) (Años)
 Lugar de nacimiento: _____
(municipio y estado)
 Residencia: _____ Tiempo de residencia: _____

DIRECCION Y/O TELEFONO:

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 () Cuantos (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 cuanto 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 GINECOBISTRICOS.

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: Si () No ()
 Enfermedades congénitas: Si () No ()
 Nacimiento prematuro: Si () No () Meses de gestación: _____
 Muerte dentro de las primeras 48 horas de vida: Si () No ()
 Causa: _____
 Tuvo o tiene alguna dificultad para embarazarse: Si () 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 cuántas 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, Lt)

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: Si () No ()

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

Cuántas veces: _____

• REVISAR LA TABLA DEL FINAL PARA SÍNTOMATOLOGÍA

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 () Da 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:

SINTOMAS	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:		

ANEXO 3

CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA INVESTIGACIÓN

Por medio de la presente, 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 de descamados de la mucosa oral que será practicado el día _____ del mes de _____ del año _____ a las _____ hrs. 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 informo que no tiene riesgo para mi salud, ya que consiste en la toma de una muestra sanguínea de 5ml 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 solo él (ella) reciba información sobre el resultado del procedimiento.

Nombre y Firma

HISTORIA CLÍNICA Y CUESTIONARIO PARA POBLACIÓN TESTIGO

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)

Lugar de nacimiento: _____ (Municipio y estado)

Residencia: _____ Tiempo de residencia: _____

ANTECEDENTES FAMILIARES

- Padre: Vivo () Finado ()

Causa de la muerte: Enf. del Corazón () Enf. Respiratoria () Cáncer ()

Diabetes () Otra (especifique): _____

Ocupación del padre: _____

- Madre: Viva () Finada ()

Causa de la muerte: Enf. del Corazón () Enf. Respiratoria () Cáncer ()

Diabetes () Otra (especifique): _____

Ocupación de la madre: _____

- Hermanos: Si() No() Cuantos (No. _____) Sanos (No. _____)

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

--	--

• Con quien vive actualmente: _____

Desde hace cuanto 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: _____

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 ()

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: _____

* Criterio de exclusión

ANTECEDENTES GINECOBSTRICOS.

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: Si () No ()

Enfermedades congénitas: Si () No ()

Nacimiento prematuro: Si () No () Meses de gestación: _____

Muerte dentro de las primeras 48 horas de vida: Si () No ()

Causa: _____

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

Conoce el motivo: _____

ANTECEDENTES LABORALES

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 () hidrocarburos () asbestos ().

NOTAS ADICIONALES.

ANEXO 4

Tabla 8. Datos obtenidos del programa STATISTICA al comparar los valores de I.M. de la población expuesta vs. I. M. de la población testigo.

Group 1 vs. Group 2	Mean Group 1	Mean Group 2	t-value	df	p	Valid N Group 1	Valid N Group 2	Std.Dev. Group 1	Std.Dev. Group 2	F-ratio Variances	p Variances
I.M.E vs. I.M.T	0.802121	1.283515	-2.60230	64	0.011493	33	33	0.394151	0.986876	6.269033	0.000001

Tabla 9. Datos obtenidos del programa STATISTICA al comparar los valores de abortos (AB) de la población expuesta vs. abortos (AB) de la población testigo.

Group 1 vs. Group 2	Mean Group 1	Mean Group 2	t-value	df	p	Valid N Group 1	Valid N Group 2	Std.Dev. Group 1	Std.Dev. Group 2	F-ratio Variances	p Variances
AB.E vs. AB.T	0.303030	0.272727	0.235294	64	0.814732	33	33	0.529437	0.516764	1.049645	0.891844

ANEXO 5

MEDIO DE CULTIVO PARA LINFOCITOS.

500 ml de medio RPMI1640 (microlab).

10 ml de fitohemaglutinina PHA (microlab).

En condiciones de esterilidad agregar la fitohemaglutinina (PHA) a el medio y mezclar bien. Se vacían 4.5-5 ml del medio preparado en un cada tubo cónico y estos se guardan en congelación hasta su uso, con su respectiva etiqueta que debe contener de que sustancia se trata, nombre de quien preparó y fecha de elaboración.

SOLUCIÓN HIPOTÓNICA DE KCL (0.075M)

2.796 g. de KCl

500 ml de H₂O desionizada.

En un matraz aforado colocar el agua y añadir el KCl, mantener en agitación hasta que se disuelvan todos los cristales, tomar solo lo necesario cada vez que se utilice y poner a 37°C, el restante se debe mantener a T. A. se debe revisar que no se le formen cristales, Se debe desechar a los 6 meses. Debe tener una etiqueta que contenga lo que es, quien lo preparo y fecha de elaboración.

COLCHICINA (SOLUCION DE TRABAJO)

0.005 g. de colchicina en polvo.

25 ml de solución salina inyectable.

Mezclar la colchicina con la solución salina, hasta que se disuelva y conservar en congelación en dos o tres recipientes separados, descongelar cada vez que se use. Debe colocarse en condiciones de esterilidad. Debe tener etiqueta que diga que contiene, nombre de quien preparó y fecha de elaboración. Se debe desechar a los 6 meses.

FIJADOR CARNOY FRESCO.

75 ml de metanol absoluto.

25 ml de ácido acético glacial.

En un frasco de cristal, mezclar el ácido acético y el metanol, mantenerlo en refrigeración antes y durante su uso, este fijador está preparado en una proporción 3:1 pero puede prepararse en proporciones 5:2 e incluso 1:1.

AMORTIGUADOR SORENSEN.

6.63 g KH_2PO_4

2.56 g Na_2HPO_4

1000 ml de H_2O desionizada

En un recipiente de cristal, mezclar todos los reactivos y mantener en agitación hasta que se disuelvan todos los cristales. Ajustar Ph 7 mantener a T. A. con etiqueta que diga que es, quien lo preparo y cuando se elaboró. Se debe desechar a los 6 meses o cuando comiencen a formarse cristales.

COLORANTE GIEMSA (SOLUCION DE TRABAJO)

10 ml de colorante Giemsa

40 ml de amortiguador sorensen.

Mezclar el amortiguador con el colorante filtrado, una vez hecha la mezcla con un papel filtro quitar la primera capa de colorante seco cada 30 min. Preparar cada vez que se use y mantener cubierto de la luz.