

**MONITOREO GENÉTICO DE UNA POBLACIÓN EXPUESTA A
PLAGUICIDAS EN CULTIVOS DE PAPA EN EL MUNICIPIO DE TOTORÓ
(CAUCA), MEDIANTE EL REGISTRO DE ALTERACIONES
CROMOSÓMICAS (AC)**

SANDRA MILENA GOMEZ PIZO

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACION
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
GRUPO DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA
POPAYÁN
2009**

**MONITOREO GENÉTICO DE UNA POBLACIÓN EXPUESTA A PLAGUICIDAS
EN CULTIVOS DE PAPA EN EL MUNICIPIO DE TOTORÓ (CAUCA), MEDIANTE
EL REGISTRO DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS (AC)**

SANDRA MILENA GOMEZ PIZO

Trabajo de grado como requisito parcial para optar al título de Bióloga

**Mg. Silvio Marino Carvajal
DIRECTOR**

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES EXACTAS Y DE LA EDUCACION
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
GRUPO DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA
POPAYÁN
2009**

Nota de aceptación

Mg. Silvio Marino Carvajal

Jurado

Jurado

Fecha de Sustentación: Popayán, 1 de Julio de 2009

AGRADECIMIENTOS

Estos agradecimientos no se deben interpretar mal pues no los voy a nombrar en orden de importancia, es que son tantas las personas a las que les tengo que agradecer...

Primero que todo quiero darle gracias a Dios pues El me ha dado todo lo que en ese momento tengo, gracias a El cuento con una gran familia que es mi apoyo en todo momento, además porque me ha concedido la sabiduría y a guiado en el desarrollo de mi carrera y en especial de esta investigación.

A mis padres Javier Gómez y Ángela María Pizo que si no fuera por ellos no estuviera en este mundo y no podría compartir día a día con las maravillosas personas que me rodean, pues ha sido por su esmero y dedicación que hoy soy lo que ellos con gran amor han querido, una persona de bien que alimente y ayude por la creación de una mejor sociedad.

A mis hermanos Fabian, Suled y Eduard Gómez pues con ellos compartimos día a día alegrías, tristezas, y anécdotas que perduran para siempre en nuestras mentes y corazones, además de todo el agradecimiento que tenemos hacia mi mamá y mi papá.

A mi novio Edgar Saul Mera Yusty, pues El me ha acompañado en todo este proceso ha sido mi apoyo, he aprendido muchas cosas que han permitido forjar mejor mi personalidad, de corazón te quiero y gracias por estar conmigo y compartir hoy esta alegría.

A Alejandro Acosta mi primis por acompañarme a encuestar y vivir todo el proceso de este estudio.

A mi abuelo José Pizo, mi abuela Benicia Manquillo, Mi tía Eneida Pizo, y mi bebe hermoso Camilo Bolaños, gracias por cada momento de alegría, y por ser incondicionales.

A María Virginia Burbano, María Isabel y Yenny Vargas, Elsa María González por ser incondicionales y compartir nuestras largas e interminables charlas.

Al CPC por cada momento de alegría y sano esparcimiento que pasamos en el transcurso de nuestra carrera AMIGOS POR SIEMPRE.

Al profesor Silvia Carvajal por ser tan noble y querer compartir sus conocimientos con cada uno de sus estudiantes y en especial por dirigir esta investigación, por su apoyo incondicional de corazón no tengo palabras para expresar mi inmensa gratitud, ¡GRACIAS PROFE!

A las profesoras Nahelía Cajas y Luz Stella Hoyos, por todo sus conocimientos impartidos en el énfasis, pues de todos este es el mejor.

A la profesora Zulma Muñoz por su apoyo y servicio en el laboratorio de genética humana de la Universidad del Cauca.

A la población del municipio de Totoró que participa en este estudio pues sin ellos no hubiera sido posible su realización.

A Yudit Pizo por su colaboración activa y apoyo para presentar esta propuesta en el municipio.

Al profesor Ernesto Hernández por su apoyo y querer compartir sus conocimientos conmigo.

Al rector Gustavo Cucuñame por la oportunidad brindada y el apoyo incondicional en la culminación de esta etapa.

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| RESUMEN..... | 9 |
| INTRODUCCIÓN..... | 10 |
| 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 11 |
| 2. HIPÓTESIS..... | 13 |
| 3. JUSTIFICACIÓN..... | 14 |
| 4. OBJETIVOS..... | 16 |
| 4.1 GENERAL..... | 16 |
| 4.2 ESPECIFICOS..... | 16 |
| 5. ANTECEDENTES..... | 17 |
| 6. MARCO TEÓRICO..... | 19 |
| 6.1 PLAGUICIDAS..... | 19 |
| 6.2 CLASIFICACIÓN:..... | 19 |
| 6.2.1 Insecticidas..... | 19 |
| 6.2.2 Fungicidas..... | 20 |
| 6.2.3 Herbicidas..... | 20 |
| 6.2.4 Fumigantes..... | 21 |
| 6.2.5 Acaricidas..... | 21 |
| 6.3 EFECTOS DE LOS PLAGUICIDAS SOBRE LA SALUD HUMANA..... | 21 |
| 6.4 GENOTOXICIDAD: TEST DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS..... | 24 |
| 7. METODOLOGÍA..... | 26 |
| 7.1 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO..... | 26 |
| 7.2 PRUEBA DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS..... | 27 |
| 8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... | 28 |
| 9. RESULTADOS..... | 29 |
| 9.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO..... | 29 |
| 9.2 PLAGUICIDAS DE USO FRECUENTE:..... | 29 |
| 9.3 EFECTO CITOTÓXICO:..... | 29 |
| 9.5 EFECTO GENOTÓXICO:..... | 33 |
| 10. DISCUSIÓN..... | 35 |
| 11. CONCLUSIONES..... | 43 |
| 12 IMPACTO..... | 44 |
| 13. RECOMENDACIONES..... | 45 |
| ANEXOS..... | 56 |
| Anexo 1 Encuesta larga..... | 56 |
| Plaguicidas utilizados en el cultivo de papa..... | 58 |
| Anexo 2 Consentimiento informado..... | 59 |

LISTA DE TABLA

| | |
|---|----|
| TABLA 1. CARACTERÍSTICAS DE LOS TRABAJADORES EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS..... | 30 |
| TABLA 2 PLAGUICIDAS MÁS REPRESENTATIVOS UTILIZADOS EN EL CULTIVO DE PAPA EN ESTE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN. | 31 |
| TABLA 3 ÍNDICE MITÓTICO DEL GRUPO EXPUESTO Y NO EXPUESTO | 32 |

LISTA DE FIGURAS Y ANEXOS

| | |
|---|----|
| FIGURA 1. CÉLULAS EN METAFASE QUE MUESTRA EL EFECTO CITOTÓXICO, BAJO ÍNDICE DE PROLIFERACIÓN CELULAR..... | 32 |
| FIGURA 2 QUIEBRE CROMOSÓMICO | 34 |
| ANEXO 1 ENCUESTA LARGA..... | 56 |
| ANEXO 2 CONSENTIMIENTO INFORMADO | 59 |

RESUMEN

Esta investigación se realizó en una población rural expuesta a plaguicidas en cultivos de papa en el Municipio de Totoró, ubicado al oriente del departamento del Cauca, su cabecera municipal se halla aproximadamente a 23 Km. de Popayán.

Para esta investigación se tomaron dos grupos, el primero expuesto a plaguicidas y el segundo el grupo no expuesto de la mismas zona, que no consumieran cigarrillo ni hubieran padecido enfermedades infecciosas, a cada uno de los integrantes se les llenó una encuesta y un Consentimiento Informado, posteriormente se les tomó una muestra de sangre para ser analizada, mediante el biomarcador alteraciones cromosómicas (AC) en el laboratorio de Toxicología Genética de la universidad del Cauca, y observar si estos plaguicidas estaban afectando el material genético de las personas expuestas y poder compararlo con el grupo no expuesto.

Se realizó un cultivo de linfocitos, para analizar índice mitótico (IM) y observar si los plaguicidas estaban causando efecto citotóxico bloqueando el proceso proliferativo de las células, a su vez también se analizó las alteraciones cromosómicas para determinar el efecto genotóxico.

Los resultados que se obtuvieron en esta investigación en cuanto a los plaguicidas de mayor uso por los cultivadores de papa del Municipio de Totoró fueron: Agrotin, Curzate, Manconzeb, Previcur, Ridomil Gramoxone, Furadan y Lorsban, a su vez se encontró asociación significativa entre la exposición a plaguicidas y síntomas de diferentes niveles de intoxicación, tales como: lagrimeo, irritación ocular, dolor de cabeza, fatiga, mareo y disminución de la memoria.

Se observó que la exposición a plaguicidas tiene un efecto citotóxico ya que se observó una disminución en la proliferación celular en el grupo expuesto en comparación con el grupo no expuesto, también mostró efecto genotóxico inducido por la exposición a plaguicidas, ya que la frecuencia de AC fue significativamente mayor en el grupo expuesto ($p < 0.001$) que en el grupo no expuesto.

No se halló asociación significativamente estadística entre la frecuencia de AC y variables cuantitativas como edad (años) y tiempo de exposición.

Esta investigación muestra la actual situación de las personas expuestas a plaguicidas en los cultivos de papa en el municipio de Totoró, indicando así la importancia de desarrollar campañas educativas de prevención, que permitan concientizar a las personas sobre el uso racional de los plaguicidas.

INTRODUCCIÓN

El uso de agroquímicos tóxicos ha contribuido a incrementar la disponibilidad de alimentos para el hombre, sin embargo la agricultura moderna también aumentó la disponibilidad de alimentos para muchos otros organismos, entre ellos las plagas. La guerra química en contra de estas, durante más de 50 años, con la falsa expectativa de ser eliminados completamente, ha dañado más el ambiente, causando efectos secundarios en todos los seres vivos.

Para el análisis de estos efectos en los seres vivos se han desarrollado diferentes pruebas, una de estas la de alteraciones cromosómicas (AC), biomarcador de efecto, el cual ha tenido un evidente incremento en su uso para análisis de poblaciones expuestas a diferentes xenobioticos, desde los años 80s, alcanzando en promedio 40 publicaciones por año; en la mayoría de las investigaciones en las que se ha utilizado AC tienen como propósito común investigar efectos adversos por exposición ocupacional (Bonassi, et al. 2005).

Los habitantes del municipio de Totoró, ubicado al oriente del departamento del Cauca, cuya cabecera municipal se halla aproximadamente a 23 Km. de Popayán, desarrollan diversas actividades agrícolas para su manutención, una de estas actividades es el cultivo de papa en el cual se emplea una amplia variedad de plaguicidas, entre los que se encuentran principalmente organofosforados, organoclorados y carbamatos, los cuales son potencialmente genotóxicos y pueden desencadenar posteriores procesos, entre estos un posible riesgo de desarrollar cáncer (IARC 1991). Por lo tanto fue de gran importancia llevar a cabo este estudio de monitoreo genético de poblaciones expuestas a plaguicidas en el cultivo de papa, mediante biomarcadores como alteraciones cromosómicas (AC) e índice mitótico, en cultivos *in vitro* de linfocitos, ya que permitió conocer el efecto citotóxico y genotóxico en las células; además observar las condiciones de vida de los trabajadores expuestos tales como: años de exposición, nivel de escolaridad y edad, que de alguna manera influyeron en que se dieran tales procesos; se reconoció también las principales afecciones que se pueden presentar en el momento del uso de los plaguicidas (efectos agudos). El grupo se comparó con un grupo no expuesto de la misma zona y que no estuviera expuesto a plaguicidas.

