

Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina.

Recibido: 10/11/10 | Aceptado: 15/01/11

Autores: Laura Peralta¹, Fernando Mañas¹, Natalia Gentile², Beatriz Bosch², Álvaro Méndez³ y Delia Aiassa¹.
Universidad Nacional de Río Cuarto; Centro de Atención Primaria de la Salud (C.A.P.A) Marcos Juárez.
daiassa@exa.unrc.edu.ar

Resumen

El monitoreo de las potenciales propiedades genotóxicas de un compuesto, así como el biomonitoreo de poblaciones animales o humanas expuestas a sus posibles efectos es una herramienta útil para estimar el riesgo de genotoxicidad derivado de la exposición a un químico o complejo de químicos determinado. El objetivo de este trabajo es evaluar el daño genético en pobladores de la ciudad de Marcos Juárez (Córdoba) expuestos laboral o ambientalmente a plaguicidas. Se llevaron a cabo los ensayos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa en sangre periférica de 32 pobladores de la ciudad de Marcos Juárez, 17 personas expuestas laboralmente (aplicadores terrestres y aéreos) y 15 personas expuestas ambientalmente (dedicadas a otras actividades); que fueron comparados con su correspondiente grupo de referencia. Se tuvieron en cuenta diversos factores de confusión como la presencia de enfermedades, consumo de medicamentos, consumo de alcohol o tabaco, entre otros. Los resultados indican que las personas analizadas han experimentado daño genético, pudiendo atribuirse el mismo a la exposición relatada por los participantes del estudio, a plaguicidas, medicamentos y/u otros potenciales agentes genotóxicos ambientales. Los hallazgos encontrados en el presente estudio son indicativos de la importancia que tienen los ensayos utilizados para la detección temprana de un riesgo incrementado de desarrollar diversas patologías como neoplasias, problemas reproductivos, malformaciones y enfermedades cardiovasculares.

Palabras Clave: daño genético, plaguicidas, biomonitoreo.

¹ Departamento de Clínica Animal, Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto (UNRC)

² Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico, Químicas y Naturales, UNRC.

³ Centro de Atención Primaria de la Salud (C.A.P.A) Marcos Juárez

Abstract

The monitoring of the genotoxic properties of a compound, and the biomonitoring of human or animal populations exposed to its possible effects is a useful tool for estimating the risk of genotoxicity from exposure to a chemical or specific chemical complex. The aim of this study was to evaluate the genetic damage in people in the town of Marcos Juárez (Cordoba) labor or environmentally exposed to pesticides. Were carried out the tests for chromosomal aberrations, micronuclei and comet in peripheral blood of 32 people in the town of Marcos Juárez, 17 occupationally exposed persons (ground and aerial applicators) and 15 people exposed environmentally (dedicated to other activities) were compared with the corresponding reference group. It took into account various confounding factors such as the presence of disease, drug use, alcohol or snuff, among others. The results indicate that the people tested have undergone genetic damage; it can be attributed to exposure reported by participants of the study, pesticides, drugs and / or other potential environmental genotoxic agents. The findings in this study are indicative of the importance of the tests used for early detection of an increased risk of developing various diseases such as cancers, reproductive problems, birth defects and cardiovascular disease.

Keywords: genetic damage, pesticides, biomonitoring.

Introducción

La evaluación del daño del material genético en poblaciones humanas expuestas a agentes potencialmente dañinos es una herramienta valiosa en salud pública y ocupacional. El monitoreo de las potenciales propiedades genotóxicas de un compuesto, así como el biomonitoreo de poblaciones animales o humanas expuestas a sus posibles efectos es una herramienta útil para estimar el riesgo de genotoxicidad derivado de la exposición a un químico o complejo de químicos determinado (Bolognesi, 2003).

Existe una amplia gama 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 efecto: ensayos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa; exámenes internacionalmente reconocidos como indicadores del efecto producido por la exposición a sustancias genotóxicas (OECD- 474, 473).

El estudio de la mutagénesis ha sido invaluable para la identificación de agentes potencialmente dañinos en una gran cantidad y variedad de áreas, incluyendo el monitoreo medioambiental, salud ocupacional, evaluación de riesgos, seguridad productiva y el entendimiento de la participación de componentes genéticos en la salud humana (Young, 2002).

Además de la identificación de aquellos agentes deletéreos para la integridad del ADN, estos estudios intentan dilucidar la compleja relación entre los efectos tóxicos que afectan al material genético y la oncogénesis, y determinar la manera más confiable de evaluar la genotoxicidad desarrollando e implementando nuevos ensayos conocidos como ensayos de corto plazo (ECP).

Por definición, los ECP para monitoreo de genotoxicidad, detectan puntualmente agentes genotóxicos. En esa dirección, existe suficiente evidencia, basada en consideraciones mecanísticas, para afirmar que los agentes genotóxicos son potencialmente cancerígenos (De Marini et al, 1989).

En la actualidad es ampliamente aceptado que ningún ensayo va a cubrir individualmente los requerimientos de simplicidad, rapidez y bajo costo siendo además absolutamente confiable en predecir efectos genotóxicos en seres humanos (Rao et al., 2000). Sin embargo, existe una considerable y creciente evidencia de que una juiciosa combinación de tests que abarquen el análisis tanto a nivel de genes como de cromosomas tendrá éxito en detectar la mayoría de los mutágenos potenciales. Basado en los conocimientos disponibles, actualmente se acepta como suficiente un sistema compuesto por al menos tres ensayos diferentes para una completa evaluación de la genotoxicidad de un compuesto.

El objetivo de este trabajo es evaluar el daño genético en pobladores de la ciudad de Marcos Juárez (Córdoba) expuestos laboral o ambientalmente a plaguicidas.

Materiales y Métodos

Diseño de estudio

Se realizó un estudio de tipo observacional y transversal.

Población de estudio

La localidad de Marcos Juárez (32°42'00"S 62°06'00"O) está situada al este de la provincia de Córdoba, Argentina y es cabecera del departamento homónimo. Se encuentra en la Pampa Húmeda y tiene 26.452 pobladores según el Censo Provincial del año 2008. Marcos Juárez es conocida en la región por su sostenido crecimiento económico relacionado con la explotación agropecuaria y la agroindustria.

