



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

---

---

**POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS  
Instituto de Geología**

**EVALUACIÓN DEL DAÑO GENOTÓXICO EN PERSONAS  
OCUPACIONALMENTE EXPUESTAS A PLAGUICIDAS EN LAS GRULLAS,  
MUNICIPIO DE AHOME, SINALOA**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
**D O C T O R A E N C I E N C I A S**  
P R E S E N T A:

María del Carmen Martínez Valenzuela

DIRECTORA DE TESIS: DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO.

MEXICO, D. F.

OCTUBRE DE 2009.



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

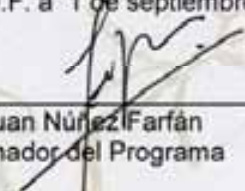
Dr. Isidro Ávila  
Director General de Administración Escolar, UNAM  
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 29 de junio del 2009, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** de la alumna **MARTÍNEZ VALENZUELA MARÍA DEL CARMEN** con número de cuenta **505017538** con la tesis titulada: **"EVALUACIÓN DEL DAÑO GENOTÓXICO EN PERSONAS OCUPACIONALMENTE EXPUESTAS A PLAGUICIDAS EN LAS GRULLAS, MUNICIPIO DE AHOME, SINALOA"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO**:

Presidente:	DR. RAFAEL VILLALOBOS PIETRINI
Vocal:	DR. LUIS FELIPE JIMÉNEZ GARCÍA
Vocal:	DR. MARIO AGUSTÍN ALTAMIRANO LOZANO
Vocal:	DRA. JUDITH ISABEL GUZMÁN RINCÓN
Secretario:	DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO
Suplente:	DR. ADALBERTO EMILIO PIMENTEL PEÑALOZA
Suplente:	DR. STEFAN MARIAN WALISZEWSKI KUBIAK

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

**Atentamente**  
**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**  
Cd. Universitaria, D.F. a 1 de septiembre de 2009.

  
Dr. Juan Núñez Farfán  
Coordinador del Programa

c.c.p. Expediente de la interesada.

COMITÉ TUTORAL:

DRA. SANDRA GOMEZ ARROYO  
DR. RAFAEL VILLALOBOS PIETRINI  
DR. STEFAN WALISZEWSKI KUBIAK

Tesis desarrollada dentro del departamento de Citogenética Ambiental del Centro de Ciencias de la Atmósfera, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Durante el desarrollo de esta investigación se recibió apoyo por parte del PROMEP como becaria con número de folio UOCC-116

## Agradecimientos

La elaboración de una tesis es un proceso arduo que requiere mucho tiempo y esfuerzo, no solo de quien la realiza sino también de la gente que le rodea, es por esto y mucho más que quiero hacer un especial agradecimiento a todas aquellas personas que me han apoyado durante estos años y gracias a las cuales este trabajo ha sido posible.

Mi agradecimiento a la directora de esta tesis la Dra. Sandra Gómez Arroyo, por la oportunidad de iniciarme en la investigación por sus enseñanzas, su ejemplo, su dedicación, su apoyo y por su amistad...Gracias

Mi agradecimiento al Dr. Rafael Villalobos y al Dr. Stefan Waliszewski por sus enseñanzas y por sus invaluable apoyos en la realización de esta tesis.

Agradezco también a la Dra. Judith Guzmán, al Dr. Luis Felipe Jiménez, Dr. Mario Altamirano y Dr. Emilio Pimentel por sus valiosas aportaciones en la revisión de esta tesis

Agradecer también la colaboración de todas las integrantes del grupo de Citogenética y Ambiental del CCA-UNAM, Dra. MariaElena gracias por tu ayuda, Dra. Marycarmen, Dra Jose, Isabel, Sra. Emma, Luzma, Vicky, Tere, mi profundo agradecimiento por su apoyo incondicional. Gracias Gaby Diego.

Y a mi familia que puedo decirles, después de todo es gracias a ustedes que estoy aquí, gracias Mamá (Natita te quiero, gracias por tu amor y ejemplo) y a mis hermanos Her, Sofy, Rox, Cesar, Lety, Manolo gracias por apoyarme todos estos años y darme todo a cambio de nada, los quiero.

Gracias Papá nunca te has ido, te llevo en mi corazón siempre.

Gracias José por apoyarme, hacerme sonreír y estar a mi lado siempre.....gracias por existir.

A mis hijos, José de Jesús, Marycarmen y Luis Mario gracias por apoyarme desde su mundo pequeñito son gigantes y extraordinarios, los amo...gracias

Gracias Sr. José Huichapan Vázquez, por su apoyo y amor hacia mi familia

Agradezco a mis amigos y compañeros de la U de O, Vicente López Portillo, Rosario Talamantes, Isidoro Beltrán, Rubén Félix, Alfredo Hernández, Alan Falomir, Haydee Fernández, Manolo, Arlene, Carlos Ibarra, Vero Hamazaki, Cecy, Pilar, Aby, Lety, Flor, Magda, Patricio, Don Panchito, Manolo, Malena, Erika, Esperanza.

## INDICE DE CONTENIDOS.

<b>1</b>	<b>RESUMEN .....</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>ABSTRACT .....</b>	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
	<b>3.1 Exposición ocupacional .....</b>	<b>4</b>
	<b>3.2 Clasificación de los plaguicidas .....</b>	<b>6</b>
	<b>3.2.1 Organoclorados.....</b>	<b>7</b>
	<b>3.2.2 Organofosforados .....</b>	<b>7</b>
	<b>3.2.3 Carbamatos.....</b>	<b>8</b>
	<b>3.2.4 Piretroides.....</b>	<b>9</b>
	<b>3.2.5 Triazínicos.....</b>	<b>9</b>
	<b>3.3 Deriva de las aspersiones aéreas de plaguicidas .....</b>	<b>10</b>
	<b>3.4 Normatividad sobre el uso de plaguicidas en México y su escasa Operatividad .....</b>	<b>11</b>
	<b>3.5 Efectos de los distintos plaguicidas sobre la salud .....</b>	<b>13</b>
	<b>3.6 Biomarcadores utilizados para biomonitoreo citogenético de poblaciones expuestas a plaguicidas .....</b>	<b>15</b>
	<b>3.6.1 Biomarcadores empleados en este estudio .....</b>	<b>16</b>
	<b>3.6.1.1 Intercambio de Cromátidas Hermanas (ICH).....</b>	<b>16</b>
	<b>3.6.1.1.1. Mecanismos de formación de ICH .....</b>	<b>18</b>
	<b>3.6.1.2 Micronúcleos .....</b>	<b>21</b>
	<b>3.6.1.2.1 Características que deben cumplir los micronúcleos .....</b>	<b>23</b>
	<b>3.7 Otras anomalías nucleares (AN) .....</b>	<b>24</b>
<b>4</b>	<b>JUSTIFICACIÓN.....</b>	<b>26</b>
<b>5</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>27</b>
	<b>5.1 Objetivo general .....</b>	<b>27</b>
	<b>5.1.1 Objetivo particular I.....</b>	<b>27</b>
	<b>5.1.2 Objetivo particular II.....</b>	<b>27</b>
	<b>5.1.3 Objetivo particular III.....</b>	<b>27</b>

<b>6</b>	<b>HIPÓTESIS .....</b>	<b>28</b>
<b>7</b>	<b>MATERIALES Y METODOS.....</b>	<b>29</b>
	7.1 Área de estudio .....	29
	7.2 Toma de muestras de sangre periférica para ICH .....	31
	7.2.1 Tinción diferencial .....	32
	7.2.2 Lecturas de laminillas.....	32
	7.3 Índice de replicación (IR).....	32
	7.4 Tiempo de la cinética de proliferación (TCP).....	33
	7.5 Índice mitótico (IM).....	33
	7.6 Toma de muestras de mucosa del epitelio bucal para MN.....	33
	7.6.1 Preparación del reactivo de Schiff .....	34
	7.6.2 Lecturas de laminillas.....	35
	7.7 Análisis estadístico.....	35
<b>8</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>36</b>
	8.1 Principales plaguicidas utilizados por el grupo expuesto .....	36
	8.2 Resultados del cuestionario .....	37
	8.3 Frecuencias de ICH .....	38
	8.4 Frecuencias de la cinética de proliferación celular, IM, IR .....	42
	8.5 Resultados del cálculo del TCP .....	42
	8.6 Frecuencias de MN y AN .....	45
<b>9</b>	<b>DISCUSION .....</b>	<b>49</b>
<b>10</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>56</b>
<b>11</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>57</b>
<b>12</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>75</b>
	12.1 Encuesta y hoja de consentimiento.....	76
	12.2 Artículos publicados.....	82

Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas

Martínez-Valenzuela C. Gómez-Arroyo S.

Rev. Int. Contam. Ambient. 23 (4) 185 - 200, 2007.

**Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa state, Mexico**

**Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S., Villalobos Pietrini R., Waliszewski S., Calderón-Segura M. E., Félix-Gastélum R., Álvarez-Torres A.**

**Environnement International (2009). En prensa**



## I RESUMEN

Se evaluó el daño genotóxico en jornaleros agrícolas de las Grullas Ahome Sinaloa México, expuestos a mezclas de plaguicidas utilizando los biomarcadores intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en linfocitos de sangre periférica, micronúcleos (MN) y otras anormalidades nucleares (AN) en células exfoliadas de la mucosa bucal. También se estudiaron los efectos de la exposición a plaguicidas sobre la cinética de proliferación celular (CPC) y el índice de replicación (IR); para detectar los efectos de citotoxicidad se estimó el índice mitótico (IM). El grupo expuesto se integró con 70 individuos, 25 mujeres y 45 hombres con un promedio de 7 años de exposición a mezclas de plaguicidas y el grupo no expuesto estuvo conformado por otras 70 personas, 21 mujeres y 49 hombres todos ellos habitantes de la ciudad de Los Mochis, Sinaloa y con actividades no relacionadas con el uso de plaguicidas. Se encontraron diferencias significativas entre el grupo expuesto y el no expuesto en las frecuencias de ICH, CPC, IM, MN y (AN). El análisis estadístico de este estudio, muestra que la edad, el género, el consumo de alcohol y el hábito de fumar no tienen efecto significativo sobre el daño genético. Sin embargo se encuentra correlación entre el tiempo de exposición y la frecuencia de ICH. Estos resultados pueden atribuirse a la constante exposición de los trabajadores de campo a plaguicidas de diferentes grupos químicos y mezclas de éstos. El presente estudio representa una contribución importante en la evaluación de los posibles riesgos para la salud asociados con la exposición a plaguicidas.

Palabras clave: Intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos, cinética de proliferación celular, biomarcadores, linfocitos humanos, células exfoliadas de la mucosa bucal.

## 2 Abstract

Genotoxic damage was evaluated in 70 agricultural workers, 25 women and 45 men, exposed to pesticides in Las Grullas, Ahome, Sinaloa, Mexico, with an average of 7 years of exposure. The effect was detected through the sister chromatid exchanges (SCE) in lymphocytes of peripheral blood and micronuclei (MN) and other nuclear anomalies (NA) in buccal exfoliated cells. Also, the influence on cellular proliferation kinetics (CPK) was studied by means of the replication index (RI) and the cytotoxic effect was examined with the mitotic index (MI). The non-exposed group consisted of 70 other persons, 21 women and 47 men from the city of Los Mochis, Sinaloa, Mexico. Significant differences between the exposed and the non-exposed groups were observed in SCE, CPK, MI, MN and NA. In this study the analysis of variance revealed that age, gender, smoking and alcohol consumption did not have a significant effect on genetic damage. However, there was a correlation between exposure time to pesticides and SCE frequency. These results could have been due to the exposure of workers to pesticides containing different chemical compounds. This study afforded valuable data to estimate the possible risk to health associated with pesticide exposure.

*Keywords:* Sister chromatid exchange; Micronuclei; Cell proliferation kinetics; Pesticide exposure; Biomarkers, Human lymphocytes; Buccal exfoliated cells

### 3 INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son utilizados ampliamente en todo el mundo y la exposición a éstos sigue siendo un importante problema de salud y ambiental (Bortoli *et al.*, 2009), representan una de las familias de productos químicos más empleadas por el hombre, para el control de plagas agrícolas y su aplicación se considera la medida más aceptada y efectiva para lograr la máxima producción y la mayor calidad de los cultivos (Ferrer y Cabral, 1993; Bolognesi, 2003; Mansour, 2004). Lo anterior propició el surgimiento y el progreso de la industria de agentes agroquímicos en el siglo XX; a su vez se han originado gran cantidad de compuestos que resultan muy agresivos para el hombre y que tienen efectos adversos sobre el ecosistema. En mayor o menor grado la población humana está inevitablemente expuesta a los plaguicidas a través de la contaminación ambiental ya sea en forma física o biológica, por medio de compuestos que circulan en aire, agua, suelo y alimentos (Bolognesi, 2003). Todos los plaguicidas son biocidas lo que implica que habitualmente tienen elevada toxicidad en seres humanos que ha sido motivo de preocupación, debido al uso indiscriminado (Ferrer, 2003), la vigilancia en las poblaciones agrícolas expuestas a plaguicidas representa una herramienta útil para estimar el riesgo a largo plazo de los efectos sobre la salud.

El estado de Sinaloa, destaca a nivel nacional por la relevancia de su actividad agrícola, ya que ocupa los primeros lugares en varios tipos de cultivos, situación que le permite mantener un liderazgo en la producción de alimentos y materias primas derivadas de la agricultura. En el ramo hortícola su importancia es prioritaria, ya que aporta el 70 % de las exportaciones en México. Sin embargo, la agricultura sinaloense se desarrolla en un ambiente que favorece la presencia de plagas y enfermedades durante todo el año, provocando con ello una serie de problemas que se reflejan tanto en la cantidad, como en la calidad de la producción. Entre las estrategias de combate de plagas se ha privilegiado el uso de plaguicidas, lo cual ha generado una cultura productora ligada a este tipo de insumos.

La gama de los efectos dañinos para la salud provocados por los plaguicidas, incluye lesiones agudas y persistentes sobre el sistema nervioso, pulmón y en órganos reproductores, disfunción del sistema inmunológico y endocrino. Además se vinculan como generadores de estrés oxidante y daño al ADN con efectos graves como enfermedades neurológicas, del sistema reproductor y cáncer (Solans y Hernández, 2000; Muñiz *et al.*, 2008).

Los estudios de biomonitoreo en poblaciones agrícolas publicados muestran resultados muy diversos, pues se han utilizado biomarcadores tales como micronúcleos (MN) en mucosa oral, aberraciones cromosómicas (AB) e intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en células de sangre periférica, para evaluar poblaciones heterogéneas expuestas (De Ferrari *et al.*, 1991; Carbonell *et al.*, 1993; Bolognesi *et al.*, 2002).

### **3.1 Exposición ocupacional**

Los efectos citogenéticos de los plaguicidas han sido estudiados tanto en condiciones *in vitro* como *in vivo*, sin embargo, los efectos sobre personas que trabajan con estas sustancias en nuestro país han sido poco analizados (Gómez-Arroyo *et al.*, 1992, 2000). Al respecto, las exposiciones ocupacionales a plaguicidas ocurren en agricultores, peones de campo, obreros industriales, exterminadores de plagas, trabajadores de invernaderos, entre otros, que constantemente presentan el riesgo de sufrir accidentes relacionados con estos productos. También la población en general está expuesta a través de las cadenas tróficas, al consumir alimentos contaminados por estos compuestos, por el empleo de insecticidas caseros, por dispersión en el ambiente (deriva ambiental), etc. (Bolognesi *et al.*, 1993; Falck *et al.*, 1999).

En espacios abiertos la exposición de los jornaleros que laboran en actividades agrícolas ocurre de varias formas, ya que tanto el que aplica en campo, como el que formula y hace mezclas en espacios cerrados como

invernaderos, están en riesgo y se incrementa en las zonas tropicales, debido a la alta humedad relativa y a las elevadas temperaturas ambientales lo que provoca que estas sustancias permanezcan en el aire y desplazándose unidas a moléculas de agua que con ayuda de los vientos logran alcanzar zonas urbanas. Asimismo, es frecuente que los trabajadores agrícolas no respeten las instrucciones de uso y manejo de los plaguicidas, reingresen a las áreas asperjadas antes del tiempo recomendado; consuman alimentos sin lavarse las manos después de haber manipulado plaguicidas, no utilicen equipo para protección, no se quiten y laven de manera separada la ropa de trabajo después de cada jornada.

Diversos estudios de biomonitorio dirigidos a individuos expuestos a plaguicidas, realizados en diferentes partes del mundo, evidencian la inducción de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos en personas en contacto ocupacional (De Ferrari *et al.*, 1991; Pastor *et al.*, 2003). Uno de los trabajos que en este ámbito se han desarrollado en México, se llevó a cabo en el estado de Morelos, donde mediante el análisis de ICH y MN se determinó que los trabajadores dedicados a la floricultura, presentaron daños citogenéticos al compararlos con los individuos no expuestos (Gómez-Arroyo *et al.*, 2000). En el contexto internacional se describen estudios realizados en trabajadores expuestos en viñedos, campos algodóneros y áreas forestales, encontrando también diferencias significativas entre los grupos expuesto y no expuesto (Páldy *et al.*, 1987; Bolognesi, 2003).

Sin embargo, resulta difícil comparar estas investigaciones ya que de igual manera la exposición a los plaguicidas es variable, por ejemplo: la cantidad de agentes químicos genotóxicos empleados, las diversas formulaciones utilizadas en el campo y la dimensión de las áreas donde se aplican, las características geográficas y meteorológicas de las zonas agrícolas, así como las condiciones donde los individuos se exponen difieren enormemente, encontrando personal que elabora las mezclas en campo, pilotos fumigadores y poblaciones que colindan

con lotes asperjados, bodegas de almacenamiento, invernadero y campo abierto (Bolognesi *et al.*, 1993, 2002; Pastor *et al.*, 2003).

A través de los años se ha incrementado la atención sobre la probable carcinogenicidad y mutagenicidad causada por la exposición prolongada a plaguicidas; la importancia social de las investigaciones realizadas en el ámbito de la citogenética radica en el reconocimiento temprano de factores carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos en individuos ocupacionalmente expuestos a compuestos genotóxicos (Nehéz *et al.*, 1981; Pastor *et al.*, 2003).

Considerando lo anterior y con el propósito de evaluar el efecto genotóxico de los plaguicidas usados en Las Grullas Municipio de Ahome Sinaloa, se planteó el presente proyecto de investigación.

### **3.2 Clasificación de los plaguicidas**

Debido a la amplia cantidad de sustancias y combinaciones de compuestos los plaguicidas se han clasificado, por su uso, en: insecticidas, acaricidas, herbicidas, nematicidas, fungicidas, molusquicidas y rodenticidas. La organización Mundial de la Salud (OMS) propone la clasificación en función de su riesgo para la salud, basándose en su comportamiento tóxico en ratas u otros animales de laboratorio administrando por vía oral y dérmica y estimando la dosis letal media (LD50) que produce muerte en el 50% de los animales expuestos (OMS 1990, 2009). Esta clasificación ordena la toxicidad en números del I al IV, siendo los primeros, extremadamente tóxicos, muy tóxicos, moderadamente tóxicos y ligeramente tóxicos, respectivamente (CICOPLAFEST, 2004; WHO, 2004). Sin embargo la manera más frecuente de clasificarlos es con base en su estructura química, identificándose cinco grupos principales:

### **3.2.1 Organoclorados**

Agrupan a una considerable cantidad de compuestos sintéticos, cuya estructura química corresponde a los hidrocarburos clorados; son los que más persisten en el ambiente y entre sus efectos adversos cabe destacar la pérdida de peso corporal, hepatotoxicidad, afecciones gástricas, carcinogénesis, efectos inmunotóxicos, alteraciones en el desarrollo y la función reproductora, el sistema nervioso y endocrino (Ejaz *et al.*, 2004). Actúan estimulando el sistema nervioso, alteran el funcionamiento normal de las enzimas hepáticas de estructura cíclica y restringiendo a las enzimas citocromoxidasas que inhiben el intercambio gaseoso durante la respiración. La principal ruta de excreción es la biliar, aunque casi todos los cloruros orgánicos producen metabolitos urinarios medibles. El intestino reabsorbe con eficiencia a muchos de los plaguicidas sin metabolizar. En la exposición a algunos cloruros orgánicos en particular el DDT, un porcentaje importante de la dosis absorbida se almacena en el tejido graso. Los organoclorados son agentes de progresión en el desarrollo del carcinoma mamario, encontrando niveles de estos plaguicidas persistentes en tejido adiposo en mujeres con este problema, denotando coincidencia entre una mayor concentración de dichos compuestos en el cuerpo humano y la presencia de enfermedades en los senos (Waliszewski *et al.*, 2003, 2005). Algunos organoclorados, también han sido asociados con carcinogénesis humana y con la capacidad de alterar las funciones de sistema inmune (Dich *et al.*, 1997).

### **3.2.2 Organofosforados**

Son fundamentalmente ésteres del ácido fosfórico que presentan propiedades alquilantes, lo cual les permite actuar directamente sobre el ADN, se absorben con facilidad por inhalación, ingestión y penetración dérmica, éstos envenenan a los mamíferos principalmente por la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa, en las terminaciones nerviosas (Sorgob y Vilanova, 2002). El resultado es el bloqueo de la acetilcolinesterasa por lo cual el órgano efector es

sobre estimulado en las terminaciones nerviosas afectando al sistema nervioso central, donde altas concentraciones de acetilcolina provocan alteraciones sensoriales y de comportamiento, incoordinación y el aumento en las secreciones pulmonares y la depresión respiratoria causas usuales de muerte en el envenenamiento por organofosforados. Sánchez-Peña *et al.* (2004), evaluaron alteraciones en la estructura de la cromatina del espermatozoide en hombres ocupacionalmente expuestos a organofosforados, demostrando que éstos, son un blanco sensible a la exposición, que afecta la reproducción humana. Los resultados de estudios citogenéticos en trabajadores de plantas químicas arrojaron datos positivos, reportando aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas con una diferencia significativa observada en los sujetos expuestos con respecto a los testigos (Padmavathi *et al.*, 2000).

### **3.2.3 Carbamatos**

Son sustancias orgánicas de síntesis conformadas por un átomo de nitrógeno unido a un grupo lábil, el ácido carbámico, éste tiene efecto neurotóxico que, en dosis de exposición altas, puede llevar a la muerte. Los carbamatos, al igual que los organofosforados, son inhibidores de la acetilcolinesterasa, ingresan al organismo por las vías cutánea, respiratoria y digestiva y los efectos tóxicos son muy similares (Sorgob y Vilanova, 2002). Los síntomas iniciales de toxicidad aguda, son la depresión del sistema nervioso central, manifestado a través de coma, convulsiones, hipotonía y efectos nicotínicos, incluyendo la hipertensión y la depresión cardiorrespiratoria, broncoespasmos y edema pulmonar. A través de evidencias de carcinogenicidad experimental con animales, el carbosulfán ha sido clasificado como un posible carcinógeno humano en células germinales (Giri *et al.*, 2002).



### **3.2.4 Piretroides**

Son sustancias sintetizadas a partir del crisantemo, del que se obtiene el piretro y posteriormente fueron producidos de forma sintética, éstos, afectan a los canales de sodio de las membranas de las células nerviosas. Algunos de ellos son estrógenos ambientales, por lo tanto, interfieren en los procesos hormonales de animales y personas. Su acumulación en el organismo es baja y no persisten en el ambiente (ATSDR, 2003). La exposición breve a niveles muy altos de estos compuestos en el aire, los alimentos o el agua puede causar mareo, dolor de cabeza, náusea, espasmos musculares, falta de energía, alteraciones de la conciencia, convulsiones y pérdida del conocimiento. Los cambios de estado mental pueden durar varios días luego de que la exposición a niveles altos ha terminado. No hay evidencia de que las piretrinas o los piretroides afectan la capacidad de reproducción en seres humanos, pero algunos estudios en animales han evidenciado la reducción de la fertilidad en machos y hembras. Se ha demostrado que los piretroides inducen efectos genotóxicos en células germinales humanas (Xia *et al.*, 2004) y en presencia de activación metabólica se induce fragmentación del ADN en linfocitos humanos mediante la técnica del ensayo cometa (Villarini *et al.*, 1998).

### **3.2.5 Triazínicos**

Son considerados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), como posibles carcinógenos humanos, el empleo de las triazinas ha traído graves consecuencias ya que se han incrementado los niveles de estos compuestos en suelo agua y atmósfera, lo que implica serios problemas para la salud y se reconoce la relación entre los jornaleros agrícolas expuestos y la incidencia del linfoma No-Hodgkin (Brusick, 1994), otros estudios desarrollados por Koiffman *et al.* (2002), describen correlación entre el desarrollo de cáncer de ovario y la exposición a este tipo de herbicidas.

### 3.3 Deriva de las aspersiones aéreas de plaguicidas

Por deriva, se entiende el movimiento de las gotas del plaguicida hacia un objetivo distinto al de la aplicación, la deriva generada por las aspersiones aéreas de plaguicidas, resulta de suma importancia en la zona de estudio. Esta tecnología se utiliza en los campos agrícolas sinaloenses, donde es común el uso de avionetas para asperjar las diversas mezclas de plaguicidas (Fig. 1), siendo una de las formas más contaminantes e ineficaces de combatir las plagas ya que solo una pequeña cantidad de los plaguicidas asperjados en forma aérea llega efectivamente a entrar en contacto con las plagas mientras que los demás contaminan el ambiente. El arrastre o cantidad de plaguicida aplicado que sale del área tratada al ser arrastrada por el viento, al volatilizarse o lixiviarse puede contaminar a kilómetros de distancia otros cultivos, a trabajadores que laboran en campos cercanos, residentes de comunidades colindantes a las tierras de cultivo, agua suelo y vida silvestre, esto ocurre incluso a kilómetros de distancia (Bejarano González, 2002). Estudios de dispersión de plaguicidas realizados en Estados Unidos de América, calculan en apenas 1% lo que llega al insecto o plaga en una aplicación aérea, otra porción se queda en el follaje, otra pasa al suelo y de ahí puede filtrarse más profundamente llegando incluso a contaminar el agua subterránea (ATSDR, 2003). Particularmente en la zona de estudio el manto freático es sumamente superficial encontrándose aproximadamente de 1 a 1.5 m, de profundidad (Lázaro *et al.*, 2000). Existen pocas barreras geográficas que limiten la dispersión de los plaguicidas, aunado a temperaturas extremas de 44 °C y humedad relativa promedio del 75% (INEGI, 2009) lo cual propicia la dispersión facilitada de los plaguicidas en la zona de estudio. En México no hay ninguna regulación o norma oficial sobre cómo se deben realizar las fumigaciones aéreas agrícolas, para reducir el impacto ambiental o los posibles daños a la salud pública. La Norma Oficial Mexicana NOM-052-FITO-1995, establece algunos requisitos para el aviso de inicio de funcionamiento por las personas físicas y morales que se dediquen a esta actividad. La fumigación aérea debería prohibirse

por ser un método poco eficiente y muy contaminante de aplicación de plaguicidas.



**Figura 1** Movimiento y destino de los plaguicidas en el ambiente (INE, 2009).

### **3.4 Normatividad sobre el uso de plaguicidas en México y su escasa operatividad**

En México un número considerable de instituciones tienen competencia en el control de plaguicidas, desde las Secretarías de Hacienda y Crédito Público, del Trabajo y Previsión Social, la de Medio Ambiente y Recursos Naturales, la de Salud, entre otras, que norman desde el registro, proceso, uso, transporte, comercialización, ambiente laboral, salud ocupacional e impacto ambiental. La mayoría de estas Secretarías son coordinadas por el CICOPALFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas), con el fin de realizar actividades coordinadas y de regulación que lleven a una simplificación administrativa y además se encarga de publicar el Catálogo Oficial de Plaguicidas. Esta comisión, ha permitido agilizar los permisos de registro, importación y exportación de plaguicidas, pero poco o nada ha significado en la prevención del daño ambiental y a la salud que pueden derivar del mal uso de éstos. De igual manera existe la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS, 2008) que es un órgano desconcentrado de la Secretaría de Salud con autonomía técnica y operativa que tiene como misión proteger a la población contra riesgos sanitarios, por consumo de agua, medicamentos, plaguicidas, sustancias tóxicas, etc. que puedan alterar

su salud, sin embargo la existencia de la comisión es poco conocida por la población en general, aún cuando su misión es: proteger a la población contra riesgos sanitarios. Su Artículo 17 contempla la prevención y el control de los efectos nocivos de los factores ambientales en la salud del hombre así como la salud ocupacional y el saneamiento básico. A través de la Secretaría de Salud, se cuenta con las NOM-044-SSA1-1993 y NOM 045-SSA1-1993, que establecen las características de los envases de plaguicidas y su etiquetado.

Asimismo, la ley para la protección de los derechos de niñas, niños y adolescentes en su artículo 35 garantiza la protección de los derechos de los niños menores de 14 años, con la prohibición constitucional de contratarlos laboralmente bajo cualquier circunstancia. En los campos agrícolas mexicanos se quebranta esta ley de manera constante al permitir que al menos un millón y medio de niños mexicanos procedentes principalmente de los estados de Guerrero y Oaxaca trabajen en los estados de Sinaloa, Nayarit y Baja California Norte, expuestos a este tipo de agentes químicos, olvidándose las autoridades y los patrones que la niñez es la etapa más susceptible a sufrir daño en la salud (Guillete, 1998; Salinas-Álvarez y Díaz-Romo, 2000). También la Ley Federal del Trabajo, establece disposiciones que protegen a los trabajadores de entre 14 y 16 años, con una jornada no mayor de seis horas y prohibiendo las actividades peligrosas o insalubres. Además la Secretaría del Trabajo y Previsión Social, contempla el Reglamento Federal de Seguridad, Higiene y Medio Ambiente de Trabajo que en su artículo 84 insta las responsabilidades del patrón para reducir la exposición de los trabajadores a sustancias químicas y de manera particular a fertilizantes y plaguicidas, de acuerdo con 2 normas principales: NOM-003-STPS-1999, que rige las condiciones de seguridad e higiene para prevenir riesgos de los trabajadores agrícolas en manejo de insumos fitosanitarios y plaguicidas; es muy completa por la cobertura que pretende en el ámbito de la salud ocupacional y contempla también entre otras la NOM-017-STPS-2001, donde se plasman los requisitos para selección, uso y manejo de equipo de protección personal del trabajador. La Secretaría de Agricultura, Ganadería,

Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación, establece normas sobre las especificaciones fitosanitarias de aviso de inicio de funcionamiento que deberán cumplir las personas físicas o morales que comercialicen y utilicen plaguicidas agrícolas.

En México la legislación vigente, adolece de rubros importantes para lograr la protección de los jornaleros agrícolas, además de que no es respetada por los actores principales en los escenarios agrícolas, es decir, en México no se aplican las distintas leyes que existen para protegerlos, debido principalmente a que se carece de programas encaminados a dar seguimiento al cumplimiento de la legislación establecida, ya que las autoridades destinadas a sancionar el incumplimiento de esta normatividad, no realizan adecuadamente las funciones de sancionar o multar con lo procedente a aquellos que la quebranten (Salinas-Álvarez y Díaz Romo, 2000). Los jornaleros no cuentan con equipo básico para manipular plaguicidas, un alto porcentaje de ellos son analfabetas y muchas de las etiquetas que advierten sobre la peligrosidad de las sustancias están en inglés lo cual resulta paradójico (Díaz-Romo y Schneider, 1993). México tiene un largo camino que recorrer para lograr hacer cumplir las leyes con las que cuenta, algunas bien diseñadas pero que no se aplican ni sancionan a quienes no las cumplen, aún cuando esto vaya en detrimento de la salud y el equilibrio ambiental.