Los resultados servirán de base científica para la toma de medidas de prevención contra posibles riesgos de salud.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El municipio de Totoró se encuentra situado al sur occidente de Colombia, en la zona Oriental del Departamento del Cauca, su cabecera municipal está localizada aproximadamente a 23 Km. de Popayán.

El municipio es particularmente agrícola y pecuario. Uno de los principales cultivos en esta región es la papa, en el cual se emplea una amplia variedad de plaguicidas, que con el paso del tiempo se ha incrementado. Las personas dedicadas al cultivo de papa realizan fumigaciones con mucha frecuencia, y no utilizan ninguna protección (guantes, tapabocas, careta). Esto puede deberse al bajo grado de escolaridad que se presenta en el municipio. Según el censo realizado por el DANE en el 2005, el 59.3 % de la población ha alcanzado el nivel de básica primaria, el 18.4 % de secundaria; y solo el 0.8% ha alcanzado el nivel profesional y el 0.1 % ha realizado estudios de especialización, maestría o doctorado. La población sin ningún nivel educativo es del 15.5% (Censo DANE, 2005).

Entre los plaguicidas utilizados en el cultivo de la papa, en el municipio de Totoró, se encuentran los organofosforados, carbamatos, ditiocarbamatos, y bupiridilos de estos plaguicidas existen evidencias de su potencial genotóxico y pueden desencadenar posteriores procesos, entre estos el desarrollo de algún tipo de cáncer (IARC 1991). Según estudios epidemiológicos es bien claro que varios problemas de salud como el cáncer, han sido asociados con la exposición ocupacional a los plaguicidas (Brown, *et al.* 1990; Blair y Zahm 1995; Wesseling, *et al.*1997). La Organización Mundial de la Salud estimó que los plaguicidas causan aproximadamente 37 mil casos de cáncer al año (Jeyaratham 1990).

“Es conocido que los ingredientes activos utilizados en la elaboración de plaguicidas de uso comercial tienen efectos dañinos en la salud, tanto como en consumidores finales de los alimentos tratados como de los trabajadores expuestos (Ballantyne, 1994). Entre los efectos que ocasionan los pesticidas, el mas relevante es la genotoxicidad, aparición de malformaciones congénitas, cáncer y abortos” (Maldonado, 2003).

Por las razones anteriormente mencionadas fue importante desarrollar este estudio de monitoreo genético en esta población expuesta ocupacionalmente a plaguicidas, con el fin de conocer como su uso continuo estaba afectando el material genético de las personas expuestas, respondiendo así puntualmente los siguientes interrogantes:

¿El uso continuo de plaguicidas por los cultivadores de papa de Totoró, causan efectos adversos para la célula, que inhiben o bloquean su ciclo de desarrollo

(efecto citotóxico)?; ¿estos plaguicidas, a su vez, afectaron el material genético (efecto genotóxico) de los linfocitos de la población expuesta, del Municipio de Totoró?

En 1973 (Cuenca y Ramírez 2004) se informó por primera vez que los trabajadores que aplican plaguicidas en mezcla, presentaban daño cromosómico durante la estación de mayor aplicación, posteriormente también se encontró aumentada la frecuencia de rupturas cromosómicas en trabajadores intoxicados con organofosforados. Trabajadores de las fábricas de DDT en Brasil y floricultores de Argentina también mostraron mayor frecuencia de alteraciones cromosómicas (Dulout *et al.* 1985).

Estudios realizados en el norte de Europa y en Italia han demostrado que las alteraciones cromosómicas constituyen el mejor biomarcador de efecto temprano para predecir riesgo de desarrollar cáncer (Preston 1999, Bonassi y Au 2002), los hallazgos positivos para alteraciones cromosómicas indican exposición excesiva al agente y sugieren peligro de daño a la salud de estas personas, (Cuenca *et al.* 2004). Un aumento en la frecuencia de alteraciones cromosómicas en trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas ha sido informado por varios estudios; sin embargo, los hallazgos no son consistentes en todos ellos debido a las diferentes variables que influyen en los resultados, tales como el tipo de plaguicida, la duración y la intensidad de la exposición (Au *et al.* 1999).

2. HIPÓTESIS

Si los plaguicidas utilizados para el cultivo de papa, a los que se encuentra expuesta la población del Municipio de Totoró, interactúan con sus células, dañándolas y bloqueando su avance en el ciclo celular, es de esperar que el Índice Mitótico (IM) promedio de sus linfocitos cultivados *in vitro* sea menor que el IM registrado en los linfocitos de la población no expuesta (H1), de lo contrario, la frecuencia promedio de células en mitosis será igual o incluso mayor (H₀).

Si los plaguicidas utilizados para el cultivo de papa, a los que se encuentra expuesta la población del Municipio de Totoró, interactúan con el ADN de sus células causando algún tipo de alteración, es de esperar que, en promedio, haya un mayor número de alteraciones cromosómicas (AC) en sus linfocitos cultivados *in vitro*, que el registrado en linfocitos de la población no expuesta (H1), de lo contrario, la frecuencia promedio de alteraciones cromosómicas será igual o incluso menor (H₀).

3. JUSTIFICACIÓN

El uso continuo de plaguicidas en los diferentes cultivos agrícolas, ha creado resistencia a las plagas que se pretendían combatir. Esto ha generado que el uso de diferentes tipos de plaguicidas sea cada día más intenso, ocasionando reacciones adversas en las personas que los utilizan, como intoxicaciones, erupciones en la piel, resequedad, afecciones oculares, afecciones respiratorias, alteración del sistema nervioso, alteraciones hormonales, etc. (Maldonado 2003)

El Observatorio Latinoamericano de Conflictos Ambientales, en el año de 1998, reportó una lista de plaguicidas con solicitud de prohibición y de severa restricción que muestra los perjuicios para el ambiente y para el individuo. Además de las reacciones adversas iniciales (alteraciones: respiratorias, nerviosas, cutáneas y hormonales), ocasionadas por el uso de la mayoría de los plaguicidas, el mayor riesgo para la población son los posibles daños en el ADN, que si no son reparados por los mecanismos de defensa celular, pueden desencadenar procesos malignos, como cáncer, o daños que pueden ser heredados ocasionando malformaciones en las futuras generaciones.

Se observó que los fumigadores de los cultivos de papa del municipio de Totoró, no poseen los implementos necesarios de bioseguridad para el desarrollo de esta actividad (careta, capa, tapabocas, guantes); en alguna medida esto se debe a la falta de recursos de dotación por parte de sus empleadores, o porque simplemente son incómodos para desempeñar su labor; además, las personas tienden a utilizar los envases de plaguicidas para transportar alimentos, no se lavan las manos cuando se alimentan en medio del desarrollo de su labor, o dejan a sus hijos cerca del material que se está manipulando. Sin embargo, la razón más importante para el manejo inadecuado y el no uso de equipo de protección, es la falta de información de las personas que manipulan directamente estas sustancias, ya que no conocen a fondo los productos que utilizan y el riesgo que estos pueden ocasionar a su salud.

Muchos estudios que se han realizado en personas expuestas ocupacionalmente a plaguicidas, han demostrado que algunos de estos causan efectos adversos en las células. Estos efectos han sido evaluados mediante biomarcadores como alteraciones cromosómicas (AC), intercambio de cromátidas hermanas (ICH), micronúcleos (MN), entre otros, (Knight 1996; Maldonado 2003; Bull Fletcher *et al.* 2006; Cuenca y Ramírez *et al.* 2004; Zeljezin y Vrhovac *et al.* 2004).

El estudio realizado en el año de 1996 por Hoyos *et al.*, en una población residente en Paletará y Coconuco, departamento del Cauca, expuesta a un gran número de plaguicidas, reportó la no existencia de diferencias significativas en el

número de alteraciones cromosómicas (AC) e intercambio de cromátidas hermanas (ICH) entre el grupo control y el expuesto. Este resultado mostró que en esa población el uso continuo de plaguicidas, no estaba causando efectos genotóxicos en sus células. A pesar de que los resultados no fueron positivos, este estudio manifestó la importancia de seguir realizando monitoreos periódicos en otras poblaciones expuestas a diferentes tipos de plaguicidas, usando alteraciones cromosómicas (AC), intercambio de cromátidas hermanas (ICH), u otros biomarcadores genéticos, que sean más sensibles y permitan obtener resultados más precisos. Además se puede inferir que la población puede tener diferencias desde el punto de vista genético por la diferencia en sus poliformismos, así como presentar diferencias étnicas (Cerón *et al.*1996).

En el municipio de Totoró, hasta el día de hoy, no se han realizado estudios citogenéticos de algún tipo sobre la población. Por tanto, fue importante la realización de esta investigación ya que fue con una población diferente a la realizada por Hoyos *et al.* (1996); además, incluyó algunos plaguicidas diferentes, se observaron y tomaron en cuenta características socio-económicas, ambientales, estilo de vida, etc. Esto no solo permitió complementar el trabajo realizado por Hoyos *et al.* (1996) en cuanto a la información y resultados obtenidos sino también mostrar que el uso de plaguicidas en esta región si está afectando y causando algún tipo de alteración.

4. OBJETIVOS

4.1 GENERAL

Identificar el efecto citotóxico y genotóxico inducido por los plaguicidas en una población expuesta ocupacionalmente en el cultivo de papa, en el municipio de Totoró

4.2 ESPECIFICOS

4.2.1 Identificar el efecto citotóxico de la exposición a plaguicidas en cultivadores de papa del municipio de Totoró, mediante prueba de Índice Mitótico en linfocitos cultivados *in vitro*.

4.2.2 Identificar el efecto genotóxico de la exposición a plaguicidas, en cultivadores de papa del municipio de Totoró, mediante la prueba de alteraciones cromosómicas (AC) en linfocitos cultivados *in vitro*.

4.2.3 Dar a conocer a la comunidad de estudio y en general, los resultados obtenidos, para tratar de crear conciencia sobre la correcta manipulación de los plaguicidas, como mecanismo para prevenir posibles riesgos de salud.

5. ANTECEDENTES

Diversos estudios se han llevado a cabo para evaluar el efecto que pueden ocasionar los plaguicidas en todos los organismos expuestos, se han realizado estudios de monitoreo de poblaciones ocupacionalmente expuestas arrojando dichos estudios diversos resultados significativos o no significativos por la exposición a plaguicidas; entre los que se encuentran:

Hoyos *et al.* 1996, mediante los biomarcadores de alteraciones cromosómicas e intercambio de cromátidas hermanas, analizaron linfocitos cultivados *in vitro* de 30 personas expuesta a plaguicidas en cultivos de papa y 30 personas no expuestas, observando que no había diferencia significativa entre el grupo expuesto y control, en relación a la frecuencia de AC e ICH.

Paz *et al.* 2004, utilizaron las pruebas de AC y cometa alcalino, analizando a 45 personas expuestas y 21 personas no expuestas en plantaciones de flores, en Cayambe, Ecuador. Se observó una alta significancia en migración del ADN al evaluarse con cometa alcalino, comparado con el grupo no expuesto, el test de AC fue significativo al compararse con el grupo no expuesto.

Zeljezic *et al.* 2004, analizaron el ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) un herbicida, en este caso la formulación Deherban, en linfocitos humanos registrando alteraciones cromosómicas y micronucleos. Se observó que el plaguicida causó un aumento de rupturas cromátidicas cromátidicos, cromosómicos y el número de micronúcleos.