Se estudiaron 32 pobladores de la ciudad de Marcos Juárez. Las personas que componen la muestra poblacional fueron seleccionadas por un profesional médico de la localidad sobre la base de sus características de exposición a plaguicidas, 17 personas expuestas laboralmente (aplicadores terrestres y aéreos) y 15 personas expuestas ambientalmente (dedicadas a otras actividades).

Para el grupo expuesto, tanto laboral como ambientalmente, se tuvo en cuenta que los participantes tuvieran entre 21 y 50 años, con un período de exposición superior a 5 años. Los valores de referencia que se usaron para comparar con los valores obtenidos de los individuos analizados pertenecen a personas sin exposición a plaguicidas y con un estilo de vida similar al del grupo expuesto.

El Protocolo de trabajo (aprobado por el Comité de Ética en Investigaciones Biomédicas del IMBICE, 2008 y 2010) que se implementó contempla la entrega por escrito de la información básica del mismo a los participantes del estudio así como un acta de consentimiento informado.

A cada participante del estudio se le solicitó completar un cuestionario (historia clínica-ambiental) antes de la extracción de sangre periférica (5 ml) obtenida por punción venosa con jeringa heparinizada (realizada por profesionales de la salud de la localidad en estudio) para estudio de biomarcadores (aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa) durante los meses de mayor aplicación de plaguicidas (noviembre-marzo).

Ensayos realizados:

- Ensayo de aberraciones cromosómicas (AC)

Se realizó el estudio cromosómico a partir de cultivos estándares de linfocitos de sangre periférica en medio RPMI 1640, suplementado con suero fetal bovino y con el agregado de fitohemoaglutinina como estimulante de la división celular. Se expusieron los cultivos a Colchicina por 25 minutos antes de cumplirse las 72 horas de cultivo a 37°C.

Luego se cosecharon los cultivos y se efectuaron los extendidos cromosómicos (Moorhead et al., 1960). 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 (MN)

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 horas a 37°C y se sometieron a la acción de la citocalasina-B. A las 72 horas de incubación se llevó a cabo el cosechado celular, se fijaron las células y se efectuaron los extendidos (Fenech y Morley, 1985). El recuento de MN se realizó sobre 1000 células binucleadas. Se informaron los resultados como número de MN por cada 1000 células.

- Ensayo cometa

El ensayo se llevó a cabo de acuerdo al método descrito por Singh et al. (1988). Se tomó una gota de sangre periférica, la cual se embebió en agarosa de bajo punto de fusión. Una alícuota de esa suspensión se extendió sobre un portaobjetos previamente tratado con agarosa de punto de fusión normal. Finalmente se añadió una tercera capa de agarosa de bajo punto de fusión. El portaobjeto se sumergió en solución de lisis durante 1 h y luego se sometió a una corrida electroforética durante 30 minutos bajo condiciones alcalinas ($\text{pH} > 13$). Las células con daño muestran una migración de fragmentos de ADN fuera del núcleo dando una imagen similar a un cometa (figura 1). Se observaron y tomaron imágenes de 100 células en microscopio de fluorescencia, las cuales se analizaron con un software (Comet Score™). Los parámetros utilizados para cuantificar el daño al ADN fueron largo de la cola, momento de la cola y % de ADN en la cola. Se informaron los resultados del parámetro momento de la cola del cometa.

Análisis estadístico de los resultados

El análisis estadístico se realizó utilizando 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. También se llevó a cabo dicha prueba para comparar dentro del grupo expuesto, entre individuos aplicadores y no aplicadores.

Los demás factores supuestos 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 empleando el coeficiente de correlación de Pearson. En todos los casos, se trabajó con un nivel de significancia menor al 5% ($p < 0,05$).

Resultados y discusión

Los resultados correspondientes a los ensayos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa se encuentran agrupados en la tabla 1.

En la Figura 1 pueden observarse imágenes de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa. En la tabla 2 se agrupan las características de la población en estudio, compuesta por 32 individuos de entre 22 y 52 años, con una media±error estándar de $39,97 \pm 3,42$.

	Grupo de ref.	Grupo de aplicación.	Otras actividades. (no aplicadores)
N° de aberraciones cromosómicas/100 metafases analizadas	$4,40 \pm 0,67$	$5,63 \pm 1,31$	$5,27 \pm 0,90$
N° de micronúcleos/1000 células analizadas	$7,25 \pm 0,52$	$7,75 \pm 0,61$	$8,36 \pm 0,75$
Valores de momento de la cola del cometa en 100 células analizadas (unidades arbitrarias)	$115,10 \pm 26,88$	$433,50 \pm 170,20$	$2334,00 \pm 644,40^{***}$

Tabla 1. Valores de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa en pobladores de la localidad de Marcos Juárez. Los resultados se expresan como la media±error estándar. $^{***}p \leq 0,001$; Test de Student.

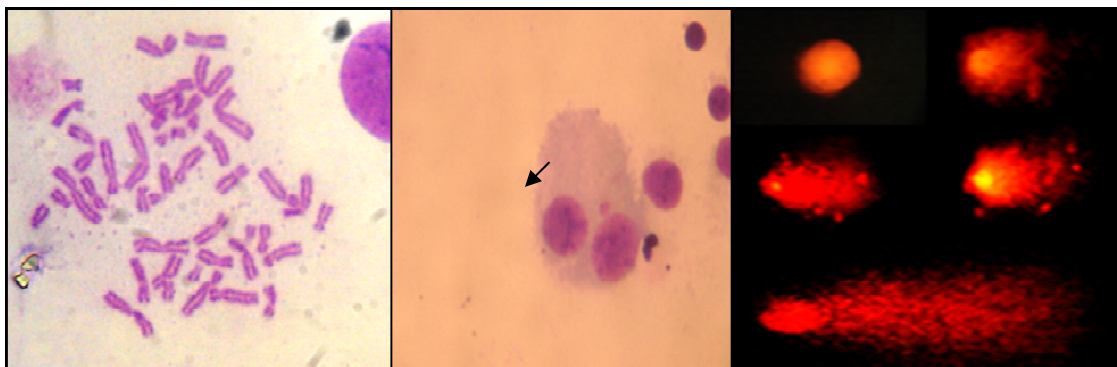


Figura 1. Observaciones de AC, MN y cometas.