### **3.5 Efectos sobre la salud originados por distintos plaguicidas**

Los efectos negativos sobre la salud que se han producido como consecuencia de la exposición plaguicidas o a otros factores ambientales, pueden expresarse inmediatamente o tardar años en manifestarse, por lo que son estos últimos sobre los que hay que tener mayor atención para poder identificar el problema antes de la aparición de los síntomas, ya que los individuos estarán expuestos a los agentes nocivos durante mucho tiempo antes de que se manifiesten los efectos adversos (Jaga y Dharmani, 2005). Es aquí donde entran en juego los estudios de biomonitorio que intentan establecer la relación entre

factores ambientales y enfermedad, detectando alteraciones iniciales en fases tempranas.

De acuerdo a datos emitidos por la Organización Mundial de la Salud con el aumento del empleo de plaguicidas, se incrementan significativamente los accidentes y enfermedades asociadas a estos productos, anualmente se intoxican dos millones de personas por exposición directa o indirecta a plaguicidas; de ese total, las 3/4 partes de individuos afectados pertenecen a los países subdesarrollados, donde únicamente se utiliza el 25 % de la producción mundial de plaguicidas (Ferrer, 2003). El contacto con éstas sustancias y su entrada al organismo a través de la piel, la respiración y/o por ingestión se produce principalmente por exposición laboral y en el hogar debido a usos y aplicaciones incorrectas, falta de medidas preventivas y de protección, almacenamiento inadecuado, reutilización de envases y fumigaciones aéreas. Se han detectado residuos de organoclorados y organofosforados en personas donde la única probabilidad de contacto es por ingestión. Las preparaciones acaricidas o insecticidas, como las lociones piojicidas con lindano utilizadas en seres humanos, son una vía adicional de contaminación y pueden además potenciar a otros agentes nocivos.

Los efectos indeseados dependen del tipo de plaguicida, la dosis, la vía y el tiempo de exposición así como de la susceptibilidad del organismo expuesto; éstos efectos pueden ser agudos como vómitos, abortos, cefalea, somnolencia, alteraciones en el comportamiento, convulsiones, coma, muerte y se asocian a accidentes donde una dosis alta es suficiente para provocar los efectos que se manifiestan tempranamente y también los crónicos como el cáncer (Potti *et al.*, 2003), malformaciones congénitas, neuropatías periféricas, dolores vagos asociados a exposiciones repetidas, los síntomas aparecen después de un largo periodo dificultando su detección; ya que su biotransformación es lenta y provoca efectos acumulativos en las personas expuestas. Algunos plaguicidas son agentes genotóxicos y pueden causar mutación génica (Dich *et al.*, 1997). Las investigaciones realizadas desde principios de los años 90 indican que algunos

plaguicidas, incrementan o inhiben la acción de las hormonas, alterando el funcionamiento adecuado del sistema endocrino humano y que puede promover el desarrollo de carcinomas y dañar a la salud reproductora (López- Carrillo *et al.*, 2001, 2002; Ejaz *et al.*, 2004; Sánchez-Peña *et al.*, 2004).

Muchos de los efectos adversos en la salud son el resultado de daño genético inducido por agentes genotóxicos, tanto en las células somáticas como en las germinales. Si este daño se produce, entre otros efectos, puede derivar en cáncer, contribuir al envejecimiento prematuro (Norppa, 2004) causar enfermedades vasculares, etc. Un elevado porcentaje de agentes químicos liberados al ambiente no han sido evaluados de manera adecuada en relación a su actividad genotóxica y es esencial identificarlos para determinar así el riesgo genético que éstos representan para los seres vivos, incluido el hombre (Jamil *et al.*, 2005).

### **3.6 Biomarcadores utilizados para biomonitoreo citogenético de poblaciones expuestas a plaguicidas**

Los marcadores biológicos o biomarcadores son los cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos medibles que se producen en un sistema biológico y se interpretan como reflejo o marcador de la exposición a un agente tóxico (Grandjen y Bonassi, 2005). Los biomarcadores suelen utilizarse como indicadores del estado de salud o del riesgo a enfermedades y se emplean en estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que pueden incluir a seres humanos. Los marcadores biológicos se clasifican por lo general en tres tipos (aunque algunos pueden ser difíciles de clasificar): de exposición, de efecto y de susceptibilidad, siendo una herramienta útil para evaluar el riesgo potencial de las diferentes exposiciones ambientales. A nivel individual pueden emplearse para apoyar o rechazar el diagnóstico de un determinado tipo de intoxicación o de otro efecto adverso inducido por productos químicos (Páldy *et al.*, 1987; Rupa *et al.*, 1989; De Ferrari *et al.*, 1991; Carbonell *et al.*, 1993; Bolognesi *et al.*, 2002). Asimismo es importante considerar que los estudios de exposición a plaguicidas y los efectos genotóxicos deben considerar la confiabilidad del daño a la exposición, la solidez de los estudios, la similitud de los

grupos testigo y los protocolos usados para determinar la genotoxicidad (Bull *et al.*, 2006). El daño citogenético ocasiona cambios y alteraciones en el número o en la estructura de los cromosomas, estos efectos han sido evaluados a través de biomarcadores como aberraciones cromosómicas (AC) y micronúcleos (MN). Asimismo se ha utilizado el intercambio de cromátidas hermanas (ICH) por su alta sensibilidad y a través de la tinción diferencial de las cromátidas hermanas es posible determinar alteraciones que se manifiestan mediante cambios en la cinética de proliferación celular, lo que puede ser observado y evaluado durante la mitosis (Rupa *et al.*, 1989). También se ha utilizado la electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa para evaluar el daño y reparación del ADN tanto en estudios *in vitro* como *in vivo* (Moretti *et al.*, 2000).

### **3.6.1 Biomarcadores empleados en este estudio**

#### **3.6.1.1 Intercambio de cromátidas hermanas**

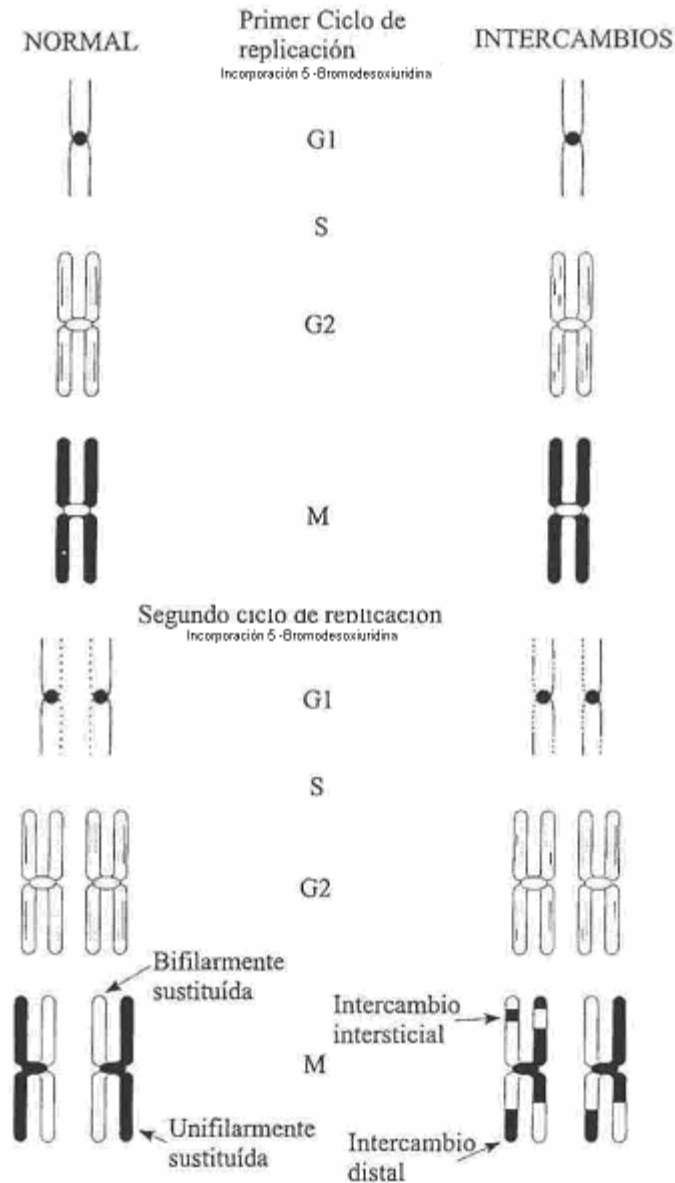
Este biomarcador es sensible para detectar daño al ADN, los intercambios de cromátidas hermanas (ICH) son eventos que se producen durante la fase de síntesis. Representa el intercambio simétrico, entre loci homólogos, de productos de replicación (Norppa, 2004). Ocurren sin pérdida de ADN ni cambios en la morfología cromosómica y es posible detectarlos en preparaciones cromosómicas en metafase obtenidas de cultivos adicionados con el análogo de una base del ADN que es la 5-bromodesoxiuridina (Latt, 1973). Los ICH no son sucesos letales para la célula, además, por sí mismos, no pueden ser considerados mutaciones ya que, en principio, no producen cambios en la información genética. Sin embargo, se ha observado que la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas aumenta cuando las células son expuestas a agentes mutagénicos y cancerígenos conocidos y en el caso de ciertas enfermedades congénitas como el síndrome de Bloom, *Xeroderma pigmentosum* (Wolf-Dieltrich, 2004) y la enfermedad de Behcet (Ikbal *et al.*, 2006). Se puede observar incremento en la frecuencia de ICH por exposición de las células a agentes clastogénicos, lo que ha permitido que se



reconozca como un evento indicador de daño al ADN (Zeljezic y Garaj-Vrhovac, 2002). Este biomarcador se utiliza en investigaciones sobre monitoreo biológico de individuos expuestos a agentes genotóxicos potenciales o conocidos (Cavallo *et al.*, 2006).

El intercambio en las cromátidas hermanas (ICH) es un evento genético que se visualiza como una transposición simétrica y equivalente en las cromátidas hermanas de los cromosomas en metafase. Las observaciones iniciales de ICH fueron desarrolladas utilizando métodos autorradiográficos y de marcaje previo del ADN con timidina tritiada (Taylor *et al.*, 1957). La manera en que la timina marcada se incorporó al ADN mostró que la duplicación ocurrió de acuerdo con el modelo semiconservador y los ICH se evidenciaron como cambios recíprocos de marca en las cromátidas hermanas de los cromosomas en metafase. Años más tarde los ICH fueron detectados en cromosomas con tinción diferencial en sus cromátidas hermanas de los cromosomas en metafase como cambios recíprocos de tinción (Latt, 1973; Perry y Wolf, 1974). Esta tinción fue posible gracias al desarrollo de técnicas fluorescentes (Latt, 1973) y principalmente al de la técnica de fluorescencia más Giemsa, que requiere que los cromosomas hayan incorporado 5-bromodesoxiuridina (BrdU) durante dos ciclos de replicación celular sucesivos o cuando menos en uno de estos (Kato, 1980) y además, un tratamiento de desnaturalización de la cadena de ADN bifilarmente sustituida (Morales-Ramírez *et al.*, 1992).

Para la detección de ICH se utiliza la incorporación de un átomo pesado polarizable como el bromo (Br) en el ADN en la forma de un análogo de la timina, la 5-bromodesoxiuridina (Fig. 2).



**Figura 2** Intercambio de cromátidas hermanas incluyendo a la replicación cromosómica y a la incorporación de la 5-bromodesoxiuridina, durante dos ciclos de división celular.

### 3.6.1.1.1 Mecanismos de formación de ICH

Las teorías de los mecanismos de formación de los intercambios de cromátidas hermanas, requieren una revisión de los orígenes de este evento, ubicando como la primera evidencia del ICH la descrita por Taylor *et al.* (1957),

utilizando timidina tritiada observaron los ICH. Posteriormente, Latt (1973), sugiere el uso del colorante fluorocromado como indicador de la incorporación de un análogo de base (BrdU) en el ADN, con la finalidad de lograr una tinción diferencial y poder así observarlos; un año después Perry y Wolf (1974), emplearon el método de fluorescencia más Giemsa obteniendo una tinción diferencial permanente. Las células pasan 2 ciclos de replicación en presencia de BrdU y teñidas con Hoescht 33258 y Giemsa. Las cromátidas bifilarmente sustituidas con BrdU se tiñen más débilmente que las unifilarmente sustituidas. Es Kato (1980), quien con sus trabajos demostró que el proceso o mecanismo de ICH requiere que la célula pase por la etapa de síntesis del ADN y que es durante o inmediatamente después de que se ha formado la horquilla de replicación cuando se lleva a cabo el intercambio de doble banda entre cadenas de ADN. Painter (1980), congruente con las bases teóricas, estructurales y de replicación del ADN basa sus investigaciones en un postulado donde indica que los rompimientos de la doble hebra, se realizan frecuentemente en las conjunciones de grupos de replicones adyacentes durante su replicación, el ICH se inicia en el punto de coincidencia de un replicón completamente duplicado y otro parcialmente duplicado donde se provoca esta lesión. Este principio se apoya en la acción de las topoisomerasas I y II que promueven el rompimiento y la reunión del ADN al mismo tiempo.

En el mismo año Ishii y Bender (1980), demuestran que los ICH se inducen de forma directa por lesiones al ADN y de manera indirecta a través de las alteraciones o inhibiciones del complejo enzimático de la duplicación de éste. Sin embargo, el origen de las lesiones que se involucran para producir un ICH no son claras, en algunos estudios se han propuesto como responsables a los monoadductos y también a los enlaces cruzados entre las cadenas de ADN o entre ADN y proteínas (Ishii, 1981). Años más tarde Dillehay *et al.* (1989), postulan que el ICH resulta de la alteración de la topoisomerasa II mediante la acción de un agente supresor de la misma durante la fase de síntesis. En fechas posteriores se postuló que los agentes alquilantes o la metilnitrosourea (MNU) provocan las

lesiones involucradas en la formación de ICH. Morales-Ramírez y Vallarino-Kelly (1990), plantean un modelo recombinacional para la formación de ICH, basados en la reparación o la persistencia de lesiones inductoras del modelo de recombinación bacteriana de Morales-Ramírez *et al.* (1992), que proponen que los ICH son causados por varias clases de lesiones al ADN, habiendo controversia también en cuanto a que no existe una relación directa entre el número de lesiones y de ICH, valorado por Ishii y Bender (1980), después de una exposición a la luz ultravioleta.

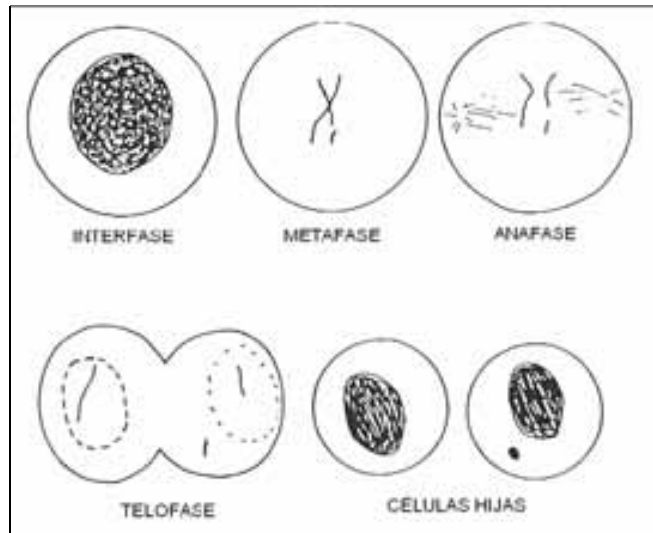
Una de las teorías sobre los mecanismos de formación de los ICH más actuales son las desarrolladas por Rodríguez-Reyes y Morales-Ramírez (2003), quienes analizan las frecuencias inducidas por la exposición a etilnitrosourea (ENU) en tres ciclos de división celular sucesivos, con lo cual plantean que existe una relación estrecha entre la inducción de ICH y el curso de la duplicación del ADN y que los ICH representan un proceso que permite la reparación de lesiones y con respecto a la BrdU comentan que afecta la inducción de ICH y también la persistencia de las lesiones que los producen y que la inducción de ICH depende del progreso de la duplicación del ADN lo que constituye evidencia directa de que la horquilla de duplicación es el sitio donde se llevan a cabo los ICH. También los trabajos realizados por Jin e Ikushima (2004), plantean que la recombinación homóloga puede ser uno de los mecanismos principales responsables de la formación de ICH, después de la exposición a la luz ultravioleta B (UVB) y a la mitomicina C (MMC), reportando que la frecuencia de ICH aumentó sobre el nivel espontáneo en proporción con la dosis del agente (UVB) ocurriendo principalmente en las regiones del telómero.

En la actualidad aún existen detalles incompletos sobre la base molecular de los ICH y su significado biológico que requieren aún ser aclarados, habiendo hasta el momento gran controversia sobre estos puntos, no obstante es una prueba que se continua utilizando tanto *in vitro* como *in vivo* y en personas

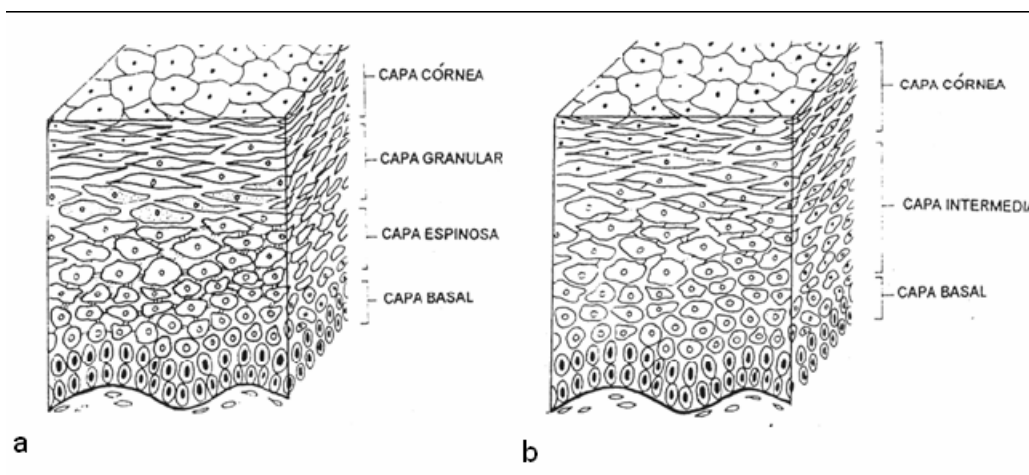
expuestas debido a su gran sensibilidad y repetibilidad, así como por su respuesta dosis-efecto.

### **3.6.1.2 Micronúcleos**

Es el biomarcador de genotoxicidad más frecuentemente utilizado en mamíferos y actualmente se emplea en la evaluación de las consecuencias de las exposiciones ambientales y laborales a mutágenos (Vaglenov *et al.*, 2001; Norppa y Falck, 2003). Los MN se pueden originar de manera espontánea o como respuesta a la acción de determinados agentes clastogénicos y/o aneugénicos resultado de la pérdida durante la división celular de fragmentos cromosómicos y/o de cromosomas enteros. Los rompimientos cromosómicos darán lugar a fragmentos cromosómicos acéntricos, que al no disponer de centrómero no se incluirán en los núcleos hijos durante la división celular, al no poderse unir al huso mitótico en anafase; estos fragmentos se rodean de membrana nuclear y aparecen en el citoplasma como pequeños núcleos. Si el daño genotóxico ha afectado a proteínas del cinetocoro y el centrómero o al huso mitótico, lo más probable es que se produzca un retraso mitótico y un desequilibrio en la distribución de los cromosomas, provocando que queden fuera de la cinética normal de la anafase y se rodeen de envoltura nuclear, como ocurre en los fragmentos cromosómicos, originando también micronúcleos (Fig. 3). Este ensayo puede realizarse utilizando células de descamación de la vejiga, de la mucosa oral, de la vagina o de sangre periférica, por lo que es posible aplicarlo tanto en estudios *in vivo* como *in vitro* (Lee *et al.*, 2002; Clare *et al.*, 2006; Bortoli *et al.*, 2009). Las células de la capa superficial del epitelio (Fig. 4), son donde aparecen cerca del 92 % de los cánceres (Rosin, 1992; Gonsebatt *et al.*, 2000).



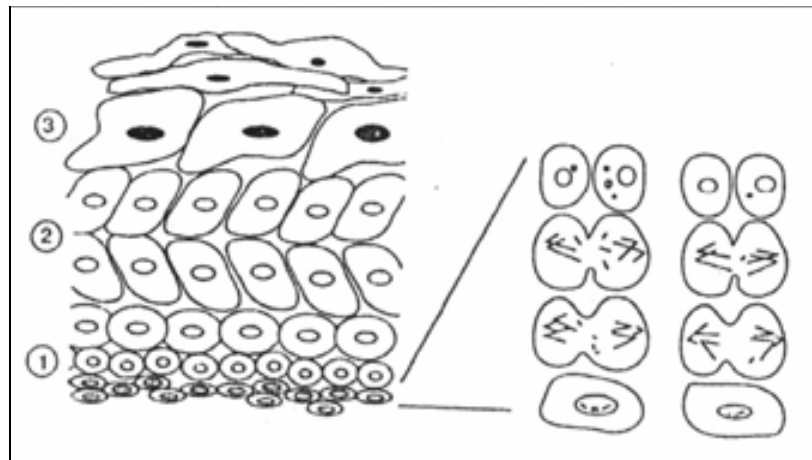
**Figura 3** Formación de micronúcleos a partir de fragmentos acéntricos.



**Figura 4** Cortes histológicos de epitelio (Tomado de Estrada *et al.*, 1982). (a) El epitelio queratinizado, en la piel; se caracteriza por presentar los cuatro estratos celulares. (b) El epitelio no queratinizado muestra una capa celular intermedia como modificación de las capas granulosa y espinosa del epitelio queratinizado, por lo que es más grueso en la mucosa bucal.

Los MN son uno de los mejores biomarcadores para evidenciar daño cromosómico, ya que permiten detectar pérdida cromosómica que se da durante la anafase (Fig. 5). Se usan en pruebas *in vitro* de compuestos químicos y

radiaciones para determinar genotoxicidad. Asimismo, se utilizan *in vivo* para revelar la exposición a agentes genotóxicos y también para evaluar deficiencias de micronutrientes como por ejemplo: vitaminas y minerales. Asimismo, son usados para identificar enfermedades de inestabilidad cromosómica (Bukvic *et al.*, 2001; Fenech *et al.*, 2003 a, b; Kirsch-Volders *et al.*, 2003).



**Figura 5** Formación de micronúcleos en epitelio escamoso estratificado. Las capas celulares son (1) células en división en la capa basal, (2) la parte de maduración, células intermedias sin división y (3) células superficiales (Tomado de Rosin, 1992).

### 3.6.1.2.1 Características que deben cumplir los micronúcleos

Los MN deben poseer las siguientes características: no ser mayores a 1/3 del núcleo original ni menores de 1/16, estar completamente separados del núcleo original y teñirse con el mismo colorante que éste y con igual intensidad, además de poseer su propia membrana, estar en el mismo plano que el núcleo original y tener textura similar, su forma debe ser de redonda a ovalada (Tolbert *et al.*, 1992; Fenech, 2000; Fenech *et al.*, 2003b).

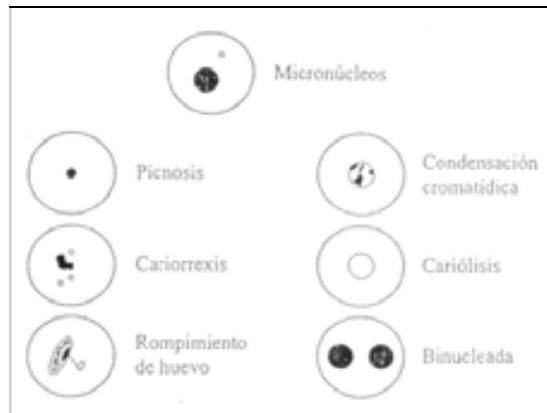
El significado biológico de los MN dependerá de la región involucrada en la ruptura de los cromosomas que se pierda. Si bien algunos rompimientos pueden

provocar muerte celular, las aneuploidias tanto germinales como somáticas se relacionan con alteraciones genéticas mucho más graves implicadas en abortos espontáneos, retraso mental y cáncer (Hagmar *et al.*, 1998).

### **3.7 Otras anomalías nucleares (AN)**

Además de los micronúcleos diversos cambios nucleares degenerativos han sido sugeridos como marcadores de genotoxicidad. Éstos incluyen *picnosis*, *condensación de cromatina* y *cariorrexis* que están relacionados con citotoxicidad (necrosis y queratinización), mientras que la *cariólisis* está asociada con toxicidad celular. Durante la interfase se experimentan mecanismos que pueden ser factores de confusión en el análisis de MN, ya que las células exfoliadas son células moribundas que están en procesos degenerativos como: *cariorrexis*, *cariólisis*, *picnosis* y rompimiento de huevo (Fig. 6), que se asocian con apoptosis (muerte celular programada), siendo ésta una forma de destrucción nuclear, en la cual el núcleo se desintegra por fragmentación, lo que sucede con la *cariorrexis*, pero en ésta, además, ocurre la destrucción de la membrana nuclear. Los fragmentos que conforman la *cariorrexis* pueden confundirse con MN durante el análisis citológico. La *picnosis* y el *rompimiento de huevo* son otros de los procesos nucleares que pueden dar lugar a estructuras que es posible confundir con MN, aunque los primeros se pueden diferenciar porque presentan la cromatina más condensada, mientras que los segundos son fragmentos de material nuclear, que aún están unidos al núcleo principal por un pequeño puente (Tolbert *et al.*, 1992).





**Figura 6** Micronúcleos y otras anomalías nucleares (Tomado de Tolbert *et al.*, 1992).

#### **4 JUSTIFICACIÓN**

El estado de Sinaloa presenta características geográficas, climatologías y socioeconómicas que favorecen el desarrollo de la agricultura pero al mismo tiempo la presencia de plagas y enfermedades, situación que ha motivado el uso frecuente e intenso de plaguicidas encaminado a proteger los cultivos agrícolas, pero causando al mismo tiempo impactos al ambiente y también hacia la salud humana. Diversos estudios epidemiológicos y de biomonitorio han evidenciado el daño al ADN generado por la exposición a estos compuestos. En el estado de Sinaloa, no existen investigaciones ni publicaciones científicas, referentes al biomonitorio utilizando biomarcadores como el intercambio de cromátidas hermanas y micronúcleos para evaluar el daño ocasionado por la exposición a mezclas de plaguicidas en los jornaleros ocupacionalmente expuestos a éstos, por lo cual es importante realizar el presente estudio, encaminado a la detección temprana del daño al ADN y así conocer y buscar minimizar el riesgo ocupacional.

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 OBJETIVO GENERAL**

Detectar el daño genotóxico causado por la exposición a plaguicidas mediante el análisis de intercambios de cromátidas hermanas en linfocitos de sangre periférica, micronúcleos y otras anormalidades nucleares en células de descamación del epitelio bucal, de personas ocupacionalmente expuestas en las Grullas, Municipio de Ahome, Sinaloa, para la prevención del riesgo ocupacional.

#### **5.1.1 Primer objetivo particular**

Determinar la influencia de la exposición a plaguicidas sobre la cinética de proliferación celular (células M1, M2 y M3), el índice de replicación y el tiempo de la cinética de proliferación en los individuos de dicha zona agrícola.

#### **5.1.2 Segundo objetivo particular**

Valorar el efecto citotóxico de la exposición ocupacional a plaguicidas mediante el análisis del índice mitótico.

#### **5.1.3 Tercer objetivo particular**

Correlacionar el tiempo de exposición y la edad de la población expuesta con la frecuencia de ICH y MN.

## **6 HIPÓTESIS**

Las personas ocupacionalmente expuestas a plaguicidas presentan frecuencias significativas de intercambios de cromátidas hermanas en linfocitos así como de micronúcleos y otras anormalidades nucleares en las células del epitelio bucal; al mismo tiempo manifiestan modificaciones en la cinética de proliferación celular y daño citotóxico que tendrán una correlación positiva con el tiempo de exposición.

## 7 MATERIALES Y METODOS

### 7.1 Área de estudio

El Ejido Las Grullas, es un valle que se ubica en la parte Norte del Estado de Sinaloa, a los 25° 51' 15" N y 109° 19' 40" O, a un metro sobre el nivel del mar, pertenece al municipio de Ahome, en el norte del estado de Sinaloa (Fig. 7), cuenta con una población de 2, 371 habitantes (INEGI, 2009). El terreno en general es plano con presencia de serranías de poca elevación. Predomina el clima seco cálido apenas modificado por precipitaciones pluviales. La temperatura media anual es de 33 °C.; en los últimos 28 años se han registrado temperaturas máximas de 43 a 45 °C, siendo los meses más calurosos de julio a octubre.



**Figura 7** Localización geográfica de Las Grullas Municipio de Ahome, Sinaloa (INEGI, 2009).

La precipitación anual es de 329 mm a 458 mm. Los vientos dominantes de la región se orientan en dirección suroeste con una velocidad aproximada de 1 m/s, con humedad relativa promedio del 70 a 75 %. Esta región dispone de uno de los recursos hidrológicos más importantes de la vertiente del Pacífico Norte: el Río Fuerte, cuyo origen se localiza en las estribaciones de la Sierra Tarahumara del

estado de Chihuahua. Los suelos predominantes son del tipo Chernozem o Negros y Chesnut o Castaños. Estas características permiten a la región el desarrollo como principal actividad económica de la agricultura (AARFS, 2009; INE, 2009).

Por las características antes mencionadas, se seleccionó la zona de las Grullas, para la obtención de muestras de sangre periférica y mucosa oral en jornaleros ocupacionalmente expuestos a plaguicidas de esta comunidad. En la colecta de muestras se consideraron los procedimientos de Carrano y Natarajan (1988) y para determinar la relación entre efecto genotóxico y exposición de las personas a los plaguicidas se ha recurrido a dos tipos de biomarcadores de efecto: intercambio de cromátidas hermanas (ICH) en linfocitos de sangre periférica siguiendo el procedimiento de Perry y Evans (1975) y micronúcleos (MN) en células de descamación de la mucosa bucal de acuerdo con las técnicas de Stich *et al.* (1983, 1985) y Tolbert *et al.* (1992).

Se obtuvo por escrito el consentimiento de los participantes, Asimismo se aplicó un extenso cuestionario que permitió conocer datos esenciales relacionados con los siguientes factores: edad, género, tiempo de exposición hábitos como fumar, consumo de alcohol y adicionalmente información sobre tipo de dieta, medicamentos, intoxicaciones recientes, enfermedades, tipo de trabajo que realiza en campo, utilización o no de equipo de protección (Anexo 1).