Cuenca *et al.* 2004, realizó estudios en 10 mujeres expuestas y 10 mujeres no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas en plantas empacadoras de banano en Costa Rica. Mostró daños somáticos en las células de las mujeres, además que la exposición a plaguicidas es un factor de riesgo para las alteraciones cromosómicas en las células somáticas de las mujeres.

Bull *et al.* 2006, mostraron un compendio de 70 estudios de los cuales 24 presentaban personas que estaban expuestas a plaguicidas, de estos estudios, 17 tuvieron diferencias significativas asociada con un incremento en alteraciones cromosómicas (AC), micronúcleos (MN) entre el grupo expuesto y control; los 7 estudios restantes mostraron resultados negativos.

Costa *et al.* 2006, evaluaron 33 personas expuestas y 33 personas no expuestas a plaguicidas en granjeros de Oporto, distrito de (Portugal). No mostró diferencia significativa entre los dos grupos en la prueba de AC. Para ICH y MN se registró un incremento significativo en el grupo expuesto; estos datos mostraron que los

equipos de protección personales, son importantes para prevenir la exposición y disminuir el daño genético infligido por los plaguicidas.

Paramanda et al.1998, analizaron ICH y AC en agallas de pez *E. suratensis* después de haber sido tratadas con metilparathion y phosphamidon, dos formulaciones comerciales de organofosforados; los peces fueron expuestos a un medio que contenía 0.05, 0.1y 0.2 ppm de metilparathion; y 0.5, 1.0, 2.0 ppm de phosphamidon. Este estudio revelo un incremento significativo en el numero de ICH y AC, en relación a los controles.

Vigreux et al.1998, mediante AC, cometa alcalino y células CHOK1 Hámster Chino, evaluaron el herbicida isoproturon, dos fungicidas (carbendazim y chlorothalonil) y etoposide como control positivo. Etoposide indujo daño en el ADN detectado por la prueba de AC y la prueba del cometa; chlorothalonil, a una concentración de 0.2 a 1 μ M, mostró daño por medio de la prueba cometa, e inducción de muchas rupturas cromosómicas; carbendazim e isoproturon no mostraron daños significativos. En conclusión, el chlorothalonil es genotóxico para las células proliferativas CHOK1.

6. MARCO TEÓRICO

6.1 PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son un variado número de sustancias químicas que se utilizan para proteger los animales y plantas de los efectos negativos de otros seres vivos que por su acción y expansión numérica se pueden convertir en una plaga.

6.2 CLASIFICACIÓN:

La clasificación universalmente aceptada para agrupar a los plaguicidas es con base en su efecto:

6.2.1 Insecticidas: Es un grupo muy amplio, y por no ser muy selectivos, interesa que tengan una acción rápida, por lo que se han creado productos muy tóxicos que generalmente atacan el sistema nervioso (Pastor 2002).

Los insecticidas han sido los más estudiados debido a que representan más del 50% de los plaguicidas utilizados; además los insecticidas organofosforados y carbamatos son los de mayor toxicidad para animales y el hombre, y los organoclorados son no biodegradables, persistentes y acumulables en el organismo humano, animal y alimentos (Vallejo 1992).

Los insecticidas se dividen en: Organoclorados, Organofosforados, Carbamatos y Piretroides:

- **Organoclorados:** presentan cloro en su molécula, agrupan a un considerable número de compuestos sintéticos, cuya estructura química corresponde a los hidrocarburos clorados; estos tienen una elevada persistencia (en el medio ambiente, alimentos), gran estabilidad química, por lo que tienen una marcada bioacumulación (Pastor 2002). Sufren procesos de biomagnificación a través de las cadenas alimentarias, por lo cual presentan efectos a largo plazo; son sospechosos de producir neuropatías periféricas, carcinogénesis, mutagénesis e inducción enzimática. El efecto tóxico de los insecticidas Organoclorados es la interferencia en la transmisión neuronal axónica, particularmente en el sistema nervioso (Vallejo 1992). Un ejemplo de Organoclorados es el DDT el cual fue considerado el “invento milagroso” (Maldonado, 2003), pero aproximadamente pasada una década fue calificado por el Departamento de Salud y Servicios de EEUU, como cancerígeno para el ser humano (Ficha técnica del DDT, 1995).

- **Organofosforados:** químicamente son ésteres del ácido fosfórico, se descomponen con mayor facilidad y son menos persistentes en el ambiente con respecto a los Organoclorados, tiene una actividad biológica muy intensa tanto sobre insectos, ácaros, como animales superiores, por lo que se consideran más peligrosos para el hombre debido a que tienen un alto grado de toxicidad; son potentes inhibidores de la acetilcolintransferasa, enzima encargada de hidrolizar el neurotransmisor acetilcolina, lo que provoca que haya una elevada actividad eléctrica y estimulación continua (Pastor 2002); no sufren procesos de concentración a través de las cadenas tróficas, algunos producen efectos a largo plazo, como, neurotoxicidad retardada y sospechosos de producir carcinogénesis (mutación,paratión) (Manual de ecología, 2002).
- **Carbamatos:** son derivados del ácido N-metilcarbámico, son biodegradables, no bioacumulables, mediana toxicidad, sustituyen a los organoclorados en muchas de sus aplicaciones; presentan una ligera inhibición de la acetilcolinesterasa (Pastor 2002).
- **Piretroides:** provienen de un vegetal llamado piretro, actúan sobre el sistema nervioso, tienen baja toxicidad aguda, son poco persistentes, no acumulables; “en el hombre las lesiones causadas por los piretroides resultan más frecuentemente en propiedades alérgicas, dermatitis, asma, conjuntivitis” (Vallejo 1992).

6.2.2 Fungicidas:

Controlan los hongos, muchos de los cuales pueden infectar y causar enfermedades en plantas y animales, se pueden encontrar derivados del ácido ditiocarbámico, como: mancozeb, maneb, propineb, estos son compuestos con actividad mutagénica, teratogénica, carcinogénica y anti tiroidea (Pastor 2002).

Hay fungicidas orgánicos e inorgánicos. Los compuestos inorgánicos son sales de cobre utilizadas para combatir esporas de hongos y coagular el protoplasma celular; los orgánicos, no dejan crear ATP interfiriendo en el paso de electrones, entonces, la energía deriva hacia la formación de calor provocando fiebre, disnea, debilidad, temblores musculares y cianosis (Manual de ecología, 2002).

6.2.3 Herbicidas:

Compuestos con capacidad de matar plantas que crecen en lugares no deseados; se pueden clasificar por su acción sobre las plantas o por el momento de su aplicación (pre siembra, pre-emergencia, post emergencia) (Pastor 2002).

Herbicidas pre-siembra: se aplican antes de la siembra del cultivo a proteger, estos productos se incorporan al suelo antes de la siembra con el propósito de que el cultivo de interés inicie su desarrollo en un medio estéril.

Herbicidas pre-emergencia: se aplican después de la siembra pero antes de la germinación del cultivo y de las malezas.

Herbicidas post-emergentes: se utilizan después de la germinación del cultivo y de las malezas:

Tipos de herbicidas:

- **Bipiridilos:** son sales de amonio cuaternario, corrosivas de piel y mucosas, producen fibrosis pulmonar irreversible, tienen alta toxicidad y alto índice de mortalidad (Pastor 2002).
- **Fenoxiacéticos:** son herbicidas hormonales que actúan a través del crecimiento de las especies no deseadas, altera el crecimiento, la floración o la reproducción; poseen dioxinas, sustancias extremadamente tóxicas, actualmente se encuentran prohibidas en diversos países por ser cancerígenos y mutagénicos, con tendencia a biomagnificarse (Pastor 2002).
- **Úreas sustituidas:** la úrea puede dar lugar a metabolitos nitrosos cancerígenos, ejemplo linurón, puede causar una respuesta oncogénica (Stevens y Summer, 1991).

6.2.4 Fumigantes:

Producen gas o vapor para destruir insectos, hongos, bacterias o roedores (Pastor 2002). Algunos pueden penetrar con facilidad a través de la ropa protectora de hule y de neopreno, así también como de la piel en los seres humanos. También pueden ser absorbidos rápidamente a través de la membrana pulmonar, del intestino y de la piel. Se requiere el uso de absorbentes especiales en las máscaras respiratorias para protección de los trabajadores expuestos a los gases fumigantes en el aire. Aún así esto no podrá proveer una completa protección cuando las concentraciones de fumigantes en el aire son altas (Wilcosky y Tyroler 1983).

6.2.5 Acaricidas:

Los acaricidas se encuentran incluidos en la clasificación general de los plaguicidas. Son aquellas sustancias químicas que son especialmente efectivas en el combate de los ácaros y las garrapatas (Metcalf y Flint 1979).

6.3 EFECTOS DE LOS PLAGUICIDAS SOBRE LA SALUD HUMANA

Todos los plaguicidas involucran algún riesgo para las especies no blanco, incluyendo el hombre; los efectos en los humanos dependen de las características

fisiológicas así como del tipo de plaguicida (Sánchez *et al.* 1992); los efectos que se pueden presentar son intoxicaciones agudas, subagudas, crónicas, efectos en la reproducción, inmunológicos, neurotóxicos, endocrinos, efectos en los alimentos, genéticos y cáncer.

6.3.1 Intoxicaciones agudas. Presentan manifestaciones clínicas de forma inmediata o en las primeras horas, pueden afectar sobre el sistema nervioso ocasionando mareos, dolor de cabeza, temblores, parálisis, pérdida de conciencia; efectos sobre la piel como picores, quemaduras; efectos en los ojos así: lagrimeo, conjuntivitis; en la nariz, picor, mucosidad; en la boca y vías digestivas como, salivación, náuseas, vómitos; en el aparato respiratorio, sensación de ahogo, picor de garganta, tos; “Martin Rubí *et al.* 1996 estudiaron 506 casos de intoxicación aguda en Almería (España) que necesitaron hospitalización, entre 1981 y 1992. Los agentes responsables más frecuentes fueron los plaguicidas organofosforados (metamidofos, clorpirifos y paration), que desencadenaron un cuadro de síntomas colinérgicos. La mayoría de intoxicaciones se produjeron por vía dérmica o por inhalación, y se produjeron un 5% de defunciones. Esto es lo que ocurre a diario en zonas de agricultura intensiva” (Pastor 2002).

6.3.2 Intoxicaciones subagudas. Ocurren por la absorción repetida de dosis de menor nivel, apareciendo los síntomas entre las 48 horas y los 15 días de la exposición (Trujillo 2005).

6.3.3 Intoxicaciones crónicas. Se producen por la acción prolongada e inadvertida de dosis pequeñas de tóxico cuyos efectos se manifiestan en un plazo de entre 3 y 6 meses. Muchos plaguicidas tienen la propiedad de acumularse en el organismo, sobre todo en el tejido graso, y producir sus efectos en función del nivel de sustancia que se ha ido acumulando en el organismo. Los efectos principales se manifiestan en el sistema nervioso, con aparición de parálisis musculares, alteraciones de la memoria, conducta, sueño, movimientos. Otros efectos importantes se pueden producir en médula ósea, hígado y riñón. (Trujillo 2005).

6.3.4 Efectos en la reproducción. Según diferentes estudios realizados se ha observado que los plaguicidas producen efectos en la reproducción, como es el caso del 1,2-dibromo-3-cloropropano (DBCP), nematicida que ocasionaba atrofia testicular en ratones, cobayas y conejos (Torkelson 1961). En otro estudio realizado en Costa Rica en 1980 se diagnosticó esterilidad o infertilidad de 1500 trabajadores expuestos a DBCP en cultivos de banano (Trupp 1991). Otros estudios se han asociado a la reducción de la fecundidad en mujeres (Abell *et al.* 2000), incremento de abortos espontáneos (Arbuckle y Sever, 1998) y anomalías congénitas (Shaw *et al.* 1999).

