

## Estudios de genotoxicidad en trabajadores rurales y familias

### Genotoxicity evaluation of rural workers and families

Natalia Gentile,<sup>I</sup> Natalí Bernardi,<sup>I</sup> Beatriz Bosch,<sup>I</sup> Fernando Mañas,<sup>II</sup>  
Delia Aiassa<sup>I</sup>

<sup>I</sup> Departamento de Ciencias Naturales. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina.

<sup>II</sup> Departamento de Clínica Animal. Facultad de Agronomía y Veterinaria. Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina.

---

#### RESUMEN

**Introducción:** el rápido desarrollo económico y las nuevas modalidades de producción han determinado cambios en las localidades rurales que influyen en la dinámica de la población, y alteran la calidad del ambiente afectándose la salud de los habitantes. En este nuevo contexto, las sustancias químicas, que son parte del producto del desarrollo, son vertidas al ambiente, contaminándose el medio y constituye un importante factor de riesgo para la salud. El monitoreo de grupos de población humana expuestos a agentes con potencial de daño sobre el organismo, tiene como propósito preservar la salud y la calidad de vida en aquellos que son de alto riesgo, debido a la naturaleza de las sustancias a que están expuestos.

**Objetivo:** identificar de manera precoz, los potenciales daños a la salud de individuos expuestos por razones laborales a plaguicidas y las personas con las que convive, empleándose como biomarcadores citogenéticos la frecuencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica y en células de la mucosa bucal, y aberraciones cromosómicas.

**Métodos:** se realizaron encuestas con el fin de obtener información sobre actividad laboral y antecedentes personales. Para detectar en forma temprana los efectos biológicos de los plaguicidas antes de que causen daño en la salud, se emplearon los ensayos de aberraciones cromosómicas y micronúcleos en sangre y mucosa bucal.

**Resultados:** se observaron diferencias estadísticas significativas entre los dos grupos de estudiados, en los tres ensayos y una asociación entre los ensayos de Micronúcleos en sangre y mucosa bucal.

**Conclusiones:** los resultados permiten obtener elementos para proponer un protocolo de vigilancia que sirva como aporte a acciones futuras en salud pública. Evaluar el problema de los efectos de los agroquímicos sobre el material genético de grupos humanos expuestos lleva implícito un deber en la concienciación sobre medidas de protección personal, control y seguridad ambiental por el uso de los mismos.

**Palabras clave:** plaguicidas; genotoxicidad; monitoreo; biomarcadores; vigilancia sanitaria.

---

## ABSTRACT

**Introduction:** Swift economic development and new modes of production have brought about changes in rural areas which have had an impact on population dynamics and the quality of the environment, thus affecting human health. Chemical wastes from industrial processes pollute the environment, thus becoming an important risk factor for disease. The purpose of monitoring population groups exposed to potentially harmful agents is to preserve the health and quality of life of people at high risk due to the types of substances they are in contact with.

**Objective:** Perform early identification of potential harm caused by pesticides to the health of occupationally exposed individuals and their families. The cytogenetic markers used were the frequency of micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal mucosa cells, and chromosomal aberrations.

**Methods:** Surveys were conducted to obtain information about work activities and personal antecedents. Chromosomal aberrations and micronuclei in blood and the buccal mucosa were assayed for early detection of the biological effects of pesticides before they damage health.

**Results:** Significant statistical differences were found between the two study groups in the three assays, and an association was observed between the micronuclei in blood and buccal mucosa assays.

**Conclusions:** The results obtained provide a background to propose a surveillance protocol for future public health actions. Evaluation of the effects of agrochemicals on the genetic material of exposed human groups necessarily implies sensitization about personal protection, environmental control and safety measures.

**Key words:** pesticides; genotoxicity; monitoring; biomarkers; health surveillance.

---

## INTRODUCCIÓN

El rápido desarrollo económico y las nuevas modalidades de producción han determinado cambios en las localidades rurales que influyen en la dinámica de la población y alteran la calidad del ambiente afectándose la salud de los habitantes. En este nuevo contexto, las sustancias químicas, que son parte del producto del desarrollo, son vertidas al ambiente, contaminándose el medio y constituye un importante factor de riesgo para la salud.