Participante	SEXO	Actividad	Observaciones
MJ0	M	Aplicador	
MJ1	M	Aplicador	
MJ2	M	Aplicador	
MJ3	M	Otra	Relata alergias (prurito y manchas en la piel)
MJ4	F	Otra	Relata alergias (estornudos repetidos, ardor y lagrimeo de ojos)-asma
MJ5	M	Aplicador	
MJ6	M	Aplicador	
MJ7	M	Aplicador	
MJ8	F	Otra	Relata alergias (prurito de ojos y de piel)
MJ9	F	Otra	Relata contacto con plaguicidas domiciliarios
MJ10	M	Otra	Relata alergias, dificultad respiratoria
MJ11*	M	Aplicador	
MJ12*	M	Aplicador	
MJ13	M	Aplicador	
MJ14	M	Aplicador	
MJ15	M	Aplicador	
MJ16	M	Aplicador	
MJ17	M	Aplicador	
MJ18	F	Otra	
MJ19	M	Aplicador	
MJ20	F	Otra	Vive al lado de un campo
MJ21*	F	Otra	Relata alergias, estornudos, dificultad respiratoria, ardor, lagrimeo o prurito de ojos y manchas en la piel, asma, consume medicación. Problemas para lograr embarazos, abortos espontáneos (2)
MJ22	M	Otra	Consume medicación
MJ23	M	Aplicador	
MJ24	F	Otra	Consume medicación. Aborto espontáneo
MJ25	M	Aplicador	
MJ26	M	Aplicador	
MJ27	M	Otra	Relata ardor, prurito en la piel
MJ28	M	Otra	Relata alergias con síntomas como tos, estornudos repetidos, dificultad respiratoria, ardor, lagrimeo o prurito de ojos y piel
MJ29	F	Otra	Relata alergias
MJ30	F	Otra	Consume medicación. Aborto espontáneo.
MJ31	F	Otra	Relata problemas reproductivos. Aborto espontáneo

Tabla 2. Características de la población en estudio.

Del total de muestras analizadas, el 53,12% corresponden a aplicadores y el 46,88% restante a personas que realizan otras actividades.

Mediante al ensayo de AC, no se observaron diferencias estadísticamente significativas para ninguno de los grupos expuestos respecto al grupo de referencia. Sin embargo, puede observarse un ligero incremento en los valores de daño genético en aplicadores con respecto a las personas dedicadas a otras actividades; y del mismo modo, tanto estos últimos como los aplicadores presentan mayores niveles de genotoxicidad en relación a los valores de referencia de nuestro laboratorio (Figura 2).

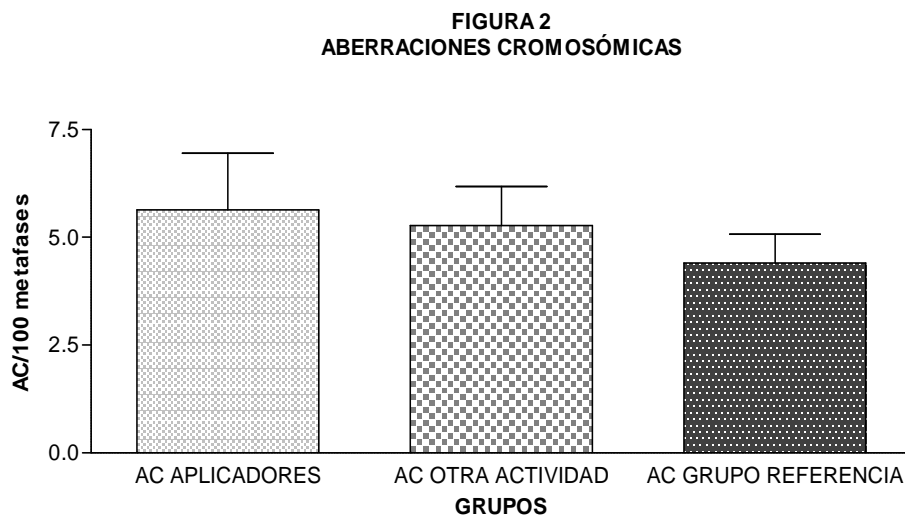


Figura 2. aberraciones cromosómicas en pobladores de la localidad de Marcos Juárez.

En las Figuras 3 y 4 se observa un incremento en los valores de daño genético para los aplicadores respecto a los valores de referencia y un aumento aún mayor para aquellas personas que realizan otras actividades respecto a los dos grupos anteriores. Sin embargo, este incremento solo resultó estadísticamente significativo para el daño genético evaluado mediante el ensayo cometa en el grupo de personas que realizan otras actividades (Figura 4).

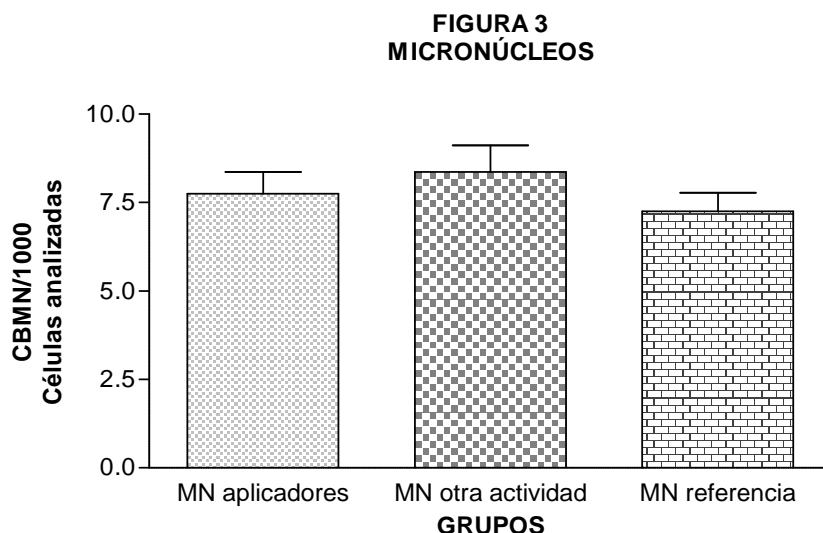


Figura 3. Número de células micronucleadas en pobladores de la localidad de Marcos Juárez.