El grupo expuesto se integró por 70 jornaleros agrícolas (25 mujeres y 45 hombres) con un tiempo de exposición promedio a plaguicidas de 7 años, laborando en los campos sinaloenses en el cultivo de chile, tomate y mango principalmente, la Tabla 1 presenta los plaguicidas que son utilizados con mayor frecuencia en esta área. Las muestras fueron colectadas de julio a noviembre de 2006.

El grupo de fumadores se formó con las personas que consumen más de 5 cigarrillos diarios, siendo la cantidad más alta de 18 cigarrillos por día y para la

ingesta de alcohol se consideraron aquellos que toman más de 3 cervezas por día o que lo hacen en forma excesiva los fines de semana. Esta clasificación se utilizó para ambos grupos, expuesto y no expuesto. Teniendo para el grupo expuesto 42 fumadores y 28 no fumadores; 32 bebedores y 38 no bebedores y para el no expuesto 49 fumadores y 21 no fumadores; 19 bebedores y 51 no bebedores.

El grupo no expuesto se integró con 70 individuos (21 mujeres y 49 hombres), que habitan en la ciudad de Los Mochis Sinaloa y se seleccionaron porque sus características socioeconómicas son similares a las del grupo expuesto, participando mujeres, quienes se dedican únicamente a las labores del hogar, cuidado de ancianos o como ayudantes domésticas; en el caso de los hombres que colaboraron en este estudio en su mayoría son pescadores, albañiles, veladores, entre otros y no tienen contacto directo con plaguicidas u otros agentes contaminantes o xenobióticos en particular.

## **7.2 Toma de muestras de sangre periférica y cultivo de linfocitos para ICH**

Se tomaron 3 ml de sangre periférica a cada participante, utilizando jeringa heparinizada, etiquetada con fecha y el nombre completo del donador y fueron transportadas de manera inmediata al laboratorio, manteniendo la sangre a 37 °C antes de ser procesada.

A 100 ml de medio de cultivo Gibco RPMI 1640 se le adicionaron 4 ml de fitohemaglutinina (Gibco) (filtrada con membrana miliporo de 0.45 µm). En cada tubo de cultivo se agregaron 3 ml de RPMI y se añadieron 8 gotas de sangre, cada muestra se hizo por triplicado, los tubos se incubaron a 37 °C durante 72 horas. Al cumplirse las 24 horas de cultivo, se agregaron 100 µl del análogo de la timina, 5-bromodesoxiuridina (BrdU, Sigma), a una concentración de 5 µg/ml para lograr la tinción diferencial de las cromátidas hermanas (Perry y Wolf, 1974) y se incubaron nuevamente a 37 °C. Posteriormente, se adicionaron 100 µl de colchicina (Sigma) a concentración de 0.002 g/ml en 10 ml y dos horas después se

cosecharon por centrifugación a 1200 rpm, durante 10 min. Se quitó el sobrenadante (dejando 0.5 ml) y se resuspendió el botón celular.

Las células se hipotonizaron agregando 8 ml de cloruro de potasio (KCl a 0.075 M) en tres ocasiones. Los tubos se incubaron a 37 °C por 20 minutos y se fijaron con metanol-ácido acético (3:1) durante 10 min.

### **7.2.1 Tinción diferencial**

Las laminillas se colocaron en Hoescht 33258 [1:9] a una concentración final de 250 µg/ml y permanecieron en el colorante durante 30 min en oscuridad, se lavaron con agua corriente y se dejaron secar. Con la finalidad de excitar la fluorescencia se irradiaron con luz ultravioleta durante una hora. Se lavaron en agua corriente y se dejaron secar, posteriormente fueron colocadas dentro de una caja de Koplín conteniendo citrato de sodio salino (2XSSC a 60 °C), en donde reposaron por 20 minutos y se lavaron con agua corriente, se secaron y se tiñeron con Giemsa (al 10 %) por 2 min. Una vez teñidas las laminillas fueron etiquetadas con una nueva clave asignada y desconocida para el observador, con el fin de evitar algún tipo de prejuicio al realizar el registro de ICH.

### **7.2.2 Lecturas de laminillas**

Para el análisis del ICH se observaron 50 células en metafase de segunda división para cada individuo.

## **7. 3 Índice de replicación (IR)**

En adición al estudio del ICH, la técnica de tinción diferencial fue usada para evaluar el efecto de la exposición a plaguicidas en la cinética de proliferación celular. La proporción de células de primera, segunda y tercera divisiones



celulares fue determinada en 100 metafases consecutivas y el índice de replicación se calculó de acuerdo con la fórmula siguiente:

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

Donde: M1, considerada como células cuyo ADN se replicó una vez en presencia de la 5-bromodesoxiuridina; M2, células que se han duplicado dos veces y M3, que se han replicado tres ocasiones

#### **7.4 Tiempo de la cinética de proliferación (TCP).**

El tiempo de la cinética de proliferación (TCP), se calculó a través de la fórmula propuesta por Ivett y Tice (1982).

$$TCP = \frac{\text{Tiempo en presencia de la 5-BrdU}}{IR}$$

#### **7.5 Índice mitótico (IM)**

El índice mitótico (IM) fue determinado como el número de metafases que se encuentran en 3,000 células estimuladas y para calcularlo se utilizó la fórmula siguiente:

$$IM = M/TC$$

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

#### **7.6 Toma de muestras de mucosa del epitelio bucal para micronúcleos**

Mediante un abate lenguas se hizo un raspado de las paredes internas izquierda y derecha de la cavidad bucal, extendiendo las muestras en portaobjetos limpios y previamente marcados con una clave que identifica al donador.

Las muestras de mucosa bucal bien extendidas sobre el portaobjetos se secaron al aire durante 10 min. Posteriormente se fijaron con metanol-ácido acético (3:1) y se dejaron secar nuevamente.

Las preparaciones ya fijadas se colocaron durante 10 minutos en agua y se pasaron a ácido clorhídrico (1N) a temperatura ambiente por 10 minutos y en HCl 1N a 60 °C por 10 min, se secaron y se enjuagaron con agua destilada. A continuación fueron colocadas en cajas de Koplín con reactivo de Schiff durante 90 min.

### **7.6.1 Preparación del reactivo de Schiff**

Se disolvieron 0.5 g de fucsina básica (Hycel de México) gradualmente en 100 ml de agua destilada en ebullición, dejándose descender la temperatura hasta 58 °C para pasarse por papel filtro Whatman # 1. Una vez que la solución bajó a 26 °C se añadieron 10 ml de HCl 1 N y 1 g de metabisulfito de sodio, almacenándose en oscuridad. Posteriormente, al transcurrir 24 horas, se le agregó 1 g de carbón activado que fue dejado 24 horas con el fin de que adsorbiera las impurezas y el reactivo quedara incoloro. Al cumplirse este tiempo se filtró y guardó en refrigeración.

La fucsina básica es un colorante magenta que se puede decolorar tratándolo con HCl y metabisulfito de sodio. Esta sustancia ya decolorada, produce un nuevo compuesto, también de color magenta al reaccionar con aldehídos. La hidrólisis moderada de ácidos nucleicos con HCl libera grupos aldehídos al extraer las purinas del ADN a nivel de la unión desoxirribosa-purina. Si éstos se sumergen en la forma incolora de la fucsina básica, los aldehídos reaccionan con el colorante y recobrarán su color magenta, esto se conoce como reacción nuclear de Feulgen (Bonet *et al.*, 1985). Una vez teñidas las laminillas fueron re-etiquetadas con una nueva clave asignada y desconocida para el observador, con el fin de evitar algún tipo de prejuicio al realizar el registro de MN y/o AN.

### **7.6.2 Lectura de laminillas**

El registro de las laminillas se realizó con los objetivos de 16x y 40x observándose 3000 células por persona, para poder determinar el daño al ADN mediante la cuantificación de MN y otras AN. El análisis microscópico, se efectúa con base en los siguientes aspectos: forma y tamaño típico de las células bucales, núcleo y citoplasma claramente definidos (Reali *et al.*, 1987).

Los criterios para estimar la frecuencia de células con MN fueron los establecidos por Stich *et al.* (1983) y Livingston *et al.* (1990). La norma para identificar y contar MN se basa en la morfología y la localización en la célula, que presente membrana propia y coloreada igual que el núcleo principal, además debe medir 1/3 parte del núcleo principal. También se cuantifican otras anormalidades nucleares de acuerdo con Tolbert *et al.* (1992).

### **7.7 Análisis estadístico**

La prueba *t* de Student fué aplicada a los resultados obtenidos de ICH y de IR. Para el caso de IM, MN y otras AN se utilizó la prueba U de Mann-Whitney. El análisis de varianza (ANOVA) se empleó para determinar el efecto sobre la cinética de proliferación celular (M1, M2 Y M3) los valores encontrados son significativos ( $P < 0.001$ ), por lo que la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer se usó para identificar los grupos que muestran diferencias significativas ( $P < 0.001$ ) estas mismas pruebas se emplearon para la influencia del hábito de fumar, consumo de alcohol, edad y género. El análisis de correlación se realizó entre el tiempo de exposición a plaguicidas y la frecuencia de ICH y MN, para el TCP se aplicó  $X^2$ . Se utilizó el programa Statistica 7 Re. 6.

## **8 RESULTADOS**

### **8.1 Principales plaguicidas utilizados por el grupo expuesto**

Los plaguicidas empleados por el grupo expuesto pertenecen principalmente a los organofosforados y a los carbamatos, además de algunos organoclorados y piretroides, entre otros (Tabla 1). Se resalta la situación particular de que el grupo expuesto maneja de manera constante mezclas de estos productos buscando obtener mejores resultados. El grupo expuesto evaluado en este trabajo utiliza principalmente 25 plaguicidas que pertenecen a los compuestos organoclorados, organofosforados, carbamatos piretroides y triazinas principalmente, entre los que se encuentran clordano y monocrotofos prohibidos por la EPA, aldicarb y paraquat prohibidos por la Pesticide Action Network (PAN), El malatión, metil azinfos, diazinón y carbaril han sido restringidos por la Unión Europea y el endosulfán está condicionado a eliminación progresiva en tres años, es decir hasta el 2011. También se hace uso frecuente de la cipermetrina clasificada por la EPA como posible carcinógeno. Lo anterior indica que la mayoría de los compuestos utilizados por el grupo expuesto presentan propiedades mutagénicas que potencialmente pueden generar la inducción de ICH y MN.

**Tabla 1** Principales plaguicidas utilizados por el grupo expuesto en las Grullas Ahome, Sinaloa.

Organoclorados	Organofosforados	Carbamatos	Otros
Insecticidas			
Endosulfán (II)*	Malatión (III)*	Aldicarb (Ia)*	Cipermetrina (III)*
Clordano (III)*	Paratión-metil (Ia)*	Carbaril (III)*	
	Azinfos-metil (Ib)*	Carbosulfán (III)*	
	Diazinón (II)*	Lannate (Ib)*	
	Monocrotofos (Ib)*	Vidate (Ib)*	
	Clorpirifos (II)*		
	Gusatión (Ib)*		
Herbicidas			
		Pirimicarb (III)*	Paraquat (II)*
			2,4,D (III)*
			Glifosato (U)*
Fungicidas			
Pentaclorofenol (Ib)*		Mancozeb (U)*	Cupravit (U)*
		Propineb (U)*	Benomil (U)*
			Captan (U)*

\*WHO (2004) clasificación de peligrosidad: Ia= extremadamente peligroso, Ib= altamente peligroso, II= moderadamente peligroso, III=ligeramente peligroso, U= poco probable que presente riesgo agudo en uso normal.

## 8.2 Resultados del cuestionario

Los trabajadores o jornaleros agrícolas participantes en este estudio se caracterizan por una actividad agrícola intensa y una exposición continua a mezclas de plaguicidas. El tipo de cultivo en el que laboran, principalmente es chile, tomate y mango. La forma de aplicación de los plaguicidas la realizan sin protección y sin tomar en consideración las indicaciones del fabricante de los plaguicidas que vienen en los envases, además de que ignoran el simbolismo empleado en las etiquetas de dichos compuestos, manifestándose desconocimiento general sobre el riesgo que el uso de estos productos les ocasiona. La información recabada a través de la aplicación de la encuesta realizada (Anexo 1), permitió conocer algunos aspectos como el tipo de dieta de los participantes,

resaltando datos que muestran que el consumo de proteína animal es frecuente, ya que generalmente ambos grupos comen pescado o mariscos dos o tres veces por semana; la ingesta de frutas de temporada es constante haciéndolo al menos tres o cuatro días a la semana; con relación a las de verduras más del 80% de los participantes manifestaron consumo diario de algún tipo de verduras cultivadas en la región. En general los participantes del presente estudio no muestran síntomas de desnutrición. En la tabla 2 se indican los datos respecto a edad, género, hábitos de fumar, consumo de alcohol, tiempo de exposición. Con estos informes se pudo relacionar algunos parámetros, obteniendo que el tiempo de exposición se correlaciona con la frecuencia de ICH (Graf. 1).

**Tabla 2** Edad, género, tiempo de exposición, hábito de fumar y consumo de alcohol en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas de Las Grullas, Sinaloa y en el grupo no expuesto de Los Mochis Sinaloa.

	Grupo Expuesto				Grupo no expuesto		
	N	Edad (años) $\bar{x} \pm D. S.$	Tiempo exposición (años) $\bar{x} \pm D. S.$	Cigarros fumados/día $\bar{x} \pm D.S.$	N	Edad (años) $\bar{x} \pm D. S.$	Cigarros fumados/día $\bar{x} \pm S.D.$
Mujeres	25	37.16 $\pm$ 12.89	6.75 $\pm$ 3.09		21	36.57 $\pm$ 12.16	
Hombres	45	37.20 $\pm$ 14.88	7.25 $\pm$ 4.38		49	39.42 $\pm$ 15.11	
Fumadores	42	36.60 $\pm$ 14.30	6.40 $\pm$ 3.35	9.6 $\pm$ 3.2	49	39.80 $\pm$ 14.80	7.4 $\pm$ 1.7
No fumadores	28	37.80 $\pm$ 13.90	7.80 $\pm$ 4.60		21	35.70 $\pm$ 12.70	
Consumen alcohol <sup>a</sup>	32	38.74 $\pm$ 15.65	6.71 $\pm$ 3.94		19	44.50 $\pm$ 14.40	
No consumen alcohol	38	35.70 $\pm$ 12.60	7.31 $\pm$ 3.90		51	36.30 $\pm$ 13.60	
Total	70	37.18 $\pm$ 14.07	7.00 $\pm$ 3.95	9.6 $\pm$ 3.2	70	38.75 $\pm$ 14.27	7.4 $\pm$ 1.7

<sup>a</sup> Toman más de tres cervezas por día o toman en exceso una vez a la semana

### 8.3 Frecuencias de ICH

La Tabla 3, muestra los promedios generales de ICH, para el grupo expuesto  $6.36 \pm 0.28$  y para el no expuesto  $3.71 \pm 0.91$ . Al aplicar la prueba de *t* Student, la diferencia fue significativa con  $P < 0.0001$ . El análisis de la correlación entre los valores promedios de ICH y tiempo de exposición a plaguicidas (Graf. 1), mostró que existe correlación significativa con  $P < 0.0001$ .

**Tabla 3** Edad, género y frecuencia de ICH de los grupos expuesto de Las Grullas, Ahome, Sinaloa y no expuesto a plaguicidas de Los Mochis, Sinaloa.

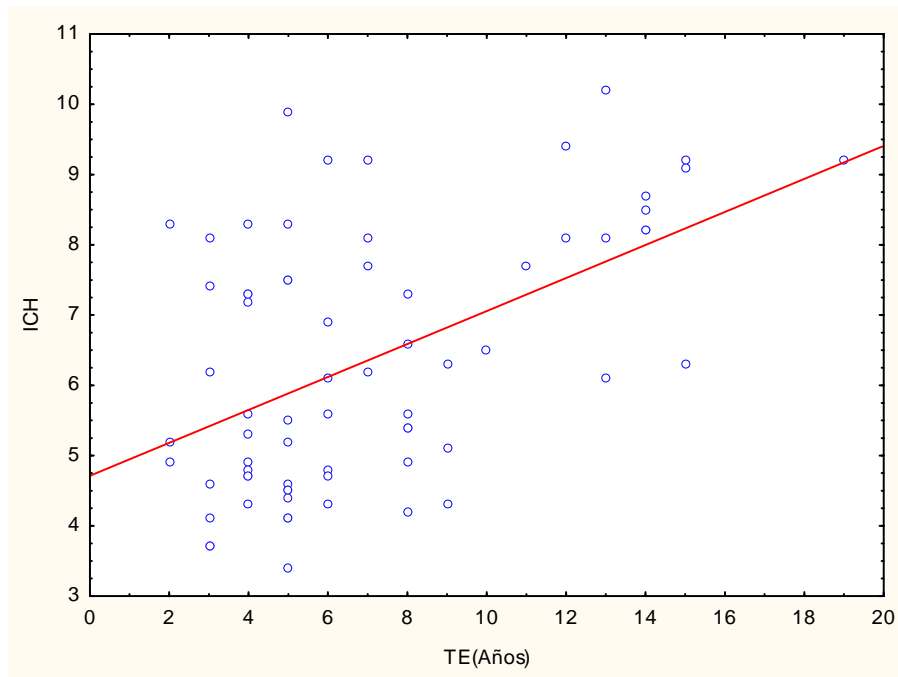
Individuo	Grupo expuesto			Grupo no expuesto			
	Edad (años)	Género	Duración de exposición (años)	ICH/metafases $\bar{X} \pm E.E.$	Edad (años)	Género	ICH/metafases $\bar{X} \pm E.E.$
1	18	F	5	9.1 ± 0.49	19	F	3.3 ± 0.29
2	21	F	5	4.4 ± 0.26	20	F	3.4 ± 0.24
3	22	F	14	8.5 ± 0.41	21	F	3.6 ± 0.24
4	23	F	6	4.8 ± 0.34	22	F	6.2 ± 0.47
5	23	F	8	5.4 ± 0.31	24	F	3.1 ± 0.21
6	23	F	5	8.3 ± 0.31	24	F	3.2 ± 0.38
7	23	F	7	7.7 ± 0.29	29	F	3.5 ± 0.27
8	25	F	4	4.7 ± 0.40	34	F	3.1 ± 0.29
9	34	F	5	4.1 ± 0.37	34	F	2.9 ± 0.29
10	34	F	8	4.2 ± 0.32	36	F	3.1 ± 0.27
11	34	F	5	5.2 ± 0.53	37	F	4.3 ± 0.91
12	34	F	7	6.2 ± 0.52	38	F	3.1 ± 0.19
13	36	F	11	7.7 ± 1.15	39	F	2.9 ± 0.23
14	39	F	8	6.6 ± 0.54	41	F	3.3 ± 0.24
15	39	F	4	7.2 ± 0.21	45	F	5.9 ± 0.38
16	41	F	9	5.1 ± 0.35	46	F	3.3 ± 0.31
17	43	F	3	6.2 ± 0.25	46	F	5.6 ± 0.36
18	45	F	5	4.6 ± 0.19	46	F	5.7 ± 0.35
19	46	F	8	5.4 ± 0.36	50	F	3.9 ± 0.39
20	48	F	2	8.3 ± 0.68	55	F	3.6 ± 0.29
21	53	F	7	8.1 ± 0.58	62	F	4.6 ± 0.83
22	53	F	6	9.2 ± 0.47	18	M	2.7 ± 0.25
23	53	F	4	7.3 ± 0.29	20	M	5.5 ± 0.32
24	57	F	6	4.3 ± 0.20	21	M	3.2 ± 0.31
25	62	F	5	5.5 ± 0.27	21	M	3.3 ± 0.24
26	19	M	6	6.9 ± 0.75	21	M	2.9 ± 0.26
27	20	M	13	6.1 ± 0.53	22	M	2.8 ± 0.27
28	20	M	5	7.5 ± 0.22	22	M	2.9 ± 0.27
29	21	M	5	4.5 ± 0.31	23	M	3.2 ± 0.41
30	22	M	4	5.3 ± 0.51	23	M	4.3 ± 0.89
31	22	M	6	5.6 ± 0.71	23	M	2.6 ± 0.21
32	22	M	5	7.5 ± 0.76	24	M	2.8 ± 0.25
33	22	M	2	4.9 ± 0.34	25	M	2.9 ± 0.22
34	23	M	5	4.1 ± 0.61	25	M	3.9 ± 0.44
35	24	M	3	8.1 ± 0.65	26	M	4.3 ± 0.29
36	24	M	3	3.7 ± 0.26	26	M	3.8 ± 0.35

Continuación **Tabla 3**

Individuo.	Grupo expuesto			Grupo no expuesto			
	Edad (años)	Género	Duración de exposición (años)	ICH/metafases	Edad (años)	Género	ICH/metafases
37	25	M	2	5.2 ± 0.34	27	M	3.2 ± 0.21
38	25	M	7	9.2 ± 0.66	27	M	4.5 ± 0.80
39	25	M	8	4.9 ± 0.33	28	M	3.8 ± 0.44
40	26	M	4	7.3 ± 0.30	29	M	3.4 ± 0.25
41	27	M	4	4.8 ± 0.24	30	M	3.5 ± 0.32
42	27	M	5	4.5 ± 0.33	30	M	3.4 ± 0.29
43	27	M	4	4.7 ± 0.27	30	M	6.1 ± 0.34
44	29	M	9	6.3 ± 0.38	32	M	3.2 ± 0.23
45	29	M	14	8.2 ± 0.57	34	M	4.3 ± 0.44
46	29	M	4	4.3 ± 0.26	39	M	3.3 ± 0.24
47	30	M	3	4.6 ± 0.34	41	M	4.5 ± 0.46
48	31	M	3	4.1 ± 0.36	41	M	4.2 ± 0.28
49	31	M	19	9.2 ± 0.87	45	M	3.6 ± 0.31
50	33	M	5	3.4 ± 0.28	48	M	3.7 ± 0.32
51	34	M	12	8.1 ± 0.62	50	M	3.4 ± 0.36
52	38	M	8	7.3 ± 1.17	50	M	3.3 ± 0.34
53	40	M	12	9.4 ± 0.40	51	M	3.1 ± 0.29
54	41	M	13	10.2 ± 0.48	51	M	3.2 ± 0.22
55	45	M	14	8.7 ± 0.32	53	M	3.3 ± 0.25
56	49	M	8	5.6 ± 0.61	53	M	3.2 ± 0.26
57	50	M	13	8.1 ± 0.28	53	M	3.2 ± 0.25
58	51	M	3	3.7 ± 0.26	53	M	5.4 ± 0.42
59	53	M	6	6.1 ± 0.49	53	M	5.6 ± 0.32
60	53	M	15	9.2 ± 0.89	53	M	4.7 ± 0.76
61	55	M	5	9.9 ± 0.91	54	M	5.5 ± 0.32
62	55	M	4	8.3 ± 0.31	55	M	3.3 ± 0.27
63	55	M	9	4.3 ± 0.33	55	M	2.4 ± 0.22
64	56	M	4	4.9 ± 0.43	56	M	2.9 ± 0.24
65	56	M	4	5.6 ± 0.63	56	M	2.9 ± 0.28
66	57	M	3	7.4 ± 0.28	57	M	3.2 ± 0.27
67	62	M	6	4.7 ± 0.31	63	M	3.5 ± 0.22
68	62	M	14	8.2 ± 0.53	63	M	3.5 ± 0.25
69	63	M	15	6.3 ± 0.32	66	M	2.9 ± 0.23
70	66	M	10	6.5 ± 0.62	66	M	3.4 ± 0.39
Promedio	37.1857		7.0428	6.36*	38.5714		3.71
D. E.	14.0797		3.9542	1.823	14.2692		0.91
E. E.	1.676			0.217	1.6987		0.18
Mediana				6.1			3.2
Rango de frecuencia de ICH				3.4 a 10.2			2.4 a 6.2

\* *t* Student (cuando se compararon los grupos expuesto y no expuesto)  $P < 0.0001$





**Gráfica 1.** Correlación de Pearson entre tiempo de exposición TE (Años) y frecuencias de ICH en el grupo expuesto. Valor de  $r = 0.5089$ ,  $n = 70$

Los resultados obtenidos en las frecuencias de ICH en relación al tiempo de exposición se analizaron también formando rangos divididos por periodos de tiempo de exposición en la búsqueda de correlaciones más estrechas, sin embargo no se observó que los datos sigan alguna tendencia, lo cual se puede atribuir a que la población estudiada presenta características heterogéneas y que al separarla en rangos se reduce significativamente el tamaño de muestra.

Con respecto al consumo de alcohol, fumadores y la frecuencia de ICH, al comparar tanto el grupo expuesto como el no expuesto, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los fumadores y los consumidores de alcohol, a pesar de considerar a estos hábitos como posibles factores de confusión.

#### **8.4 Frecuencias de la cinética de proliferación celular, IM e IR**

En la evaluación de la cinética de proliferación celular (CPC) de este estudio se muestra que el comportamiento del grupo no expuesto fue aproximado a lo normal de acuerdo con el criterio establecido por algunos autores, teniendo 30.7 % metafases de primera, 45.8 de segunda y 23.2 de tercera división, acercándose al comportamiento hipotético planteado en un ciclo celular donde no interfieren compuestos genotóxicos con valores de 25 % de primera, 50 % de segunda y 25 % de tercera división (Tabla 4); mientras que en el grupo expuesto M1 fue 24.3, M2 disminuyó significativamente a 33.8 y M3 aumentó significativamente al 41.9 lo cual se observó al aplicar ANOVA y la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer (Tabla 4). Los datos obtenidos para el grupo expuesto se inclinan hacia una reducción en el número de metafases de segunda y un aumento considerable de terceras divisiones, lo cual sugiere que la exposición a plaguicidas ha ocasionado aceleración del ciclo celular ya que la frecuencia de M3 fue significativamente elevada.

Al aplicar la prueba *U* de Mann-Whitney a los valores del índice mitótico, se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos expuestos y no expuestos a mezclas de plaguicidas. El índice de replicación (IR), a través de la prueba *t* de Student no fue significativo al comparar ambos grupos (Tabla 4).

#### **8.5 Resultados del cálculo del TCP**

Al calcular el tiempo de la cinética de proliferación (TCP) se obtuvieron los siguientes datos: 21.96 h de TCP para el grupo expuesto y 25.17 h para el grupo no expuesto, al analizar estos resultados a través de prueba de  $X^2$ , se obtuvo una  $P < 0.001$  siendo significativa, observándose un comportamiento acelerado en el TCP del grupo expuesto.

**Tabla 4** Cinética de proliferación celular (M1, M2 y M3), índice de replicación (IR) e índice mitótico (IM) en jornaleros agrícolas expuestos a plaguicidas de Las Grullas, Ahome, Sinaloa y grupo no expuesto de Los Mochis, Sinaloa

Individuo	Grupo expuesto					Grupo no expuesto				
	M1	M2	M3	IR	IM	M1	M2	M3	IR	IM
1	9	19	72	2.6	3.2	33	50	17	1.8	3.5
2	14	46	40	2.3	6.7	27	47	13	1.6	2.6
3	34	40	26	1.9	3.9	30	48	22	1.9	4.8
4	21	37	40	2.2	4.6	23	43	34	2.1	5.9
5	16	26	48	2.1	4.4	32	47	21	1.8	4.3
6	28	38	34	1.9	4.1	22	60	18	1.9	3.1
7	21	37	40	2.2	4.9	32	44	24	1.9	4.8
8	21	32	47	2.3	3.1	25	52	23	1.9	3.4
9	18	35	47	2.3	7.1	29	45	26	1.9	3.7
10	15	26	59	2.4	5.5	38	44	18	1.8	3.9
11	12	26	62	2.5	2.6	29	45	26	1.9	3.4
12	15	18	67	2.5	4.8	29	43	28	1.9	3.2
13	32	40	28	1.9	3.8	24	56	20	1.9	3.1
14	7	35	58	2.5	4.8	39	39	22	1.8	4.5
15	17	39	44	2.3	7.7	45	30	25	1.8	4.1
16	21	37	42	2.2	5.3	32	38	30	1.7	5.7
17	12	36	52	2.4	3.5	34	57	9	1.7	4.5
18	16	39	45	2.3	5.9	23	52	25	2.1	7.5
19	17	25	58	2.4	2.8	24	49	27	2.1	3.3
20	25	31	44	2.2	3.7	32	44	24	1.9	4.6
21	27	35	38	2.1	4.1	27	60	13	1.8	3.1
22	23	37	40	2.2	5.3	35	49	16	1.8	3.1
23	18	27	55	2.4	4.9	34	43	23	1.9	3.7
24	18	43	39	2.2	5.1	38	35	27	1.9	4.8
25	29	34	37	2.8	3.8	29	57	14	1.9	3.8
26	14	24	62	2.5	5.9	22	65	13	1.9	3.3
27	18	49	33	2.2	3.3	43	37	20	2.7	4.9
28	18	35	47	2.3	5.1	28	60	12	1.8	3.3
29	10	46	44	2.3	4.7	22	54	24	2.2	3.0
30	16	32	52	2.4	3.5	35	49	16	1.8	3.4
31	29	54	17	1.9	4.1	29	45	26	1.9	4.7
32	63	18	19	1.6	2.1	24	55	21	1.9	3.6
33	43	37	20	1.8	4.1	28	47	25	1.9	4.8
34	39	31	30	1.9	3.9	27	60	13	1.8	4.5
35	17	26	57	2.4	6.9	38	35	27	1.8	3.6

Continuación **Tabla 4**

Individuo	Grupo expuesto					Grupo no expuesto				
	M1	M2	M3	IR	IM	M1	M2	M3	IR	IM
36	43	37	20	1.8	6.4	40	38	22	1.8	4.1
37	32	20	48	2.2	4.9	30	53	17	1.8	3.8
38	27	33	40	2.1	5.5	32	47	21	1.9	3.2
39	68	16	16	1.5	3.8	25	54	21	1.9	2.6
40	15	32	53	2.4	1.5	31	52	17	1.8	3.5
41	24	23	53	2.3	7.8	29	57	14	1.8	2.6
42	30	48	22	1.9	6.6	30	47	23	1.9	4.8
43	38	35	27	1.9	10.5	23	42	35	1.8	5.9
44	19	20	61	2.4	7.5	41	38	21	1.8	4.3
45	32	38	30	1.9	5.9	23	54	23	2.1	3.1
46	40	38	22	1.8	9.8	34	44	22	1.8	4.8
47	35	49	16	1.8	5.9	28	48	24	1.9	3.4
48	18	24	58	2.4	7.7	28	47	25	1.9	3.7
49	19	32	49	2.3	7.4	29	34	37	2.2	3.9
50	22	44	34	2.1	4.8	30	42	28	1.9	3.4
51	21	37	42	2.2	7.3	31	40	29	1.9	3.2
52	29	30	41	2.1	7.9	39	23	38	1.9	3.1
53	45	30	25	1.8	8.4	37	38	25	1.8	4.5
54	27	39	34	1.9	3.2	46	28	26	1.8	4.1
55	26	50	24	2.1	6.7	34	36	30	1.9	5.7
56	19	19	62	2.4	2.1	23	46	31	2.1	4.5
57	19	27	54	2.4	5.7	52	24	24	1.7	7.5
58	16	35	49	2.3	6.3	26	35	39	2.1	3.3
59	17	19	64	2.5	3.2	35	41	24	1.9	4.6
60	18	33	49	2.3	1.2	28	59	13	1.8	3.1
61	29	31	40	2.1	3.2	24	48	28	2.1	3.1
62	62	22	16	1.5	3.5	42	35	23	1.8	3.7
63	20	45	35	2.2	3.3	35	38	27	1.9	4.8
64	13	25	62	2.5	3.9	21	54	25	2.1	3.8
65	13	27	60	2.5	2.1	20	54	26	2.1	3.3
66	18	59	23	2.5	4.1	31	48	21	1.9	4.9
67	22	42	36	1.1	2.6	29	42	29	2.1	3.3
68	23	35	42	2.2	4.9	27	45	28	2.1	3.0
69	23	36	51	2.5	2.4	28	49	23	1.9	3.4
70	26	44	30	2.4	4.1	27	47	26	1.9	4.7
Promedio	24.3	33.771*	41.87*	2.185	4.875	30.7	45.871*	23.243*	1.907	4.002
D.E	11.997	9.294	14.34	0.298	1.925	6.559	8.793	6.256	0.156	1.003
E. E.	1.425	1.095	1.707	0.034	0.229	0.780	1.046	0.744	0.0186	0.119
Mediana	21	35	41.94	2.2	4.8**	29	46.5	23.621	1.9	3.7

\*Diferencias significativas entre el grupo expuesto y no expuesto se observan con el Análisis de varianza encontrando  $F = 59.39$ ,  $P < 0.0001$ . Se aplicó la prueba de comparación múltiple de Tukey-Kramer obteniendo  $P < 0.001$  \*\*Significativo con U de Mann Whitney

No se encontraron diferencias significativas en relación con CPC, entre los consumidores de alcohol y los fumadores, para el grupo expuesto ni para el no expuesto y tampoco se correlacionó la edad, el sexo y el tiempo de exposición con la CPC.