---

Los efectos más conspicuos de diversos contaminantes ambientales sobre la salud humana se producen por exposición aguda a concentraciones altas de dichos contaminantes, lo cual se traduce en efectos precoces y conocidos por la población. Estos incluyen el desarrollo y agravamiento de diversas enfermedades y muertes prematuras por exposición a estos agentes. Menos importancia se le asigna a exposiciones crónicas a concentraciones menores de contaminantes ambientales, que no producen manifestaciones agudas. El efecto crónico de éstas suele ser acumulativo y reflejarse en daño a diversos órganos y sistemas, que se hace evidente como desarrollo de diversas enfermedades en el mediano o largo plazo.

La exposición potencial del ambiente a los plaguicidas puede ser estimada por medio del monitoreo ambiental, considerándose una herramienta valiosa en salud pública y ocupacional. El monitoreo de grupos de población humana expuestos a agentes con potencial para producir daño sobre el organismo tiene como objetivo preservar la salud y la calidad de vida en especial de aquellos grupos que son de alto riesgo, debido a la naturaleza de las sustancias a que están expuestos. También así a aquellos expuestos por accidente a agentes tóxicos y expuestos a agentes físicos, químicos y biológicos que en algunos casos son terapéuticos.<sup>1-16</sup>

Los biomarcadores genéticos son empleados para evaluar exposiciones que pueden causar enfermedades, encontrar factores genéticos o adquiridos que pueden cambiar la susceptibilidad individual hacia una enfermedad y, validar los biomarcadores de efecto temprano que puedan predecir el riesgo de cáncer y ser empleados para el diseño de estrategias de intervención, prevención y promoción en la salud. Si el objetivo es hacer monitoreo de personas expuestas para evaluar daño citogenético en las células somáticas, se pueden aplicar diferentes ensayos a corto plazo:

- Intercambio de Cromátidas Hermanas.
- Aberraciones Cromosómicas (AC) en sus versiones más clásicas como la búsqueda de gaps, roturas y cromosomas dicéntricos en cultivos convencionales.
- Los Micronúcleos (MN), tanto en linfocitos, como en células epiteliales descamadas de las mucosas.
- Citogenética molecular para buscar inversiones, translocaciones, o para identificar el origen cromosómico de los micronúcleos<sup>17</sup> y en relación a la genética molecular.
- El ensayo Cometa, que permite determinar el daño originado en el ADN por rupturas de cadenas (máxime de simple cadena) y sitios lábiles a álcali.

Diversos estudios en agricultores han demostrado una relación entre el tiempo de exposición a plaguicidas y un incremento en el riesgo de presentar cáncer.<sup>18</sup> También 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.<sup>19</sup> En particular, el monitoreo de poblaciones humanas por medio del análisis de aberraciones cromosómicas, y micronúcleos (MN) tanto en cultivo de sangre periférica como en células exfoliadas del epitelio bucal, permite la detección del daño directo en el hombre provocado por los plaguicidas con la obtención rápida de resultados.

En Ecuador se efectuaron AC en linfocitos de sangre periférica en 41 trabajadores expuestos a 27 plaguicidas diferentes, encontrándose diferencias entre los grupos expuestos y no expuestos.<sup>20</sup>

En Brasil, se realizaron el ensayo de MN en linfocitos de sangre periférica en 29 desinfectadores que manipulaban diferentes plaguicidas y 20 controles, donde también se observaron diferencias significativas entre ambos grupos.<sup>21</sup>

En Turquía, se utilizaron los métodos de AC, Intercambio de Cromátidas Hermanas y MN en células epiteliales bucales y observaron frecuencias aumentadas de MN, núcleos rotos, cariorrexis, cariolisis y binucleados en los 32 trabajadores estudiados sin diferencias entre mujeres y varones y con marcada diferencia entre fumadores y no fumadores.<sup>22</sup>

En relación a Argentina los antecedentes sobre el biomonitorio genético de trabajadores expuestos a químicos, refieren a la provincia de Buenos Aires<sup>5,23-25</sup> y Santa Fe.<sup>26</sup> Para la provincia de Córdoba los primeros reportes de estudios genéticos en personas y animales expuestos a solventes y a plaguicidas son los realizados por el grupo de investigación GeMA<sup>11,14,16,27-29,30,31</sup> utilizándose los ensayos de AC, MN y cometa.

