

RIESGO GENOTÓXICO POR EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN TRABAJADORES AGRÍCOLAS

Carmen MARTÍNEZ-VALENZUELA¹ y Sandra GÓMEZ-ARROYO²

¹ Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de Occidente, Boulevard Macario Gaxiola y Carretera Internacional. Los Mochis, Sinaloa. cmartine@mochis.udo.mx

² 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, biomonitoring 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 noxious organisms as pests and vectors highly important in public health as well as in domestic applications. These substances have 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.

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).

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,

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, 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 (LD_{50}) 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 (CICOPЛАFEST 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 (Waluszewski *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^+ y K^+ 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 (Sulbatos 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 nematicidas. Son menos persistentes que los organoclorados 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 carbamilación de la enzima mediante la unión covalente de los grupos electrofílicos carbamoil 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^+ de la membrana de la célula nerviosa, provocando que incremente 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 triazínicos, ureicos, hormonales, amidas, compuestos nitrados, benzimidazoles, ftalamidas, compuestos bipiridílicos, 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 prevención. 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 (CICOPЛАFEST 1998).

Las estados con mayor uso de plaguicidas son Sinaloa, Veracruz, Jalisco- Nayarit- Colima, SonoraBaja 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 biomonitoring 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 biomonitordeo 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 biomonitordeo 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 rearreglos 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 rodeen 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-Dielrich 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 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 período 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 área 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 biomonitordeo 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, algodoneros 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 (Sulbatos 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 (GalvánPortillo *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 períodos 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 desnaturización 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 biomonitoring 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 comenzado a utilizar recientemente en estudios ocupacionales, es difícil aún precisar su grado de confiabilidad.

sangre periférica, así como de micronúcleos y cometas en

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

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	Jablonika <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, bencimidazoles, organoclorados, organofosforados ftalaminas y piretroides y 75 testigos.	MN	Italia	Positivo	Bolognesi <i>et al.</i> 1993b
29 floricultores y horticultores expuestos a mezclas de inseticidas organoclorados, organofosforados, carbámicos y piretroides y 53 testigos.	AC	España	Positivo	Carbonell <i>et al.</i> 1993
31 fumigadores expuestos a organofosforados y 21 testigos	MN	Australia	Negativo	Barbosa y Bonin 1994
7 campesinos expuestos a mezclas de piretroides y 6 testigos.	AC	Siria	Positivo	Mohammad <i>et al.</i> 1995

CUADRO I.

134 floricultores expuestos a mezclas de carbamatos, organofosforados, organoclorados y piretroides y 157 testigos.	ICH	Dinamarca	Positivo	Lander y Ronne 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

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	Titenko-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 deltametrín, 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 organofosfatos y 23 testigos.	AC	Brasil	Positivo	Antonucci 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, 2,4D 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	MN en linfocitos de	Italia	Positivo	Bolognesi <i>et al.</i> 2002

CUADRO I.

organofosforados, piretroides, carbamatos, bencimidazoles, amidas y 61 testigos.	sangre periférica			
10 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas atrazina, alaclor, cianazina, ácido 2,4-diclorofenoxiacético 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

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 simicina a través del agua del grifo y 26 testigos.	MN, ICH	España	Negativo	Suárez <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

CUADRO I.

33 jornaleros expuestos a mezclas principalmente de insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides, herbicidas ureicos y triazinicos 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 Kentucky, EUA y eritrocitos		Positivo	Tope <i>et al.</i> 2006
32 individuos expuestos a plaguicidas organoclorados, AC, MN, Turquía organofosforados, carbamatos, piretroides, ICH ureas y 32 testigos			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.