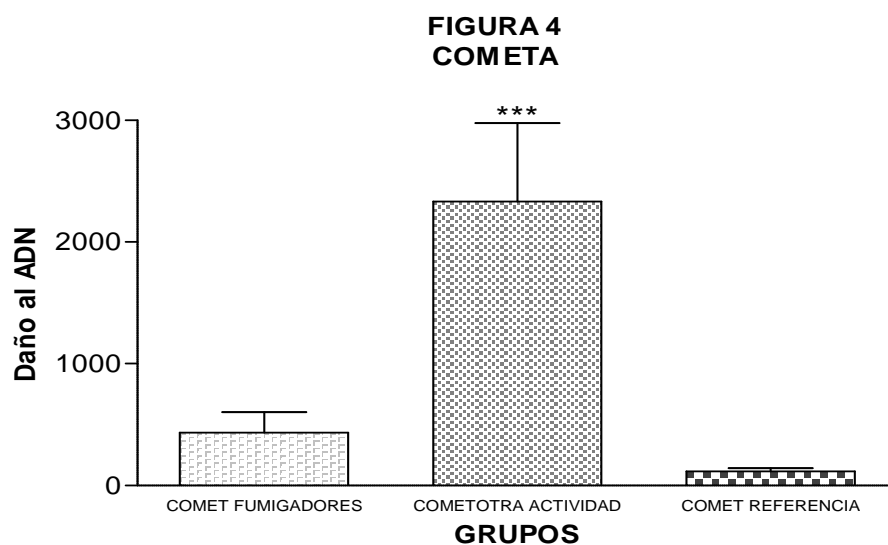


Figura 4. Cantidad de daño al ADN en pobladores de la localidad de Marcos Juárez.

Estas observaciones 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 aberraciones cromosómicas (AC) (Mañas et al., 2009). En los estudios de biomonitorio, empleando marcadores como aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa entre otros, los aplicadores de plaguicidas representan el grupo de

trabajadores más expuesto, con resultados positivos en 18 de 27 estudios efectuados a nivel mundial (Bolognesi, 2003).

Gómez Arroyo et al. (2000) en México efectuaron ICH en linfocitos de sangre periférica y MN en células epiteliales de mucosa bucal en 30 trabajadores encontrando diferencias entre los grupos expuestos y no expuestos. En Turkía, Ergene et al. (2007) utilizaron los métodos de AC, ICH y MN 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.

En lo que respecta al ensayo cometa en Ecuador, Paz y Miño et al. (2004) midieron daño al ADN en sangre periférica de 45 aplicadores de la frontera Colombia-Ecuador. De un total de 200 núcleos analizados de cada dador, observaron un aumento significativo en la migración del ADN al compararla con la población de referencia. Asimismo, mediante el ensayo de AC se halló una diferencia estadísticamente significativa entre los valores observados en los individuos expuestos en relación a los encontrados en el grupo de referencia.

También se ha establecido una correlación significativamente positiva en el daño al material hereditario con respecto a los años de exposición a plaguicidas (Bolognesi, 2003; Martínez Valenzuela y Gómez Arroyo, 2007). Estudios realizados en Pakistán indicaron que los valores de daño genético, en individuos con períodos de exposición de entre 3 y 18 años, aumentaba en relación al tiempo de exposición (Bhalli et al, 2006).

En el caso de los pobladores de la localidad de Marcos Juárez, de los 17 aplicadores analizados, un 35,29% realiza esta actividad desde hace más de un año y menos de 10; otro 35,29% aplica plaguicidas hace más de 10 años y menos de 20; y un 29,42% lleva más de 20 años aplicando plaguicidas. En cuanto al tiempo dedicado a la actividad, el 58,82% trabaja realizando aplicaciones por un período menor a 6 meses por año; en tanto el 41,18 % restante lo hace durante más de 6 meses por año. Como puede verse en las Figuras 5, 6 y 7, este aspecto tiene una clara vinculación con los efectos tóxicos observados sobre el material genético. Aquellos individuos que pasan mayor tiempo dedicado a las aplicaciones tienen mayores valores de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa que aquellos individuos que relatan menor tiempo dedicado a esta actividad.

FIGURA 5
ABERRACIONES CROMOSÓMICAS
VS
MESES DE FUMIGACIÓN

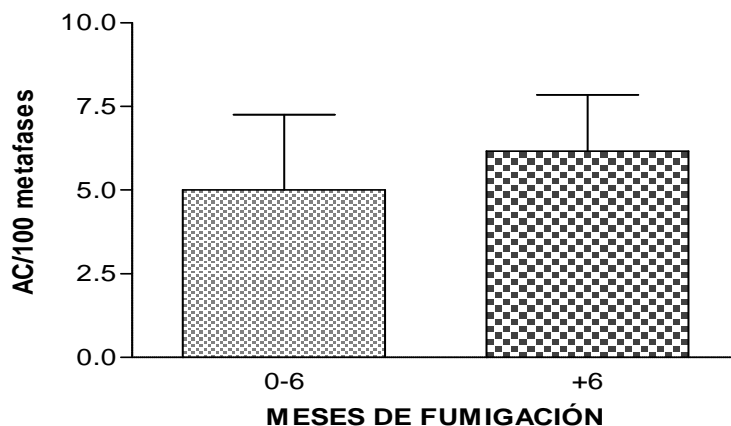


Figura 5. Niveles de aberraciones cromosómicas en relación al tiempo de exposición a plaguicidas. 0-6: Menos de 6 meses de exposición al año. +6: Más de 6 meses de exposición al año.