### **8.5 Frecuencias de MN y AN**

La tabla 5, muestra las frecuencias de MN siendo, 2.83 ‰ en el grupo expuesto y 0.37 ‰ en el grupo no expuesto, la prueba U de Mann Whitney fue significativa para el grupo expuesto ( $P < 0.0001$ ). Estos resultados obtenidos con respecto a las frecuencias de MN evidencian que la exposición constante a niveles altos de plaguicidas indujo MN y anormalidades nucleares en células del epitelio bucal, lo cual refleja la producción de daño. No se correlacionó el tiempo de exposición a plaguicidas con la frecuencia de MN.

**Tabla 5** Frecuencias de micronúcleos detectados en células de descamación del epitelio bucal en jornaleros agrícolas expuestos a plaguicidas de Las Grullas, Ahome, Sinaloa y grupo no expuesto de Los Mochis, Sinaloa

	Grupo expuesto <sup>a</sup>	Grupo no-expuesto <sup>a</sup>
Individuo	‰ MN	‰ MN
1	0.00	1.00
2	2.00	0.00
3	1.00	0.00
4	2.00	0.00
5	10.00	0.00
6	13.00	0.00
7	0.00	0.00
8	7.00	1.00
9	4.00	0.00
10	3.00	0.00
11	12.00	0.00
12	0.00	0.00
13	2.00	0.00
14	0.00	0.00
15	3.00	0.00
16	5.00	0.00
17	0.00	0.00
18	3.00	0.00
19	7.00	0.00
20	0.00	0.00
21	3.00	0.00
22	2.00	1.00
23	2.00	0.00
24	4.00	1.00
25	0.00	0.00
26	0.00	1.00
27	3.00	0.00
28	0.00	2.00
29	0.00	0.00
30	2.00	0.00
31	2.00	0.00
32	4.00	4.00
33	11.00	0.00
34	7.00	0.00
35	2.00	0.00
36	0.00	0.00
37	2.00	0.00

Continuación **Tabla 5**

	Grupo expuesto <sup>a</sup>	Grupo no-expuesto <sup>a</sup>
Individuo	‰ MN	‰ MN
38	3.00	2.00
39	3.00	0.00
40	2.00	1.00
41	6.00	0.00
42	4.00	0.00
43	0.00	1.00
44	5.00	0.00
45	7.00	0.00
46	0.00	0.00
47	5.00	4.00
48	0.00	0.00
49	0.00	3.00
50	0.00	1.00
51	2.00	0.00
52	0.00	0.00
53	2.00	0.00
54	3.00	0.00
55	1.00	0.00
56	3.00	0.00
57	0.00	0.00
58	4.00	2.00
59	3.00	0.00
60	2.00	0.00
61	3.00	0.00
62	2.00	0.00
63	2.00	0.00
64	2.00	0.00
65	0.00	0.00
66	5.00	0.00
67	2.00	0.00
68	2.00	0.00
69	3.00	1.00
70	4.00	0.00
Promedio	2.83*	0.37
D. E.	2.91	0.87
E. E.	0.35	0.10
Mediana	2.00	0.00
Rango	0 a 13.0	0 a 4.0

<sup>a</sup>n = 3000 células examinadas

En lo que respecta al consumo de alcohol y fumadores y la frecuencia de MN, al comparar el grupo expuesto como el no expuesto, no se encontraron diferencias entre los fumadores y los consumidores de alcohol, a pesar de considerar estos hábitos como posibles factores de confusión.

Las células de exfoliación de la mucosa bucal permitieron obtener datos de otras anomalías nucleares (AN), como son las células binucleadas (presencia de dos núcleos en una célula), la cromatina condensada (agregados de cromatina), rompimiento de huevo (fragmentos de material nuclear unidos al núcleo principal por un pequeño puente), picnosis (núcleos reducidos), cariorrexis (núcleos desintegrados) y cariólisis (disolución nuclear en el que la reacción Feulgen negativa se observa como fantasma del núcleo). Se utilizó la prueba *U* de Mann-Whitney, obteniendo  $P < 0.001$ , siendo significativa para el grupo expuesto (Tabla 6).

**Tabla 6** Frecuencias de anomalías nucleares observadas en células de descamación de la mucosa bucal de los grupos expuesto y no expuesto.

AN	Grupo Expuesto	Grupo no expuesto
Binucleadas	2.09* $\pm$ 0.12	0.71 $\pm$ 0.08
Cromatina condensada	1.65* $\pm$ 0.13	0.75 $\pm$ 0.10
Cariólisis	1.67* $\pm$ 0.12	0.72 $\pm$ 0.09
Picnosis	1.30* $\pm$ 0.12	0.35 $\pm$ 0.06
Cariorrexis	1.17* $\pm$ 0.10	0.57 $\pm$ 0.07
Rompimiento de huevo	1.14* $\pm$ 0.01	0.58 $\pm$ 0.09

\* U de Mann Whitney, Significativo  $P < 0.001$

Todos los valores están expresados en medianas  $\pm$  E.E. de ‰ MN y anomalías nucleares en 70 individuos



## 9 DISCUSION

En los últimos años se ha incrementado la preocupación por las consecuencias y riesgos hacia la salud humana generados por la exposición ocupacional a plaguicidas y aún cuando es conocido que estos son agentes químicos tóxicos también se sabe que sus beneficios hacia la sociedad son grandes, ya que han permitido potencializar la economía en términos de mejoras en la cantidad de producción agrícola en el mundo al disminuir las plagas y vectores de enfermedades. En los campos agrícolas sinaloenses hombres, mujeres, niñas y niños están expuestos a los plaguicidas, aunque con diferentes frecuencias e intensidades, pero es posible considerar que los que tienen mayor contacto con estas sustancias son los aplicadores.

Los campesinos participantes en el presente estudio, están expuestos a mezclas de plaguicidas constituidos por diferentes ingredientes activos en su mayoría organofosforados y carbamatos, algunos de ellos prohibidos por tener actividad mutagénica y carcinogénica ya demostrada (De Ferrari *et al.*, 1991; Rupa *et al.*, 1991; Falck *et al.*, 1999). Los plaguicidas pertenecientes a estos grupos son inhibidores de la colinesterasa y otras enzimas, por la afinidad que tienen al combinarse con las proteínas del plasma sanguíneo, lo que genera alteraciones en las reacciones enzimáticas, provocando que se originen derivados o formas activas que ocasionan daños al ADN (Hollingworth, 1981).

No es posible determinar el daño causado por cada plaguicida utilizado por el grupo expuesto, debido principalmente a que la exposición es a mezclas complejas. Sin embargo es bien conocida la acción genotóxica de cada uno de estos plaguicidas en condiciones *in vitro*, se sabe que los agentes tóxicos pueden diferir en el tipo y número de lesiones inducidas al ADN y en el efecto biológico que ocasionan. El aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos del grupo expuesto podría ser debido, principalmente al efecto acumulativo de los plaguicidas con acción clastogénica como el endosulfán, paraquat, paratión metílico y 2,4 D (Zeljezic y Garaj-Vhrovac, 2001; Bolognesi, 2003; Márquez *et al.*,

2005; Bull *et al.*, 2006; Ergene *et al.*, 2007) aunque es probable que también se manifieste actividad de otros con efecto aneugénico y citotóxico como los asociados al uso de malatión y carbosulfán (Zeljezic y Garaj-Vhrovac, 2001; Faust *et al.*, 2004; Ilinskaya *et al.*, 2004; Mladinic *et al.*, 2009).

La mayoría de las sustancias consideradas genotóxicas y/o carcinogénicas son altamente electrofílicas y tienen la capacidad de unirse covalentemente a moléculas biológicas como el ADN y ARN. En compuestos organofosforados como el clorpirifos, el grupo fosforilo es un sitio electrofílico potencial que puede reaccionar con el ADN y su grupo alquilo tiene la capacidad de interactuar con centros nucleofílicos de la molécula como el nitrógeno 7 de la guanina (Vindas, 2004). De este modo, el clorpirifos podría estar actuando como agente alquilante (AA). Los AA pueden reaccionar con centros altamente nucleofílicos del ADN (átomos de nitrógeno) o poco nucleofílicos (átomos de oxígeno). La alquilación de los oxígenos está relacionada con efectos mutagénicos y oncogénicos, mientras que la de los nitrógenos se asocia con citotoxicidad (Qiao *et al.*, 2003).

Lo anterior permite suponer que el uso frecuente e indiscriminado de este tipo de plaguicidas provoca alteraciones en los jornaleros, a pesar de que en este grupo existen personas con periodos largos y cortos de trabajo en contacto directo a plaguicidas, observándose valores de ICH similares en ambos casos. Sin embargo, es de esperarse que los individuos con mayor tiempo de laborar con estos compuestos presenten más alteraciones (Rupa *et al.*, 1988; Shaham *et al.*, 2001; Bolognesi, 2003). En este trabajo hubo correlación entre el tiempo de exposición y la frecuencia de ICH. Sin embargo no se encontró correlación entre el tiempo de exposición y la frecuencia de micronúcleos. Estos resultados coinciden con Gómez-Arroyo *et al.* (2000) y Pastor *et al.* (2001a, b, 2002). En contraste a esta situación se han reportado correlaciones positivas por otros autores (Garaj-Vhrovac y Zeljezic, 2001; Sailaja *et al.*, 2006; Remor *et al.*, 2009). De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, es posible atribuir el

incremento estadísticamente significativo de la frecuencia de ICH al uso constante e indiscriminado de mezclas de plaguicidas en esta población.

Estudios realizados en varios países como la India (Rupa *et al.*, 1988), República Checa (Jablonika *et al.*, 1989), Italia (De Ferrari *et al.*, 1991), Argentina (Dulout *et al.*, 1992), Dinamarca (Lander y Ronne, 1995), México (Gómez-Arroyo *et al.*, 2000), Croacia (Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2001; Zeljezic y Garaj-Vrhovac, 2002), Israel (Shaham *et al.*, 2001), Pakistán (Bhalli *et al.*, 2006), Portugal (Costa *et al.*, 2006) y Turquía (Ergene *et al.*, 2007) reportan frecuencia alta de ICH en trabajadores ocupacionalmente expuestos a plaguicidas, principalmente organoclorados, organofosforados, carbamatos y piretroides. Sin embargo, algunos otros estudios mostraron frecuencias negativas de ICH (Carbonell *et al.*, 1990; Gómez-Arroyo *et al.*, 1992; Pasquini *et al.*, 1996), lo que puede atribuirse a factores como la edad, mezclas de plaguicidas, polimorfismo genético, métodos de aplicación, nivel genotóxico de los compuestos utilizados y la interacción de todas estas características (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007).

Por otro lado, el índice de proliferación celular constituye un criterio para evaluar los cambios en la replicación al acelerar o inhibir la duración del ciclo celular y en algunos casos provocar efectos en las respuestas inmunológicas de las células. Diversas investigaciones llevadas a cabo para evaluar alteraciones en el ciclo celular, muestran que algunos compuestos organofosforados como malatión y paratión empleados en la agricultura dañan al ADN e inducen aumento significativo en el índice de replicación y en la cinética de proliferación celular en linfocitos humanos *in vitro* (Sobti *et al.*, 1982).

En el presente estudio se mostró que en el grupo expuesto a plaguicidas, se produjeron alteraciones en la cinética de proliferación celular, ya que las células M2 decrecieron pero las de M3 incrementaron significativamente su número, lo que sugiere que la exposición a plaguicidas ha inducido aceleración en el ciclo celular; asimismo se observó diferencia significativa en el IM. Este

comportamiento fue similar en trabajadores de la floricultura en el Estado de Morelos, México (Gómez-Arroyo *et al.*, 2000). Sin embargo, en el IR no se encontraron diferencias significativas con relación al grupo no expuesto. Estos resultados sugieren que cuando la cinética de proliferación celular muestra aceleración, el IR no aumenta ya que los cambios en sus valores de IR se incrementan cuando hay retraso, lo que refleja la inhibición de la síntesis del ADN. Por lo tanto, la evaluación del IR, podría ser una herramienta útil para identificar los compuestos que provocan retraso en la síntesis del ADN, como ha sido sugerido por Lazutka (1991). Mientras que al analizar el TCP se obtuvo diferencia estadísticamente significativa entre el grupo expuesto y el no expuesto, siendo un parámetro que podría adicionarse a este tipo de estudios ya que refleja el efecto de las alteraciones de la cinética a diferencia del IR. En este estudio la aceleración en la tasa de división celular se manifestó con un incremento significativo en el IM, apoyado por los valores del TCP que muestra un comportamiento similar.

Los MN son una de las pruebas de genotoxicidad más frecuentemente usadas para evaluar las consecuencias de las exposiciones ambientales y laborales a mutágenos (Vaglenov *et al.*, 2001, Norppa y Falck, 2003), por lo que se consideró importante incluir este ensayo en la evaluación de daño genotóxico ya que proporciona información complementaria a la obtenida con el análisis ICH, y aprovechar las ventajas de ser un método muy sensible, relativamente fácil de realizar y con un significado biológico claro. Nuestro estudio al igual que otras investigaciones con trabajadores expuestos a plaguicidas refieren resultados con aumentos significativos en las frecuencias de MN con respecto a los testigos (Gómez-Arroyo *et al.*, 2000; Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2001; Oliveira y Hackel, 2002; Sailaja *et al.*, 2006; Ergene *et al.*, 2007). Sin embargo, también otras investigaciones indican resultados que no evidencian variaciones notables en la frecuencia de MN en los grupos de expuestos a plaguicidas con relación al no expuesto (Lucero *et al.*, 2000; Pastor *et al.*, 2001a, b; Bolognesi *et al.*, 2004). Consideramos pertinente el análisis de micronúcleos en células del epitelio bucal porque cerca del 92 % de los cánceres son de origen epitelial (Rosin y Gilbert,

1990). En este estudio la frecuencia de micronúcleos en células del epitelio bucal del grupo no expuesto fue entre 0 y 4 MN en 1000 células. Estos resultados concuerdan con Stich (1987) quien reporta, que en poblaciones sanas, la frecuencia de micronúcleos en células del epitelio bucal se ubica dentro del rango de 0 a 4 por 1000 células.

Además de los MN, diversos cambios nucleares degenerativos han sido sugeridos y utilizados como marcadores de genotoxicidad; éstos incluyen las AN de picnosis, condensación de cromatina y cariorrexis que están relacionados con citotoxicidad (necrosis y queratinización), mientras que la kariólisis está asociada con toxicidad celular. En nuestro estudio todas las anomalías nucleares fueron significativamente más frecuentes en el grupo expuesto. Estos resultados coinciden con los de otros autores (Gómez-Arroyo *et al.*, 2000; Ergene *et al.*, 2007).

Debido al riesgo mutagénico y carcinogénico de los diversos componentes del cigarrillo, se considera que fumar es un factor de confusión que puede influir en la frecuencia de daño genético. Analizamos el hábito de fumar en las personas expuestas y no expuestas a plaguicidas y los resultados indican que el tabaquismo no aumentó de forma significativa las frecuencias de ICH y MN. La falta de efecto del hábito de fumar encontrado en este estudio, puede atribuirse al hecho de que el promedio de consumo diario de cigarrillos de los individuos es de  $9.64 \pm 3.29$ , y de acuerdo a los criterios establecidos por Calderón-Ezquerro *et al.* (2007) que consideran como fumadores ligeros aquellos que consumen  $< 19 \pm 3.88$  cigarrillos/día; datos que ubican a los participantes como consumidores ligeros ya que la cantidad de cigarrillos que fuman, es escasa para causar un efecto en los linfocitos analizados con el ICH, lo cual coincide con los trabajos de Garaj-Vrhovac y Zeljezic (2001), que han demostrado que el fumar no aumenta la frecuencia de ICH en los individuos expuestos a los plaguicidas aun con un consumo de  $24.29 \pm 13.99$  cigarrillos/día; asimismo Ergene *et al.* (2007) no reportan efectos generados por el hábito de fumar en los trabajadores expuestos a los plaguicidas y cuyo

consumo diario oscilaba entre 22 y 25 cigarrillos/día. Mientras que Rupa *et al.* (1989) describen que la frecuencia del ICH aumentó en los trabajadores que fumaron de 2 a 10 cigarrillos/día mientras asperjaban los plaguicidas. En el presente estudio tampoco se encontraron diferencias significativas con respecto al hábito de fumar y la frecuencia de MN; lo cual coincide con otras investigaciones que no reportan asociación entre las frecuencias del MN y el consumo de tabaco (Lucero *et al.*, 2000; Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2001; Pastor *et al.*, 2003; Costa *et al.*, 2006; Sailaja *et al.*, 2006; Ergene *et al.*, 2007; Remor *et al.*, 2009). Sin embargo existen algunos trabajos que reportan incrementos en las frecuencias de MN de fumadores en contacto con plaguicidas (Bonassi *et al.*, 2003; Bhalli *et al.*, 2006).

En lo que respecta al consumo de alcohol los participantes de esta investigación, consumen cerveza de forma frecuente y lo atribuyen a las altas temperaturas que se presentan en la zona de estudio, beben habitualmente para mitigar la sed. Nuestros resultados sin embargo, no revelan efectos que incrementen las frecuencias de ICH y MN, asociados al consumo de alcohol, datos similares arrojó la investigación realizada por Sailaja *et al.* (2006) y contrasta con los resultados obtenidos por Rupa *et al.* (1988) quienes encontraron elevadas frecuencias de ICH en individuos que consumen alcohol.

Los parámetros analizados tanto para el grupo expuesto como para el no expuesto no muestran influencia asociada al género, ya que no fueron significativamente diferentes entre hombres y mujeres. Estos resultados coinciden con los de Carbonell *et al.* (1993); Gómez-Arroyo *et al.* (2000) y Sailaja *et al.* (2006). Tampoco se observaron diferencias significativas entre la edad de los individuos expuestos a plaguicidas y los biomarcadores utilizados, estos resultados son similares a los de otros estudios en los cuales la edad de los sujetos expuestos no influye sobre la frecuencia de MN (Sailaja *et al.* 2006; Remor *et al.* 2009).

En Sinaloa, así como en otras zonas agrícolas en el mundo, se requieren profundos cambios para lograr un uso adecuado de los plaguicidas y de esta forma poder reducir el posible riesgo hacia la salud humana asociado con la exposición a estas sustancias.

## 10 CONCLUSIONES

- ✚ Los resultados obtenidos con relación al análisis de ICH en jornaleros ocupacionalmente expuestos de las Grullas, sugieren que la exposición a mezclas de plaguicidas principalmente organofosforados y carbamatos posiblemente son la causa de las diferencias significativas en la frecuencia de ICH, así como de las alteraciones en el IM y TCP encontradas en esta población con respecto al grupo no expuesto. En este sentido se puede atribuir al uso frecuente e indiscriminado de la mezcla de plaguicidas el daño genotóxico provocado en las personas ocupacionalmente expuestas que participaron en este estudio
- ✚ Factores como el tiempo de exposición se correlacionaron con la frecuencia de ICH .
- ✚ Los incrementos estadísticamente significativos de frecuencias de ICH en linfocitos de sangre periférica de jornaleros indican un riesgo potencial generado por la exposición a plaguicidas. Nuestros resultados enfatizan la necesidad de investigar y aplicar o implementar el uso de sustitutos de plaguicidas por otros menos agresivos para el ambiente y para la salud humana.
- ✚ En el grupo expuesto se aprecia la reducción en el número de metafases de segunda división y el aumento considerable de tercera división, lo cual sugiere que la exposición a plaguicidas ocasiona aceleración en el ciclo celular.
- ✚ La prueba de micronúcleos en células de descamación del epitelio de la mucosa bucal, permiten concluir que la exposición a plaguicidas representa incremento de daño cromosómico.



## REFERENCIAS

- ARFFS. (2009), Asociación de Agricultores del Río Fuerte Sur. Los Mochis, Sinaloa, México. (<http://www.aarfs.com.mx/Historia.htm>). Consultada Julio 15 de 2009.
- ATSDR Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades. (2003). Reseña toxicológica de las piretrinas y los piretroides. Atlanta, GA: Departamento de Salud y Servicios Humanos de EE.UU., Servicio de Salud Pública.
- Bejarano González F. (2002). La espiral del veneno, guía crítica ciudadana sobre plaguicidas. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México. Primera edición, pp. 34-37.
- Bhalli J., Khan Q., Haq M., Khalid A., Nasim A. (2006). Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutagenesis* 21,143–148.
- Bolognesi C., Parrini M., Bonassi S., Lanello G., Salanito A. (1993). Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 285, 239-249.
- Bolognesi C., Perrone E., Landini E. (2002). Micronucleus monitoring of a floriculturist population from western Liguria, Italy. *Mutagenesis* 17, 391-397.
- Bolognesi C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 543, 251-172.
- Bolognesi C., Landini E., Perrone E., Roggieri P. (2004). Cytogenetic biomonitoring of a floriculturist population in Italy: micronucleus analysis by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with an all-chromosome centromeric probe. *Mutat. Res.* 557, 109-117.
- Bonet S., Manuel I., Huguet G., Blanco I. (1985). Técnicas habituales de coloración per a secciones semifines de material inclós en glicol metacrilat (G.M.A.) *Scientia Gerundensis* 10, 23-32.
- Bonnasi S., Neri M., Lando C., Ceppi M., Lin Y., Chang W., Holland N., Kirsch-Volders M. Zeiger E., Fenech M. (2003). Effect of smoking habit on the frequency of micronuclei in human lymphocytes: results from the Human MicroNucleus project. *Mutat. Res.* 543, 155-166.
- Bortoli G., Barbieri de Azevedo M., Basso da Silva L. (2009). Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutat. Res.* 675, 1– 4.
- Brusick J. (1994). An assessment of the genetic toxicity of atrazine: relevance to human health and environmental effects. *Mutat. Res.* 317, 133-144.
- Bukvic N., Gentile M., Susca F., Fanelli M., Serio G., Buonadonna L., Capurso A., Guanti G. (2001). Sex chromosome, micronuclei, sister chromatid exchange and aging: a study including 16 centenarians. *Mutat. Res.* 498, 159-167.
- Bull S., Fletcher K., Boobis A., Battershill J. (2006). Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators: a review. *Mutagenesis* 21, 93-103.
- Calderón-Ezquerro C., Sánchez-Reyes A., Sansores R., Villalobos-Pietrini R., Amador-Muñoz O., Guerrero-Guerra C., Calderón-Segura M., Uribe-Hernández R., Gómez-Arroyo S. (2007). Cell proliferation kinetics and

- genotoxicity in lymphocytes of smokers living in Mexico City. *Hum. Exp. Toxicol.* 26, 715-722.
- Carbonell E., Puig M., Xamena N., Creus A., Marcos R. (1990). Sister chromatid exchange in lymphocytes of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 5, 403-405.
- Carbonell E., Puig M., Xamena N., Creus A., Marcos R. (1993). Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 8, 511-516.
- Carrano A., Natarajan A. (1988). International commission for protection against environmental mutagens and carcinogens. *Mutat. Res.* 204, 379 - 406.
- Cavallo D., Cinzia L., Carelli G., Iavicoli I., Ciervo A., Perniconi B., Rondinone B., Gismondi M., Laviconi S. (2006). Occupational exposure in airport personnel. Characterization and evaluation of genotoxic and oxidative effects. *Toxicology* 223, 26-35.
- CICOPLAFEST (Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas). 2004.
- Clare M., Lorenzon G., Akhurst L., Marzin D., Van Delf J., Montero R., Botta A., Berts A., Cinelli Thybaud V., Lorge E. (2006). SFTG international collaborative study on *in vitro* micronucleus test. II using human lymphocytes. *Mutat. Res.* 604, 37-60.
- COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios). 2008.
- Costa C., Texeira J., Silva S., Roma-Torres J., Coehlo P., Gaspar J., Alves M., Laffon B., Rueff J., Mayan O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis* 21, 343-350.
- De Ferrari M., Artuso M., Bonassi S., Cavalieri Z., Pescatore D., Marchini E., Pisano V., Abbondandolo A. (1991). Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat. Res.* 260, 105-113.
- De Serres F. (1983). The bone marrow micronucleus assay: rationale for a revised protocol. En: *Chemical mutagens: Principles and methods for their detection*. Hollaender A. (Ed.). Plenum Press, Nueva York, Vol. 8, pp.111-127.
- Díaz-Romo P., Schneider P. (1993). La agonía del pueblo Huichol, Macrópolis, México 82, 6-19.
- Dich J., Zahm S., Hanberg A., Adami H. (1997) Pesticides and cancer. *Cancer Causes Control* 8, 420-423.
- Dillehay L., Jacobson-Kram D., Williams J. (1989). DNA topoisomerases and models of sister-chromatid exchange. *Mutat. Res.* 215, 15-23.
- Dulout F., López Camelo J., Guradze H. (1992). Analysis of sister chromatid exchanges (SCE) in human populations studies. *Rev. Brazil. Genet.* 15, 169-182.
- Ejaz S., Akram W., Woong Lim Ch., Lee J., Hussain I. (2004). Endocrine disrupting pesticides a leading cause of cancer among rural people in Pakistan. *Exp. Oncol.* 26, 98-105.

- EPA.(EnvironmentalProtection Agency). <http://www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/workers/amendmnt.htm>, consultada 2 de mayo del 2008.
- Ergene S., Çelik A., Çavaş T., Kaya F. (2007). Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ. Int.* 33, 877-885.
- Estrada E., Peralta L., Rivas P. (1982). Manual de técnicas Histológicas. (AGT Ed.) México, 140 p.
- Falck G., Hirvonen A., Scarpato R., Saarikoski S., Migliore L., Norppa H. (1999). Micronuclei in blood lymphocytes and genetic polymorphism GSTM1, GSTT1 and NAT2 in pesticide exposed greenhouse workers. *Mutat. Res.* 441, 225-237.
- Faust F., Kassie F., Knasmüller S., Boedecker R., Mann M., Mersch-Sundermann V. (2004). The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 566, 209-229
- Fenech M., Holland N., Chang W., Zeiger E., Bonassi S. (1999). The HUMAN MicroNucleus Project-an international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutat. Res.* 428, 271-283.
- Fenech M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutat. Res.* 455, 81-95.
- Fenech M. (2002). Micronutrients and genomic stability: a new paradigm for recommended dietary allowances (RDAs). *Food Chem. Toxicol.* 40, 1113-1117.
- Fenech M., Bonassi S., Turner J., Lando C., Ceppi M., Chang W., Holland N., Kirsch-Volders M., Zeiger E., Bigatti M., Bolognesi C., Cao J., De Luca G., Di Giorgio M., Ferguson L., Ficic A., Garcia O., Hadjidekova V., Hrelia P., Jaworska A., Joksic G., Krishnaja A., Lee T., Martelli A., McKay M., Migliore L., Mirkova E., Müller W., Odagiri Y., Orsiere T., Scarfi M., Silva M., Sofuni T., Suralles J., Trenta G., Vorobtsova I., Vral A., Zijno A. (2003a). Intra-and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes. Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project. *Mutat. Res.* 534, 45-64.
- Fenech M., Chang W., Kirsch-Volders M., Holland N., Zeiger E. (2003b). HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat. Res.* 534, 65-75.
- Ferrer A., Cabral R. (1993). Collective poisoning caused by pesticides: mechanism of production, mechanism of prevention. *Rev. Environ. Toxicol.* 5, 161-201.
- Ferrer A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *Toxicol. Clín.* 6, 1-5.
- Garaj-Vrhovac V., Zeljezic D. (2001). Cytogenetic monitoring of Croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* 165, 153-162.
- Giri S., Giri A., Sharma G., Prasad S. (2002). Mutagenic effects of carbosulfan, a carbamate pesticide. *Mutat. Res.* 519, 75-82.

- 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 México exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 281,173-179.
- Gómez-Arroyo S., Díaz-Sánchez Y., Meneses-Pérez M., Villalobos-Pietrini R., De León-Rodríguez J. (2000). Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 466, 117-124.
- Gonsebatt M., Guzman P., Blas J. (2000). Cytogenetic and cytotoxic damage in exfoliated cells as indicators of effects in humans. En: Butterworth, F.M., Gunatilaka A., Gonsebatt M. (Eds.). *Biomonitoring and biomarkers as indicators of environmental change*. Vol. 2 Plenum Press, Nueva York, pp. 317-321.
- Grandjen S., Bonassi S. (2005). Linking toxicology to epidemiology: biomarkers and new technologies-special issue overview. *Mutat. Res.* 592, 3-5.
- Guillete E. (1998). An anthropological approach to the evaluation of preschool children exposed to pesticides in Mexico. *Environ. Health Perspect.* 106, 13-16.
- Hagmar L., Bonassi S., Strombertg U., Mikoczy Z., Lando C., Hansteen IL., Montagud AH., Knudsen L., Norppa H., Reuterwall C., Tinnerberg H., Brogger A., Forni A., Hogstedt B., Lambert B., Mitelman F., Nordenson I., Salomaa S., Skerfving S. (1998). Cancer predictive value of cytogenetic markers used in occupational health surveillance programs: a report from an ongoing study by the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. *Mutat. Res.* 405, 171-178.
- Hollingworth R. (1981). Comparative metabolism and selectivity of organophosphates and carbamates insecticides. *Bull. WHO* 44, 155-170.
- INE. (2009), Instituto Nacional de Ecología. <http://www.ine.gob.mx/dgicug/plaguicidas/laautoriz.html>. Consultada 12 junio de 2009.
- INEGI. (2009), Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/contenidos/estadisticas/2009/ambiente23.doc> consultada 18 de junio 2009.
- Ikbal M., Atasoy M., Pirim I., Aliagaoglu C., Karatay S., Erdem T. (2006). The alteration of sister chromatid exchange frequencies in Behcet's disease with and without HLA-B51. *J. Eur. Acad. Dermatol. Venerol.* 20, 149-52.
- Ishii Y., Bender M. (1980). Effect of inhibitor of DNA synthesis on spontaneous and ultraviolet light induced sister-chromatid exchanges in Chinese hamster cell. *Mutat. Res.* 79, 19-32.
- Ishii Y. (1981). Nature of the mitomycin-C induced lesion causing sister-chromatid exchange. *Mutat. Res.* 91, 51-55.
- Ivett J. L., Tice R. P. (1982). Average generation time: a new method of analysis and quantitation of cellular proliferation kinetics. *Environ. Mutagen.* 4, 358 (abstract).
- Jablonika A., Polakova H., Karellova J., Vargova M. (1989). Analysis of chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of workers with occupational exposure to the mancozeb containing fungicide Novozir Mn80. *Mutat. Res.* 224, 143-146.
- Jaga K., Dharmani C. (2005). The epidemiology of pesticides exposure and cancer: a review. *Environ. Health Perspect.* 20, 15-38.