6.3.5 Efectos endocrinos. Hay plaguicidas que tienen capacidad disruptora endocrina, mimetizan los efectos de hormonas endógenas (estrogénicas

/antiestrogenicas) o las perturban de alguna manera; pueden producir infertilidad, cáncer de testículo, próstata, y mama (Pastor 2002). Un estudio realizado por Falck, *et al.* 1992 encontró que la grasa de las mamas de las mujeres con carcinoma mamario contenía mucha más cantidad de metabolitos de DDT que la grasa de las mujeres control.

6.3.6 Efectos inmunológicos. “la llegada al organismo de una sustancia o de sus metabolitos, pueden promover su conjugación con proteínas, formando un antígeno. La reacción de antígeno-anticuerpo produce lesiones celulares y liberación de diversas aminas (histamina, adrenalina, etc) responsables de las reacciones alérgicas de tipo dérmico, urticaria, dermatitis, eritema, erupciones; o de carácter sistémico asma, rinitis, shock anafiláctico” (Vallejo 1992); se a probado que los plaguicidas alteran el funcionamiento del sistema inmunitario que puede ocasionar enfermedades severas (Daniel *et al.* 2002).

6.3.7 Efectos neurotóxicos: se ha observado que los efectos neurotóxicos están dados por plaguicidas organofosforados por ser altamente tóxicos e inhibidores permanentes de la colinesterasa; aunque la disminución de la acetilcolinesterasa en la mayoría de los casos se debe a los organofosforados, también se ha observado que puede deberse por exposición perinatal a otros plaguicidas (Zhang *et al.* 1992; Bajaj, *et al.* 1993); además se ha asociado la exposición a plaguicidas con enfermedades como Parkinson (Engel *et al.* 2001; Jenner 2001; Woodward 2001) y Alzheimer (Gauthier *et al.* 2001).

6.3.8 Efectos en los alimentos: debido a la resistencia que han creado los plaguicidas, los productos alimenticios de consumo diario han sido tratados en algún momento, desde la siembra hasta la cosecha, encontrándose residuos de plaguicidas en vegetales, tubérculos y frutas frescas (Schinas *et al.* 2000; Kobayashi *et al.* 2001; Fenske *et al.* 2002); en un estudio realizado analizando leche materna y de vaca, se encontró residuos de DDT, y que estos además excedían el límite establecido por la FAO (Vallejo 1991).

6.3.9 Efectos genéticos: muchos de los productos químicos como los plaguicidas interactúan con el material genético, dañándolo, causando una lesión que, si no es reparada correctamente, puede desencadenar enfermedades degenerativas, abortos, descendencia con alteraciones genéticas, abortos y cáncer. Estudios realizados han mostrado que la exposición ocupacional, especialmente a organofosforados, incrementan significativamente la frecuencia de rupturas y fragilidad, cromosómicas (Webster, *et al.* 2002).

6.3.10 Cáncer: los plaguicidas se han relacionado con determinados tipos de cáncer; en un estudio realizado en niños que habían nacido de mujeres que se habían encontrado expuestas a plaguicidas en sus últimos meses de embarazo, tuvieron un riesgo tres veces mayor de desarrollar leucemia, a diferencia de niños que se encontraban expuestos después de nacer que tenían un riesgo mayor de

dos veces (Leiss y Savitz 1995); las neoplasias de origen hematopoyético se han relacionado con la exposición ocupacional directa e indirecta a plaguicidas (Costantini *et al.* 2001).

6.4 GENOTOXICIDAD: TEST DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS

Las alteraciones cromosómicas (AC) son cambios en la estructura o en el número de cromosomas, que puede ocurrir espontáneamente o como resultado de un tratamiento químico, físico o biológico (Rusell 2002).

Las AC estructurales pueden ser inducidas por quiebres diversos en el ADN, por replicación de un daño en la hebra de ADN, y otros mecanismos (e.g. inhibidor de topoisomerasa) (Albertini *et al.* 2002)

Las AC inducidas pueden dividirse en dos clases: alteraciones de tipo cromosómico que involucran las dos cromátidas y alteraciones de tipo cromátidico que envuelve una sola cromátida.

Se pueden distinguir los siguientes tipos de alteraciones:

6.4.1 Alteraciones numéricas: cambio en la dotación de cromosomas

6.4.2 Alteraciones estructurales: se refieren a cambios en la forma y/o tamaño de un cromosoma. Cuando el material genético se conserva en el cromosoma alterado, la alteración es equilibrada; mientras que si se gana o pierde material genético, la alteración es desequilibrada. Son la consecuencia de la ruptura y uniones anórmalas de los cromosomas bajo la influencia de agentes externos que la célula no puede reparar. Las alteraciones estructurales básicas son las rupturas que ocasionan bien la formación de una delección (cromosoma al que le falta un fragmento) o de un fragmento sin centrómero (Mediclopedia, Instituto Químico Biológico, 2004).

Tipos de alteraciones estructurales:

6.4.2.1 Delecciones: en las roturas y reparaciones de los cromosomas, pueden perderse parte de los mismos. Si la parte pérdida es muy grande, la situación es incompatible con la vida, con excepción del síndrome del Cry du Chat. En un 85% de los casos, las delecciones provienen de novo y las restantes son hereditarias, representando una monosomía o trisomía parciales. cuando se pierden los extremos de cada brazo y los extremos libres se fusionan, se forma un cromosoma en anillo. En muchas ocasiones, las delecciones afectan tan solo a algunos genes independientes pero contiguos, situados uno al lado del otro en el mismo cromosoma, delecciones que sólo son detectables por técnicas genéticas moleculares como la hibridación in situ o la hibridación in situ con fluorescencia.

Se habla entonces de microdeleciones, que pueden ser intersticiales o terminales. Algunos síndromes asociados a microdeleciones son el síndrome de Prader-Willi, el síndrome de DiGeorge, el síndrome del retinoblastoma y otros muchos más. (Mediclopedia, Instituto Químico Biológico, 2004).

6.4.2.2 Translocaciones: “Las translocaciones son el intercambio de dos fragmentos de cromosomas no homólogos. Pueden ser recíprocas, que son las más frecuentes. En estas, un segmento de un cromosoma se intercambia con otro de un cromosoma no homólogo, de forma que se producen simultáneamente dos cromosomas portadores de translocación. En las no recíprocas únicamente tenemos traspaso de un fragmento cromosómico en una dirección, sin que recíprocamente se traspase otro; este caso, se denomina transposición” (<http://apuntes.rincondelvago.com/aberraciones-cromosomicas.html>).

6.4.2.3 Isocromosomas: se denominan isocromosomas a los cromosomas metacéntricos producidos durante la meiosis o mitosis, cuando el centrómero se divide transversalmente en lugar de longitudinalmente. Los cromosomas generados por esta división anormal son un cromosoma con los dos brazos largos del cromosoma original sin brazos cortos y un cromosoma con dos brazos cortos, pero sin brazos largos. Cada uno de estos isocromosomas constituye al mismo tiempo una delección y una duplicación simultáneamente (Mediclopedia, Instituto Químico Biológico, 2004).

6.4.2.4 Inversiones: las inversiones se producen como consecuencia de dos rupturas dentro del mismo cromosoma: el fragmento roto se reinserta al cromosoma, pero habiendo girado 180°. El cromosoma tiene la misma forma que el original pero el orden en que se encuentra la información genética ha cambiado. Si el área invertida contiene el centrómero, se dice que la inversión es pericéntrica. Si la inversión se sitúa fuera del centrómero se dice que la inversión es paracéntrica (Mediclopedia, Instituto Químico Biológico, 2004).

7. METODOLOGÍA

7.1 POBLACIÓN OBJETO DE ESTUDIO

Se realizó el estudio de Monitoreo Genético en una población expuesta a plaguicidas, en cultivos de papa del Municipio de Totoró, ubicado al oriente del Cauca; esta población es indígena y campesina. La población indígena se encuentra ubicada en el resguardo que lleva el mismo nombre, también en algunas veredas como Portachuelo, Aguas Vivas, y Tabaco que no pertenecen al resguardo; la población campesina está alojada en la parte en la que se encuentra el corregimiento de Gabriel López donde se encuentran alojadas la mayoría de las personas que participaron en este estudio.

La motivación a participar en la investigación se hizo mediante la presentación oral y escrita del proyecto a líderes y representantes de la comunidad, una vez valorado y aceptado por estos, se presentó el proyecto a la comunidad para que, en forma voluntaria, participaran o no en el estudio, llenando una encuesta y posteriormente firmando el consentimiento informado.

- **Muestreo:**

Se identificaron, dos grupos de estudio: el experimental con un 20 personas saludables, que no padecieron enfermedades infecciosas (VIH, Hepatitis, etc.), no consumieran cigarrillo y estuvieran expuestos a plaguicidas al menos durante cinco años, rango de edad entre 18-60 años, no tuvieran ningún otro tipo de exposición; el grupo control se identificó con base en los mismos criterios el grupo expuesto, de la misma región, pero que no estuvieran expuestos a plaguicidas.

Las personas interesadas respondieron una encuesta corta, que permitió identificar algunas características básicas para la selección del grupo de estudio, como: edad, sexo, grado de escolaridad, nivel de exposición a plaguicidas, consumo de cigarrillo, drogas citotóxicas etc. A las personas seleccionadas para la investigación se les llenó una encuesta larga (Ver anexo A), y firmaron un Consentimiento Informado, voluntariamente (Ver Anexo B).

Para la investigación, a cada persona se le tomó una muestra de sangre de 5 mL, por personal especializado y bajo todas las condiciones de asepsia; las muestras fueron trasladadas, a temperatura ambiente, hacia el laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética, para su posterior cultivo *in vitro*, el cual permitió el análisis de índice mitótico y registro de alteraciones cromosómicas (AC).

7.2 PRUEBA DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS

7.2.1 Siembra o establecimiento de cultivos: Los cultivos se realizaron añadiendo 8 gotas de sangre (0,5 cc) a cada tubo que contenía 5 ml de medio de cultivo RPMI 1640, suplementado con 10% de Suero Bovino Fetal, 1% de L-glutamina y 1% de penicilina-streptomina. Por último se agrego 0,1 ml de FitoHEMA-glutinina a cada tubo. Los cultivos se mantuvieron en incubadora a 37°C en atmósfera húmeda. Luego de 46.5 horas de iniciados los cultivos, se agregó colcemid a los cultivos a una concentración final de 0.1 µg/ml, para detener células en metafase (Hoyos y Carvajal 2002).

7.2.2 Cosecha: Dos horas después de haberse agregado colcemid, se realizó la cosecha, para lo cual los tubos de cultivo se centrifugaron a 1000 rpm por 10 minutos y se removió el sobrenadante. Se adiciono 6 ml de solución hipotónica (0.075 M KCl) por 30 minutos a 37°C, al final de este tiempo se realizo una prefijación adicionando 2 ml de fijador Carnoy (3 metanol: 1 ácido acético glacial) a cada tubo, y se centrifugo de nuevo y se removió el sobrenadante (Hoyos y Carvajal 2002).

Se adicionó 6 ml de fijador Carnoy, se agitó lentamente y se colocó en refrigeración por 20 minutos y luego se centrifugó y retiró el sobrenadante. El proceso de fijación se repitió al menos dos veces más antes del goteo. Luego de la ultima centrifugación, el precipitado celular se resuspendió en 0.5 - 1.0 ml de fijador fresco (La suspensión celular tomo apariencia lechosa blanquecina). Finalmente se realizó el goteo, aplicando 3-5 gotas de la suspensión celular concentrada sobre las placas frías y humedecidas con ácido acético al 60 %, luego las preparaciones se secaron al aire (Hoyos y Carvajal 2002).