FIGURA 6
MICRONÚCLEOS
VS
MESES DE FUMIGACIÓN

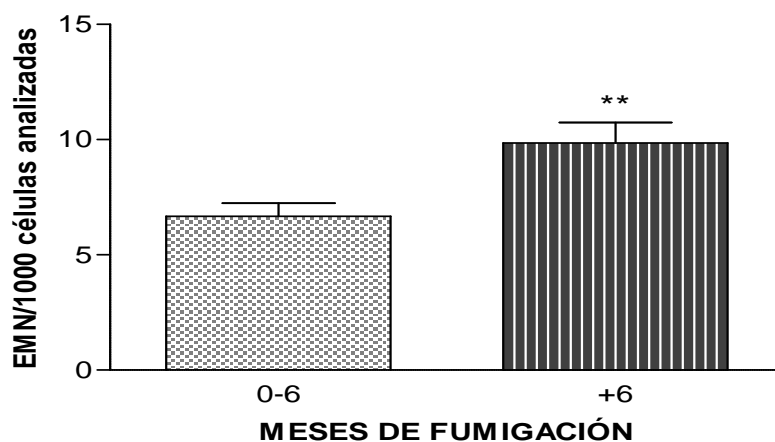


Figura 6. Niveles de micronúcleos en relación al tiempo de exposición a plaguicidas. 0-6: Menos de 6 meses de exposición al año. +6: Más de 6 meses de exposición al año.

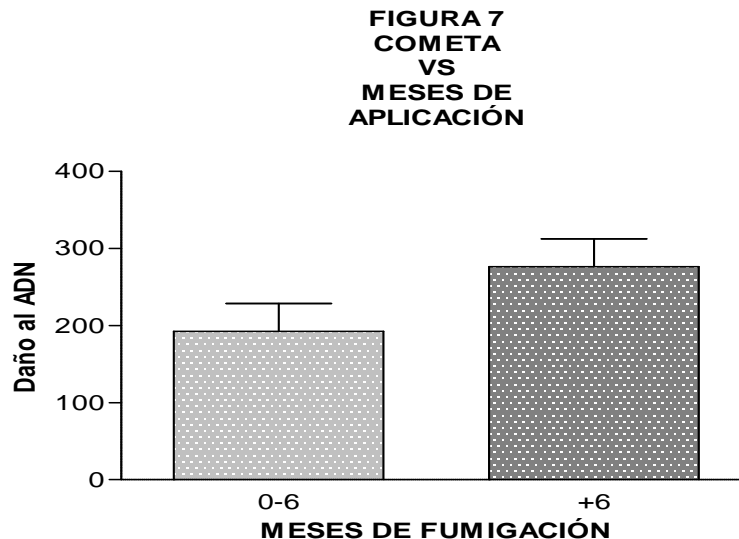


Figura 5. Niveles de daño al ADN (momento de la cola) en relación al tiempo de exposición a plaguicidas. 0-6: Menos de 6 meses de exposición al año. +6: Más de 6 meses de exposición al año.

Según se desprende del análisis del cuestionario, el 94,12% de los aplicadores emplean más de un plaguicida y el resto utiliza tan solo uno. Los plaguicidas más empleados son Glifosato (88,23%), Cipermetrina (88,23%), Clorpirifós (70,59%), Endosulfán (52,94%), Atrazina (35,29%) y 2,4-D (29,41%).

Con respecto a las medidas de protección personal durante la aplicación de los plaguicidas, el 88% de los aplicadores usa tan solo guantes, máscara y/o gafas; mientras que el 12% restante no utiliza ninguna medida de protección. El 41% sufrió al menos una vez un episodio de intoxicación aguda con plaguicidas. Así también existen numerosos informes sobre la toxicidad aguda por plaguicidas, con un altísimo número de intoxicados fatales en el mundo por año, mientras que los conocimientos sobre la toxicidad crónica o de los efectos a largo plazo son muy limitados.

Con respecto a los datos que surgen del análisis del estado de salud referido por los participantes en el cuestionario, el 56,25% manifiesta padecer sintomatología persistente relacionada con afecciones respiratorias (estornudos, tos, broncoespasmos, etc.), dermatológicas y/o muco-cutáneas (prurito en piel y ojos, lagrimeo, pigmentación, etc.), digestivas (vómitos) y neurológicas (cefalea y mareos). Del total de personas afectadas por estos síntomas, el 44,44% no son aplicadores. Por otro lado, se observó que un 40% de las mujeres que participaron en este estudio relató haber sufrido problemas reproductivos (dificultad para concebir y/o abortos espontáneos).

Tanto aplicadores como personas dedicadas a otras actividades con sintomatología persistente presentaron un aumento en los valores de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa con relación a aquellos que no presentan esta sintomatología (Figuras 8, 9 y 10).

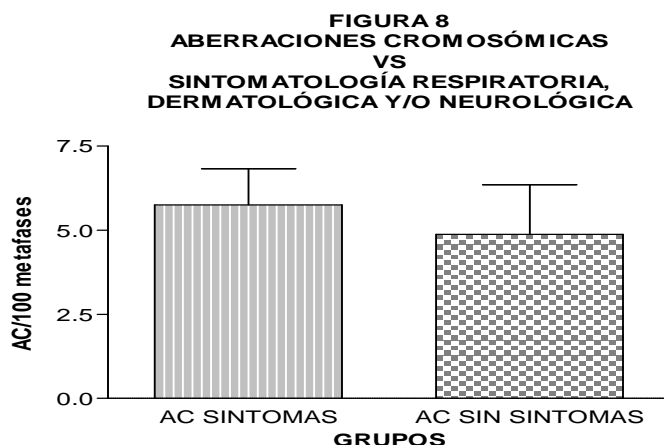


Figura 8. Niveles de aberraciones cromosómicas en relación a la presencia o no de sintomatología respiratoria, dermatológica y/o neurológica.