- Jamil K., Shaik A., Lakshimi J. (2005). Pesticide induced cytogenetic risk assessment in human lymphocyte culture *in vitro*. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 75, 7-14.
- Jin G., Ikushima T. (2004). Frequent occurrence of UVB-induced sister chromatid exchanges in telomere regions and its implication to telomere maintenance. Cytogenet. Genome Res. 104, 310-314.
- Kato H. (1980). Evidence that the replication points is the site of the sister chromatid exchange, Cancer Genet. Cytogenet. 2, 69-70
- Kirsch-Volders M., Sofuni T., Aardema M., Albertini S., Eastmond D., Fenech M., Ishidate M., Kirchner S., Lorge E., Morita T., Norppa H., Surrallés J., Vanhauwaert A., Wakata A. (2003). Report from the *in vitro* micronucleus assay working group. Mutat. Res. 540, 153-163.
- Koiffman S., Koiffman R., Meyer A. (2002). Human reproductive system disturbance and pesticide exposure in Brazil. Cad. Saude Publica 18, 435-445.
- Lander F., Ronne M. (1995). Frequency of sister chromatid exchange and hematological effects in pesticide exposed greenhouse sprayers. Scand. J. Work Environ. Health 21, 283-288.
- Latt S. (1973). Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. Proc. Natl. Acad. Sci. 70, 3395-3399.
- Lazutka J. (1991). Replication index in cultured human lymphocytes: methods for statistical analysis and possible role in genetic toxicology. Environ. Mol. Mutagen. 17, 188-95.
- Lázaro P., Fuentes C., Ortega-Escobar M., Rendón-Pimentel I., Zataráin-Mendoza F. (2000). Dinámica de los mantos freáticos someros en los distritos de riego. Agrociencia 34, 487-402.
- Lee T., Allison R., O'Brien K., Naves J., Karlsson U., Wiley A. (2002). Persistence of micronuclei in lymphocytes of cancer patients after radiotherapy. Radiat. Res. 157, 678-684.
- Lehucher-Michel M., Ait Amara-Mokrane Y., Devictor B., Catilina P., Botta A. (1996). Micronucleic kinetics of exfoliated urothelial cells. Mutat. Res. 354, 1-7.
- Livingston G., Reed B., Lockey J. (1990). Induction of nuclear aberrations by smokeless in epithelial cells of human oral mucosa. Environ. Mol. Mutagen. 15,136-144.
- Llinskaya O., Zelenikhin P., Kolpakov A., Karamova N., Margulis D. (2004) Cytotoxic and genotoxic effects of  $\beta$ -(triphenylphosphonio) ethyl carboxylate and of N,N'-bis(dihexylphosphinoylmethyl)-1,4-diaminocyclohexane Med. Sci. Monit.10, 294-299
- López-Carrillo L., Torres-Sánchez L., Moline J., Ireland K., Wolffm S. (2001). Breast-feeding and serum pp`DDT levels among Mexican women of children bearing age. A pilot study. Eviron. Res. 87, 131-135.
- López-Carrillo L., López-Cervantes M., Torres-Sánchez L., Blair A., Cebrián-García M., García R. (2002). Serum levels of beta-hexachlorocyclohexane, hexachlorobenzene and polychlorinated biphenyls and breast cancer in Mexican women. Eur. J. Cancer Prev. 11, 1-8.

- Lucero L., Pastor S., Suárez S., Durban R., Gómez C., Parrón T., Creus A., Marcos R. (2000). Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat. Res.* 464, 255-262.
- Mladinic M., Perkovic P., Zeljezic D. (2009). Characterization of chromatin instabilities induced by glyphosate, terbuthylazine and carbofuran using cytome FISH assay. *Toxicol. Lett.* 189,130-137.
- Mansour S. (2004). Pesticide exposure-Egyptian scene. *Toxicology* 198, 91-115.
- Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 23,185-200.
- Morales-Ramírez P., Vallarino-Kelly T. (1990). Fate of DNA lesions that elicit sister-chromatid exchanges. *Mutat. Res.* 232, 77-88.
- Morales-Ramírez P., Rodríguez-Reyes R., Vallarino-Kelly T. (1992). *In vivo* fate of MMS induced exchanges. *Mutat. Res.* 232, 215-221.
- Moretti M., Villarini M., Scassellati-Sforzolini G., Pasquini G. (2000). Pesticide-induced primary DNA damage in peripheral blood leukocytes of farm workers evaluated by the computerized comet assay. *Biomarkers* 5, 192-204
- Muñiz J., McCauley L., Scherer J., Lasarev M., Koshy M., Kow Y., Nazar-Stewart V., Kisby G. (2008). Biomarkers of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: a pilot study. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 227, 97-107.
- Nehéz M., Berencsi G., Páldy A., Selyes A., Czeizel A., Szentesi I., Csankó J., Nagy K. (1981). Data on the chromosome examinations of workers exposed to pesticides. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 1, 116-112.
- NOM-003-STPS-1999, actividades agrícolas-uso de insumos fitosanitarios o plaguicidas e insumos de nutrición vegetal o fertilizantes-condiciones de seguridad e higiene.
- NOM-017-STPS-2001, equipo de protección personal selección, uso y manejo en los centros de trabajo.
- NOM-044-SSA1-1993, envase y embalaje, requisitos para contener plaguicidas.
- NOM-045-SSA1-1993, características de las etiquetas de los plaguicidas.
- NOM-052-FITO-1995, requisitos para el aviso de inicio de funcionamiento por las personas físicas y morales que se dediquen al manejo de plaguicidas.
- Norppa H., Falck G. (2003). What do human micronuclei contain? *Mutagenesis* 18, 221-233.
- Norppa H. (2004). Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. *Toxicol. Lett.* 149, 309-334.
- Oliveira A., Hackel Ch. (2002). Instabilidade cromossomica induzida por agroquímicos em trabalhadores rurais na regioao de Passo Fundo Río Grande do Su, Brasil. *Cad. Saude Publica* 18, 1675-1683.
- OMS. (1990). Plaguicidas. Informe Técnico No. 12. Organización Mundial de la Salud. Ginebra, Suiza.

- Organización Mundial de la Salud (2009). Sistema de Información Estadística de la OMS (WHOSIS) <http://www.who.int/research/es/> consultada 14 de mayo 2009.
- Padmavathi P., Prabhavathi P., Reddy P. (2000). Frequencies of SCEs in peripheral blood lymphocytes of pesticide workers. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 64, 155-160.
- Painter R. (1980). A replication model for sister chromatid exchange. *Mutat. Res.* 70, 337-341.
- Páldy A., Puskás N., Vincze K., Hadházi M. (1987). Cytogenetic studies on rural population exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 187, 127-132.
- PAN International (2009). Consult. Manual. Pesticide Action Network International. California, EUA.
- Pasquini R., Scassellati-Sforzolini G., Angeli G., Fatigoni C., Monarca S., Beneventi L., DiGiulio A., Bauleo F. (1996). Cytogenetic biomonitoring of pesticide-exposed farmers in central Italy. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 15, 29-39.
- Pastor S., Gutiérrez S., Creus A., Cebulka-Wasilewska A., Marcos R. (2001a). Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 495, 147-156.
- Pastor S., Gutiérrez S., Creus A., Xamena N., Piperakis S., Marcos R. (2001b). Cytogenetic analysis of Greek farmers by using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and in buccal cells. *Mutagenesis* 16, 539-545.
- Pastor S., Creus A., Xamena N., Siffel C., Marcos R. (2002). Occupational exposure to pesticides and cytogenetic damage: results of a Hungarian population study using the micronucleus assay in lymphocytes and buccal cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 40, 101-109.
- Pastor S., Creus A., Parrón T., Cebulka-Wasilewska A., Siffel C., Piperakis S., Marcos R. (2003). Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers. *Mutagenesis* 18, 249-258.
- Perry P., Wolff S. (1974). New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature (Lond.)* 251,156-158.
- Perry P., Evans H. (1975). Cytological detection of mutagen, carcinogen exposure by sister chromatid exchange. *Nature* 258, 121-124.
- Potti A., Panwalkar A., Langness E. (2003). Prevalence of pesticides exposure in young males with adenocarcinoma of the prostate. *J. Carcinongen.* 2, 4-5.
- Qiao D., Seidler F., Violin J., Slotkin T. (2003). Nicotine is a developmental neurotoxicant and neuroprotectant: stage-selective inhibition of DNA synthesis coincident with shielding from effects of chlorpyrifos. *Develop. Brain. Res.* 147, 183-190.
- Reali D., Marino F., Bahramandpour S., Carducci A., Barale R., Loprieno N. (1987). Micronuclei in exfoliated cells and urine mutagenicity in smokers. *Mutat. Res.* 192,145-149.

- Remor A., Caprini C., Alves D., Pimentel G., Dahlström V., Marlei J. (2009). Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ. Int.* 35, 273-278.
- Rodríguez-Reyes R., Morales-Ramírez P. (2003). Sister chromatid exchange induction and the course of DNA duplication two mechanisms of sister chromatid exchange induction by ENU and the role BrdU. *Mutagenesis* 18, 65-72.
- Rosin M., Gilbert A. (1990). Modulation of genotoxic effects in humans. En: Meldelsohn M.L., Albertini, R.J. (Eds.). *Mutation and Environment, Part E: Environmental Genotoxicity, Risk and Modulation*. Wiley-Liss, Nueva York, pp. 351-360.
- Rosin M. (1992). The use of the micronucleus test on exfoliated cells to identify anti-clastogenic action in humans: a biological marker for the efficacy of chemopreventive agents. *Mutat. Res.* 267, 265-276.
- Rupa D., Rita P., Reddy P., Reddi O. (1988). Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers. *Hum. Toxicol.* 7, 333-336.
- Rupa D., Reddy P., Reddi O. (1989). Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton fields workers exposed to pesticides. *Environ. Res.* 49, 1-6.
- Rupa D., Reddy P., Sreemannarayana K., Reddi O. (1991). Frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of male pesticide applicators. *Environ. Mol. Mutagen.* 18, 136-138.
- Sailaja N., Chandrasekhar M., Rekhadevi P., Mahbooba M., Rahmana M., Saleha B., Vuyyuri B., Danadevi K., Hussain S., Paramjit G. (2006). Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat. Res.* 609, 74-80.
- Salinas-Álvarez S., Díaz-Romo P. (2000). Globalización, migración y trabajo infantil, el caso de las niñas y los niños jornaleros del tabaco en Nayarit, México, en del Río Norma. *La infancia vulnerable de México en un mundo globalizado*, UAM-UNICEF, México, pp. 95-111.
- Sánchez-Peña L., Reyes B., López-Carrillo L., Recio R., Morán-Martínez J., Cebrián M., Quintanilla-Vega B. (2004). Organophosphorus pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 196, 108-113.
- Shaham J., Kaufman Z., Gurvich R., Levi Z. (2001). Frequency of sister-chromatid exchange among greenhouse farmers exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 491, 71-80.
- Sobti R., Krishan C., Pfaffenberger C. (1982). Cytokinetic and cytogenetic effects of some agricultural chemical on human lymphoid cells *in vitro*: organophosphates. *Mutat. Res.* 102, 89-102.
- Solans X., Hernández. R. (2000). Control biológico de la exposición a genotóxicos: Técnicas Citogenéticas. En: NTP 354 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.



- Sorgob A., Vilanova E. (2002). Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol. Lett.* 128, 215-228.
- Stich H., San R., Rosin M. (1983). Adaptation of the DNA repair and micronucleus test to human cell suspensions and exfoliated cell. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 407, 93-105.
- Stich H., Stich W., Rosin M. (1985). The micronucleus test on exfoliated human cells. En: Muhammed A., Von Borstel R.C. (Eds.). *Basic and Applied Mutagenesis*. Plenum Press, Nueva York, pp. 337-342.
- Stich H. (1987). Micronucleated exfoliated cells as indicators for genotoxic damage and as markers in chemoprevention trials. *J. Nutr. Growth Cancer* 4, 9-18.
- Taylor J., Woods P., Huges W. (1957). The organization and duplication of chromosomes as revealed by autoradiographic using tritium labelled thymidine *Proc. Natl. Acad. Sci.* 43,122-125.
- Tolbert P., Shy C., Allen J. (1992). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears; methods development. *Mutat. Res.* 271, 69-77.
- Vaglenov A., Laltchev S., Petkova V., Pavlova S., Marcos R. (2001). Occupational exposure to lead and induction of genetic damage. *Environ. Health Perspect.* 109, 295-298.
- Vindas R., Ortiz F., Ramírez V., Cuenca P. (2004). Genotoxicidad de tres plaguicidas utilizados en la actividad bananera de Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52, 601-609.
- Villarini M., Moretti M., Pasquini R., Scassellati-Sforzolini G., Fatigoni C., Marcarelli M., Monarca S., Rodriguez A. (1998). *In vitro* genotoxic effects of the insecticide deltamethrin in human peripheral blood leukocytes: DNA damage (comet assay) in relation to the induction of sister-chromatid exchanges and micronuclei. *Toxicology* 130, 129-139.
- Waliszewski S., Meza M., Infanzon R., Trujillo P., Morales M. (2003). Niveles de plaguicidas organoclorados persistentes en mujeres con carcinoma mamario en Veracruz. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 19, 59-65
- Waliszewski S., Bermudez M., Silva C., Infanzon R., Carvajal O., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Trujillo P., Saldaña V., Melo G., Esquivel S., Castro F., Ocampo H., Torres J., Hayward Jones P. (2005). DDT's, HCH and HCB levels in breast adipose tissue in women with breast tumors. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21, 133-142.
- WHO World Health Organization. (2004). *The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification*. Ginebra.
- Wolf-Dieltrich H. (2004). A new deal for Holliday junctions. *Nature Struct. Molecul. Biol.* 11, 117-119.
- Xia Y., Bian Q., Xu L., Cheng S., Song L., Liu J., Wu W., Wang S., Wang X. (2004). Genotoxic effects on human spermatozoa among pesticide factory workers exposed to fenvalerate. *Toxicology* 203, 49-60.
- Zeljezik D., Garaj-Vrhovac V. (2001). Chromosomal aberration and single cell gel electrophoresis (Comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Mutagenesis* 16, 359-363

Zeljezic D., Garaj-Vrhovac V. (2002). Sister chromatid exchange and proliferative rate index in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Chemosphere* 46, 295-303.

# ANEXOS

## ANEXO 1

Encuesta aplicada a todos los participantes del proyecto basada en Carrano y Natarajan (1988).

### DATOS PERSONALES

Nombre: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_  
Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
Estado civil: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_  
Lugar de Nacimiento: \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
Población: \_\_\_\_\_ Código Postal: \_\_\_\_\_ Teléfono: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

### HÁBITOS GENERALES

¿Consume carnes rojas? \_\_\_\_\_ ¿con que frecuencia? \_\_\_\_\_ días /semana  
¿Consume pescado o mariscos \_\_\_\_\_ ¿Con que frecuencia? \_\_\_\_\_ días /semana  
¿Consume verduras? ¿Con que frecuencia? \_\_\_\_\_ días /semana  
¿Consume frutas? ¿Con que frecuencia? \_\_\_\_\_ días /semana  
¿Fuma? \_\_\_\_\_ ¿Cuántos cigarrillos al día? \_\_\_\_\_  
Consume alcohol \_\_\_\_\_ cerveza \_\_\_\_\_ Con que frecuencia \_\_\_\_\_ ¿Cuántas? \_\_\_\_\_  
Tequila \_\_\_\_\_ Con que frecuencia \_\_\_\_\_ ¿Cuánto? \_\_\_\_\_  
Otras bebidas alcohólicas \_\_\_\_\_ ¿de que tipo? \_\_\_\_\_ Con que frecuencia \_\_\_\_\_ ¿Cuántas? \_\_\_\_\_  
¿Consume drogas? \_\_\_\_\_ ¿De que tipo? \_\_\_\_\_

### HISTORIA MÉDICA

1. ¿Existe algún miembro de su familia con problemas de fertilidad, defectos de nacimiento, alteraciones genéticas o cáncer?

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

2. ¿En su familia han tenido problema para tener hijos?  
No \_\_\_\_\_ Si \_\_\_\_\_

3. ¿Tiene algún familiar al cual le han diagnosticado infertilidad?  
No \_\_\_\_\_ Si \_\_\_\_\_

4. ¿Ha tenido con su pareja alguno de estos problemas con su descendencia?

Ninguno \_\_\_\_\_  
Abortos \_\_\_\_\_  
Muertos neonatales \_\_\_\_\_  
Partos Prematuros \_\_\_\_\_  
Bajo de Peso al nacer \_\_\_\_\_  
Malformaciones o Enfermedades Hereditarias \_\_\_\_\_  
Otros \_\_\_\_\_

5. ¿Padece actualmente alguna enfermedad? \_\_\_\_\_Cuál \_\_\_\_\_

6. ¿Toma algún tipo de medicamentos actualmente? \_\_\_\_\_ Cuáles

7. ¿Le han tomado radiografías en el último año? \_\_\_\_\_

8. ¿Se ha intoxicado en los últimos 3 años? \_\_\_\_\_ ¿Con que? \_\_\_\_\_

9. ¿Es alérgico? \_\_\_\_\_ ¿sabe a que es alérgico? \_\_\_\_\_

#### HISTORIA LABORAL

5. Describa la ocupación actual y tipo de empresa:

\_\_\_\_\_

6. ¿Su trabajo conlleva riesgos?, indicar cuales:

\_\_\_\_\_

7. ¿Está expuesto (a) a alguno de los siguientes agentes?

Sin exposición \_\_\_\_\_ Ruido \_\_\_\_\_ Metales \_\_\_\_\_ Pinturas \_\_\_\_\_ Tintes \_\_\_\_\_  
Plaguicidas \_\_\_\_\_ Asbesto \_\_\_\_\_  
Disolventes u otros productos químicos \_\_\_\_\_ Polvo \_\_\_\_\_  
Radiaciones (rayos X, etc.) \_\_\_\_\_ Derivados del carbón \_\_\_\_\_ Derivado del petróleo \_\_\_\_\_  
Otros \_\_\_\_\_

Indicar el número de años de exposición: \_\_\_\_\_

8. ¿Cuántos años lleva en su ocupación actual? \_\_\_\_\_

#### OCUPACIÓN PREVIA

9. Describa su(s) trabajo(s) previo(s) tipo de empresa y fecha en que laboró:

\_\_\_\_\_

10. ¿En alguno de los trabajos anteriores estaba expuesto a?:

Sin exposición \_\_\_\_\_ Ruido \_\_\_\_\_ Metales \_\_\_\_\_ Pinturas \_\_\_\_\_ Tintes \_\_\_\_\_  
Plaguicidas \_\_\_\_\_ Asbesto \_\_\_\_\_  
Disolventes u otros productos químicos \_\_\_\_\_ Polvo \_\_\_\_\_  
Radiaciones (rayos X, etc.) \_\_\_\_\_ Derivados del carbón \_\_\_\_\_ Derivado del petróleo \_\_\_\_\_  
Otros \_\_\_\_\_

Indicar el número de años de exposición \_\_\_\_\_

11. Describa su trabajo e indique si manipula algún compuesto químico:

\_\_\_\_\_

12. ¿Aplica plaguicidas ? Si \_\_\_\_\_ ¿desde cuando? \_\_\_\_\_ años \_\_\_\_\_ meses

13. ¿En que régimen trabaja como aplicador?

Cuenta Propia \_\_\_\_\_ Empresa \_\_\_\_\_  
Cuenta Ajena \_\_\_\_\_ N/P \_\_\_\_\_

14. ¿Ha realizado cursos de capacitación en el manejo de plaguicidas?

Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

15. Tipos de cultivo donde ha aplicado plaguicidas:

16. ¿Como se distribuye su trabajo como aplicador?

A lo largo de todo el año \_\_\_\_\_

Agrupado en 6 meses \_\_\_\_\_

A lo largo de 3 a 6 meses \_\_\_\_\_  
Agrupado en menos de 3 meses \_\_\_\_\_

17. ¿Con que frecuencia aplica plaguicidas y cuantas horas se encuentra expuesto a estos?

\_\_\_\_\_

18. ¿Cuántas horas diarias esta expuesto a sustancias químicas?

\_\_\_\_\_

19. ¿A que hora del día se encuentra expuesto a sustancias químicas?

\_\_\_\_\_

#### PRODUCTOS UTILIZADOS EN EL ÚLTIMO AÑO

20. Indique los productos utilizados con mayor frecuencia:

Relación de productos	Producto activo	Cantidad (Kg)
-----------------------	-----------------	---------------

21. Indique los productos utilizados en la última aplicación:

Relación de productos	Producto activo	Cantidad (Kg)
-----------------------	-----------------	---------------

22. ¿Cuántos días hace que aplicó plaguicidas?

\_\_\_\_\_

24. ¿Que tipo de aplicación realiza?

Espolvoreo \_\_\_\_\_ Líquido \_\_\_\_\_ Gaseoso \_\_\_\_\_

25. ¿Qué tipo de maquinaria utiliza para la aplicación?

\_\_\_\_\_

26. ¿Utiliza mezcla de compuesto? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

27. Indique las mezclas más frecuentes y la proporción:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

28. La elección de los plaguicidas se debe a:

Decisión propia \_\_\_\_\_ Indicación distribuidor \_\_\_\_\_

Indicación técnica \_\_\_\_\_ Indicación de otro agricultor \_\_\_\_\_

Por razón de precio \_\_\_\_\_ Por facilidad de suministro \_\_\_\_\_

Otra razón \_\_\_\_\_

29. ¿Respeto lo indicado en la etiqueta?

\_\_\_\_\_

#### ANALISIS DE RIESGO

30. ¿Utiliza ropa exclusiva para la aplicación?

---

31. ¿Acostumbra cambiar de ropa después de la aplicación?

---

32. ¿Lava la ropa que utiliza en la aplicación separada del resto?

---

33. ¿Come, bebe o fuma durante la jornada de aplicación?

---

34. ¿Conocía estos hábitos de manejo de plaguicidas?

---

#### PROTECCIÓN PERSONAL

35. ¿Lee lo que recomienda la etiqueta? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

36. ¿Utiliza el equipo de protección personal? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

37. ¿Cuándo lo utiliza?  
Al preparar el caldo \_\_\_\_\_ Al iniciar la fumigación \_\_\_\_\_ Nunca \_\_\_\_\_

38. ¿Con que frecuencia utiliza los siguientes sistemas de protección?

38. PROTECCIÓN DERMICA:  
Guantes \_\_\_\_\_ Peto \_\_\_\_\_ Sombrero o Cachucha \_\_\_\_\_  
Traje impermeabilizado \_\_\_\_\_ Botas \_\_\_\_\_

39. PROTECCIÓN RESPIRATORIA:  
Mascara \_\_\_\_\_ Mascarilla \_\_\_\_\_

40. PROTECCIÓN OCULAR:  
Gafas \_\_\_\_\_ Pantalla \_\_\_\_\_

41. ¿Cual es el criterio para utilizar unas u otras prendas de protección (Temperatura, Tipo de Cultivo, Producto que aplica, u otro)?

---

---

42. ¿Después de la aplicación lava las prendas de protección?  
Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

43. ¿Después de cuántas aplicaciones cambia de filtro de la mascara?

---

44. ¿Ha sufrido en alguna ocasión intoxicación con plaguicidas?  
Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

45. En caso de que la respuesta sea si:  
¿Fue hospitalizado? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

46. Indique fecha y características de la intoxicación:

---

---

## ALMACENAJE DE LOS PRODUCTOS

47. ¿Dónde almacena los plaguicidas?

48. ¿Cambia los productos de los envases? Si \_\_\_\_\_ No \_\_\_\_\_

49. ¿Qué hace con el sobrante de los plaguicidas?

---

---

51. ¿Qué tipo de agua utiliza para la limpieza de los utensilios de preparación de mezclas y en la aplicación?

Abastecimiento \_\_\_\_\_

Riego o río \_\_\_\_\_

Agua estancada \_\_\_\_\_

Agua potable \_\_\_\_\_

Consumible \_\_\_\_\_



Hoja de Consentimiento del donador.

1.- DATOS PERSONALES

Nombre: \_\_\_\_\_ Sexo: \_\_\_\_\_  
Fecha de Nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
Estado civil: \_\_\_\_\_ Ocupación: \_\_\_\_\_  
Lugar de Nacimiento: \_\_\_\_\_ D.N.I.: \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
Población: \_\_\_\_\_ Código Postal: \_\_\_\_\_  
Teléfono: \_\_\_\_\_

2.- DATOS DE LA MUESTRA

Muestra recogida por: \_\_\_\_\_  
Lugar de muestreo: \_\_\_\_\_  
Fecha: \_\_\_\_\_ Hora: \_\_\_\_\_  
Tipo de muestra: \_\_\_\_\_  
Categoría del Donante: \_\_\_\_\_ Código del Donante: \_\_\_\_\_

Habiendo sido informado(a) ampliamente sobre los propósitos de éste proyecto, manifiesto mi conformidad de participar de manera voluntaria en este estudio. A si mismo se me ha asegurado que el material utilizado para tomar la muestra es nuevo y se utilizará solo una vez, los resultados que se obtengan serán estrictamente confidenciales y se harán de mi conocimiento sólo en caso de resultar positivos.

\_\_\_\_\_  
Firma del Donante

\_\_\_\_\_  
Firma del Investigador

## RIESGO GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS

Carmen MARTÍNEZ-VALENZUELA<sup>1</sup> y Sandra GÓMEZ-ARROYO<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Occidente, Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional. Los Mochis, Sinaloa. cmartine@mochis.uo.mx

<sup>2</sup> Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM, Circuito Exterior Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 México, D.F. México. slga@atmosfera.unam.mx

*(recibido agosto 2007, aceptado noviembre 2007)*

**Palabras clave:** plaguicidas, exposición ocupacional, riesgo genotóxico, biomonitorio citogenético, aberraciones cromosómicas, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas, ensayo cometa

### RESUMEN

Los plaguicidas son de los grupos de agentes químicos más ampliamente utilizados por el hombre, tanto para proteger de organismos nocivos la producción y calidad de las cosechas como para el control de vectores y plagas importantes en la salud pública, además de que tienen uso pecuario y doméstico. Estas sustancias han sido consideradas como mutágenos potenciales, por contener ingredientes con propiedades para provocar cambios en el ácido desoxirribonucleico (ADN). Uno de los problemas actuales más importantes es la exposición ocupacional a estos compuestos, por lo que se han realizado diversos estudios con la finalidad de evaluar el riesgo que implican, sobre todo para los trabajadores agrícolas, a través de las pruebas de aberraciones cromosómicas (AB), micronúcleos (MN), intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y ensayo cometa (EC), cuyos resultados han sido controvertidos, pues existen distintos factores que pueden causar diferencias como pueden ser el grupo químico al que pertenecen los plaguicidas, la formulación técnica y el ingrediente activo que constituye el producto, el tipo de exposición (crónica o aguda), el tiempo que ha estado expuesto el individuo, la forma en que ha sido el contacto (directa o indirecta), la cantidad empleada, la exposición a mezclas, el clima y la temporada del año en el que se asperjan, la edad de las personas, entre otros factores. Por lo que en esta revisión se presentarán una serie de estudios realizados en los últimos veinte años, destinados a evaluar el riesgo de exposiciones en trabajadores del campo.

**Key words:** pesticides, occupational exposure, genotoxic risk, cytogenetic biomonitoring, chromosomal aberrations, micronuclei, sister chromatid exchanges, comet assay

### ABSTRACT

Pesticides are chemical agents widely used by humans to protect the crops and livestock from nocive organisms as pests and vectors highly important in public health as well as in domestic applications. These substances has been considered potential mutagens because they contain ingredients capable to cause changes in the deoxyribonucleic acid (DNA). As one of the most important problems is the occupational exposure to

these compounds many studies have been made in order to evaluate the risk in its use, mainly of agriculture workers, through evaluation of chromosomal aberrations (CA), micronuclei (MN), sister chromatid exchanges (SCE) and comet assay (CA). The results have been contradictory, because there are several factors that influence them, as the active ingredients, technical formulations and chemical groups which they belong, the type of exposure (acute or chronic), type of contact (direct or indirect), the amount used, duration and intensity of the applications, the exposure to mixtures, climate and the seasons of the year when the application were made, the age of the persons, among other factors. Based in the mentioned above, series of studies in the last twenty years will be shown to evaluate the risk of the field workers.

## INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas son productos químicos muy empleados por el hombre para el control de plagas agrícolas y su aplicación correcta es la medida más aceptada y efectiva para lograr la máxima producción y mejor calidad de los cultivos (Ferrer y Cabral 1993, Bolognesi 2003, Mansour 2004). Lo anterior ha propiciado el progreso de la industria de agroquímicos en el siglo XX que a su vez han originado gran cantidad de compuestos de alta agresividad para el hombre y efectos nocivos que han roto el equilibrio del ecosistema. En mayor o menor grado la población humana está inevitablemente expuesta a los plaguicidas que contribuyen a la contaminación ambiental por medio de productos degradados en aire, suelo, agua y alimentos (CICOPLAFEST 1998, Bolognesi 2003).

La Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) define a los plaguicidas como: cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies no deseadas de plantas o animales que causen perjuicios o que interfieren de cualquier otra forma en la producción, elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, madera y sus derivados o alimentos para animales o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos (CICOPLAFEST 1998).

Según estimaciones de la Organización Mundial de la Salud cada año entre 500,000 y 1 millón de personas se intoxican con plaguicidas y entre 5,000 y 20,000 mueren. Al menos la mitad de los intoxicados y el 75% de los que fallecen son trabajadores agrícolas, el resto se debe a envenenamientos por consumo de alimentos contaminados. En total entre los dos grupos la mortalidad alcanza la cifra de 220

mil defunciones al año (OMS 1990, Eddleston *et al.* 2002).

Los principales productores y exportadores de plaguicidas a nivel mundial son Alemania, Estados Unidos de América, Inglaterra, Suiza, Francia, Japón e Italia, que surten todas las importaciones del tercer mundo y que según las agencias de regulación, alrededor del 30% de los plaguicidas comercializados en los países en desarrollo con destino a la agricultura y a la salud pública, con un valor de 900 millones de dólares EUA, no cumplen las normas de calidad aceptadas internacionalmente. Estos plaguicidas contienen con frecuencia compuestos o impurezas que han sido restringidos en otros países por su peligrosidad pues constituyen una amenaza para la salud humana y para el ambiente (OMS 1990).