Por todo lo antes expuesto se plantea como objetivo de este trabajo, identificar de manera precoz los potenciales daños a la salud de individuos expuestos de forma directa (por razones laborales) a plaguicidas y las personas con las que convive, empleándose como biomarcadores citogenéticos la frecuencia de micronúcleos en linfocitos de sangre periférica y en células de la mucosa bucal, y aberraciones cromosómicas.

Se pretende obtener elementos para proponer un protocolo de vigilancia de las medidas preventivas y de vigilancia de la salud de la familia rural, que sirva como aporte a acciones futuras en salud pública, y discutir la problemática de la exposición a tóxicos ambientales/ocupacionales como factores de riesgo en la etiología de enfermedades malignas.

## **MÉTODOS**

La población en estudio estuvo compuesta por personas de ambos sexos, entre las edades de 18 y 65 años, de la localidad de Las Vertientes, departamento Río Cuarto (33°16'58"S 64°34'41"O), provincia de Córdoba, Argentina, formada por:

- *Grupo expuestos:* diez grupos de personas, con un promedio de dos individuos cada uno (24 personas analizadas), que incluyó trabajadores rurales de sexo masculino con un tiempo de exposición a plaguicidas mínima de 5 años, y personas con las que convive.
- *Grupo de referencia:* formado por 24 individuos, de edad, sexo y estilo de vida similar al grupo expuesto, pero que se dedican a otras actividades.

Quedaron excluidas del estudio las personas con problemas de salud y/o expuestas a otros agentes contaminantes reconocidos.

La información escrita para el participante y acta de consentimiento informado, fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigaciones Biomédicas del Instituto Multidisciplinario de Biología Celular (IMBICE), La Plata, Argentina; y de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Exp. 10/13, proyecto Código 18/ C377, Resol Rec. 852/11.

En cuanto a las características, tanto del grupo expuesto a plaguicidas como del grupo referente, cada participante se sometió a una encuesta exhaustiva con el fin de obtener información, lo más detallada posible, sobre su actividad laboral y sus antecedentes personales. El objetivo de la encuesta fue detectar cualquier factor que pueda crear confusión en los resultados obtenidos.

### Toma de la muestra

Las muestras de sangre periférica, tanto en individuos expuestos como en referente, fueron obtenidas por venopunción con jeringa estéril heparinizada, y las muestras epiteliales de descamación de la mucosa bucal fueron recogidas en simultáneo con la sangre friccionando el interior de las mejillas de cada individuo con un hisopo estéril, sin tocar los dientes ni la lengua. Los meses de la toma de muestra se determinaron teniendo en cuenta los tiempos de mayor aplicación de plaguicidas (noviembre-marzo).

Las muestras fueron procesadas de acuerdo a protocolos estandarizados detallados a continuación:

- *Ensayo de aberraciones cromosómicas (AC)*: la sangre heparinizada se suspendió en 4 mL de medio de cultivo *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) 1640, suplementado con 20 % de suero bovino, 0,15 mL de fitohemaglutinina, 0,06 mL de penicilina y 10 000 VI/mL y streptomycin 10 000 µg/mL). Se expusieron los cultivos a Colchicina por 25 min antes de cumplirse las 72 h de cultivo a 37 °C. Luego se cosecharon los cultivos y se efectuaron los extendidos cromosómicos.<sup>32</sup> El análisis citogenético se realizó en 100 metafases. Se analizaron roturas de una cromátida; roturas de dos cromátidas; fragmentos dicéntricos; fragmentos acéntricos; endoreduplicación. Se informaron los resultados como porcentaje de AC, lo que corresponde a número de AC por cada 100 metafases analizadas.
- *Ensayo de Micronúcleos en linfocitos de sangre periférica*: de la misma manera que para AC se realizaron cultivos convencionales de linfocitos en medio RPMI 1640, suero fetal bovino, y con fitohemaglutinina. Se incubaron durante 44 h a 37 °C y se sometieron a la acción de la citocalasina-B a una concentración de 6 µg/mL. A las 72 h de incubación se llevó a cabo el cosechado celular, se fijaron las células y se efectuaron los extendidos.<sup>33</sup> Se analizaron al microscopio óptico la frecuencia de micronúcleos en 1000 células binucleadas para cada uno de los dadores, aplicándose los criterios establecidos para la selección de células binucleadas y de micronúcleos en cultivos de células humanas.<sup>34</sup>
- *Ensayo de Micronúcleos en células de la mucosa bucal*: se extrajo el material utilizándose hisopos estériles, frotándose el interior de la mejilla durante 30 seg. Las muestras se resuspendieron en solución tampón (EDTA 0,1M, TRIS-HCl 0,01 M, NaCl 0,02 M, a pH 7). Se centrifugó a 800 revoluciones por minuto durante 10 min. Se aspira el sobrenadante y se desecha. Se añadió 3 mL de tampón y se resuspendió. Se goteó 50 mL en una lámina de vidrio y se deja secar al aire libre por un día. Se fijó con metanol al 80 % V/V. La tinción se realizó con Giemsa 6 % diluido en buffer Sörensen, por 6 min. Se lava con agua destilada y se deja secar al aire libre. La evaluación se realizó en 1000 células/individuo.

El análisis estadístico se realizó utilizándose el programa GraphPad Prism versión 5.02. A fin de determinar la distribución normal de los datos, se realizó el test de Kolmogorov-Smirnov. Para detectar diferencias significativas entre ambos grupos, expuestos y referentes, se realizó la prueba t-test de Student para variables que se distribuyen normalmente y el Test de Mann Whitney para variables que se distribuyen

de manera asimétrica. Los demás factores de confusión, dilucidados por el cuestionario, tales como edad y años de exposición, así como la posible correlación entre los valores obtenidos con distintos ensayos, se analizaron empleándose el coeficiente de correlación de Pearson. En todos los casos, se trabajó con un nivel de significancia menor al 5 % ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS

Las características de los individuos pertenecientes a los grupos estudiados, con respecto a la edad y años de exposición se resumen en la [tabla 1](#). La edad media de los sujetos fue similar en ambos grupos estudiados, no encontrándose diferencias estadísticas significativas entre ellos. Se observó un rango de edad de 18 a 62 años tanto en el grupo referente, siendo el del grupo expuesto de 18 a 65 años. Los trabajadores rurales expuestos a plaguicidas tuvieron un periodo de exposición de 1 a 30 años.

**Tabla 1.** Características de los grupos estudiados

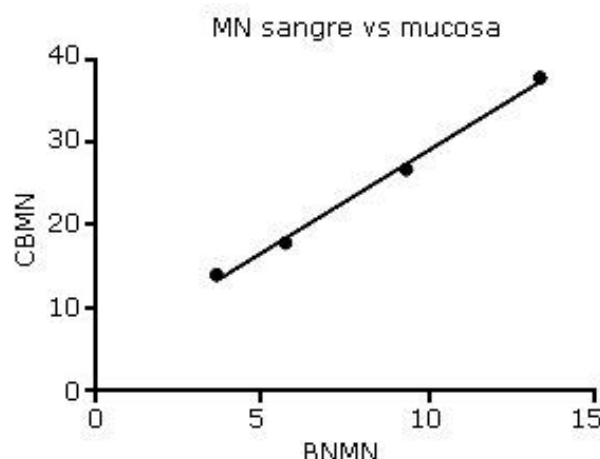
Características	Integrante Grupo familiar (n = 24) Media $\pm$ DE (rango)	Grupo referente (n= 24) Media $\pm$ DE (rango)
Edad	37,00 $\pm$ 2,67 (18-65)	35,21 $\pm$ 2,24 (18-62)
Años de Exposición	9,96 $\pm$ 1,84 (1-30)	-

Los plaguicidas más utilizados por los trabajadores rurales fueron los insecticidas clorpirifos endosulfan y cipermetrina, y los herbicidas glifosato, atrazina, y 2,4 diclorofenoxiacético. Más del 60 % de los trabajadores rurales aplican los plaguicidas en primavera-verano (noviembre a marzo) debido a las condiciones climáticas. Con respecto a las medidas de protección, el 75 % de los trabajadores rurales entrevistados, aseguraban usar algunos de los equipos de protección personal.