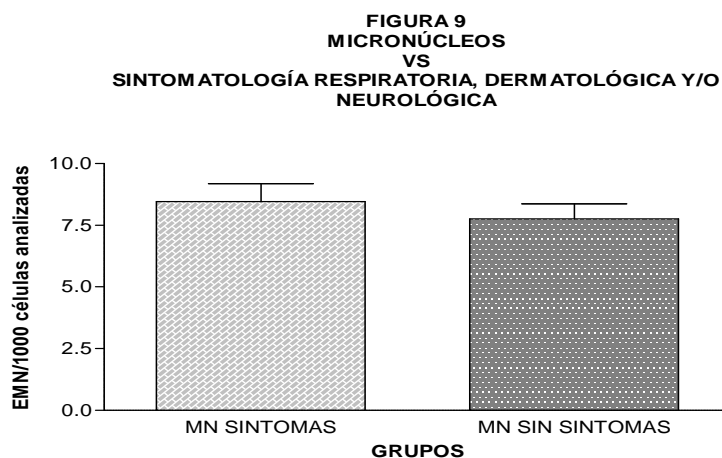


Figura 9. Niveles de micronúcleos en relación a la presencia o no de sintomatología respiratoria, dermatológica y/o neurológica.

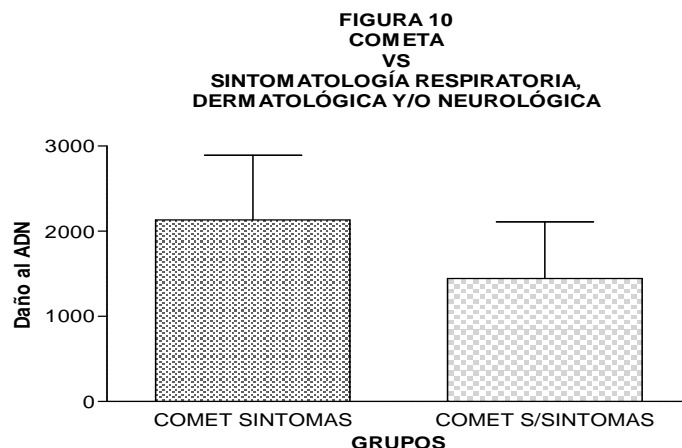


Figura 10. Niveles de daño al ADN (momento de la cola) en relación a la presencia o no de sintomatología respiratoria, dermatológica y/o neurológica.

Del mismo modo, se encontró una relación entre el consumo crónico de medicamentos y el daño genético, según se ilustra en las figuras 11, 12 y 13.

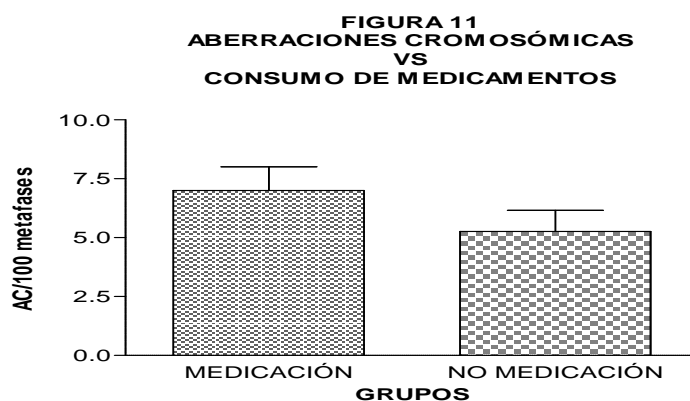


Figura 11. Niveles de aberraciones cromosómicas en relación al consumo o no de medicamentos.

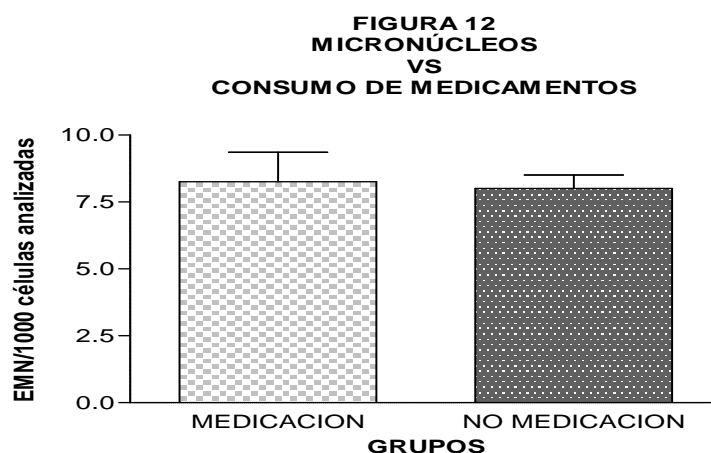


Figura 12. Niveles de micronúcleos en relación al consumo o no de medicamentos

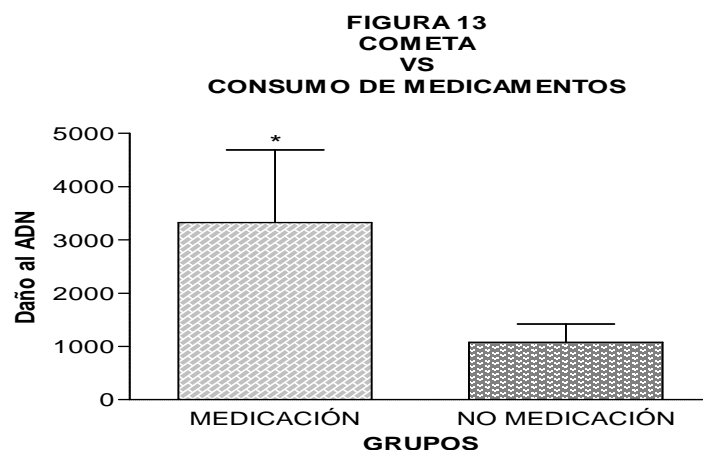


Figura 13. Niveles de daño al ADN (momento de la cola) en relación al consumo o no de medicamentos

Los resultados observados en aquellas personas que manifestaron padecer sintomatología crónica, junto a los hallados para los participantes que consumen medicamentos habitualmente, podría explicar los resultados observados en las Figuras 3 y 4, en las que se muestran valores incrementados de genotoxicidad en los individuos que realizan actividades no relacionadas a la aplicación de plaguicidas en comparación con aquellos que aplican; ya que como se ha expuesto, aquellas personas afectadas de algún modo en su salud y que no fumigan alcanzan el 44,44% del total. El incremento en los valores de genotoxicidad para aquellas personas que no aplican respecto a los que aplican y el grupo de referencia se constató mediante los resultados obtenidos con los ensayos de micronúcleos y cometa, con las cuales se obtuvo resultados análogos, con una alta correlación ($r:0,94$; Test de Pearson) entre los mismos (Figura 14).