7.2.2 Tinción: Las placas se colorearon con Giemsa al 10% durante 7 minutos (Goto et al. 1977) y se registraron las alteraciones cromosómicas, en metafases que en promedio habían recorrido en promedio un ciclo de división. Las placas se montaron con entellán, como preparaciones permanentes (Hoyos y Carvajal 2002).

El registro de las placas se hizo una vez codificadas y hecho el ciego. Primero se observaron al microscopio optico Nikon YS2-T Japan 190945 con objetivo de bajo aumento (objetivo 10 X), y luego se juzgaron y analizaron en mayor aumento (objetivo 100X). Todas las células observadas en aumento mayor fueron registradas. Solamente se registraron las células con 46 cromosomas. Las células tetraploides o algunas que presentaron cromosomas pulverizados, se excluyeron del total de alteraciones, pero se registraron por separado. Se incluyeron en el registro, rupturas cromosómicas y cromatídicas principalmente.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para identificar asociación entre el factor principal de esta investigación (exposición a plaguicidas) y las demás variables cualitativa incluidas en el estudio (nivel de escolaridad, consumo de bebidas alcohólicas, irritación nasal, ardor de garganta, tos seca, obstrucción nasal, sequedad de la boca, lagrimeo, irritación ocular, dolor de cabeza, fatiga, mareo, disminución de la memoria), se aplicó la prueba de Chi Cuadrado de Pearson y el estadístico exacto de Fisher; para el mismo análisis, pero con variables cuantitativas (ejemplo: edad, tiempo de exposición), se aplicó prueba t-student para muestras independientes.

Como los datos de índice mitótico y alteraciones cromosómicas no se ajustaron a la distribución normal (Shapiro-Wilk: $p < 0,05$) y a la homogeneidad de varianza (Levene: $p < 0,05$), la comparación de estos biomarcadores de citotoxicidad y genotoxicidad, entre los grupos expuesto y no expuesto, se hizo mediante la prueba U de Mann-Whitney.

9. RESULTADOS

9.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO

En la tabla 1 se muestran las características de los grupos de personas que se registraron mediante encuesta. Para las variables edad y tiempo de exposición, nivel de escolaridad, consumo de bebidas alcohólicas, irritación nasal, ardor de garganta, tos seca, obstrucción nasal y sequedad de la boca, no se encontró asociación estadísticamente significativa ($p > 0.05$) con el factor de exposición a plaguicidas, indicando semejanza entre los grupos.

Para ciertas variables relacionadas posiblemente con efectos adversos de la exposición, se halló diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.05$) entre expuestos y no expuestos. En el grupo expuesto se observó con mayor frecuencia: lagrimeo (70%); irritación ocular (60%); dolor de cabeza (65%), fatiga (55%); mareo (45%) y disminución de la memoria (35%).

9.2 PLAGUICIDAS DE USO FRECUENTE:

En la tabla 2 se presentan los plaguicidas de más uso en la zona. Dentro de los plaguicidas más usados ($\geq 80\%$) están furadan y curzate, seguidos por lorsban, gramoxone y agrotin; en su mayoría estos plaguicidas se encuentran dentro de los fungicidas.

9.3 EFECTO CITOTÓXICO:

En la tabla 3, se resume el IM promedio, con su respectiva medida de variabilidad y la respectiva prueba de significancia estadística. Del análisis comparativo se puede inferir que en el grupo expuesto el IM promedio es significativamente mayor ($p = 0.000$) que el registrado en el grupo no expuesto (ver imagen figura 1). Es decir, que la exposición a plaguicidas tiene efecto citotóxico posiblemente bloqueando el ciclo celular antes de la mitosis.

Tabla 1. Características de los Trabajadores Expuestos y No Expuestos a Plaguicidas.

| Variable | Nº de sujetos (%) | | Significancia: <i>P</i> |
|--|-------------------|-------------------|-------------------------|
| | Expuesto | No expuesto | |
| Edad (Media ± DT) | 37.90± 11.140 | 37.35 ± 10.384 | 0.829 ^a |
| Tiempo de exposición (Años) (Media ± DT) | 21± 10.761 | 0 | |
| Nivel de escolaridad | | | 0.558 ^b |
| Primaria incompleta | 5 (25%) | 3 (15%) | |
| Primaria completa | 6 (30%) | 8 (40%) | |
| Secundaria incompleta | 3 (15%) | 1 (5%) | |
| Secundaria completa | 6 (30%) | 8 (40%) | |
| Consumo de bebidas alcohólicas: | | | 0.343 ^c |
| SI | 12(60%) | 8(40%) | |
| NO | 8(40%) | 12(60%) | |
| Irritación nasal: | | | 0.514 ^c |
| SI | 9(45%) | 6(30%) | |
| NO | 11(55%) | 14(70%) | |
| Ardor de garganta: | | | 0.205 ^c |
| SI | 13(65%) | 8(40%) | |
| NO | 7(35%) | 12(60%) | |
| Tos seca: | | | 0.301 ^c |
| SI | 4(20%) | 8(40%) | |
| NO | 16(80%) | 12(60%) | |
| Obstrucción nasal: | | | 1 ^c |
| SI | 5(25%) | 6(30%) | |
| NO | 15(75%) | 14(70%) | |
| Sequedad de la boca: | | | 0.451 ^c |
| SI | 3(15%) | 6(30%) | |
| NO | 17(85%) | 14(70%) | |
| Lagrimo: | | | <0.001 ^c |
| SI | 14(70%) | 1(5%) | |
| NO | 6(30%) | 19(95%) | |
| Irritación ocular: | | | <0.001 ^c |
| SI | 12(60%) | 0 | |
| NO | 8(40%) | 20(100%) | |
| Dolor de cabeza: | | | 0.003 ^c |
| SI | 13(65%) | 3(15%) | |
| NO | 7(35%) | 17(85%) | |
| Fatiga: | | | 0.001 ^c |
| SI | 11(55%) | 1(5%) | |
| NO | 9(45%) | 19(95%) | |
| Mareo: | | | 0.008 ^c |
| SI | 9(45%) | 1(5%) | |
| NO | 11(55%) | 19(95%) | |
| Disminución de la memoria: | | | 0.044 ^c |
| SI | 7(35%) | 1(5%) | |
| NO | 13(65%) | 19(95%) | |

^aDeterminado por la prueba t-student

^bDeterminado por la prueba Chi cuadrado de Pearson

^cDeterminado por el estadístico exacto de Fisher

Tabla 2 Plaguicidas más representativos utilizados en el cultivo de papa en este trabajo de investigación.

| Tipo | Plaguicidas utilizados en el cultivo de papa | clasificación | n | % |
|-------------|--|-----------------|----|----|
| Surfactante | Agrotin | Aditivo | 17 | 85 |
| Fungicida | Curzate | Ditiocarbamato | 18 | 90 |
| Fungicida | Dithane | Ditiocarbamato | 14 | 70 |
| Fungicida | Mancozeb | Ditiocarbamato | 16 | 80 |
| Fungicida | Antracol | Ditiocarbamato | 14 | 70 |
| Fungicida | Previcur | Ditiocarbamato | 12 | 60 |
| Fungicida | Ridomil | Ditiocarbamato | 16 | 80 |
| Insecticida | TMTD Metamidofos | Organofosforado | 4 | 20 |
| Insecticida | Curacron | Organofosforado | 2 | 10 |
| Insecticida | Lorsban | Organofosforado | 17 | 85 |
| Insecticida | Carbofuran | Carbamato | 6 | 30 |
| Insecticida | Furadan | Carbamato | 18 | 90 |
| Herbicida | Gramoxone | Bipiridilo | 17 | 85 |

n= N° de personas expuestas al plaguicida

Tabla 3 Índice mitótico del grupo expuesto y no expuesto

| GRUPO | IM $X^* \pm E.E$ |
|--------------|--|
| Expuesto | 0.1426 ± 0.00750 |
| No expuesto | 0.1936 ± 0.00972 |
| P | 0.000 |

- Promedio de 20 personas por grupo, resultado de analizar 1000 células por persona. **E.E** = Error estándar.



FIGURA 1. Células en metafase que muestra el efecto citotóxico, bajo índice de proliferación celular.

9.5 EFECTO GENOTÓXICO:

En la tabla 4 se muestra que las rupturas cromosómicas, cromatídicas y en general la frecuencia total de alteraciones cromosómicas, tuvo una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre los grupos expuesto y no expuesto.

Tabla 4 Rupturas cromatídicas, cromosómicas y frecuencia total de AC

| Variable | Grupo | | Significancia: <i>P</i> |
|--|------------------|------------------|-------------------------|
| | Expuesto | No expuesto | |
| Rupturas cromatídicas /100 células (Media* \pm DT) | 2.15 \pm 1.927 | 0.15 \pm 0.366 | <0.001 ^a |
| Rupturas cromosómicas /100 células (Media* \pm DT) | 1.20 \pm 1.056 | 0.15 \pm 0.489 | <0.001 ^a |
| Frecuencia total de AC/100* células | 3.35 \pm 2.498 | 0.30 \pm 0.801 | <0.001 ^a |

^aDeterminado por la prueba U de Mann-Whitney

- Número promedio de AC obtenido del análisis de 20 personas por grupo. Cien metafases analizadas por persona. DT= Desviación típica.

En el grupo expuesto la frecuencia total de alteraciones cromosómicas fue once veces mayor que el registrado en el grupo no expuesto, indicando un efecto genotóxico muy alto por acción de la exposición a plaguicidas.

De los dos tipos de alteraciones, las cromatídicas fueron las que más se incrementaron en el grupo de los expuestos. En cambio, en el grupo no expuesto, la relación de rupturas cromatídicas y cromosómicas es uno a uno (ver imagen figura 2).

Mediante análisis de correlación de Pearson, no se encontró asociación lineal significativa entre la frecuencia total de alteraciones cromosómicas y la edad ($R=0.654$; $p = 0.728$), ni con el tiempo de exposición ($R=0.961$; $p = 0.812$).