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

El objetivo de esta revisión es presentar una serie de estudios realizados en los últimos veinte años, destinados a evaluar el riesgo genotóxico de exposiciones a plaguicidas en trabajadores agrícolas a través de los biomarcadores de exposición: aberraciones cromosómicas, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y la producción de cometas.

### Clasificación de los plaguicidas

Debido a la amplia cantidad de sustancias y combinaciones de compuestos los plaguicidas se han clasificado, por su uso, en: insecticidas, acaricidas, herbicidas, nematocidas, fungicidas, molusquicidas y rodenticidas. La organización Mundial de la Salud (OMS) propone la clasificación en función de su riesgo para la salud, basándose en su comportamiento

tóxico en ratas u otros animales de laboratorio administrando por vía oral y dérmica y estimando la dosis letal media (LD<sub>50</sub>) que produce muerte en el 50% de los animales expuestos (OMS 1990). Esta clasificación ordena de menor a mayor la toxicidad en números del I al IV, siendo extremadamente tóxicos, muy tóxicos, moderadamente tóxicos y ligeramente tóxicos, respectivamente (CICOPLAFEST 1998, WHO 2004). Sin embargo la manera más frecuente de clasificarlos es con base en su estructura química, identificándose cuatro grupos principales:

#### *Organoclorados*

Son compuestos estables, demasiado persistentes en el ambiente y tienden a acumularse en el tejido graso (Waliszewski *et al.* 2002, 2003a,b, 2004). Su uso principal es en la erradicación de los vectores de enfermedades como paludismo, malaria y dengue. También son empleados en cultivos de uva, lechuga, jitomate, alfalfa, maíz, arroz, sorgo, algodón y sobre madera, para su preservación. Su forma de exposición sobre los insectos es principalmente por contacto o por ingestión (Ferrer 2003). En los seres humanos estas sustancias o sus metabolitos actúan principalmente a nivel del sistema nervioso central alterando las propiedades electrofisiológicas y enzimáticas de las membranas neuronales, provocando alteración en la cinética del flujo de Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup> a través de la membrana de la célula nerviosa (Narahashi *et al.* 1992), resultando en la propagación de potenciales de acción múltiples para cada estímulo (Kamrin 1997, Ferrer 2003), causando síntomas como convulsiones y en intoxicaciones agudas la muerte por paro respiratorio (Tordoir y Van Sittert 1994).

#### *Organofosforados*

Son ésteres derivados del ácido fosfórico. En el hombre actúan sobre el sistema nervioso central, inhibiendo la acetilcolinesterasa, enzima que modula la cantidad y los niveles del neurotransmisor acetilcolina, interrumpiendo el impulso nervioso por fosforilación del grupo hidroxilo serina en el sitio activo de la enzima (Fukuto 1971, Keith 2001, Sorgob y Vilanova 2002). Los síntomas que causan son pérdida de reflejos, dolor de cabeza, mareos, náuseas, convulsiones, coma y hasta la muerte (Sulbato 1994, Perry *et al.* 1998). Asimismo se ha descrito que tienen propiedades alquilantes (Preussman *et al.* 1969, Fest y Schmidt 1973), lo cual desde el punto de vista de la mutagénesis es de suma importancia, puesto que actúan directamente sobre el ácido desoxirribonucleico (ADN) añadiendo grupos alquilo principalmente metilo y etilo a las bases nitrogenadas

que tienen grupos nucleofílicos capaces de reaccionar con electrófilos (Wild 1975). Los compuestos organofosforados son los más utilizados en la agricultura, la mayoría son insecticidas y también acaricidas, su forma de ingreso a estos organismos es por ingestión y por contacto. Se utilizan en cultivos de hortalizas, árboles frutales, granos, algodón, caña de azúcar, entre otros muchos.

#### *Carbamatos*

Son ésteres derivados de los ácidos N-metil o dimetil carbámico se emplean como insecticidas, herbicidas, fungicidas y nematocidas. Son menos persistentes que los organoclorados y los organofosforados y de igual manera que estos últimos inhiben a la acetilcolinesterasa. Sin embargo, en el caso de los carbamatos la acción es rápida y la cinética de bloqueo es a través de la carbamitación de la enzima mediante la unión covalente de los grupos electrofílicos carbamilo en los sitios estéricos de la enzima (Moutchen-Dahmen *et al.* 1984).

#### *Piretroides*

Tienen su origen en insecticidas naturales derivados del extracto de piretro obtenido de las flores del crisantemo, conocidos como piretrinas. Posteriormente fueron obtenidos sintéticamente y en la actualidad se han fabricado alrededor de 100 diversos productos comerciales (Sorgob y Vilanova 2002). Su ingreso a los insectos es por contacto o ingestión. También actúan en el sistema nervioso central causando modificaciones en la dinámica de los canales de Na<sup>+</sup> de la membrana de la célula nerviosa, provocando que incrementen su tiempo de apertura prolongando la corriente de sodio a través de la membrana, tanto en insectos como en vertebrados (He 1994, Perry *et al.* 1998). Estos eventos pueden conducir a la hiperexcitación neuronal (Narahashi *et al.* 1992, He 1994, Narahashi 1996, Perry *et al.* 1998).

#### *Otros*

Además se encuentran otros plaguicidas como los herbicidas triazinicos, ureicos, hormonales, amidas, compuestos nitrados, benzimidazoles, ftalamidas, compuestos bupiridílicos, dibromuro de etileno, compuestos que contienen azufre, cobre o mercurio, entre otros.

#### **Uso de plaguicidas en México**

En la República Mexicana se utiliza 60 % de los 22 plaguicidas clasificados como perjudiciales para la salud y el ambiente, el 42 % de los cuales se fabrican en el país. Asimismo se emplean 30 plaguicidas de

90 que han sido cancelados o restringidos en EUA (INEGI 1998). La regulación de los plaguicidas en México se realiza a través de diferentes dependencias federales: el transporte por la Secretaría de Comunicaciones y Transportes, el impacto sobre el ambiente por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, la eficiencia biológica para uso agrícola por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca y los aspectos sanitarios por la Secretaría de Salud (SEMARNAP 1996, Rosales Castillo 2001).

Además de las grandes cantidades de plaguicidas importadas por México, existen plantas industriales en Coahuila, Chihuahua, Guanajuato, Estado de México, Querétaro, Tlaxcala y Veracruz. Los productos para su venta se clasifican de acuerdo a su toxicidad en: 57 % ligeramente tóxicos, 25% moderadamente tóxicos, 9% altamente tóxicos, 9% extremadamente tóxicos (Perea 2006).

En México, los cultivos a los que se aplica el mayor volumen de estos productos son: maíz, algodón, papa, chile, jitomate, frijol, trigo, aguacate, café y tabaco, en cantidades que van desde 395 hasta 13,163 toneladas de plaguicidas al año (AMIPFAC 1995).

Además de la gran cantidad de productos que se aplican, existe el problema de la recolección, tratamiento y disposición final de más de 12 mil envases vacíos de plaguicidas, que se está tratando de solucionar a través del programa de "Conservemos un Campo Limpio", intentando crear conciencia en los productores agrícolas, acerca del manejo seguro y la disposición adecuada de los residuos generados. Este programa se está llevando a cabo en el Estado de México a través de folletos informativos y por mensajes transmitidos por radio en Sonora, Sinaloa, Querétaro, Nayarit y Guanajuato (AMIPFAC 2001, INE 2005).

Según la Secretaría de Salud, el 80 % de los casos de intoxicación por plaguicidas registrados cada año en el mundo ocurren en países en vías de desarrollo. En México se emplean 260 marcas, de las cuales 24 están prohibidas y 13 restringidas, siendo las principales causas de intoxicación las deficientes medidas de control y previsión. De acuerdo con la Dirección General de Epidemiología de la Secretaría de Salud, la cantidad de casos de intoxicación por empleo de plaguicidas decreció de forma significativa de ocho mil a 2,532, entre 1995 y 2001. No obstante, el registro también menciona que al siguiente año la cifra aumentó ligeramente para ubicarse en 2,802, en 2003 se elevó nuevamente a 3,849 casos y en 2005 fue de 3,898. Sin embargo, las propias autoridades reconocen que existe un subregistro o "cifra negra" en el número de casos de intoxicación por el uso de

agroquímicos (Perea 2006). El empleo indiscriminado y exhaustivo de plaguicidas ha creado serios problemas tanto para el ambiente como para los organismos "no blanco", así como para el hombre (CICOPAFEST 1998).

Los estados con mayor uso de plaguicidas son Sinaloa, Veracruz, Jalisco-Nayarit-Colima, Sonora-Baja California, Tamaulipas, Michoacán, Tabasco, Estado de México y Puebla-Oaxaca, siendo aproximadamente el 80 % de los plaguicidas totales lo que se aplica en estas regiones (Albert 2005).

#### **Biomarcadores utilizados para biomonitoreo citogenético de poblaciones expuestas a plaguicidas**

Los marcadores biológicos o biomarcadores son los cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos medibles que se producen en un sistema biológico y se interpretan como reflejo o marcador de la exposición a un agente tóxico (Garte y Bonassi 2005). Los biomarcadores suelen utilizarse como indicadores del estado de salud o del riesgo a enfermedades y se emplean en estudios tanto *in vitro* como *in vivo* que pueden incluir a seres humanos. Los marcadores biológicos se clasifican por lo general en tres tipos concretos (aunque algunos de ellos pueden ser difíciles de clasificar): de exposición, de efecto y de susceptibilidad y son una herramienta útil para evaluar el riesgo potencial de las diferentes exposiciones ambientales. A nivel individual pueden emplearse para apoyar o rechazar el diagnóstico de un determinado tipo de intoxicación o de otro efecto adverso inducido por productos químicos.

Los estudios de biomonitoreo en poblaciones agrícolas publicados desde la década de los años 70 indican resultados muy diversos, pues se ha utilizado una amplia variedad de biomarcadores citogenéticos y poblaciones heterogéneas a través de dichos estudios (Paldy *et al.* 1987, Rupa *et al.* 1989, De Ferrari *et al.* 1991, Carbonell *et al.* 1993, Bolognesi *et al.* 2002). Asimismo es importante considerar que los estudios de exposición a plaguicidas y efecto genotóxico deben tomar en cuenta la confiabilidad del daño de la exposición, la solidez de los estudios, la similitud de los grupo testigo y los protocolos usados para determinar la genotoxicidad (Bull *et al.* 2006).

El daño citogenético ocasiona cambios y alteraciones en el número o la estructura de los cromosomas, estos efectos han sido evaluados a través de biomarcadores como aberraciones cromosómicas (AC), micronúcleos (MN) e intercambio de cromátidas hermanas (ICH) además ha sido posible determinar alteraciones que se manifiestan mediante cambios en la cinética de proliferación celular, lo que puede ser

observado y evaluado durante la mitosis (Zhurkov y Yakovenko 1976, Pearson *et al.* 1981, Rupa *et al.* 1989, Díaz *et al.* 1990). Asimismo se ha utilizado la electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa para evaluar el daño y reparación del ADN tanto en estudios *in vitro* como *in vivo* (Moretti *et al.* 2000).

#### **Biomarcadores utilizados en el biomonitoreo de poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas**

##### *Aberraciones cromosómicas (AC)*

Este biomarcador detecta cambios citológicamente identificables que afectan al número o a la estructura de los cromosomas que constituyen el cariotipo de la especie y pueden ser observados al microscopio óptico. Estas modificaciones corresponden a rompimientos y rearrreglos en el mismo o entre diferentes cromosomas. Las aberraciones estructurales han sido consideradas como marcadores de riesgo.

##### *Micronúcleos (MN)*

Es uno de los biomarcadores de genotoxicidad más frecuentemente empleados en mamíferos y en la actualidad se utiliza para la evaluación de exposiciones ocupacionales a mutágenos (Vaglenov *et al.* 2001, Norppa y Falck 2003). Los micronúcleos son la expresión en interfase de los fragmentos acéntricos, que al no tener centrómero no se incluirán en los núcleos hijos durante la división celular, ya que no interactúan con las fibras del huso mitótico en anafase; estos fragmentos se rodean de membrana nuclear y aparecen como pequeños núcleos en interfase. Mientras que cuando el daño se da en el centrómero, alterando el cinetocoro o bien las fibras del huso acromático, se produce un desequilibrio en la distribución de los cromosomas, provocando que queden fuera de la cinética normal de la anafase y se rodean de envoltura nuclear, como ocurre con los fragmentos acéntricos, originando también micronúcleos aunque de mayor tamaño. Este ensayo puede realizarse utilizando células de descamación de la vejiga urinaria y de las mucosas oral y nasal (Stich *et al.*, 1983, Stich y Rosin 1984, Rosin y Gilbert 1990), o de sangre periférica (Lee *et al.* 2002, Clare *et al.* 2006).

##### *Intercambio de cromátidas hermanas (ICH)*

Son eventos que se producen durante la fase de síntesis. Representan el intercambio simétrico, entre loci homólogos, de productos de replicación (Norppa 2004). Ocurren sin pérdida de ADN ni cambios en la morfología cromosómica y es posible detectarlos

en metafases obtenidas de cultivos adicionados con bromodesoxiuridina que es un análogo de la base nitrogenada timina del ADN (Latt 1979, Latt *et al.* 1981). Los intercambios de cromátidas hermanas no representan situaciones letales para la célula, además, por sí mismos, no pueden ser considerados mutaciones ya que, en principio, no producen cambios en la información genética. Sin embargo, se ha observado que la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas aumenta cuando las células son expuestas a agentes mutagénicos y cancerígenos conocidos y en el caso de ciertas enfermedades congénitas como el síndrome de Bloom, la xeroderma pigmentosa (Wolf-Dieltrich 2004) y la enfermedad de Bechet (Ikbal *et al.* 2006). Se puede observar incremento en la frecuencia de ICH por exposición de las células a agentes clastogénicos, lo que ha permitido que se reconozca como un evento indicador de daño al ADN (Zeljezic y Garaj-Vrhovac 2001a). Este ensayo se utiliza en investigaciones sobre monitoreo biológico de individuos expuestos a agentes genotóxicos potenciales o conocidos (Lambert *et al.* 1982, Cavallo *et al.* 2006).

##### *Ensayo cometa (EC)*

Es un biomarcador rápido, simple, visual y sensible, conocido como electroforesis unicelular alcalina, que se utiliza para medir y analizar rupturas en el ADN. Detecta diferencias intracelulares y daño en los procesos de reparación de virtualmente todas las células (Speit y Hartmann 2006). El ensayo cometa consiste en cuantificar el daño inducido en el ADN de células que son embebidas en agarosa, lisadas y posteriormente sometidas a una electroforesis en pH alcalino, para así lograr que los fragmentos de cromosomas se dirijan hacia el ánodo y se revelen como la cola de un cometa, que se visualiza luego de teñir con un colorante fluorescente (Tice *et al.* 2000). La capacidad de migración del ADN depende de la cantidad de rompimientos producidos por el agente en cuestión (Garaj-Vrhovac y Zeljezic 2001), de esta manera cada célula lesionada tiene la apariencia de un cometa con una cabeza y una cola brillante y fluorescente y las células que no han sido dañadas aparecen con núcleos intactos, sin colas (Möller 2006).

#### **Diferentes tipos de exposición a plaguicidas**

Alrededor del mundo existen trabajadores que están expuestos a diversas mezclas de plaguicidas, principalmente en invernaderos y en campo abierto, donde se cultivan hortalizas y plantas ornamentales (Bolognesi 2003). Es importante señalar que algunos plaguicidas del grupo de los organofosforados

y organoclorados han sido prohibidos en países desarrollados, sin embargo se siguen usando en países subdesarrollados, donde, por diversos factores el riesgo que representa su empleo indiscriminado es más pronunciado (Mansour 2004).

Generalmente los plaguicidas se asperjan en forma aérea y terrestre, lo que expone a los trabajadores de campo a la acción de estas sustancias. Se sabe que aproximadamente un millón de casos de envenenamiento por plaguicidas es documentado cada año alrededor del mundo, de igual forma se conoce que las vías de ingreso de estas moléculas a los individuos son por contacto dérmico o por inhalación (García 1998).

Los efectos de los plaguicidas en las poblaciones expuestas dependen del tipo de molécula, la dosis a la que están sometidas, la forma de ingreso al organismo y el tiempo de exposición así como la susceptibilidad de los individuos. Los efectos pueden ser agudos como vómitos, abortos, cefaleas, somnolencia, alteraciones en el comportamiento, convulsiones, coma e inclusive la muerte y están asociados a accidentes donde una dosis alta es suficiente para provocar alteraciones que se manifiestan tempranamente y también crónicas como el cáncer. De igual manera, se han consignado malformaciones congénitas, neuropatías periféricas y dolores vagos asociados a exposiciones repetidas. Los síntomas aparecen después de un largo periodo de exposición, lo que dificulta su detección ya que su biotransformación es lenta y provoca efectos acumulados en las personas expuestas (Ferrer y Cabral 1993, Brown y Brix 1998, Pose *et al.* 2000, Potti *et al.* 2003).

En mayor o menor medida los plaguicidas tienen efecto genotóxico, es decir que pueden provocar algún tipo de modificación en la información genética y se ha establecido una correlación positiva entre los individuos expuestos a éstos ya sea de forma ocupacional, o accidental y el incremento del riesgo de padecer cáncer (IARC 1991, Solans y Hernández 2000).

#### Exposición ocupacional

Los efectos citogenéticos de los plaguicidas han sido estudiados en condiciones *in vitro* como *in vivo*, sin embargo han sido poco estudiados en personas ocupacionalmente expuestas (Gómez-Arroyo *et al.* 1992). Al respecto las exposiciones ocupacionales se llevan a cabo en agricultores, peones de campo, obreros industriales, exterminadores de plagas, trabajadores de invernaderos y otros (Bolognesi *et al.* 1993b, Joksic *et al.* 1997, Falck *et al.* 1999) del mismo modo el uso de los plaguicidas incrementa el

riesgo de generar accidentes que causan intoxicaciones agudas y para la población en general constituyen un peligro latente a través de las cadenas tróficas, al consumir alimentos contaminados por estas sustancias (Moutschen-Dahamen *et al.* 1984).

En espacio abierto la exposición de los jornaleros que laboran en actividades agrícolas sucede en varias formas, tanto para el que aplica como para el que formula y hace mezclas. En espacios cerrados como invernaderos, el efecto de las moléculas es más prolongado debido a la humedad relativa alta y la temperatura, además, es frecuente que los trabajadores de dichas actividades no respeten las instrucciones de aplicación de los plaguicidas y reingresen a las áreas asperjadas antes del tiempo recomendado; así estos individuos se exponen a las moléculas tóxicas por diferentes vías (Falck *et al.* 1999, Gómez-Arroyo *et al.* 2000).

En algunos estudios de biomonitorio dirigidos a individuos expuestos a plaguicidas, los resultados indicaron inducción de aberraciones cromosómicas (Paldy *et al.* 1987, Rupa *et al.* 1989, De Ferrari *et al.* 1991, Joksic *et al.* 1997, Kaioumova y Khabutdinova 1998, Garj-Vrhovac y Zeljezic 2001, 2002, Sailaja *et al.* 2006) de igual forma, mediante la utilización de ICH y MN se determinó que 30 trabajadores de campo dedicados a la floricultura, en el estado de Morelos, México, presentaron daño citogenético al compararlos con los individuos no expuestos (Gómez-Arroyo *et al.* 2000). Estos datos concuerdan con los estudios realizados en trabajadores expuestos en viñedos, algodoneeros y forestales (Paldy *et al.* 1987, Bolognesi 2003).

La exposición a los plaguicidas es variable, por ejemplo: la cantidad de productos químicos genotóxicos empleados, las diversas formulaciones que se utilizan en campo y la dimensión de las áreas en que se aplican, así como las condiciones ambientales donde los individuos se exponen. Entre los grupos con periodos de exposición largos se encuentran el personal que elabora las mezclas en campo, pilotos, fumigadores y poblaciones que colindan con lotes asperjados, bodegas de almacenamiento, invernaderos y campo abierto (Bolognesi *et al.* 1993a, 2002, Lucero *et al.* 2000, Pastor *et al.* 2003). A través de los años se ha incrementado la atención sobre la probable carcinogenicidad y mutagenicidad causada por la exposición prolongada a plaguicidas; la importancia social de las investigaciones realizadas en el área de la citogenética radica en el reconocimiento temprano de factores carcinogénicos, mutagénicos y teratogénicos en individuos ocupacionalmente expuestos a agentes genotóxicos (Nehéz *et al.* 1981).



Se ha demostrado que en muchos casos la mezcla de dos plaguicidas del mismo o distinto grupo provoca mayor efecto al que resulta de la suma de las acciones individuales de cada uno de ellos por separado. Este mecanismo llega a destruir no sólo a los insectos nocivos sino también a los benéficos, por la aplicación de un tratamiento intenso (Garaj-Vrhovac y Zeljezic 2001, Salazar *et al.* 2004).

La actividad genotóxica de algunos plaguicidas ha sido documentada previamente (Dolara *et al.* 1994), diversos reportes en la literatura han demostrado efectos genotóxicos asociados a las mezclas de plaguicidas sobre los linfocitos de los trabajadores agrícolas (Paldy *et al.* 1987, Rupa *et al.* 1989, De Ferrari *et al.* 1991, Dolara *et al.* 1994, Garaj-Vrhovac y Zeljezic 2001). Diversos métodos *in vivo* e *in vitro* han mostrado que los plaguicidas tales como herbicidas, insecticidas y fungicidas ejercen efectos mutagénicos (Piperakis *et al.* 2003); un limitado número de estudios en campo abierto ha arrojado evidencias epidemiológicas que presumen el riesgo genotóxico que los plaguicidas poseen (De Ferrari *et al.* 1991, Moretti *et al.* 2000). Es importante señalar que los estudios revisados para la elaboración de este trabajo, reportan que las mezclas son más tóxicas para el humano que la exposición a un solo plaguicida

#### Daño citogenético

La caracterización genotípica está adquiriendo mayor importancia en la interpretación de los procesos carcinogénicos. Se intenta comprender por qué los individuos reaccionan de manera diferente frente a la exposición de un mismo compuesto, lo cual pone en evidencia las diferencias entre los perfiles metabólicos individuales, entre otros factores, ya que muchos de los agentes genotóxicos requieren activación metabólica antes de ser activos y otros se inactivan después de ser metabolizados. Según las variantes génicas (polimorfismos) que un individuo posea, le conferirán mayor o menor susceptibilidad frente a sustancias con potencial genotóxico como lo son muchos de los plaguicidas (Yuille *et al.* 2002, Zheng *et al.* 2002).

El genotipo es responsable de las diferencias interindividuales en la capacidad o habilidad de activar o desintoxicar sustancias genotóxicas reconocidas como biomarcadores de susceptibilidad a mutaciones, cáncer y otras enfermedades (Bolognesi 2003). Se han sugerido muchas isoformas enzimáticas que pueden contribuir en los individuos a modificar su susceptibilidad contra el riesgo de contraer cáncer después de la exposición a agentes genotóxicos (Sulbato 1994, Waliszewski *et al.* 2003a).

#### Otros factores asociados al daño citogenético

La edad de una persona influye en la tasa de acumulación de los plaguicidas persistentes; al respecto se ha encontrado que a mayor edad la acumulación en los individuos expuestos es mayor (Galván-Portillo *et al.* 2002, Waliszewski *et al.* 2002). Los problemas secundarios a contaminación por plaguicidas persistentes se presentan a consecuencia de la exposición directa a estos productos, al aspirar los vapores procedentes del lugar de su aplicación o por acumulación de sus residuos provenientes de los alimentos a través del tiempo, carencia de equipo de protección, tipo de productos empleados, hábitos alimenticios y polimorfismo genético (Bolognesi 2003, Fenech 2006).

La incidencia de AC, MN e ICH tiene correlación significativamente positiva con el tiempo de exposición a plaguicidas (Bolognesi *et al.* 1993a,b, 2002, Paldy *et al.* 1987, Rupa *et al.* 1989, Joksic *et al.* 1997, Calvert *et al.* 1998). Por ejemplo, estudios realizados en el estado de Morelos, México, indicaron que la frecuencia de ICH y MN en linfocitos de sangre periférica de individuos con tiempos de exposición de 1.5 a 10 años, mostraron incremento estadísticamente significativo con respecto al grupo testigo en frecuencias de ICH; además, se encontró que las frecuencias de los MN fueron tres veces más altas en individuos expuestos que en el grupo sin exposición (Gómez-Arroyo *et al.* 2000). En concordancia con lo anterior, y recurriendo a las técnicas de AC y MN, se ha encontrado que las poblaciones agrícolas expuestas a mezclas complejas de plaguicidas por periodos prolongados de exposición, muestran incrementos en el daño cromosómico (Bolognesi *et al.* 1993a,b, 2002, Scarpato *et al.* 1996, Gómez-Arroyo *et al.* 2000). De igual forma diversos estudios en agricultores han demostrado una relación entre el tiempo de exposición y un incremento en el riesgo de presentar cáncer (Carbonell *et al.* 1993), en el mismo tipo de individuos se ha observado un impacto en sus células germinales, pues se afecta su capacidad reproductora hasta presentar esterilidad y alteraciones genéticas (Carbonell *et al.* 1996). Estudios en este mismo campo efectuados en agricultores mexicanos indicaron que la exposición a organofosforados altera la condensación de la cromatina del esperma, lo cual se podría deber al incremento del número de células con alta susceptibilidad a la desnaturalización de ADN y ser la causa de productos defectuosos de la reproducción (Rojas *et al.* 2000, Sánchez-Peña *et al.* 2004).

Con relación al impacto de los plaguicidas en la niñez, puede ocurrir desde la exposición de los



padres, la preconcepción, la concepción, previo al nacimiento y después del mismo. La exposición química postnatal, particularmente durante la pubertad, se considera una etapa sensible para el desarrollo de efectos adversos en el sistema reproductor (Abell *et al.* 2000, Garry 2004).

### ANÁLISIS DE RESULTADOS

La gama de los efectos sobre la salud provocados por plaguicidas incluye lesiones agudas y persistentes en el sistema nervioso, daño al pulmón y a los órganos reproductores, disfunción del sistema inmunológico y endocrino, defectos de nacimiento y cáncer (Mansour 2004). Otra causa de preocupación sanitaria es su capacidad carcinogénica, genotóxica y la de ocasionar alteraciones reproductoras en los organismos vivos, principalmente en los seres humanos.

La presente revisión incluye una amplia cantidad de estudios de biomonitoreo en grupos humanos expuestos a plaguicidas donde se utilizan las aberraciones cromosómicas, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y el ensayo cometa con la finalidad de evaluar el riesgo genotóxico que implican estas sustancias. En el cuadro I se incluyen diversas investigaciones realizadas en los últimos veinte años, en países como Brasil, Colombia, Croacia, España, Hungría, India, Italia, Portugal, República Checa, Rusia, Siria, Turquía, entre otros, donde mediante la utilización de AC, se obtuvieron resultados positivos al considerar dicho biomarcador en personas ocupacionalmente expuestas. Con respecto a ICH, las investigaciones desarrolladas en personas en contacto laboral con plaguicidas en Argentina, Croacia, España, Finlandia, India, Italia, México, Portugal, Pakistán, República Checa, Turquía, entre otros, reportan incrementos positivos de ICH con relación a los grupos testigo. Sin embargo, también se advierten investigaciones con resultados negativos al incremento de frecuencias de AC e ICH como ha ocurrido en los datos descritos por diversos grupos de trabajo en países como España, Colombia, Italia, México, Yugoslavia, entre otros. Utilizando MN en estudios desarrollados en Polonia, España y Hungría se han obtenido resultados negativos en las poblaciones expuestas a plaguicidas, lo cual es atribuido a factores como tiempo de exposición, género, tipo de producto aplicado, hábitos alimenticios y principalmente al polimorfismo genético (Pastor *et al.* 2001, Pastor *et al.* 2002a, b, Bolognesi 2003, Fenech 2006).

Como puede observarse en el cuadro I, de un

total de 50 estudios que se revisaron, 36 reportan diferencias positivas en sujetos ocupacionalmente expuestos a plaguicidas con relación a los grupos no expuestos, basados en su significatividad estadística, lo que permite considerar que estos biomarcadores son pruebas adecuadas para este tipo de monitoreo poblacional. En el caso de AC los trabajos que demuestran resultados positivos representan el 92 %, para ICH 72 % y para MN 64 %. El ensayo cometa muestra 100 % de resultados positivos, sin embargo por ser una técnica que se ha empezado a utilizar recientemente en estudios ocupacionales, es difícil aún precisar su grado de confiabilidad.

### CONCLUSIONES

La presente revisión bibliográfica refleja que los ensayos o biomarcadores más utilizados para evaluar el efecto genotóxico de los plaguicidas son MN, AC, ICH y recientemente el EC. Lo anterior se sustenta en los estudios realizados por investigadores de diferentes países del mundo, que aportan evidencias científicas que indican correlaciones positivas entre tiempo de exposición, dosis y las frecuencias elevadas de AC, MN, ICH y EC. Sin embargo, es común encontrar discrepancias en los resultados en los distintos estudios, lo cual se puede deber a la edad de las personas, al empleo de mezclas de plaguicidas, al polimorfismo genético, a las formas de aplicación, al nivel genotóxico de los compuestos, a las características de la aspersión (áreas cerradas o campo abierto) o a la interacción de estas situaciones.

Considerando lo anterior, resulta importante la introducción de prácticas agrícolas que reduzcan la utilización de plaguicidas; en este sentido es primordial la incorporación de medidas de control biológico así como el manejo integrado de plagas. Es fundamental también intensificar esfuerzos en la capacitación y la actualización permanente del personal técnico, jornaleros y agricultores, así como fortalecer acciones de prevención y educación hacia la comunidad.

El monitoreo citogenético debe ser considerado como parte integral de una buena vigilancia médica en las personas en contacto con plaguicidas, ya que permite evaluar el riesgo potencial de las exposiciones ocupacionales, lo que permitiría tomar las medidas necesarias sobre identificación temprana de riesgo genético.