Las variables citogenéticas: AC (Aberraciones cromosómicas), BNMN (células binucleadas con micronúcleos) y CBMN (células bucales con micronúcleos),<sup>9</sup> analizadas tanto en el grupo familiar que incluye al trabajador rural, como en el grupo referente, se resumen en la [tabla 2](#). En todos los casos los resultados se expresan como media  $\pm$  desviación estándar (DE). Cabe destacar que, en el caso de los ensayos de micronúcleos, se presentan los resultados de CBMN y BNMN porque representan parámetros más apropiados al tener en cuenta las células que han sufrido daño. Los análisis realizados revelan un incremento estadísticamente significativo de AC, BNMN y CBMN, en el grupo de trabajadores rurales expuestos a plaguicidas y las personas con las que convive, en comparación con el grupo referente ( $p < 0,05$ ). No se observaron diferencias significativas entre los dos grupos, con respecto al CBPI (índice de proliferación con bloqueo de citocinesis) ( $p > 0,05$ ).

Los resultados de la correlación de Pearson no demuestran una asociación entre la edad de los trabajadores rurales y las personas que convive con las variables CBMN, BNMN y AC. Los años de exposición con respecto a CBMN, BNMN y AC, no mostraron ningún tipo de asociación estadísticamente significativa (correlación de Pearson).

Con respecto a la correlación entre las variables CBMN y BNMN, se observó una asociación estadísticamente significativa  $r = 0,99$ , ( $p < 0,005$ ;  $r^2 = 0,99$ ) (Fig.).



**Fig.** Correlación entre CBMN y BNMN.

## DISCUSIÓN

Las observaciones en cuanto a la presencia de daño en el material genético de los individuos estudiados, coinciden con la mayoría de los estudios realizados donde se evidencia una asociación positiva entre la exposición a una mezcla compleja de plaguicidas y la presencia de AC y MN.<sup>14,16,35</sup> Los grupos de alto riesgo corresponden a aquellas poblaciones que incluyen los trabajadores que tienen contacto con los plaguicidas. Estudios realizados en distintos países indican aumentos significativos de la frecuencia de micronúcleos en personas expuestas a plaguicidas<sup>36-39</sup> y de Aberraciones Cromosómicas<sup>40,38</sup> en comparación con el grupo de referencia estudiado.

Sin embargo, otros estudios no reportaron diferencias significativas en la frecuencia de micronúcleos<sup>41,42</sup> y Aberraciones Cromosómicas<sup>42,43</sup> entre grupo expuesto a plaguicidas y no expuestos a los mismos.

Las diferencias de los resultados en los distintos estudios, pueden deberse a la edad de las personas, al polimorfismo genético individual, 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 algunas o todas estas situaciones.<sup>13</sup>

También deberían considerarse como grupo de alto riesgo no laboral, a las personas que viven con los trabajadores o que en ciertas épocas están sometidas a una exposición por razones de aplicaciones masivas o frecuentes, que se hacen en zonas vecinas a sus localidades de residencia o trabajo. En relación, en estudios realizados en *Marcos Juárez*, provincia de Córdoba, si bien no se observaron diferencias estadísticas significativas para ninguno de los grupos expuestos respecto al grupo de referencia mediante ensayo de AC, pudo observarse un ligero incremento en los valores de daño genético en aplicadores con respecto a personas dedicadas a otras actividades; y del mismo modo, tanto estos últimos como los aplicadores presentaban mayores niveles de genotoxicidad en relación a los valores de referencia.<sup>15</sup>

La falta de correlación entre la edad y tiempo de exposición con respecto a las variables analizadas podría deberse al tamaño de la muestra.