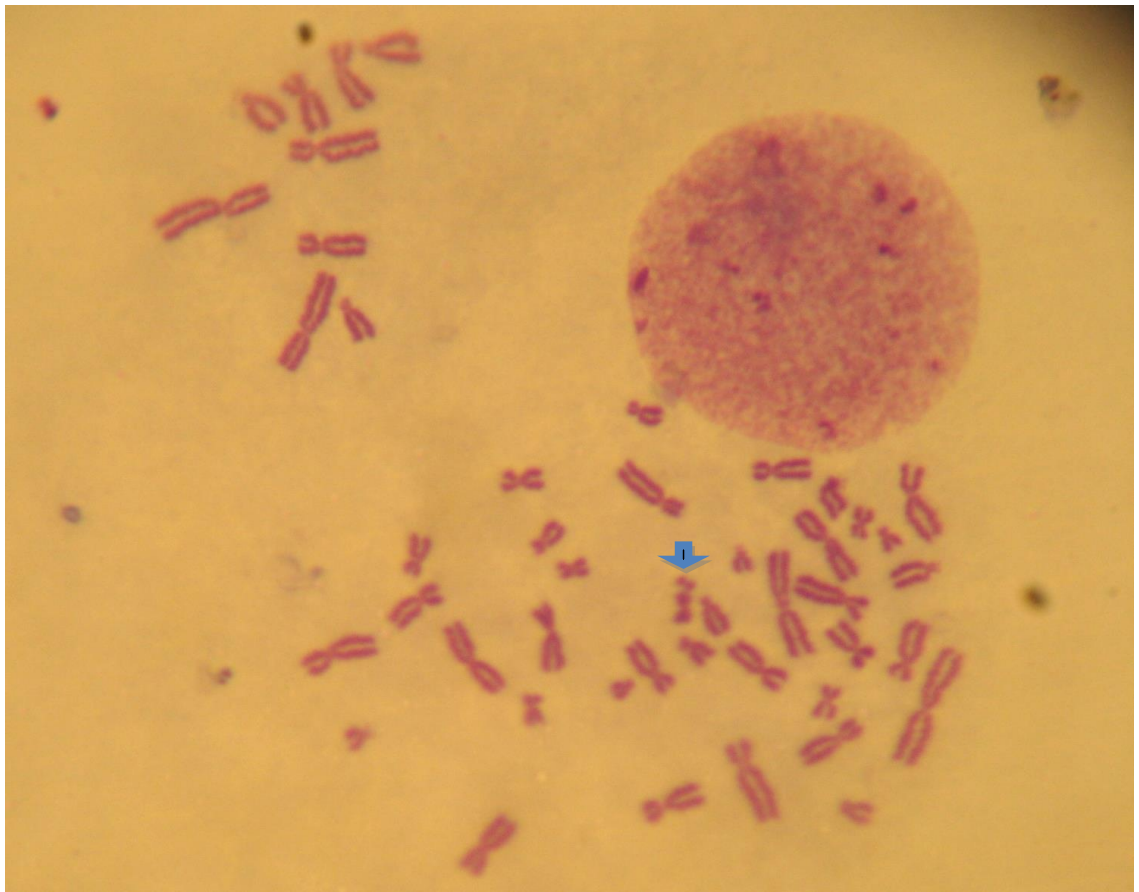


FIGURA 2 Quiebre cromosómico

10. DISCUSIÓN

10.1 Principales afecciones ocasionadas por el uso de plaguicidas:

En este estudio las dolencias más frecuentes asociadas al grupo de los expuestos fueron: lagrimeo, irritación ocular, dolor de cabeza, fatiga, mareo y disminución de la memoria; es de suponer que estas afecciones se deriven de la acción dañina de algunos plaguicidas utilizados, en especial de los de mayor uso (curzate, dithane, mancozeb, gramoxone, furadan, lorsban).

Al revisar la bibliografía se encontró que la relación de los plaguicidas con algún tipo de efecto a la salud de las personas expuestas a plaguicidas es un hecho bien documentado durante los últimos treinta años, en acuerdo con los resultados de esta investigación (Olea *et al.* 1996, Parron *et al.* 1996, Condarco *et al.* 2002, Pastor 2002, Hoja de seguridad fungicida Mancozeb. 2003, Montiel 2004, Ames *et al.* 1993, www.fuchsiarama.com/pensarlo.htm-93k, FMC agroquímica de México, Dupont México, S.A., González *et al.* 1982, Iglesia *et al.* 2007, Labrada *et al.* 1996, Revista organofosforados, Agencia para sustancias toxicas y enfermedades 1997, FMC Agroquímica de México 2006, Ministerio de Salud 1998).

Montiel, 2004, menciona en su artículo de “plaguicidas y salud” que el tiempo que pasa desde el contacto con el plaguicida hasta la aparición de los síntomas varía mucho de unos casos a otros, dependiendo del tipo de producto, de la vía de ingreso, la edad, el sexo, la contextura, predisposición, el peso y talla, variando desde pocos minutos hasta días. Según lo expuesto anteriormente se puede comparar con los datos presentados en este estudio pues hay variaciones entre las personas expuestas; así, como los cuadros clínicos que pueden presentarse, ejemplo: algunos puede iniciar con sensación de malestar, náuseas, mareos, dolor de cabeza, molestias digestivas, debilidad, siguiendo con visión borrosa, náuseas, vómitos, temblores musculares, calambres y dolores abdominales, sudoración profusa, diarrea, etc.

Al igual que el furadan, el curzate presenta algún tipo de afección a la salud de las personas expuestas; el curzate es una acetamida (cymoxanil), más un ditiocarbamato (mancozeb) cuyos principales síntomas por intoxicación leve son: mareo, dolor de cabeza, tos, confusión, falta de coordinación y pérdida del conocimiento, irritación y molestias de la piel o comezón, molestias de los ojos, lagrimeo y visión borrosa (DuPont México, s.a. de c.v. 2002). El clorpirifos conocido comercialmente con el nombre de lorsban, según la Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades (1997)., indica que en personas, la exposición por poco tiempo (un día) a niveles bajos (miligramos) de clorpirifos, puede causar mareos, fatiga, secreción nasal, lagrimeo, salivación, náusea, molestia intestinal, sudor y cambios en el ritmo cardíaco.

Madeley, 2002, mediante información recogida por encuesta de personas expuestas a paraquat en plantaciones de banano en Honduras, encontró un incremento en problemas como: tos, molestias en los ojos, diarrea, irritación en la piel, dolor de cabeza, náusea, rinitis, infecciones en la garganta y dificultades respiratorias. De acuerdo con la Environmental Protection Agency (EPA) de Estados Unidos (2002), el paraquat ocasiona irritación moderada a severa en los ojos. Entre los daños en ojos se incluye la blefaritis (inflamación de los ojos), conjuntivitis, ulceración o queratosis (crecimiento de una especie de verruga) de la cornea. También puede ocurrir hemorragia nasal. Se han reportado lesiones en piel, uñas y ojos, incluidas lesiones en menores de edad.

Un estudio realizado en la Vereda Quebrada Vieja del Municipio de Soracá-Boyacá, sobre educación en salud para los cultivadores de papa que se encontraban expuestos a agroquímicos, mostró que un 50-60% de las personas presentaron Intoxicación ligera con síntomas como: debilidad, dolor de cabeza, vértigos, náuseas, salivación, lagrimeo, miosis, espasmo bronquial moderado (Barón y Pedraza 2007).

La información antes descrita muestra que las afecciones padecidas por las personas expuestas a plaguicidas, tienen similitud a la exposición de las personas dedicadas a las fumigaciones en cultivos de papa en el municipio de Totoró, ocasionadas por la utilización del plaguicida solo, o en mezcla. Según EJF, 2003, así como hay efectos que se pueden manifestar en corto tiempo, también se presentan efectos crónicos dados por una exposición prolongada, que incluyen pérdida de memoria y concentración, desorientación, depresión severa, irritabilidad, confusión y dolor de cabeza

10.2 Plaguicidas más utilizados según su estructura química:

Los resultados de esta investigación muestran que los plaguicidas más utilizados según su estructura química y el tipo de organismos que atacan son: carbamatos, organofosforados, bupiridilos y, en especial, los fungicidas ditiocarbamatos

El efecto que presentan los plaguicidas según su estructura química y el organismo sobre el que actúan puede variar. Cuando los plaguicidas se aplican en forma de mezcla pueden actuar en forma sinérgica y ocasionar un mayor daño a las personas que los manejan (fumigadores de cultivos de papa). Cada uno de los plaguicidas sufre un proceso de biotransformación diferente y este puede variar entre los individuos, según su constitución genética (http://aguas.igme.es/igme/publica/libro28/pdf/lib28/2_accion.pdf).

En esta investigación, los fungicidas ditiocarbamatos fueron los más utilizados por los fumigadores en los cultivos de papa. Se ha manifestado que el potencial que tienen los fungicidas para causar efectos adversos en los humanos puede variar

enormemente. Aparte de los envenenamientos sistémicos, son responsables de daños irritantes a la piel, las membranas mucosas, ojos y sensibilización cutánea (Condarco *et al.* 2002).

Los ditiocarbamatos más representativos en esta investigación fueron: Curzate, Dithane, Antracol, Previcur, Ridomil y Mancozeb, estos son derivados de la amina del ácido ditiocarbámico o el ácido ditiocarbónico (Laboive *et al.* 1999), comprenden varias subclases: Bis-ditiocarbamatos (Thiram), metalo-bis-ditiocarbamatos (ziram, contienen zinc; ferban contiene hierro), etileno-bis-ditiocarbamatos (maneb que contiene manganeso, zineb que contiene zinc), se conocen comercialmente con el nombre de antracol, dithane y mancozeb, manzate (Condarco *et al.* 2002). Los anteriores, se absorben principalmente por el tracto digestivo, respiratorio, y la piel intacta; el proceso de biotransformación ocurre cuando es ingerido y comprende la degradación inicial del compuesto en el tracto gastrointestinal en donde se reduce a ácido carbámico, el cual se absorbe aceleradamente y se metaboliza por las enzimas hepáticas; parte del ácido se excreta como un glucoronido, mientras que otra porción es metabolizada y libera disulfuro de carbono (CS₂). Los dimetil-ditiocarbamatos se pueden degradar a dimetil-tiocarbamatos, sulfatos y formaldehído mediante reacción de metilación y oxidación de los tejidos corporales, el ácido dimetil-tiocarbamato se elimina como un glucoronido. (Condarco *et al.* 2002).

En esta investigación, el siguiente grupo de compuestos químicos identificados son los carbamatos, entre los cuales se destacan: Furadan y Carbofuran que son ésteres derivados de los ácidos N-metil o dimetil carbámico, que se emplean como insecticidas, herbicidas, fungicidas y nematocidas (Martínez *et al.* 2007). Estos presentan una actividad inhibitoria de la colinesterasa (Pineda 2007, Varona *et al.* 2003). Su biotransformación se realiza a través de tres mecanismos básicos: hidrólisis, oxidación, y conjugación (Condarco *et al.* 2002); los carbamatos inhiben la acetilcolinesterasa, en este caso la acción es más rápida y la cinética de bloqueo es a través de la carbamitación de la enzima mediante la unión covalente de los grupos electrofílicos carbamoilo en los sitios estéricos de la enzima (Moutchem-Dahmen *et al.* 1984).

Los organofosforados más destacados, identificados en esta investigación, fueron: Lorsban, TMTD Metamidofos y Curacron, que son ésteres derivados del ácido fosfórico (unión de un ácido y un alcohol) (Martínez *et al.* 2007). El proceso de biotransformación se lleva a cabo mediante las enzimas oxidasas, hidrolasas y glutatión-s-transferasa, principalmente hepáticas, y pueden dar como resultado metabolitos más tóxicos. Actúan principalmente 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).

En esta investigación, el Gramoxone fue el bupiridilo más usado es un herbicida sólido, insípido muy soluble en agua. El Gramoxone es el nombre comercial del paraquat. En su forma líquida, el paraquat se utiliza como herbicida de contacto para destruir las partes verdes de las plantas en presencia de la luz solar, la vía de absorción más importante en los humanos es la digestiva, puesto que es la más frecuentemente involucrada en casos de intoxicación (accidental o suicida); el paraquat puede ulcerar tanto la piel como la mucosa respiratoria, pudiéndose incrementar su absorción por estas vías (Madeley 2002).

El problema de los plaguicidas, no se limita a las personas que tiene contacto con él, sino que involucra también a otras personas que nada tienen que ver con su manejo, como los consumidores de los productos tratados, comunidades cercanas a las áreas de aplicación o de depósito y el medio ambiente, en sus componentes bióticos (flora y fauna) y abióticos (agua, aire, suelo) (Nivia 2002.).