El monitoreo de poblaciones humanas por medio del análisis de aberraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas en cultivo de sangre periférica, así como de micronúcleos y cometas en

**CUADRO I.** ESTUDIOS DE BIOMONITOREO CITOGENÉTICO A TRAVÉS DE LA UTILIZACIÓN DE LOS ENSAYOS DE ABERRACIONES CROMOSÓMICAS (AC), MICRONÚCLEOS (MN), INTERCAMBIO DE CROMÁTIDAS HERMANAS (ICH) Y ENSAYO COMETA (EC) EN POBLACIONES HUMANAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS

No. de individuos y tipo de exposición	Biomarcador utilizado	Lugar de estudio	Resultados	Referencia
80 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas carbámicos, ditiocarbámicos, organoclorados, piretroides, ácido fenoxiacético, etc. y 24 testigos.	AC	Hungría	Positivo	Paldy <i>et al.</i> 1987
15 vinicultores expuestos a sulfato de cobre e insecticidas organoclorados y organofosforados y 10 testigos.	AC	India	Positivo	Rita <i>et al.</i> 1987
55 trabajadores de invernadero expuestos a mezclas de insecticidas organofosforados y carbámicos, fungicidas y acaricidas piretroides y 60 testigos.	AC	Hungría	Positivo	Nehéz <i>et al.</i> 1988
25 horticultores en contacto con insecticidas organoclorados, organofosforados y herbicidas ureicos y 30 testigos.	AC, ICH	India	Positivo	Rupa <i>et al.</i> 1988
50 trabajadores de campo abierto expuestos a carbamatos, organofosforados y piretroides y 47 del grupo testigo.	AC, ICH	India	Positivo	Rupa <i>et al.</i> 1989
44 personas expuestas al fungicida mancozeb y 30 testigos.	AC, ICH	República Checa	Positivo	Jablouška <i>et al.</i> 1989
27 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas y 28 testigos.	ICH	España	Negativo	Carbonell <i>et al.</i> 1990
26 trabajadores expuestos a mezclas de organoclorados, organofosforados y piretroides y 26 testigos.	AC	India	Positivo	Rupa <i>et al.</i> 1991
32 floricultores expuestos a mezclas de organofosforados, organoclorados, piretroides y 31 testigos.	AC, ICH	Italia	Positivo	De Ferrari <i>et al.</i> 1991
38 expuestos a mezclas de insecticidas organofosforados, organoclorados, carbámicos y piretroides y 32 testigos.	ICH	Argentina	Positivo	Dulout <i>et al.</i> 1992
94 jornaleros expuestos a mezclas de plaguicidas organoclorados, carbámicos, organofosforados, triazinas y ureicos y 70 testigos.	ICH	México	Negativo	Gómez-Arroyo <i>et al.</i> 1992
71 floricultores de invernadero y campo abierto expuestos crónicamente a carbamatos, benzimidazoles, organoclorados, organofosforados italaminas y piretroides y 75 testigos.	MN	Italia	Positivo	Bolognesi <i>et al.</i> 1993b
29 floricultores y horticultores expuestos a mezclas de insecticidas organoclorados, organofosforados, carbámicos y piretroides y 33 testigos.	AC	España	Positivo	Carbonell <i>et al.</i> 1993
31 fumigadores expuestos a organofosforados y 21 testigos	MN	Australia	Negativo	Barbosa y Borin 1994
7 campesinos expuestos a mezclas de piretroides y 6 testigos.	AC	Siría	Positivo	Mohammad <i>et al.</i> 1995
134 floricultores expuestos a mezclas de carbamatos, organofosforados, organoclorados y piretroides y 157 testigos.	ICH	Dinamarca	Positivo	Lander y Rome 1995
27 floricultores y horticultores en contacto con mezclas de benomil, captan, insecticidas piretroides, carbámicos y paraquat y 28 testigos.	ICH	España	Negativo	Carbonell <i>et al.</i> 1995
30 trabajadores expuestos a mezclas de carbamatos, ditiocarbamatos y organofosforados y 30 testigos.	AC	Colombia	Negativo	Hoyos <i>et al.</i> 1996

CUADRO I. Continuación

No. de individuos y tipo de exposición	Biomarcador utilizado	Lugar de estudio	Resultados	Referencia
48 trabajadores agrícolas expuestos a mezclas de carbaril, mancozeb y 50 testigos.	MN, ICH	Italia	Positivo (MN) Negativo (ICH)	Pasquini <i>et al.</i> 1996
23 floricultores expuestos a mezclas de 100 formulaciones de plaguicidas y 22 testigos.	AC, MN, ICH	Italia	Positivo (ICH y AC) Negativo (MN)	Scarpato <i>et al.</i> 1996
27 trabajadores de viñedos expuestos a mezclas de plaguicidas principalmente 2,4-D y 35 individuos testigo.	AC, MN, ICH	Ex Yugoslavia	Positivo (MN y AC) Negativo (ICH)	Joksic <i>et al.</i> 1997
38 expuestos a malatión en un programa de erradicación de plagas y 16 testigos.	MN	Berkeley, EUA	Negativo	Titerko-Holland <i>et al.</i> 1997
32 fumigadores principalmente expuestos a bromuro de metilo y 28 testigos.	MN	Cincinnati, EUA	Negativo	Calvert <i>et al.</i> 1998
Trabajadores de una planta productora de herbicidas (dioxinas) y un grupo testigo.	AC	Rusia	Positivo	Kaioumova y Khabutdinova 1998.
22 expuestos a mezclas de plaguicidas como deltametrin, diclorvos, paratión y 16 testigos	MN	Chile	Negativo	Venegas <i>et al.</i> 1998
13 trabajadores agrícolas expuestos a malatión y 4 testigos.	MN	California, EUA	Positivo	Windham <i>et al.</i> 1998
34 trabajadores de invernaderos expuestos a mezclas de plaguicidas principalmente mancozeb, captán, endosulfán y 33 testigos.	MN	Finlandia	Positivo	Falck <i>et al.</i> 1999.
23 agricultores expuestos a mezclas de carbamatos y organofosforados y 23 testigos.	AC	Brasil	Positivo	Antomucci y Colus de Syllos 2000
30 floricultores de invernadero expuestos a mezclas de carbamatos, organoclorados y organofosforados y 30 testigos.	MN, ICH	México	Positivo	Gómez-Arroyo <i>et al.</i> 2000
20 personas expuestas a mezclas de organofosforados, carbámicos, triazinas y 16 testigos.	AC	Brasil	Negativo	D'Arce y Colus de Syllos 2000
20 trabajadores de la producción de plaguicidas 2,4-D y malatión y 20 testigos.	AC, MN, ICH, EC	Croacia	Positivo	Garaj-Vrhovac y Zeljezic 2001
20 trabajadores expuestos a mezclas de atrazina, 2,4-D y malatión y 20 testigos.	AC, EC	Croacia	Positivo	Zeljezic y Garaj-Vrhovac 2001b
49 trabajadores expuestos a plaguicidas organofosforados, carbámicos, piretroides, dentro y fuera de invernadero, 50 testigos.	MN	Polonia	Negativo	Pastor <i>et al.</i> 2001
107 floricultores de invernadero y campo abierto expuestos a mezclas de organofosforados, piretroides, carbamatos, bencimidazoles, amidas y 61 testigos.	MN en linfocitos de sangre periférica	Italia	Positivo	Bolognesi <i>et al.</i> 2002
10 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas atrazina, alaclor, cianazina, ácido 2,4-dicloro-fenoxiacético y malatión en la industria de producción de estos y 20 personas del grupo testigo.	MN, AC, EC	Croacia	Positivo	Garaj-Vrhovac y Zeljezic 2002
12 aplicadores del herbicida 2,4-D y 12 individuos del grupo testigo.	MN	Berkeley, EUA	Positivo	Holland <i>et al.</i> 2002
39 trabajadores de invernadero expuestos a mezclas principalmente de carbamatos, organofosforados y piretroides y 22 testigos.	MN en linfocitos de sangre periférica	España	Negativo	Pastor <i>et al.</i> 2002a
84 agricultores expuestos a mezclas de plaguicidas organofosforados, carbámicos, piretroides y triazinas y 65 testigos.	MN en linfocitos de sangre periférica y MN mucosa oral.	Hungría	Negativo	Pastor <i>et al.</i> 2002b

CUADRO I. Continuación

No. de individuos y tipo de exposición	Biomarcador utilizado	Lugar de estudio	Resultados	Referencia
54 trabajadores expuestos a mezclas de insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides y 20 testigos.	EC	India	Positivo	Grover <i>et al.</i> 2003
34 varones expuestos a herbicidas particularmente a simaquina a través del agua del grifo y 26 testigos.	MN, ICH	España	Negativo	Saizet <i>et al.</i> 2003
52 floricultores en invernaderos expuestos a mezclas de plaguicidas principalmente benzimidazol, endosulfán y paraquat y 24 personas del grupo testigo	MN	Italia	Negativo	Bolognesi <i>et al.</i> 2004
35 madres embarazadas de ciudades urbanas; 16 de un área agrícola, 15 con embarazo de riesgo elevado	MN	México	Positivo	Levario-Carrillo <i>et al.</i> 2005
52 floricultores de invernadero expuestos a mezclas organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides y 38 testigos	EC	México	Positivo	Castillo-Cadena <i>et al.</i> 2006
64 trabajadoras agrícolas expuestas a mezclas de plaguicidas durante el recorte en árboles frutales y 30 testigos femeninas	MN	Chile	Positivo	Márquez <i>et al.</i> 2005
29 trabajadores de una planta productora de plaguicidas específicamente piretroides y organofosforados y 35 testigos	MN, ICH	Pakistán	Positivo	Bhalli <i>et al.</i> 2006
237 hombres y 106 mujeres ocupacionalmente expuestas a plaguicidas y disolventes orgánicos y 301 individuos no ocupacionalmente expuestos (en siete laboratorios europeos)	MN	Países europeos	Positivo	Kirsch-Volders <i>et al.</i> 2006
54 personas ocupacionalmente expuestas en la fabricación de organofosforados, carbamatos y piretroides especialmente y 54 testigos	AC, MN	India	Positivo	Sailaja <i>et al.</i> 2006
33 jornaleros expuestos a mezclas principalmente de insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides, herbicidas ureicos y triazínicos y 33 testigos	AC, MN, ICH	Portugal	Positivo	Costa <i>et al.</i> 2006
15 granjeros expuestos a mezclas de plaguicidas y 10 testigos	MN, en plasma y eritrocitos	Kentucky, EUA	Positivo	Topo <i>et al.</i> 2006
32 individuos expuestos a plaguicidas organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, ureas y 32 testigos	AC, MN, ICH	Turquía	Positivo	Ergene <i>et al.</i> 2007

células exfoliadas de los epitelios bucal y urinario permite la detección del daño directo en el hombre provocado por los plaguicidas con la obtención rápida de resultados.

#### AGRADECIMIENTOS

Las autoras agradecen a las Dras. Judith Guzmán Rincón y Rocío Ortiz Muñiz la revisión crítica del trabajo y las valiosas sugerencias y comentarios y a PROMEP (Programa para el Mejoramiento del Profesorado) la beca otorgada a María del Carmen Martínez Valenzuela para la realización de los estudios de doctorado en Ciencias Biológicas.

#### REFERENCIAS

- Abell A., Juul S. y Bonde J. (2000). Time to pregnancy among female greenhouse workers. *Scand. J. Work Environ. Health* 26, 131-136.
- Albert L. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. *Rev. Toxicol. en Línea (retel)* No. 8, octubre 2005. <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf>. Consultada el 12/07/2007.
- AMIPFAC. (1995). Asociación Mexicana de la Industria de Plaguicidas y Fertilizantes. Los plaguicidas en México, monografía. <http://www.monografias.com/trabajos14/losplaguicidas.shtml#que>. Consultada el 10/07/2007.
- AMIPFAC. (2001). Asociación Mexicana de la Industria

- de Plaguicidas y Fertilizantes. <http://amifac.org.mx/contras.html>. Consultada el 10/06/2007.
- Antonucci G.A. y Colus de Syllos I.M. (2000). Chromosomal aberrations analysis in a Brazilian population exposed to pesticides. *Teratogen. Carcinogen. Mutagen.* 20, 265-272.
- Barbosa A. y Bonin A. (1994). Evaluation of phosphine genotoxicity at occupational levels of exposure in New South Wales, Australia. *Occup. Environ. Med.* 51, 700-705.
- Bhali J., Khan Q., Haq M., Khalid A. y Nasim A. (2006). Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutagenesis* 21, 143-148.
- Bolognesi C., Parrini M., Bonassi S., Lanello G. y Salanito A. (1993a). Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 285, 239-249.
- Bolognesi C., Parrini M., Merlo F. y Bonassi S. (1993b). Frequency of micronuclei in lymphocytes from a group of floriculturists exposed to pesticides. *J. Toxicol. Environ. Health* 40, 405-411.
- Bolognesi C., Perrone E. y Landini E. (2002). Micronucleus monitoring of a floriculturist population from western Liguria, Italy. *Mutagenesis* 17, 391-397.
- Bolognesi C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat. Res.* 543, 251-272.
- Bolognesi C., Landini E., Perrone E. y Roggieri P. (2004). Cytogenetic biomonitoring of a floriculturist population in Italy: micronucleus analysis by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with an all-chromosome centromeric probe. *Mutat. Res.* 557, 109-107.
- Brown M. y Brix R. (1998). Review of health consequences from high intermediate and low level exposure to organophosphorus nerve agents. *J. Appl. Toxicol.* 18, 393-408.
- Bull S., Fletcher K., Boobis A.R. y Battershill J.M. (2006). Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators: a review. *Mutagenesis* 21, 93-103.
- Calvert G., Talaska G., Mueller C., Ammenheuser M., Fleming L., Bliggie T. y Eward E. (1998). Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mutat. Res.* 417, 115-128.
- Carbonell E., Puig M., Xamena N., Creus A. y Marcos R. (1990). Sister chromatid exchange in lymphocytes of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 5, 403-405.
- Carbonell E., Puig M., Xamena N., Creus A. y Marcos R. (1993). Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 8, 511-516.
- Carbonell E., Valbuena F.A., Xamena N., Creus A. y Marcos R. (1995). Temporary variations in chromosomal aberrations in a group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 344, 127-134.
- Carbonell E., Peris F., Xamena N., Creus A. y Marcos R. (1996). Chromosomal aberration analysis in 85 control individuals. *Mutat. Res.* 370, 29-37.
- Castillo-Cadena J., Tenorio-Vieyra L.E., Quintana-Carabía A.I., García-Fabla M.M., Ramírez-San Juan E. y Madrigal-Bujaidar E. (2006). Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides. *J. Biomed. Biotechnol.* DOI 10.1155/JBB/2006/97896.
- Cavallo D., Cinzia L.U., Carelli G., Iavicoli I., Ciervo A., Perniconi B., Rondinone B., Gismondi M. e Iavicoli S. (2006). Occupational exposure in airport personnel characterization and evaluation of genotoxic and oxidative effects. *Toxicology* 223, 26-35.
- Clare M.G., Lorenzon G., Akhurst L.C., Marzin D., van Delft J., Montero R., Botta A., Bertens A., Cinelli S., Thybaud V. y Lorge E. (2006). SFTG international collaborative study on *in vitro* micronucleus test. II. Using human lymphocytes. *Mutat. Res.* 607, 37-60.
- CICOPLAFEST (1998). Catálogo oficial de plaguicidas. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas. SEMARNAP, SECOFI, SAGAR y SSA, México D.F.
- Costa C., Teixeira J.P., Silva S., Roma-Torres J., Coelho P., Gaspar J., Alves M., Laffon B., Rueff J. y Mayan O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis* 21, 343-350.
- D'Arce L.P.G. y de Syllos Colus I.M. (2000). Cytogenetic and molecular biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in Brazil. *Teratogen. Carcin. Mut.* 20, 161-170.
- De Ferrari M., Artuso M., Bonassi S., Cavalieri Z., Pescatore D., Marchini E., Pisano V. y Abbondandolo A. (1991). Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat. Res.* 260, 105-113.
- Díaz S., Fonseca G. y Fernández I. (1990). Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas* 113, 77-80.
- Dolaro P., Torricelli F. y Antonelli N. (1994). Cytogenetic effects on human lymphocytes of a mixture of fifteen pesticides commonly used in Italy. *Mutat. Res.* 325, 47-51.
- Dulout F.N., López Camelo J.S. y Guradze H.N. (1992). Analysis of sister chromatid exchanges (SCE) in human populations studies. *Rev. Brazil Genet.* 15, 169-182.
- Eddleston M., Karaliedde L., Buckley N., Fernando R., Hutchinson G., Isbister G., Konradsen F., Murray

- D., Piola J.C., Senanayake N., Sheriff R., Singh S., Siwach S.B. y Smit L. (2002). Pesticide poisoning in the developing world—a minimum pesticide list. *The Lancet* 360, 1163-1167.
- Ergene S., Celik A., Cavaş T. y Kaya F. (2007). Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Gösku delta: micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ. Int.* 33, 877-885.
- Falk G.C., Hirvonen A., Scarpato R., Saarikoski S., Migliore L. y Norppa H. (1999). Micronuclei in blood lymphocytes and genetic polymorphism GSTM1, GSTT1 and NAT2 in pesticide exposed greenhouse workers. *Mutat. Res.* 441, 225-237.
- Fenech M. (2006). The effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on micronucleus frequencies in human lymphocytes *in vivo*. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 15, 1038-1042.
- Ferrer A. y Cabral R. (1993). Collective poisoning caused by pesticides: mechanism of production, mechanism of prevention. *Rev. Environ. Toxicol.* 5, 161-201.
- Ferrer A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *Toxicol. Clin.* 26, 1-5.
- Fest C. y Schmidt K.J. (1973). *The chemistry of organophosphorus pesticides*. Springer-Verlag, pp. 122-135, Nueva York.
- Fukuto T.R. (1971). Relationship between the structure of organophosphorus compounds and their activity as acetylcholinesterase inhibitors. *Bull. WHO* 44, 31.
- Galván-Portillo M., Jiménez-Gutiérrez C., Torres-Sánchez L. y López-Carrillo L. (2002). Food consumption and adipose tissue DDT levels in Mexican women. *Cad. Saúde Pública*, Rio de Janeiro 18, 447-452.
- García J. (1998). Intoxicaciones agudas con plaguicidas: costos humanos y económicos. *Rev. Panam. Salud Pub.* 4, 6-10.
- Garaj-Vrhovac V. y Zeljezic D. (2001). Cytogenetic monitoring of Croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* 165, 153-162.
- Garaj-Vrhovac V. y Zeljezic D. (2002). Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and comet assay. *J. Appl. Toxicol.* 22, 249-255.
- Garry V.F. (2004). Pesticides and children. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 198, 152-163.
- Garte S. y Bonassi S. (2005). Linking toxicology to epidemiology: biomarkers and new technologies—Special issue overview. *Mutat. Res.* 592, 3-5.
- Gómez-Arroyo S., Noriega-Aldana N., Osorio A., Galicia F., Ling S. y 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. y De León-Rodríguez J. (2000). Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture workers group exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 466, 117-124.
- Grover P., Danadevi K., Mahboob M., Rozati R., Banu B.S. y Rahman M.F. (2003). Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the comet assay. *Mutagenesis* 18, 201-205.
- He F. (1994). Synthetic pyrethroids. *Toxicology* 91, 43-49.
- Holland N., Duramad P., Rothman N., Figgs L., Blair A., Hubbard A. y Smith M. (2002). Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid *in vitro* and *in vivo*. *Mutat. Res.* 521, 165-178.
- Hoyos L., Carvajal S., Solano L., Rodríguez J., Orozco L. y López V. (1996). Cytogenetic monitoring of farmers exposed to pesticides in Colombia. *Environ. Health Perspect.* 104, 535-538.
- IARC. (1991). Occupational exposure in insecticide application and some pesticides. International Agency for Research on Cancer. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk to Humans. Vol. 53, Lyon, pp. 179-250.
- Ikbal M., Atasoy M., Pirim I., Aliagaoglu C., Karatay S. y Erdem T. (2006). The alteration of sister chromatid exchange frequencies in Behçet's disease with and without HLA-B51. *J. Eur. Acad. Dermatol.* 20, 149-52.
- INE (2005). Instituto Nacional de Ecología. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México. <http://www.ine.gob.mx/dgicurg/plaguicidas/>. Consultada el 28/06/2007.
- INEGI (1998). Informe 1997. Estadística del medio ambiente. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática, México.
- Jablonka A., Polakova H., Karelova J. y Vargova M. (1989). Analysis of chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of workers with occupational exposure to the mancozeb containing fungicide Novozir Mn80. *Mutat. Res.* 224, 143-146.
- Joksic G., Vidakovic A. y Spasojevic-Tisma V. (1997). Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. *Environ. Res.* 75, 113-118.
- Kaioumova D. y Khabutdinova L. (1998). Cytogenetics characteristics of herbicide production workers in Ufa. *Chemosphere* 37, 1755-1759.
- Kamrin M.A. (1997). *Pesticides profiles toxicity. Environmental impact and fate*. Lewis Publishers, EUA, 676 p.

- Keith R.S. (2001). Ecotoxicological risk assessment of pesticides in the environment. En: *Handbook of pesticides. Toxicology principles* (R. Krieger, Ed.), Academic Press, Nueva York, pp. 353-374.
- Kirsch-Volders M., Mateuca R., Roelants M., Tremp A., Zeiger E., Bonassi S., Holland N., Chang W., Aka P., Deboeck M., Godderis L., Haufrond V., Ishikawa H., Laffon B., Marcos R., Migliore L., Norppa H., Teixeira J., Zijno A. y Fenech M. (2006). The effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on micronucleus frequencies in human lymphocytes *in vivo*. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 5, 1038-1042.
- Lander F. y Ronne M. (1995). Frequency of sister chromatid exchange and hematological effects in pesticide-exposed greenhouse sprayers. *Scand. J. Work Environ. Health* 21, 283-288.
- Lambert B., Lindbland A., Holmberg L. y Francesconi D. (1982). The use of sister chromatid exchange to monitor human populations for exposure to toxicologically harmful agents. En: *Sister chromatid exchanges* (S. Wolff, Ed.), Wiley Nueva York, pp. 149-182.
- Latt S. (1979). Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in human metaphase chromosomes. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 70, 3395-3399.
- Latt S., Allen J., Blom S., Carrano A., Falke E., Kram D., Schneider E., Schreck R., Tice R., Whitfield B. y Wolff S. (1981). Sister chromatid exchanges in human lymphocytes after exposure to diagnostic ultrasound. *Science* 205, 1273-1275.
- Lee T.K., Allison R.R., O'Brien K.F., Naves J.L., Karlsson U.L. y Wiley A.L. (2002). Persistence of micronuclei in lymphocytes of cancer patients after radiotherapy. *Radiat. Res.* 157, 678-684.
- Levario-Carrillo M., Sordo M., Rocha F., González-Horta C., Amato D. y Ostrosky-Wegman P. (2005). Micronucleus frequency in human umbilical cord lymphocytes. *Mutat. Res.* 586, 68-75.
- Lucero L., Pastor S., Suárez S., Durban R., Gómez C., Parrón T., Creus A. y Marcos R. (2000). Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat. Res.* 464, 255-262.
- Mansour S. (2004). Pesticide exposure-Egyptian scene. *Toxicology* 198, 91-115.
- Márquez C., Villalobos C., Poblete S., Villalobos E., de Los Angeles García M. y Duk S. (2005). Cytogenetic damage in female Chilean agricultural workers exposed to mixtures of pesticides. *Environ. Mol. Mutagen.* 45, 1-7.
- Mohammad O., Walid A.A. y Ghada K. (1995). Chromosomal aberrations in human lymphocytes from two groups of workers occupationally exposed to pesticides in Syria. *Environ. Res.* 70, 24-29.
- Möller P. (2006). The alkaline comet assay: towards validation in biomonitoring of DNA damaging exposures. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 98, 336-345.
- Moretti M., Villarini M., Scassellati-Sforzolini G. y Pasquini G. (2000). Pesticide-induced primary DNA damage in peripheral blood leukocytes of farm workers evaluated by the computerized comet assay. *Biomarkers* 5, 192-204.
- Moutschen-Dahmen J., Moutschen-Dahmen H. y Degraeve N. (1984). Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of insecticides. En: *Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of industrial pollutants* (M. Kirsch-Volders, Ed.), Plenum Press, Nueva York, pp.127-203.
- Narahashi T., Frey J.M., Ginsburg K.S. y Roy M.L. (1992). Sodium and GABA-activated channels as the targets of pyrethroids and cyclodienes. *Toxicol. Lett.* 64/65, 420-436.
- Narahashi T. (1996). Neural ion channels as the target sites of insecticides. *Pharmacol. Toxicol.* 79, 1-14.
- Nehéz M., Berencsi G., Paldy A., Selyes A., Czeizel A., Szentesi I., Csankó J. y Nagy K. (1981). Data on the chromosome examinations of workers exposed to pesticides. *Regul. Toxicol. Pharm.* 1, 116-122.
- Nehéz M., Boros P., Ferke A., Mohos J., Palotas M., Vetro G., Zimanyl M. y Desi I. (1988). Cytogenetic examination of people working with agrochemicals in the southern region of Hungary. *Regul. Toxicol. Pharm.* 8, 37-44.
- Norppa H. y Falck G. (2003). What do human micronuclei contain? *Mutagenesis* 18, 221-233.
- Norppa H. (2004). Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms. *Toxicol. Lett.* 149, 309-334.
- OMS (1990). Plaguicidas. Informe Técnico No. 12. Organización Mundial de la Salud. Ginebra.
- Paldy A., Puskás N., Vincze N. y Hadházi M. (1987). Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 187, 127-132.
- PAN International (1990). Consult Manual. Pesticide Action Network International. California, EUA.
- Pasquini R., Scassellati-Sforzolini G., Angeli G., Fatigoni C., Monarca S., Beneventi L., DiGiulio A. y Bauleo F. (1996). Cytogenetic biomonitoring of pesticide-exposed farmers in central Italy. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 15, 29-39.
- Pastor S., Gutiérrez S., Creus A., Xamena N., Piperakis S. y Marcos R. (2001). Cytogenetic analysis of Greek farmers by using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and in buccal cells. *Mutagenesis* 16, 539-545.
- Pastor S., Lucero L., Gutiérrez S., Durban R., Gómez C., Parrón T., Creus A. y Marcos R. (2002a). A follow up study on micronucleus frequency in Spanish agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 17, 79-82.

- Pastor S., Creus A., Xamena N., Siffel C. y Marcos R. (2002b). Occupational exposure to pesticides and cytogenetic damage: results of a Hungarian population study using the micronucleus assay in lymphocytes in buccal cells. *Environ. Mol. Mutagen.* 40, 101-109.
- Pastor S., Creus A., Parrón T., Cebulska-Wasilewska A., Siffel C., Piperakis S. y Marcos R. (2003). Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers. *Mutagenesis* 18, 249-258.
- Pearson J.C., Kromhout L. y King E.B. (1981). Evaluation of collection and preservation techniques for urinary cytology. *Acta Cytol.* 25, 328-333.
- Perea E. (2006). Plaguicidas, la peste de la ignorancia. *Teorema Ambiental*. Editorial 3w, México. [http://teorema.com.mx/secciones.php?id\\_sec=0](http://teorema.com.mx/secciones.php?id_sec=0). Consultada 10/08/2007.
- Perry A.S., Yamamoto T., Ishaaya I. y Perry R.Y. (1998). *Applied agriculture. Insecticides in agriculture and environment. Retrospects and prospects*. Springer-Verlag, Nueva York, 261 p.
- Piperakis S., Petrakou E., Tsilimigaki S., Sagnou M., Monogiudis E., Haniotakis G., Karkaseli H. y Sarikaki E. (2003). Biomonitoring with the comet assay of Greek greenhouse workers exposed to pesticides. *Environ. Mol. Mutagen.* 41, 104-110.
- Pose D., De Ben S., Delfino N. y Burger M. (2000). Intoxicación aguda por organofosforados. Factores de riesgo. *Rev. Med. Uruguay* 16, 5-13.
- Potti A., Panwalkar A. y Langness E. (2003). Prevalence of pesticides exposure in young males with adenocarcinoma of the prostate. *J. Carcinogenesis* 2, 4-5.
- Preussman R., Schneider H. y Epple F. (1969). Untersuchungen zur wachweis alkylirender agentien. *Arzneimittel Forschung* 19, 1059-1073.
- Rita P., Reddy P.P. y Reddy S.V. (1987). Monitoring of workers occupationally exposed to pesticides in grape gardens of Andhra Pradesh. *Environ. Res.* 44, 1-5.
- Rojas A., Ojeda M. y Barraza X. (2000). Malformaciones congénitas y exposición a pesticidas. *Rev. Med. Chile* 128: 399-404.
- Rosales Castillo J.A. (2001). La toxicología y la regulación de plaguicidas en México. *Memorias del VI Congreso Mexicano de Toxicología*. Revista Salud y Nutrición, edición especial, 15, 24.
- Rosin M.P. y Gilbert A. (1990). Modulation of genotoxic effects in humans. *Environ. Mutagen.* 245, 351-359.
- Rupa D.S., Rita P., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1988). Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers. *Hum. Toxicol.* 7, 333-336.
- Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1989). Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton field workers exposed to pesticides. *Environ. Res.* 49, 1-6.
- Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. (1991). Clastogenic effect of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton-field workers. *Mutat. Res.* 261, 177-180.
- Sailaja N., Chandrasekhar M., Rekhadevi P., Mahbooba M., Rahmana M., Saleha B., Vuyyuri B., Danadevi K., Hussain S. y Paramjit G. (2006). Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat. Res.* 609, 74-80.
- Salazar M., Napolitano M., Scherer J. y McCauley L. (2004). Hispanic adolescent farmworkers perceptions associated with pesticide exposure. *W. J. Nursing Res.* 26, 146-166.
- Sánchez-Peña L., Reyes B., López-Carrillo L., Recio R., Morán-Martínez J., Cebrián M. y Quintanilla-Vega B. (2004). Organophosphorous pesticide exposure alters sperm chromatin structure in Mexican agricultural workers. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 196, 108-113.
- Scarpato R., Mighore L., Angotzi G., Fedi A., Miligi L. y Loprieno N. (1996). Cytogenetic monitoring of a group of Italian floriculturists: no evidence of DNA damage related to pesticides exposure. *Mutat. Res.* 367, 73-82.
- SEMARNAP (1996). Lo que usted debe saber sobre la gestión de los plaguicidas en México. Serie Plaguicidas núm. 4. Secretaría de Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca, México.
- Solans X. y Hernández R. (2000). Control biológico de la exposición a genotóxicos: Técnicas Citogenéticas. En: NTP 354 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Ministerio del Trabajo y Asuntos Sociales, España.
- Sorgob M.A. y Vilanova E. (2002). Enzymes involved in the detoxification of organophosphorus, carbamate and pyrethroid insecticides through hydrolysis. *Toxicol. Lett.* 128, 215-228.
- Speit G. y Hartmann A. (2006). The comet assay: a sensitive genotoxicity test for the detection of DNA damage and repair. *Methods Mol. Biol.* 314, 275-286.
- Suárez S., Rubio A., Sueiro R. y Garrido J. (2003). Sister chromatid exchanges and micronuclei analysis in lymphocytes of men exposed to simazine through drinking water. *Mutat. Res.* 537, 141-149.
- Sulbato L. (1994). Mammalian toxicology of organophosphorus pesticides. *J. Toxicol. Environ. Health* 43, 271-189.
- Stich H., San R. y Rosin M.P. (1983). Adaptation of the DNA repair and micronucleus test to human cell suspensions and exfoliated cell. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 407, 93-105.
- Stich H. y Rosin M.P. (1984). Micronuclei in exfoliated human cells as tool for studies in cancer risk and cancer intervention. *Cancer Lett.* 22, 241-253.



- Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartman A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.C. y Sasaki Y.F. (2000). Single cell/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environ. Mol. Mutagen.* 35, 206-221.
- Titenko-Holland N., Windham G., Kolachana P., Reinisch F., Parvatham S., Osorio A. y Smith M. (1997). Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay *in vitro* and *in vivo*: a study of malathion-exposed workers. *Mutat. Res.* 338, 85-95.
- Tope A., Bebe F. y Panemangalore M. (2006). Micronuclei frequency in lymphocytes and antioxidants in the blood of traditional limited-resource farm workers exposed to pesticides. *J. Environ. Sci. Health B* 41, 843-853.
- Tordoir W.F. y Van Sittert N.J. (1994). Organochlorines. *Toxicology* 91, 51-57.
- Vaglenov A., Latchev S., Petkova V., Pavlova S. y Marcos R. (2001). Occupational exposure to lead and induction of genetic damage. *Environ. Health Perspect.* 109, 295-298.
- Venegas W., Zapata I., Carbonell E. y Marcos R. (1998). Micronuclei analysis in lymphocytes of pesticide sprayers from Concepcion, Chile. *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 18, 123-129.
- Waliszewski S., Bermúdez M. e Infanzón R. (2002). Niveles de DDT en tejido adiposo materno, suero sanguíneo y leche de madres residentes en Veracruz, México. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 18, 17-25.
- Waliszewski S., Meza V., Infanzón R., Trujillo P. y Morales Guzmán I. (2003a). Niveles de plaguicidas organoclorados persistentes en mujeres con carcinoma mamario en Veracruz. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 19, 59-65.
- Waliszewski S.M., Gómez-Arroyo S., Infanzón R.M., Villalobos-Pietrini R. y Maxwell Hart M. (2003b). Comparison of organochlorine pesticide levels between abdominal and breast adipose tissue. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 71, 156-162.
- Waliszewski S.M., Gómez-Arroyo S., Infanzón R.M., Carvajal O., Villalobos-Pietrini R., Trujillo P. y Maxwell Hart M. (2004). Persistent organochlorine pesticide levels in bovine fat from México. *Food Addit. Contam.* 21, 774-780.
- WHO (2004). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification: 2004, World Health Organization, Ginebra.
- Wild D. 1975. Mutagenicity studies on organophosphorus insecticides. *Mutat. Res.* 32, 133-150.
- Windham G., Titenko-Holland N., Osorio A., Gettner S., Reinisch F., Haas R. y Smith M. (1998). Genetic monitoring of malathion-exposed agricultural workers. *Am. J. Ind. Med.* 33,164-174.
- Wolf-Dietrich H. (2004). A new deal for holliday junctions. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 11, 117-119.
- Yuille M., Condie A., Hudson C., Kote-Jarai Z., Stone E., Eeles R., Matutes E., Catovsky D. y Houlston R. (2002). Relationship between glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 99, 4216-4218.
- Zeljezic D. y Garaj-Vrhovac V. (2001a). Sister chromatid exchange and proliferative rate index in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Chemosphere* 46, 295-303.
- Zeljezic D. y Garaj-Vrhovac V. (2001b). Chromosomal aberration and single cell gel electrophoresis (comet) assay in the longitudinal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Mutagenesis* 16, 359-363.
- Zheng W., Wen W., Gustafson D., Gross M., Cerhan J. y Folsom A. (2002). GSTM1 and GSTT1 polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res. Treat.* 74, 9-16.
- Zhurkov V. y Yakovenko K. (1976). The culture of human lymphocytes as a test for evaluation of mutagenic activity of chemicals. *Mutat. Res.* 41,107-112.



Contents lists available at ScienceDirect

Environment International

journal homepage: www.elsevier.com/locate/envint



Original research paper

## Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico

Carmen Martínez-Valenzuela<sup>a</sup>, Sandra Gómez-Arroyo<sup>b,\*</sup>, Rafael Villalobos-Pietrini<sup>c</sup>, Stefan Waliszewski<sup>d</sup>, María Elena Calderón-Segura<sup>b</sup>, Rubén Félix-Gastélum<sup>a</sup>, Armando Álvarez-Torres<sup>c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Occidente, Boulevard Mariano Galdós y Carretera Internacional, Los Mochis 81223, Sinaloa, México

<sup>b</sup> Laboratorio de Genética Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 D.F., México

<sup>c</sup> Laboratorio de Mutagénesis Ambiental, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán 04510 D.F., México

<sup>d</sup> Instituto de Medicina Forense, Universidad Veracruzana, Veracruz, Ver., México

<sup>e</sup> Department of Biology, Dalhousie University, Halifax, Nova Scotia, Canada B4H 4J1

### ARTICLE INFO

#### Article history:

Received 23 March 2009

Accepted 17 July 2009

Available online xxx

#### Keywords:

Sister chromatid exchange

Micronuclei

Cell proliferation kinetics

Pesticide exposure

Human lymphocytes

Buccal exfoliated cells

### ABSTRACT

Genotoxic damage was evaluated in 70 agricultural workers, 25 women and 45 men, exposed to pesticides in Las Grullas, Ahome, Sinaloa, Mexico, with an average of 7 years of exposure. The effect was detected through the sister chromatid exchanges (SCE) in lymphocytes of peripheral blood and micronuclei (MN) and other nuclear anomalies (NA) in buccal exfoliated cells. Also, the influence on cellular proliferation kinetics (CPK) was studied by means of the replication index (RI) and the cytotoxic effect was examined with the mitotic index (MI). The non-exposed group consisted of 70 other persons, 21 women and 47 men from the city of Los Mochis, Sinaloa, Mexico. Significant differences between the exposed and the non-exposed groups were observed in SCE, CPK, MI, MN and NA. Analysis of variance revealed that age, gender, smoking and alcohol consumption did not have a significant effect on genetic damage. However, there was a correlation between exposure time to pesticides and SCE frequency. These results could have been due to the exposure of workers to pesticides containing different chemical compounds. This study afforded valuable data to estimate the possible risk to health associated with pesticide exposure.

© 2009 Published by Elsevier Ltd.

### 1. Introduction

Pesticides are compounds commonly used in agriculture to control pests and prevent illness; this is the most accepted measure for obtaining the maximum production of crops and the highest quality. The state of Sinaloa in Mexico is the main producer of vegetables and other crops. The irrational use of pesticides which causes collateral effects, their low specificity in addition to their potential, enhance their toxic action selectively against other organisms, including humans. The wide spectrum of effects that pesticides have on health involves acute and persistent damage on the nervous system, on the respiratory system and on reproductive organs, as well as a dysfunction of the immunological and endocrine system. Another cause of worry is the capacity of pesticides to act as mutagens and carcinogens. Studies biomonitoring human populations devoted to agricultural work since the 70s show results that could be due to the different biomarkers used, as have been the cases of micronuclei of exfoliated cells, chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in peripheral blood.

Although the cytogenetic effects of pesticides have been studied in both *in vitro* and *in vivo* conditions, the effects on individuals from

exposure to these substances in Mexico have been scarcely studied (Gómez-Arroyo et al., 1992, 2000). Human exposure to pesticides occurs in the case of workers in open fields and greenhouses, industrial workers, and exterminators of house pests; when the mixtures are prepared in such cases, individuals are in constant risk of suffering accidents related with these substances. Besides, the general population in agricultural areas as well as in urban and suburban sites is exposed through trophic chains to eating food contaminated with pesticides (Bolognesi et al., 1993; Faick et al., 1999). The exposure increases in tropical regions due to the high level of humidity and environmental temperatures, which causes these substances to remain in the air movement associated with water molecules; the winds then allow the substances to reach urban zones, as occurs in Sinaloa and other agricultural zones in Mexico.

Furthermore, agricultural workers do not pay attention to the instructions on how to apply the pesticides and they harvest the crops before the recommended time; besides, these workers ignore the norms on hygiene regarding the use of personal protective equipment and the practice of washing hands before eating and after handling the pesticides (Faick et al., 1999).

The biomonitoring studies of individuals exposed to pesticides throughout the world have shown the presence of chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei (De Ferrari

\* Corresponding author. Tel.: +52 959622 4603; fax: +52 959628 0780.  
E-mail address: sga@atmosfere.unam.mx (S. Gómez-Arroyo).





according to Tubert et al. (1992). All the slides were coded before scoring so as to avoid bias.

#### 2.4. Statistical analysis

The Student's *t*-test was applied to the results of SCE and BI, and the Mann-Whitney *U*-test was used for MI, MN and other nuclear anomalies. The analysis of variance (ANOVA) was used to determine the effect on cell kinetics (M1, M2 and M3 cells) and the influence of smoking habits and alcohol consumption; when significant values were found ( $p < 0.001$ ), the Tukey–Kramer multiple comparison test was used to identify groups showing significant differences at  $p < 0.001$ . The analysis of correlation was applied between exposure time to pesticides and the frequency of SCE, as well as between this time and the frequency of micronuclei.

#### 3. Results

The data obtained from the questionnaire applied to the individuals of the exposed group of pesticides as well as to those of the non-exposed group afforded information on age, sex and habits such as addiction to smoking and alcohol consumption (Table 2); all of these showed non-significant differences in SCE frequencies. The general average of SCE for the exposed group was  $6.26 \pm 6.22$  and for the non-exposed group  $3.71 \pm 6.11$ . When the Student's *t*-test was applied, the difference was significant,  $p < 0.0001$  (Table 3). The analysis of correlation between the average values of SCE and exposure time to pesticides, revealed a significant correlation ( $p < 0.0001$ ). As regards SCE no statistical differences were found between exposed smokers and alcohol consumers, and exposed non-smokers and non-alcohol consumers.

With the Mann-Whitney *U*-test, the MI data presented significant differences between the exposed and the non-exposed groups to pesticides. The BI (through the Student's *t*-test) was not significantly different when both groups were compared (Table 3).

In the non-exposed group the cellular production kinetics (CPK) had a parametric distribution with 30.7 M1, 45.9 M2 and 23.2 M3 cells. In the exposed group the MI was 34.3. MI decreased significantly in 33.6 and M3 increased significantly to 41.9 when we applied the ANOVA and the Tukey–Kramer multiple comparison test (Table 3). No significant differences were found regarding CPK between alcohol consumers and smokers in either the exposed group or the non-exposed group. Age, gender and time of exposure did not interfere with CPK.

Table 4 shows MI frequencies at 2.83 % in the exposed group and 0.27% in the non-exposed group; the Mann-Whitney *U*-test was significant ( $p < 0.0001$ ). The MI frequency was not correlated with age, gender and exposure time to pesticides. When we compare MN frequency between exposed smokers and alcohol consumers, and exposed non-smokers and non-alcohol consumers, no statistical differences were found.

The exhibited cells of the nuclear micronucleated data for nuclear anomalies (NA) as binuclear cells (presence of two nuclei within a cell), condensed chromatin (aggregated chromatin), broken eggs (dashed nuclei with a fringed negative band), pyrenon (structure nuclei), karyoblasts (pleiomorphic nuclei) and karyolysis (nuclear dissolution, in which a fringed negative ghost-like image of the nucleus remains) (Table 4).

#### 4. Discussion

In recent years worry has increased regarding the consequences and risks for human health generated by occupational exposure to pesticides. However, pesticides are known to be both toxic and beneficial to society, improving the economy in terms of better agricultural production because they decrease pests and vectors of illness. In the agricultural yields of Sinaloa, men, women, girls and boys are exposed to pesticides

**Table 3**

Sister chromatid exchange (SCE), cell proliferation kinetics (M1, M2 and M3 cells), replication index (RI) and micronuclei index (MI) in agricultural workers exposed to pesticides of Los Graltes, Sinaloa State and non-exposed subjects.

Exposed group	Non-exposed group					
	SCE/micronuclei	M1	M2	M3	RI	MI
Mean	6.26 <sup>a</sup>	24.3	33.6 <sup>b</sup>	41.9 <sup>c</sup>	3.71	4.87
SD	1.43	11.20	8.29	14.34	0.301	3.93
S.E.	0.22	1.42	1.21	1.70	0.025	0.23
Median	6.1	21	33	41.8	3.2	4.8
Non-exposed group						
Mean	3.71	30.7	45.9	23.2	1.01	4.00
SD	0.91	6.56	8.79	6.26	0.16	3.00
S.E.	0.11	0.78	1.05	0.74	0.02	0.12
Median	3.2	29	46.5	23.6	1.0	3.7

<sup>a</sup> Student's *t*-test (when were compared with the non-exposed group)  $p < 0.0001$ .

<sup>b</sup> Significant differences among exposed and non-exposed were obtained by analysis of variance  $F = 56.08$ ,  $p < 0.0001$ , and therefore the Tukey–Kramer multiple comparison test was applied  $p < 0.001$ .

<sup>c</sup> Significant with Mann-Whitney *U*-test.

but with a different frequency and intensity; however, the sprayers are the individuals that have the highest contact with these substances.

The agricultural workers referred to in the present study were exposed to mixtures of pesticides that had different active ingredients, mainly organophosphorus and carbamates. Some of those active ingredients include two compounds which according to WHO (World Health Organization) (2004) classification are "extremely hazardous" (parathion-methyl and aldicarb) and five that are "highly hazardous" (azinphos-methyl, monocrotophos, guthion, lamate and vylate). These pesticides inhibit cholinesterase and other enzymes because of their affinity to combine with the proteins of the blood plasma, altering the enzymatic reactions and producing derivatives or active forms that damage the DNA (Hollingsworth, 1981). The aforementioned information suggested that the constant and indiscriminate use of this type of pesticides produced alterations in the agricultural workers, although these persons included individuals in direct contact with the pesticides for long and short periods of work. Individuals having longer work periods associated with those compounds are expected to show more cytogenetic alterations (Rajski et al., 1988; Shaham et al., 2001; Bolognesi, 2003), yet in our study a correlation was found between exposure time and MN frequency. These results agree with Gómez-Arroyo et al. (2006) and Pastor et al. (2001a,b, 2002a). On the contrary, a positive correlation has been reported by other authors (Garañ-Vrhovac and Zeljezic, 2001; Saitaja et al., 2006; Benzar et al., 2009).

The results obtained in our study indicate that the frequent indiscriminate use of this type of pesticides produced genotoxic damage to persons occupationally exposed to those substances. Significant differences were found in SCE frequencies when the exposed and non-exposed groups were compared.

**Table 2**

Age, sex, exposure duration, smoking and alcohol consumption habits in agricultural workers exposed to pesticides of Los Graltes, Sinaloa State.

Exposed group	Non-exposed group				
	N	Age (years) $\bar{X} \pm S.D.$	Exposure (year) (years) $\bar{X} \pm S.D.$	Cigarettes smoked/day $\bar{X} \pm S.D.$	Alcohol consumption (times/week) $\bar{X} \pm S.D.$
Females	25	37.16 $\pm$ 13.89	6.75 $\pm$ 3.89		
Males	43	35.20 $\pm$ 14.88	7.29 $\pm$ 4.38		
Smokers	42	36.60 $\pm$ 14.30	6.40 $\pm$ 3.35	9.0 $\pm$ 3.2	7.4 $\pm$ 1.7
Non-smokers	28	37.80 $\pm$ 15.00	7.80 $\pm$ 4.80		
Alcohol consumers <sup>a</sup>	32	36.74 $\pm$ 15.05	6.71 $\pm$ 3.94		
Non-alcohol consumers	38	35.70 $\pm$ 13.60	7.31 $\pm$ 3.90		
Total	70	37.18 $\pm$ 14.07	7.00 $\pm$ 3.95	9.6 $\pm$ 3.2	7.4 $\pm$ 1.7

<sup>a</sup> Drink more than three beers per day or drink in excess once a week.

Please cite this article as: Martínez-Valeznuela C, et al. Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. Environ Int (2009), doi:10.1016/j.envint.2009.07.010

**Table 4**  
Frequencies of MN and nuclear anomalies in 3000 cells of the buccal mucosa of agricultural workers exposed to pesticides of Los Grillos, Sinaloa State and non-exposed subjects.

	Exposed <sup>a</sup>	Non-exposed <sup>b</sup>
MN	2.63 <sup>c</sup> ± 0.38	0.37 ± 0.16
Binuclear	2.02 <sup>c</sup> ± 0.23	0.71 ± 0.08
Condensed chromatin	1.65 <sup>c</sup> ± 0.13	0.75 ± 0.20
Karyolysis	1.82 <sup>c</sup> ± 0.12	0.72 ± 0.04
Pycnosis	1.30 <sup>c</sup> ± 0.12	0.35 ± 0.04
Karyorrhexis	1.17 <sup>c</sup> ± 0.10	0.57 ± 0.07
Broken egg	1.14 <sup>c</sup> ± 0.01	0.58 ± 0.04

<sup>a</sup> Significant  $p < 0.001$  with Mann-Whitney U test.

<sup>b</sup> The values obtained at a mean  $\pm$  S.E. of % MN and nuclear anomalies in 70 individuals.

Studies made in several countries as India (Kupa et al., 1988), the Czech Republic (Jablouška et al., 1989), Italy (De Ferrari et al., 1991), Argentina (Dulout et al., 1992), Denmark (Lander and Rønde, 1995), Mexico (Gómez-Arroyo et al., 2000), Croatia (Garaj-Vrhovac and Zeljezic, 2001; Zeljezic and Garaj-Vrhovac, 2002), Israel (Shaham et al., 2001), Pakistan (Bhullai et al., 2006), Portugal (Costa et al., 2006) and Turkey (Ergene et al., 2007) reported positive results in the SCE frequency of workers occupationally exposed to pesticides, mainly organochlorines, organophosphorus, carbamates and pyrethroids. However, some research showed negative results related with SCE (Carbonell et al., 1990; Gómez-Arroyo et al., 1992; Pasquini et al., 1996). Such results can be due to age, mixture of pesticides, genetic polymorphism, application method, genotoxic level of the compounds used and interaction among the mentioned characteristics (Martínez-Valeznuela and Gómez-Arroyo, 2007).

Furthermore, the cell proliferation index refers to the criteria for evaluating the changes in replication when cell cycle duration is accelerated or inhibited; in some cases it produces effects in the immunological response of the cells. Researchers have evaluated alterations in the cell cycle, given that some organophosphorus compounds (malathion and parathion) which are used in agriculture damaged the DNA and induced a substantial increase in the RI and the CPK in human lymphocytes in vitro (Sobli et al., 1982). Our study mainly showed that in the group exposed to pesticides, alterations were induced in the CPK due to the fact that M2 cells decreased but M3 cells increased significantly, suggesting that the pesticide exposure had induced an acceleration of the cell cycle; a substantial increase in the MI was also observed. Likewise, the same behavior has been noted in floriculture workers in Morelos State, Mexico (Gómez-Arroyo et al., 2000). However, RI calculation reflected the average number of replications which were obtained by adding the relative frequencies of M1 and of M2 multiplied by 2, plus M3 multiplied by 3; the value obtained for the exposed group of our study was 2.38, and no significant differences were found with the non-exposed group. These results suggested that when the CPK showed an acceleration, the RI did not increase; the changes in RI values may have reflected inhibition of DNA synthesis. Furthermore, in a rapidly dividing cell population, we expected an increase in the MI due to the fact that cells capable of rapid division could be detected by this index. Therefore, RI evaluation could be a useful tool for identifying compounds that provoke DNA synthesis delay, as has been suggested by Zanitka (1991).

The MN is a genotoxic test used most frequently to evaluate consequences of the environmental and the work exposures to mutagens. The MN assay is very important in the evaluation of genotoxic damage because it affords additional information and complements the SCE analysis; it is a highly sensitive method relatively easy to use and it has a very clear biological meaning (Carbonell et al., 1993; Bolognesi et al., 2002). In our study as in others, workers exposed to pesticides exhibited results that showed a significant increase in the MN with respect to the non-exposed individuals (Bolognesi et al., 1993, 2002; Pasquini et al., 1996; Jolide et al., 1997; Windham et al., 1998; Falek et al., 1999; Gómez-Arroyo et al., 2000; Garaj-Vrhovac and Zeljezic,

2001; Miquez et al., 2005; Bhullai et al., 2006; Sailaja et al., 2006; Ergene et al., 2007). Other studies, however, have reported no differences in the MN frequencies in the group exposed to pesticides, in comparison with the non-exposed group (Scarpato et al., 1996; Lucero et al., 2000; Pastor et al., 2001a,b, 2002a,b).

The analysis of MN in exfoliated buccal cells is relevant because about 82% of cancer cases have an epithelial origin (Rusin and Gilbert, 1980). Besides the MN, different types of nuclear degenerative changes have been suggested, and we have used them as biomarkers of genotoxicity, including pycnosis, chromatin condensation and karyorrhexis related with cytotoxicity (necrosis and queratinization); karyolysis, which is associated with cell toxicity, was also used. In this study the frequency of micronuclei in epithelial buccal cells of the non-exposed group was established between 0 and 4 micronuclei in 1000 cells. These results are in accord with Stich (1987) who found that in healthy populations the frequency of micronuclei in epithelial buccal cells range from 0 to 4 per 1000 cells. In our study the 0 values for the non-exposed group correspond to non-smoking individuals in 27% of the cases. In our study all the nuclear anomalies were significantly different in the results for the exposed group, a finding which agrees with other studies (Gómez-Arroyo et al., 2000; Ergene et al., 2007).

Given that the mutagenic and carcinogenic risk from diverse components of the cigarette is considered a confounding factor that may influence the frequency of genetic damage we analyzed the smoking habits in both the subjects exposed and the non-exposed to pesticides. Our findings indicated that cigarette smoking did not increase the SCE and MN frequencies significantly in either the exposed or the non-exposed group. The lack of effect of the smoking habit found in this study is perhaps due to the fact that the average daily intake of cigarettes of the individuals is  $9.64 \pm 3.29$  which according to Calderin-Ezquerri et al. (2007) has been the criteria considered for light smokers ( $< 19 \pm 3.88$  cigarettes/day); this amount, therefore, is insufficient to cause an effect in lymphocytes analyzed through SCE. Authors such as Garaj-Vrhovac and Zeljezic (2001) have shown that smoking does not increase the frequency of SCE in individuals exposed to pesticides and who smoked  $24.29 \pm 13.99$  cigarettes/day; Ergene et al. (2007) found no effect of the smoking habit in workers exposed to pesticides and whose intake was between 22 and 25 cigarettes/day. Meanwhile, Kupa et al. (1989) reported that the SCE frequency increased in workers who smoked from 2 to 30 cigarettes/day while they were spraying the pesticides. In our investigation we also found no significant differences with respect to MN and the smoking habit in the population exposed to pesticides; our results agreed with other authors who did not observe any association between MN frequencies and tobacco smoking (Lucero et al., 2000; Garaj-Vrhovac and Zeljezic, 2001; Pastor et al., 2007; Costa et al., 2006; Sailaja et al., 2006; Ergene et al., 2007; Remor et al., 2009).

As regards alcohol consumption, the increase was found to be mainly in beer drinking attributable to the high temperatures in the zone of our study, because people habitually drink to avoid thirst. Our results, however, revealed no associated effects from alcohol consumption, which agreed with other studies that describe how the increase in SCE and in MN is not related with alcohol consumption in people exposed to pesticides (Sailaja et al., 2006).

The influence of gender was not found in any of the cytogenetic endpoints analyzed within the group exposed to pesticides nor in the non-exposed group; the results were not significantly different in males and females. These results agree with those of Carbonell et al. (1993), Gómez-Arroyo et al. (2000) and Sailaja et al. (2006), who did not find differences. Furthermore, no significant differences were observed relating age and cytogenetic damage in the individuals exposed to pesticides; these results are consistent with other studies on pesticides in which the age of exposed subjects did not have any influence on the MN frequency (Sailaja et al., 2006; Remor et al., 2009).

In Sinaloa, as well as in other agricultural regions in the world, profound changes are required in the adequate use of pesticides so as



to decrease the possible risk to health associated with the exposure to these substances.

### Acknowledgements

The authors thank the authorities of the Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México and the PRDMEP for the fellowship granted to Carmen Martínez Valenzuela. The authors thank to Josefina Cortés-Esteva for her technical assistance, and to Claudio Amescua for his editorial assistance.

### References

- Shahji J, Khan Q, Haq M, Khalid A, Nasser A. Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutagenesis* 2006;21:141–6.
- Bolognesi C, Parrini M, Bonassi S, Lanelli G, Salaniro A. Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat Res* 1993;285:239–45.
- Bolognesi C, Perrone E, Landini E. Microtubular monitoring of a foriculture population from western Liguria Italy. *Mutagenesis* 2002;17:391–7.
- Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res* 2003;543:251–72.
- Galerín Izquierdo C, Sánchez Reyes A, Sánchez RÍ, Villalobos-Pietrini R, Amador-Mañez O, Guerrero Guerra C, et al. Cell proliferation kinetics and genotoxicity in lymphocytes of smokers living in Mexico City. *Hum Exp Toxicol* 2007;26:715–22.
- Carlsson E, Paig M, Xamena N, Creus A, Marcos R. Sister chromatid exchange in lymphocytes of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 1993;8:403–5.
- Carlsson E, Paig M, Xamena N, Creus A, Marcos R. Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 1998;13:511–6.
- Costa C, Tenorio JP, Silva S, Riera-Torres J, Coelho P, Gaspar J, et al. Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis* 2006;21:243–50.
- De Ferranti M, Ariano M, Bonassi S, Casaburi Z, Pescatore D, Marchini E, et al. Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res* 1991;260:105–13.
- Dalzer FN, López-Camelo JS, Guadalupe JN. Analysis of sister chromatid exchanges (SCE) in human populations studies. *Rev Bras Genet* 1992;15:169–82.
- Ergene S, Çelik A, Çavaj I, Kaya F. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ Int* 2007;33:877–85.
- Falk C, Hirvonen A, Scarpato R, Saarikoski S, Migliore L, Norppa H. Micronuclei in blood lymphocytes and genetic polymorphism GSTM1, GSTT1 and NAT2 in pesticide exposed greenhouse workers. *Mutat Res* 1999;441:225–33.
- Garaj Ybrava V, Zeljenc D. Cytogenetic monitoring of Croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* 2001;165:153–62.
- Gómez-Arroyo S, Noriega-Aldana N, Otonari A, Galicia F, Ling S, Villalobos-Pietrini R. Sister chromatid exchange analysis in a rural population of Mexico exposed to pesticides. *Mutat Res* 1992;281:173–8.
- Gómez-Arroyo S, Díaz-Sánchez Y, Meneses Pérez M, Villalobos-Pietrini R, De León-Rodríguez J. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican foriculture worker group exposed to pesticides. *Mutat Res* 2000;468:117–24.
- Hollingsworth R. Comparative metabolism and selectivity of organophosphates and carbamate insecticides. *Bull WHO* 1981;44:155–70.
- Jhlokika A, Polubina H, Kareiva J, Vargova M. Analysis of chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of workers with occupational exposure to the neurotoxic containing fungicide Nivonin M80. *Mutat Res* 1989;224:143–6.
- Jokic G, Vidakovic A, Spanjevic-Tizna V. Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. *Environ Res* 1997;75:113–8.
- Lander E, Renze M. Frequency of sister chromatid exchange and proliferative effects in pesticide exposed greenhouse sprayers. *Scand J Work Environ Health* 1985;11:283–8.
- Jankovic JR. Replication index in cultured human lymphocytes: methods for statistical analysis and possible role in genetic toxicology. *Environ Mol Mutagen* 1991;17:184–95.
- Larayo L, Pantes S, Saleres S, Duarte R, Gómez C, Planie L, et al. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat Res* 2003;464:293–62.
- Maggiari C, Villalobos C, Priolite S, Villalobos E, Diaz N. Cytogenetic damage in female Cuban agricultural workers exposed to mixtures of pesticides. *Environ Mol Mutagen* 2005;45:1–7.
- Martínez Valenzuela C, Gómez-Arroyo S. Efecto genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Rev Int Cienc Ambientales* 2002;23:285–290.
- Pasquari R, Scarpato R, Ghirelli G, Angelini G, Falgout C, Montara S, Benvenuti L, et al. Cytogenetic biomonitoring of pesticide exposed farmers in central Italy. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 1998;15:29–35.
- Patro S, Galárriz S, Creus A, Celislika-Wasilewska A, Marcos R. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutat Res* 2001a;489:147–56.
- Patro S, Galárriz S, Creus A, Xamena N, Pipewski S, Marcos R. Cytogenetic analysis of Greek farmers by using the cytokinetic assay in peripheral lymphocytes and in buccal cells. *Mutagenesis* 2003;18:520–45.
- Patro S, Creus A, Xamena N, Siflet C, Marcos R. Occupational exposure to pesticides and cytogenetic damage: results of a Hungarian population study using the micronucleus assay in lymphocytes and buccal cells. *Environ Mol Mutagen* 2002a;40:101–9.
- Patro S, Luoto L, Galárriz S, Durban K, Gómez C, Priolite T, et al. A follow up study on micronucleus frequency in Spanish agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 2002b;17:79–82.
- Patro S, Creus A, Barón T, Celislika-Wasilewska A, Siflet C, Pipewski S, et al. Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers. *Mutagenesis* 2003;18:249–58.
- Perry P, Wolff S. New Gernia method for the differential staining of sister chromatids. *Nature (Lond)* 1974;251:156–8.
- Rivara AP, Caporini C, Alves D, Pinheiro G, Dabholkar V, Madri J. Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ Int* 2006;32:293–8.
- Rosin MF, Gibber AM. Modulation of genotoxic effects in humans. In: Melikian ML, Albertini RJ, editors. *Mutation and Environment, Part E: Environmental Genotoxicity, Risk and Modulation*. New York: Wiley-Liss; 1990. p. 35–60.
- Rupa DS, Reta P, Reddy PP, Reddy GS. Scoring of chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers. *Hum Toxicol* 1986;7:333–6.
- Rupa D, Reddy PP, Reddy GS. Analysis of sister chromatid exchange, cell kinetics and mitotic index in lymphocytes of smoking pesticide sprayers. *Mutat Res* 1989;223:253–8.
- Saltaji N, Chandrasekhar M, Bekhadevi F, Mahbooba M, Babuasa M, Saleha B, et al. Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat Res* 2006;609:74–80.
- Scarpato R, Migliore L, Hirvonen A, Falk C, Norppa H. Cytogenetic monitoring of occupational exposure to pesticides: characterization of GSTM1, GSTT1, and NAT2 genotypes. *Environ Mol Mutagen* 1996;7:263–8.
- Shahani J, Kaufman Z, Garisch R, Levi Z. Frequency of sister chromatid exchange among greenhouse farmers exposed to pesticides. *Mutat Res* 2001;491:71–80.
- Soto R, Krishna C, Pfaffenberger C. Cytokinetic and cytogenetic effects of some agricultural chemical on human lymphoid cells in vitro: organophosphates. *Mutat Res* 1982;102:89–102.
- Srich HF, Rosin MF. Micronuclei in isolated human cells as tool for studies in cancer risk and cancer intervention. *Cancer Lett* 1984;22:241–53.
- Srich HF. Micronucleated cells as indicators for genotoxic damage and as markers in chemoprevention trials. *J Nutr Genet Cancer* 1987;4:9–18.
- Solomon P, Shy C, Allen J. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat Res* 1982;271:69–77.
- Wedham G, Tordella Holland N, Otonari A, Gitterer S, Reusch E, Haas R, et al. Genetic monitoring of malathion-exposed agricultural workers. *Am J Ind Med* 1998;33:164–74.
- WHO (World Health Organization). The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification. Geneva: WHO; 2004.
- Zeljenc D, Garaj Ybrava V. Sister chromatid exchange and proliferative index in the lymphoidal risk assessment of occupational exposure to pesticides. *Chemosphere* 2002;46:295–303.