El ensayo de aberraciones cromosómicas es quizás, el de mayor importancia en cuanto a la información que permite obtener, ya que detecta daño a nivel de cromosomas, como rupturas de cromátidas o cromosomas, duplicaciones en el número de cromosomas, recombinaciones y otros rearrreglos cromosómicos característicos de determinadas patologías neoplásicas.<sup>15</sup>

Sin embargo, en este trabajo se ha considerado también que el ensayo de micronúcleos, tanto en mucosa como en sangre, es una buena alternativa para evaluar la inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos, porque permite detectar daños en el material genético que responden a alteraciones del tipo estructural o numéricas, reduce la dificultad a la hora de realizar el recuento con relación al otro ensayo (Aberraciones Cromosómicas). Los micronúcleos solo se cuentan en células que han completado una división nuclear, por lo que se consigue mejorar la sensibilidad del ensayo, aumenta la precisión estadística de los estudios al analizar miles de células, y tiene un costo reducido.

En general, se considera al CBPI como una medida indirecta de citotoxicidad, al posibilitar la estima de los ciclos celulares y detectar la existencia de retrasos mitóticos. No obstante, el análisis de los valores de CBPI entre ambos grupos, expuestos y referentes, no revela diferencias estadísticas significativas. En consecuencia, la exposición a plaguicidas parece no influir en la cinética de la proliferación celular. Esto coincide con los resultados obtenidos por otros estudios de biomonitorio en poblaciones humanas.<sup>41,44</sup> Sin embargo, algunas investigaciones reflejan diferencias significativas, observándose una disminución del CBPI en los grupos expuestos con respecto al referente.<sup>36,45</sup> Una posible explicación de las discrepancias entre los distintos estudios puede deberse a la variabilidad interindividual, y por lo tanto a la reacción de cada individuo frente a la exposición de un compuesto. Según las variantes génicas (polimorfismos) que posea, le conferirá mayor o menor susceptibilidad frente a sustancias con potencial genotóxico.<sup>13</sup>

Estos hallazgos son indicativos de la necesidad de realizar biomonitorio con frecuencia periódica de los agricultores expuestos a varias mezclas de plaguicidas, como así también a los individuos que conviven con éstos, utilizándose ensayos de genotoxicidad. Por otra parte, ilustra la necesidad de promover pautas generales para minimizar o prevenir la exposición.

Bajo este marco, es de suma importancia implementar controles reglamentarios puntuales como los requeridos para la vigilancia sanitaria del uso de productos químicos cancerígenos en la industria, así como para establecer políticas y responsabilidades interinstitucionales para la coordinación de programas preventivos en materia de Salud Pública.

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo ha sido realizado gracias al aporte de la SeCyT de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina y una beca otorgada a la Lic. Natalia Gentile por la Comisión Nacional Salud Investiga. Ministerio de Salud de la Nación Argentina.

## **CONFLICTO DE INTERESES**

Los autores declaran que no existe conflicto de interés relacionado con el artículo.



## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Dulout FN, López Camelo JS, Guradze HN. Analysis Of Sister Chromatid Exchanges (SCE) In Human Populations Studies. *Rev. Brazil Genet.* 1992;15(1):169-82.
2. Gorla NB, Ledesma OS, Barbieri P, Larripa I. Assessment of cytogenetic damage in chagasic childrens treated with benznidazole, *Mutat Res.* 1988;206:217-20.
3. Gorla NB, Ledesma OS, Barbieri P, Larripa I. Thirteenfold increase of chromosomal aberrations non randomly distributed in chagasic children treated with nifurtimox. *Mutat Res.* 1989;224:263-7.
4. Gorla N. Efectos tóxicos sobre el material genético, mutagénesis y carcinogénesis. 1ª ed. - Mendoza: Imprenta de la Universidad Juan Agustín Maza; 2006. p. 53.
5. Hagelstrom A, Gorla N, Larripa I. Chromosomal damage in workers occupationally exposed to chronic low level ionizing radiation. *Toxicol Lett.* 1995;76:113-7.
6. Ramirez V, Cuenca P. Micronuclei Frequency In Lymphocytes Of Individuals Occupationally Exposed To Pesticides. *Rev Biol Trop.* 2001;49(1):1-8.
7. Ramírez V, Cuenca P. Daño del ADN en trabajadoras bananeras expuestas a plaguicidas en Limón, Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 2002;50(2):507-18.
8. Castro-Volio I, Valle-Bourrette L. Chromosomal defects in 34 male homosexuals, half of them with HIV antibodies. *Rev. Biol. Trop.* 2002;50:347-53.
9. Pastor Benito S. Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de micronúcleos. Tesis doctoral. Departamento de Genética y de Microbiología. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Barcelona. Grup de mutagenei; 2002.
10. Castro PA, Ramos Estévez JP, Sandra L, Rangel A. Residuos de plaguicidas organofosforados en muestras de tomate. Universidad de los Andes. *Revista de Ingeniería;* 2004. p. 13-22.
11. Aiassa D, Gorla N, Mudry M. Exposición laboral a solventes químicos y roturas cromosómicas. *Acta Toxicol. Argent.* 2005;13(suplemento):64-65. ISSN 0327-9286.
12. Mudry M, Carballo M. *Genética Toxicológica.* Buenos Aires: Ed. De los Cuatro Vientos Editorial; 2006.
13. Martínez Valenzuela C, Gómez Arroyo S. Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores Agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 2007;23:185-200.
14. Mañas F, Peralta L, Gorla N, Bosch B, Aiassa D. Aberraciones cromosómicas en trabajadores rurales de la provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas. *J Basic Appl Genet.* 2009;20(1):9-13.
15. Peralta P, Mañas F, Gentile N, Bosch B, Méndez A, Aiassa D, et al. Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. *Revista Diálogos.* 2011;2(1):7-26.

16. Gentile N, Mañas F, Bosch B, Peralta L, Gorla N, Aiassa D, et al. Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicity in the occupational exposure to agrochemicals in rural workers. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2012;88(6):816-22.
17. Phillips DH, Venitt S. *Environmental Mutagenesis*. Bios Scientific; 1995.
18. Carbonell E. Biomonitorización de una población de trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas. Tesis doctoral. Bellaterra: Departamento de Genética y Microbiología. Universidad Autónoma de Barcelona; 1993.
19. Carbonell E, Valbuena A, Xamena N, Creus A, Marcos R. Temporary Variations In Chromosomal Aberrations In A Group Of Agriculture Workers Exposed To Pesticides. *Mutat Res*. 1995;344(3-4):127-34.
20. Paz Miño C, Bustamante G, Sánchez Me, Leone Pe. Cytogenetic Monitoring In A Population Occupationally Exposed To Pesticides In Ecuador. *Environ Health Perspect*. 2002;110(11):1077-80.
21. Kehdy FSG, Cerqueira EMM, Bonjardim MB, Camelo RM, Castro MCL. Study Of The Cytogenetic Effects Of Occupational Exposure To Pesticides On Sanitation Workers In Belo Horizonte, Brazil: *Genet Mol Res*. 2007;6(3):581-93.
22. Ergene S, Celik A, Cavas T, 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(7):877-85.
23. Larripa I, Matos E, Labal de Vinuesa M, Brioux de Salum S. Sister chromatid exchanges in a human population accidentally exposed to an organophosphorus pesticide. *Rev Brasil Genet*. 1983;6(4):719-27.
24. Dulout FN, Pastori MC, Olivero OA, Gonzales Cid M, Loria D, Matos E, et al. Sister-Chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. *Mutat Res*. 1985;143(4):237-44.
25. Dulout FN, Pastori MC, González Cid M, Matos E, Von Guradze HN, Maderna CR, et al. Cytogenetic analysis in plant breeders. *Mutat Res*. 1987;189(4):381-6.
26. Simoniello MF, Kleinsorge EC, Carballo MA. Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a pesticidas. Buenos Aires: Medicina. 2010;70(6):489-98.
27. Mañas F, Aiassa D, Peralta L, Gentile N, Gorla N. Biomarcadores de genotoxicidad en una población de trabajadores rurales expuestos a agroquímicos. XXXVII Congreso Argentino de Genética. SAG. Tandil; 2008.
28. Mañas F, Aiassa D, Peralta L, Gentile N, Gorla N. Biomarcadores de genotoxicidad en una población de trabajadores rurales expuestos a agroquímicos. *Journal of Basic and Applied Genetics*. 2008;19(supplement):32-3. ISSN 1666-0390.
29. López SL, Aiassa D, Benítez-Leite S, Lajmanovich R, Mañas F, Poletta G, et al. Pesticides Used in South American GMO-Based Agriculture: A Review of Their Effects on Humans and Animal Models. In James C. Fishbein and Jacqueline M. Heilman, editors: *Advances in Molecular Toxicology*. Amsterdam: The Netherlands. 2012;6:41-75. ISBN: 978-0-444-59389-4.