10.3 Efecto citotóxico de los plaguicidas:

Se encontró diferencia estadísticamente significativa en la proliferación celular de los linfocitos, entre el grupo expuesto y no expuesto, mostrando que los plaguicidas utilizados en las fumigaciones en los cultivos de papa tienen algún efecto que retrasa el ciclo celular, disminuyendo el índice mitótico. Se ha observado que en las diferentes exposiciones a agentes potencialmente nocivos, las células son las primeras que se afectan alterando su ciclo. El daño citogenético ocasiona cambios y alteraciones en el número o la estructura de los cromosomas y ha sido posible determinar alteraciones que se manifiestan mediante cambios en la cinética de proliferación celular, lo que puede ser evaluado y observado durante la mitosis (Zhurkov y Yakovenko 1976, Pearson *et al.* 1981, Rupa *et al.* 1989, Diaz *et al.* 1990).

Se han encontrado resultados similares en otras investigaciones, corroborando que la exposición a plaguicidas puede influir en la cinética de proliferación celular reduciendo la proliferación de los linfocitos, como se observó en el estudio realizado por Pastor, 2002, quien encontró que la proliferación celular de células binucleadas, de 478 individuos expuestos a plaguicidas, mostró un descenso significativo del Índice de proliferación celular, respecto a los no expuestos (Pastor 2002, Amarin *et al.* 2000). También hay constancia de que la exposición a plaguicidas podría retrasar la proliferación celular (Rupa *et al.* 1991, Pasquini *et al.* 1996). Soloneski, 2003, analizó el efecto del fungicida ditiocarbámico zineb, reportando un incremento significativo en la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas, alteraciones en la cinética de proliferación celular y en el índice mitótico, tanto en células CHO como en linfocitos humanos cultivados *in vitro*.

Se ha manifestado que el daño del Paraquat a las células se debe principalmente a la peroxidación lipídica de la membrana, reduciendo al transportador de

electrones NADP, nucleótido que luego es reducido por el oxígeno molecular, formando superóxidos que luego, por un proceso de oxidorreducción (en donde participan grupos metálicos), se convierten en peróxidos; estos peróxidos, al descomponerse en grupos oxidrilo (por acción de una enzima peróxido dismutasa), van a oxidar a los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana de los diferentes organelos celulares, perdiendo con ello la permeabilidad de la membrana con el consiguiente cese de transporte de membrana y luego, muerte celular. Este proceso se conoce con el nombre de peroxidación lipídica. En el metabolismo celular se están produciendo diferentes radicales libres y la célula tiene su propio sistema de defensa ante los radicales superóxidos y peróxidos: la enzima superóxido dismutasa y el ciclo del glutati6n permiten convertir estos radicales en agua; pero en la intoxicaci6n, estos radicales est1n extremadamente aumentados y debido a ellos, estos mecanismos fisiol6gicos se agotan (Madeley 2002).

Aunque la genotoxicidad de los plaguicidas est1 todav1a poco definida, algunas sustancias presentes en ellos pueden tener efectos genot6xicos o causar da1os indirectos al ADN favoreciendo la formaci6n de radicales libres oxigenados (Vega et al. 2006).

10.4 Relaci6n entre la frecuencia de alteraciones cromos6micas (AC) y la exposici6n a plaguicidas:

En esta investigaci6n se presentaron macromutaciones ya que se identific6 un gran n1mero de rupturas cromos6micas; en el grupo expuesto la frecuencia total de alteraciones cromos6micas fue once veces mayor que el registrado en el grupo no expuesto, indicando un efecto genot6xico muy alto por acci6n de la exposici6n a plaguicidas. En el transcurrir del tiempo se ha incrementado la atenci6n sobre la probable carcinogenicidad y mutagenicidad causada por la exposici6n prolongada a plaguicidas. La importancia de las investigaciones en citogen6tica radica en el reconocimiento temprano de factores carcinog6nicos, mutag6nicos, y teratog6nicos, en individuos ocupacionalmente expuestos a agentes genot6xicos (Nehez et al. 1981).

Diferentes estudios realizados a nivel mundial presentan resultados similares a los obtenidos en esta investigaci6n, estableciendo que los plaguicidas tienen efecto genot6xico para los individuos expuestos, ya sea en forma ocupacional o accidental (IARC 1991, Solans y Hernandez 2000).

Adem1s de han implementado diversos m6todos *in vivo* e *in vitro*, mostrando que los plaguicidas tales como herbicidas, insecticidas y fungicidas, ejercen efectos mutag6nicos (Piperakis et al. 2003); a su vez se ha reportado que la mezcla de plaguicidas es mas t6xica para los humanos que la exposici6n a un solo plaguicida (Mart1nez 2007). En diferentes estudios se eval1an los efectos de los plaguicidas mediante biomarcadores consistentes en cambios bioqu1micos, fisiol6gicos o

morfológicos medibles, que se producen en un sistema biológico y se interpreta como reflejo o marcador de la exposición a un agente tóxico (Garte y Bonassi 2005).

Estudios de biomonitorio realizados en individuos expuestos a plaguicidas, muestran un aumento en la frecuencia de AC (Paldy *et al.* 1989, De Ferrari *et al.* Rupa *et al.* 1989, Bolognesi 1993). Tal es el resultado de la exposición a un solo tipo de plaguicida, como Fosfina, fungicida que mostró respuesta positiva en cuanto al incremento de AC. A su vez, muchas otras investigaciones por exposición a mezclas de plaguicidas, también presentaron resultados positivos, principalmente mezclas entre: carbamatos, ditiocarbamatos, organofosforados, piretroides, fungicidas y acaricidas, entre otros (Nehez *et al.* 1989, Koukaris *et al.* 1996, Amr 1999, Bolognesi *et al.* 1993, Carbonell *et al.* 1993, Dulout *et al.* 1985, Au *et al.* 1999, Antonucci y Colus 2000, Paz *et al.* 2002, Garaj-Vrhovac *et al.* 2002, Kaioumova *et al.* 1998, Cuenca *et al.* 2004).

Las AC se han encontrado frecuentemente en las células cancerosas, en los productos de abortos espontáneos y en muchos individuos con desordenes del desarrollo. La fuerte asociación que existe entre AC y la formación de tumores, hace que su análisis en poblaciones de alto riesgo, se considere un método apropiado para estudiar clastogenicidad y un buen predictor de carcinogenicidad (Nordenson *et al.* 1984, Sorsa *et al.* 1992, Hagmar *et al.* 1994, 1998, Au *et al.* 1999, Preston 1999, Bonassi y Au 2002).

Los plaguicidas organofosforados han mostrando que tienen propiedades alquilantes, puesto que actúan directamente sobre el ADN añadiendo grupos alquilo, principalmente metilo y etilo, a las bases nitrogenadas que tienen grupos nucleofílicos capaces de reaccionar con los electrófilos (Martinez 2007, Preussman *et al.* 1969, Fest y Shmid 1973, Wild 1975). Además, está relacionado con efectos mutagénicos: intercambio de cromátidas hermanas en fibroblastos de pulmones embrionarios humanos, generalmente en una sola cadena del ADN, si se da en las dos cadenas ya es irreversible; mutagenesis en células somáticas y germinales en *Drosophila* (mosca de la fruta); efectos teratogénicos en ratas albinas; efectos carcinogénicos y linfoma no Hodgkin en trabajadores agrícolas (<http://lbuvsde.per.paho.org/tu>).

También se ha reportado que el Paraquat tiene una potencial actividad carcinogénica y mutagénica, además efectos neurotóxicos, alteraciones en la función reproductora, reducción en el índice de producción espermática e incrementa el número de producción espermática patógena (Madeley 2002).

Un estudio realizado por Sarbani *et al.* 2002, evaluando el carbamato carbosulfan, mostró que es un potente agente genotóxico y un potencial mutágeno de células germinales en ratones.

Lo anteriormente expuesto muestra la relación directa de los plaguicidas con el incremento de alteraciones cromosómicas, y la efectividad de este biomarcador de efecto temprano, como predictor de algún efecto en la salud tales como: el desarrollo de algún tipo de cáncer, alteraciones en la reproducción y en el comportamiento, entre otros. Alteraciones que han sido reportadas por diferentes autores enfocados en mitigar los problemas ocasionados por el uso indiscriminado de plaguicidas (Sánchez 1992).

En esta investigación no se encontró asociación lineal significativa entre la edad (años) y el tiempo de exposición a plaguicidas con la frecuencia total de alteraciones cromosómicas, esto puede deberse a las diferentes variables que influyen en los resultados, tales como el tipo de plaguicida, la intensidad de la exposición (Au *et al.* 1997), y sobre todo la variabilidad genética en cuanto a los polimorfismos y mecanismos de biotransformación de los plaguicidas, dado por las diferentes enzimas involucradas en cada proceso.

Resaltando que diferentes estudios muestran resultados significativos en cuanto a la exposición a plaguicidas y un posible efecto a la salud, células, órganos y a el ADN de las personas expuestas, también se muestran estudios no estadísticamente significativos, poniendo en manifiesto que se pueden presentar variantes entre investigaciones, ya sea por la diferencia entre las poblaciones, o por la susceptibilidad genética, variabilidad genética, mecanismos de detoxificación, polimorfismos genéticos, entre otros.

Se destaca entre estos, el de Hoyos *et al.* (1996) ya que fue analizado en la misma unidad de Toxicología Genética, este se realizó en Paletará y Coconuco (Cauca), aunque la población analizada al igual que el de esta investigación estaba expuesta a plaguicidas en cultivos de papa, esta no presentó diferencia significativa. La variación en los resultados pudo deberse a diferentes factores: primero, aunque las dos poblaciones se encuentran dentro del departamento del Cauca y en su mayoría son territorios indígenas. estas poblaciones son dos etnias totalmente diferentes, estudios etnoeducativos los demuestran (Afanador y Parra 1998, Calero *et al.* 1992), no presentan lazos que los unan en el pasado, ya que los Coconucos se han relacionado con la ascendencia Nasa (Páez); y los Totoroes se encuentran relacionados con los Misak (Guambianos). Los primeros aún conservan su lengua tradicional y son monolingües, los Totoroes son bilingües (Cerón *et al.* 1996); estos territorios fueron antiguamente colonizados y están en proceso de recuperación de sus tradiciones; aunque las etnias son diferentes en cuanto a historia, tradición y vivencias es posible que también presenten diferencias genéticas, diferencias en los mecanismos de reparación celular, al igual que mecanismos de detoxificación que puedan ocasionar algún tipo de alteración cromosómica, estas diferencias no se encuentran descritas en ninguna investigación, por lo queda abierta la inquietud para la realización de un estudio que plantee las posibles diferencias genéticas, relacionadas con sus hábitos de vida, alimentación y costumbres.

Así a nivel mundial también se presentan diferentes variaciones entre los estudios, pudiéndose deber a la susceptibilidad genética como un mecanismo para explicar los efectos en la salud de los trabajadores, variación en los resultados entre grupos raciales y resultados mixtos en estudios epidemiológicos. La presencia de un incremento en la susceptibilidad a los plaguicidas y sus efectos en la salud, es un fuerte argumento para una reducción general del uso y exposición humana a los plaguicidas (Protocolo de intoxicaciones por sustancias químicas 2007).

La caracterización genotípica está adquiriendo mayor importancia en la interpretación de los procesos carcinogénicos. Se intenta comprender porque los individuos reaccionan de manera diferente frente a la exposición de un mismo compuesto, lo cual pone en evidencia las diferencias entre los procesos 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, Martínez *et al.* 2007).