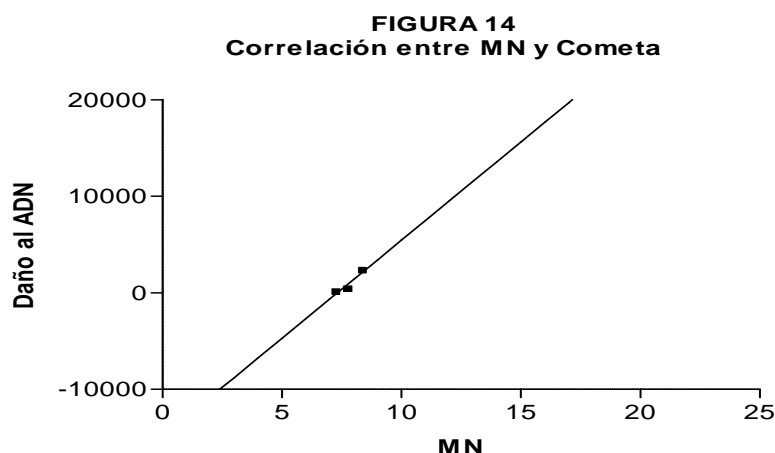


Figura 14. Correlación entre los valores de daño al ADN (momento de la cola) y micronúcleos

Considerando lo antes dicho, se llevó a cabo una comparación entre los valores hallados en la muestra poblacional de Marcos Juárez en su conjunto con relación a los valores de referencia de nuestro laboratorio, obteniéndose los resultados que se observan en las Figuras 15, 16 y 17.

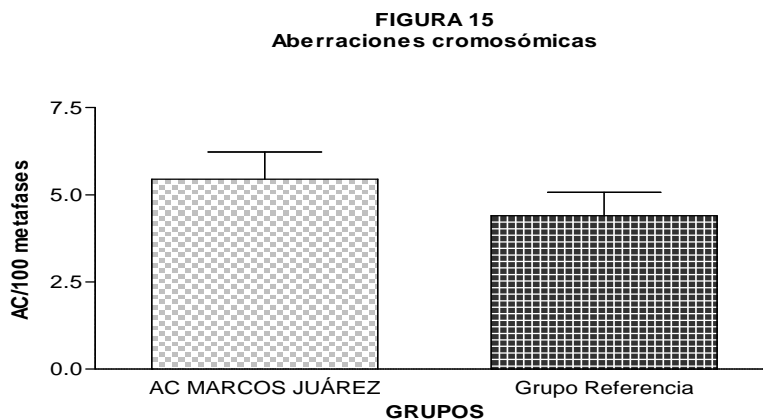


Figura 15. Niveles de aberraciones cromosómicas en pobladores de la localidad de Marcos Juárez (aplicadores y no aplicadores) en relación a los del grupo de referencia.

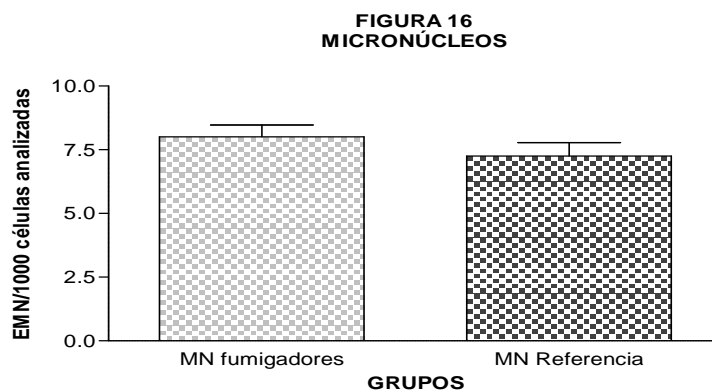


Figura 15. Niveles de micronúcleos en pobladores de la localidad de Marcos Juárez (aplicadores y no aplicadores) en relación a los del grupo de referencia.

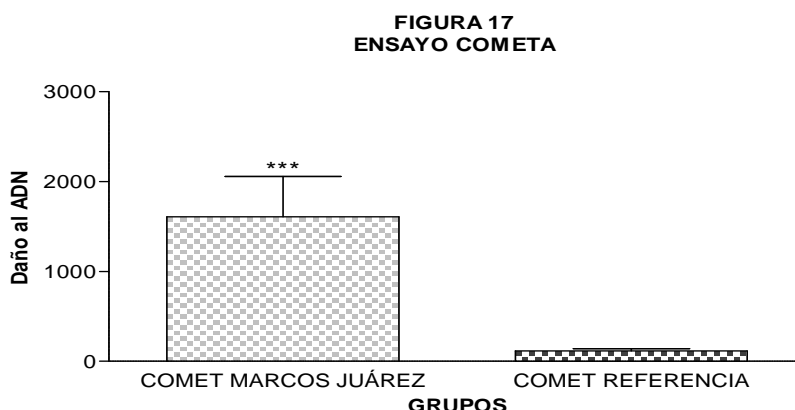


Figura 15. Niveles de daño genético (momento de la cola) en pobladores de la localidad de Marcos Juárez (aplicadores y no aplicadores) en relación a los del grupo de referencia.

Como puede observarse, se encontraron incrementos del 23,86% en los valores de aberraciones cromosómicas, 10,34% para micronúcleos y de un 1300% ($p \leq 0,001$) para el ensayo cometa en las personas de la localidad de Marcos Juárez al ser comparadas con los valores de referencia de nuestro laboratorio.