30. Bosch B, Mañas F, Gorla N, Aiassa D. Micronucleus test in post metamorphic *Odontophrynus cordobae* and *Rhinella arenarum* (Amphibia:Anura) for environmental monitoring. *J Toxicol Environ Health Sci.* 2011;3(6):154-63.
31. Aiassa DF, Mañas B, Bosch L, Peralta N, Gentile S, Bevilacqua J, et al. Los agroquímicos. Su relación con la salud humana y ambiental en la Provincia de Córdoba. *Experiencia Médica. Revista del Hospital Privado, Centro Médico de Córdoba.* 2010;28(1):39-44.
32. Moorhead R, Howell P, Mellman W, Batteps W, Hundgerfosd D. Chromosomes preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp Cel Res.* 1960;2:613-6.
33. Fenech M, Morley M. Measurement of micronuclei in Lymphocytes. *Mutat Res.* 1985;147:29-36.
34. OECD. Test guideline 487. *In Vitro* Micronucleus test. Paris: Organization for Economic Cooperation and Development; 2004.
35. Aiassa D, Mañas F, Bosch B, Gentile N, Bernardi N, Gorla N, et al. Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta biol. Colomb.* 2012;17(3):485-510. ISSN 0120-548X.
36. Bhalli J, Khan Q, Haq M, Khalid A, Nasim A. Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutag.* 2006;21(2):143-8.
37. Costa C, Teixeira J, Silva S, Roma-Torres J, Coelho P, Gaspar J, et. al. Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis.* 2006;21(5):343-50. Doi:10.1093/mutage/gel039
38. Sailaja N, Chandrasekhar M, Rekhadevi PY, Mahboob M, Rahman NF, Saleha B, et al. Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat Res.* 2006;609(1):74-80.
39. Martínez C, Gómez S, Villalobos R, Waliszewski S, Calderón Me, Félix R, et al. Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the North of Sinaloa State, Mexico. *Environ Int.* 2009;35(7):1155-9.
40. Cuenca P, Ramírez V. Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas a plaguicidas. *Rev Biol Trop.* 2004;52(3):623-8.
41. Lucero L, Pastor S, Suárez S, Durban R, Gómez C, Parron T, et al. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat Res.* 2000;464(2):255-62.
42. Lamadrid Boada AJ, Romero Aguilera I, González Mesa JE, Mandina Cardoso T. Biomonitorio de trabajadores expuestos a plaguicidas. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2011;30(2):235-44.
43. D'Arce LPG, De Syllos Colus IM. Cytogenetic and molecular biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in Brazil. *Teratogen Carcin Mut.* 2000;20(6):161-70.

44. Pastor S, Gutiérrez S, Creus A, Cebulska-Wasilewska A, Marcos R. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutat Res.* 2001;495(1-2):147-56.
45. Pastor S, Gutiérrez S, Creus A, Xamena N, Piperakis S, Marcos R, et al. Cytogenetic analysis of Greek farmers using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and buccal cells. *Mutag.* 2001;16(6):539-45.

Recibido: 24 de marzo de 2016.

Aprobado: 20 de abril de 2016.

*Delia Aiassa.* Departamento de Ciencias Naturales. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-químicas y Naturales. Universidad Nacional de Río Cuarto.  
Correo electrónico: [delia.aiassa@gmail.com](mailto:delia.aiassa@gmail.com)