Conclusiones

Los resultados indican que las personas analizadas han experimentado daño genético, pudiendo atribuirse el mismo a la exposición relatada por los participantes del estudio, a plaguicidas, medicamentos y/u otros potenciales agentes genotóxicos ambientales.

La presencia de valores aumentados de aberraciones cromosómicas es lo que muestra mayor relevancia ya que existe evidencia experimental y epidemiológica de la relación entre un incremento en el número de AC y mayor predisposición al desarrollo de neoplasias (Albertini, 2000). Esto significa que los trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas tienen mayor probabilidad de que el daño genético encontrado al momento del estudio, pueda volverse irreversible por la saturación de los sistemas de reparación del ADN y en el futuro desarrollar diversos tipos de cáncer.

El ensayo de aberraciones cromosómicas es posiblemente 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. Al igual que el ensayo de micronúcleos, su sensibilidad es menor a la del ensayo cometa (Mañas, 2010).

El Ensayo de micronúcleos detecta daño a nivel de cromosomas y/o del aparato mitótico. Su sensibilidad es menor a la del ensayo cometa. Un incremento en el número de células micronucleadas es sugestivo de inestabilidad genómica, mayor propensión a rupturas y alteraciones a nivel de los cromosomas, incluyendo riesgos de aneuploidía (pérdida del número normal de cromosomas). Hay indicios que sugieren una relación entre el aumento en el número de células micronucleadas y un mayor riesgo de padecer cáncer (Mañas, 2010).

El ensayo cometa detecta rupturas a nivel de las cadenas del ADN (simple y doble) con una altísima sensibilidad (Mañas et al, 2009). Resultados elevados en este ensayo (no acompañado de un incremento en los valores de aberraciones cromosómicas y/o micronúcleos) podría ser indicativo de un daño reciente que aún no habría sido trasladado a nivel de estructuras más complejas como los cromosomas y/o el aparato mitótico.

A los fines de realizar una correcta interpretación de los resultados obtenidos mediante los ensayos de genotoxicidad, deben considerarse algunos aspectos de suma importancia, entre los que figuran la exposición a sustancias potencialmente tóxicas como los plaguicidas, tanto de uso agrícola como domiciliario; el padecimiento de distintas patologías, particularmente de aquellas de tipo crónico; el consumo de medicamentos (que pueden tener *per se* un efecto adverso sobre la integridad del ADN, o producir alteraciones en el metabolismo hepático que tengan idénticas consecuencias); el consumo de tabaco, de alcohol y otras sustancias también pueden ser responsables de alteraciones en los valores de daño genético cuantificado por cualquiera de las técnicas empleadas. Por lo tanto la información devenida de estos estudios debe ser usada junto con el historial clínico del paciente.

Los hallazgos encontrados en el presente estudio son indicativos de la importancia que tienen los ensayos utilizados para la detección temprana de un riesgo incrementado de desarrollar diversas patologías como neoplasias, problemas reproductivos, malformaciones y enfermedades cardiovasculares. Esta detección precoz del daño genético permite tomar las medidas necesarias para disminuir o suprimir la exposición al agente deletéreo cuando aún éste es reversible, disminuyendo por tanto el riesgo de desarrollar enfermedades. Por

lo tanto, los ensayos de genotoxicidad deberían ser considerados como herramientas indispensables en la implementación de una completa vigilancia médica en personas potencialmente expuestas a diversos contaminantes ambientales.

Referencias Bibliográficas

- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, AT., Norppa, H., Shuker, D.E., Tice, R., Waters, M.D., Aitio, A. 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat. Res.* 463: 111-172.
- Bhalli J., Khan Q., Haq M., Khalid A. Nasim 1Nasim A. 2006. Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutagenesis* 2006 21(2):143-148; doi:10.1093/mutage/gel009 *Mutagénesis* 2006 21 (2):143-148, doi: 10.1093/mutage/gel009.
- Bolognesi, C. 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research* 543 (2003) 251–272.
- De Marini, D.; Lentas, J. ; Brockman, E. 1989. Utility of short-term tests for genetic toxicity. *Cell Biol Tox.* 5 (2): 189-200.
- Ergene, S., A. Celik, T. Cavas y F. Kaya. 2007. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges”; *Environment International* 33: 877–885
- Fenech M, Morley MA, 1985. Measurement of micronuclei in Lymphocytes, *Mutat. Res.* 147, 29-36.
- Gómez-Arroyo, S., Y. Díaz-Sánchez, M. A. Meneses-Pérez, R.Villalobos-Pietrini y J. De León-Rodríguez. 2000. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutation Res.* 466, 117-124
- Mañas, F., L. Peralta, N. Gorla, B. Bosch, D. Aiassa 2009. Aberraciones cromosómicas en trabajadores rurales de la Provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas. *Journal of Basic an Applied Genetics* 20(1):9-13. ISSN 1666-0390.

- Mañas, F.; Peralta, L.; Raviolo, J.; García Ovando, H.; Weyers, A.; Ugnia, L.; Gonzalez Cid, M.; Larripa, I.; Gorla, N. 2009. Genotoxicity of Glyphosate assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Environ. Toxicol. Pharmacol.* Vol. 28:37-41.
- Mañas, F. Evaluación de Estrés Oxidativo y Genotoxicidad del Glifosato. Tesis doctoral. Tesis doctoral. Mayo 2010.
- Moorhead, R.; Howell, P.; Mellman, W.; Batteps, W.; Hundgerford, D. 1960. Chromosomes preparations of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Experimental Cellular Research.* 2, 613-616.
- Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD) Test guideline 473. "In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test", 1997.
- Paz y Miño, C., M. Arevalo, M. E. Sanchez y P. Leone. 2004. Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP 1A1 gene. *Mutation Research* 562: 77-89.
- Rao, K.; Xu, Y.; Shaw, E.; Parton, J. 2000. Mutagenicity Testing Applied for Regulation of Developing Products. *Current Separations* 20: 141-144.
- Singh, N.; Danner, D.; Tice, R.; Brant, L.; Schneider, E. 1988. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res.* 175: 184-191.
- Young, R. 2002. Genetic toxicology: Web resources. *Toxicology.* 173: 103-121.