Aunque los biomarcadores tienen numerosas ventajas, la variabilidad es una preocupación importante. La variabilidad se aplica con independencia de si el biomarcador representa un riesgo o efecto modificador, un sustituto de la enfermedad o una indicación de susceptibilidad; por lo tanto, es de gran importancia tener en cuenta otras variables que permitan conocer más a fondo por que se dan dichos procesos no homogéneos en persona ocupacionalmente expuestas, y que en el momento de selección para el estudio, poseen características aparentemente similares.

El mal uso y abuso de plaguicidas muestra la necesidad de seguir realizando estudios, que permitan conocer a fondo los genes del metabolismo que le confieren la variabilidad a cada uno de las personas que se dedican a las fumigaciones en el cultivo de papa. Este estudio es un bosquejo global de la actual situación que silenciosamente se puede estar presentando en este municipio y en general a las personas que se dedican a ese cultivo y al uso indiscriminado de plaguicidas.

11. CONCLUSIONES

Se encontró asociación significativa entre la exposición a plaguicidas y enfermedades tales como lagrimeo, irritación ocular, dolor de cabeza, fatiga; mareo y disminución de la memoria.

Se identificó efecto citotóxico inducido por la exposición a plaguicidas en linfocitos, ya que se observó una disminución significativa en la proliferación celular, en el grupo expuesto en comparación con el grupo no expuesto.

Se identificó efecto genotóxico inducido por la exposición a plaguicidas, ya que la frecuencia de AC fue significativamente mayor en el grupo expuesto que en el grupo no expuesto.

No se halló asociación estadísticamente significativa entre la frecuencia de AC y variables cuantitativas como edad (años) y tiempo de exposición (años).

Se determinó que los plaguicidas de mayor uso por los cultivadores de papa del Municipio de Totoró fueron: Agrotin, Curzate, Manconzeb, Previcur, Ridomil Gramoxone, Furadan y Lorsban.

12 IMPACTO

Se mostró a la comunidad, la importancia de realizar investigaciones de carácter científico sobre los diversos productos que se están empleando en las fumigaciones de los cultivos de papa, creando así una conciencia reflexiva sobre su utilización.

Mediante la socialización de estos resultados se espera tener un Impacto en salud ocupacional, que se derive de la concientización que se logre a nivel de la institución administrativa del Municipio (Alcaldía) y de las instituciones de Salud Pública, para que planeen y ejecuten políticas para un uso racional y adecuado de plaguicidas,

A nivel de la Universidad del Cauca:

Contribuir con el establecimiento de una base de datos y material fotográfico sobre los daños que a nivel del material genético se inducen por la exposición a plaguicidas en los sitios de trabajo. Esta base de datos y fotografías serán un instrumento científico para el planeamiento y ejecución de continuas charlas que sirvan para concientizar a las personas y a los entes administrativos con el fin de que se implementen políticas de prevención en salud ocupacional.

13. RECOMENDACIONES

A las personas que se dedican al cultivo de papa y en especial a las que realizan las fumigaciones que eviten el contacto directo con los plaguicidas, se les recomienda que usen el equipo de protección adecuado para el desempeño de su labor, no transporten alimentos en los envases que contenían plaguicidas, no quemar estos envases, si no diseñar lugares que se destinen como centros de acopio para su recolección, y se les dé un manejo posterior por personal especializado en lugares idóneos ya establecidos con este fin.

Se recomienda, si es posible, adoptar mecanismos propuestos por los tipos de agricultura alternativa, tales como:

- “Manejo integrado de plagas (MIP), que reduce la necesidad de pesticidas mediante la rotación de cultivos, muestreos periódicos, registros meteorológicos, uso de variedades resistentes, sincronización de las plantaciones o siembras y control biológico de plagas” (Martínez M., 2004).
- “Sistemas de manejo para mejorar la salud vegetal y la capacidad de los cultivos para resistir plagas y enfermedades” (Martínez M., 2004).
- “Técnicas conservacionistas de labranza de suelo” (Martínez M., 2004).
- “Sistemas de producción animal que enfatizan el manejo preventivo de las enfermedades, reducen el uso de confinamiento de grandes masas ganaderas, bajan los costos debido a enfermedades y disminuyen la necesidad del uso de niveles subterapéuticos de antibióticos” (Martínez M., 2004).
- “Mejoramiento genético de cultivos para que resistan plagas y enfermedades y para que logren un mejor uso de los nutrientes” (Martínez M., 2004).

BIBLIOGRAFIA

Abell A, Juul S, Bonde JP. Time to pregnancy among female greenhouse workers, Seand. JWork Environ Health, 131-136, 2000.

Agencia para sustancias tóxicas y enfermedades, http://www.atsdr.cdc.gov/es/es_index.html ,1997.

Albertini RJ, Nicklas JA, ONeil Jp. Future research directions for evaluating human genetic and cancer risk from environmental exposures. Environ. Health Perspect., 503-510,2002.

Ames BN., Profet M., Swirsky L, Dietary pesticides; Proceedings National academy of science, USA, 1993.

Amorín E, Guerrero I, Rodríguez W, Mejía R, Chang A. Oncoproteínas virales, apoptosis y proliferación en la carcinogénesis de pulmón: E6-E7, P53, BCL- 2,BAX y PNCA. Acta Cancerológica, 32 (1): 22-27, 2002.

Amr,M.M. Pesticide monitoring and its health problems in Egypt, a Third World country. Toxicol. Lett., 107, 1–13, 1999.

Antonucci,G.A. and Colus,I.M. Chromosomal aberrations analysis in a Brazilian population exposed to pesticides. Teratog Carcinog Mutagen.20(5):265-72, 20, 2000.

Arbuckle TE, Sever LE. Pesticide exposure and fetal death: a review of the epidemiologic literature. Rev.Critical Reviews in Toxicology, Volume 28, pages 229 - 270 ., 1998.

Au, W., Sierra-Torres C.H., Cajas-Salazar N., Shipp B.K. &. Legator M. S. Cytogenetic effects from exposure to mixed pesticides and the infkluence from genetic susceptibility. Environ. Health Perspect. 107: 501-505, 1999.

Baeshin, N.A. and Qari, S.H. Combined genotoxic and Cytotoxic effects of cadmium chloride and Carbofuran in root meristems of Vicia faba. Saudi, J. Bio. Sci. 10(1):107-119, 2003.

Bajaj JS, Misra A, Rajalakshmi M, Madam R. Environmental Release of Chemicals and reproductive ecology. Environ. Health Perspect. 101(suppl-2) 125-130, 1993.

Ballantyne, B. Et. Col. General and Applied Toxycology. Stockton Press, New York, 1994.

Barón G, Pedraza CP. Educación en salud para los cultivadores de papa de la Vereda Quebrada Vieja del Municipio de Soracá-Boyacá que se encuentran expuestos a agroquímicos. Biblioteca Lascasas, 3 (1). Disponible en <http://www.index-f.com/lascasas/documentos/lc0191.php>, 2007.

Blair A, Zahm SH. Agricultural exposures and cancer. *Environ. Health perspect*, (25) 1125-1131, 1995.

Boletín Censo General perfil Totoró-Cauca, (DANE)., www.dane.gov.co 2005.

Bolognesi,C., Parrini,M., Bonassi,S., Ianello,G. and Salanitto,A. Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat. Res.*, 285, 239–249, 1993.

Bonassi, S. & W.W. Au. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat. Res.* 511: 73-86, 2002.

Bonassi S, Ugolini D, Kirsh-Volders M, Strömberg U, Vermeulen R, Tucker J. Human Population studies with Cytogenetic Biomarkers: Review of the literature and future prospective. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 45: 258-270, 2005.

Brown LM, Blair A, Gibson R, Everett GD, Cantor KP, Schurman LM, Burmeister LF, Can Lier SF, Dick F, Pesticide exposure and other agricultural risk factors for leukemia among men in low an Minnesota, *Cáncer – Research* 1990.

Bull S, Fletcher K, Boobis R, Battershill J.M. Evidence for genotoxicity of pesticides in pesticide applicators: a review. *Mutagenesis* vol. 21 no. 2 pp. 93–103, 2006

Carbonell E., Xamena N., Creus A., Marcos R., Cytogenetic Biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis*, 8 511-517, 1993.

Ceron C., López C., Mamian D., Oliveros D., Pachón X., Wiesner L., Zambrano V., Geografía humana de Colombia, Región Andina Central, Instituto Colombiano de Cultura Hispanica, tomo IV-volumen 1, ISBN 958-9004-36-9, pp 181-218, 1996.

Condarco G y Jors E, Diagnóstico, tratamiento y prevención de intoxicaciones agudas por plaguicidas, proyecto PLAGBOL, La Paz-Bolivia www.plagbol.org.bo/files/boletin%20nº3.pdf, 2002.

Costa C, Teixeira J, Silva S, Torres J, Coelho P, Gaspar J, Alves M, Laffon B, Rueff J, Mayan O. Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis* vol. 21 no. 5 pp. 343–350, 2006

Costantini AS, Miligi L, Kriebel D, Ramazzotti V, Rodella S, A multicenter case-control study in Italy on hematholymphopoietic neoplasms and occupation. *Epidemiology*, 2001.

Cuenca P, Ramírez V. Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas a plaguicidas. Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 52 (3): 623-628, 2004

Daniel V, Huber W, Bauer K, Suesal C, Mytilineos J, Melk A, Conrad C, Opelz G. Association of elevated blood levels of pentachlorophenol (PCP) with cellular and humoral immunodeficiencies, *Arch. Environ. Health*, 2001.

De Ferrari M., Artuso M., Bonassi S., Cavalieri Z., Pescatore D., Marchini E., Pisano V. y Abbondandolo A. Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat. Res.* 260, 105-113, 1991.

Díaz S., Fonseca G. y Fernández I. Analysis of lymphocyte and oral mucosa cell micronuclei in Cuban paint industry workers. *Hereditas* 113, 77-80, 1990.

Dulout, F.N., M.C. Pastori, A.O. Olivero, M. González Cid, D. Loría, E. Matos, N. Sobel, E.C. de Buján & N. Albiano. Sisterchromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. *Mut. Res.* 143: 237-244, 1985.

Dupont México, Hoja de seguridad de agroquímicos, S.A., www.cosmocel.com.mx, 2002.

Environmental Protection Agency (EPA), <http://www.paraquat.com/Default.aspx?tabid=693&pid=21>, 2002.

FMC Agroquimica de Mexico www.agromich.com/productos.php, 2006,

Falck F Jr, Ricci A Jr, Wolf MS, Godbold J, Deckers P. Pesticides and polycrorinated biphenil residues in human breast lipids and their relation to breast cancer. *Arch. Environ. Health*, 1992.

Fenske RA, Kedan G, Lu C, Fisker-Andersen JA, Curl CL. Assessment of organophosphorus pesticide exposures in the diets of preschool children in Washington state, 2002.

Fest C. y Schmidt K.J. The chemistry of organophosphorus pesticides. Springer-Verlag. pp. 122-135, Nueva York, 1973.

Ficha técnica del DDT, Departamento de Salud de Estados Unidos y Agencia de Servicios Humanos para el Registro de Sustancias Tóxicas y Enfermedades,

septiembre de 1995, <http://www.atsdr.cdc.gov/2p-about-atsdr.html>

Fukuto T.R. Relation ship between the structure of organophosphorus compounds and their activity as acetilcholinesterase inhibitors. Bull WHO 44, 31, 1971.

Garaj-Vrhovac V, Zeljezic D. Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and Comet assay. J. Appl.Toxicol. 22:249-55, 2002.

Garte S. y Bonassi S. Linkining toxicology to epidemiology: biomarkers and new technologies-Special issue overview. Mutat. Res. 592, 3-5, 2005.

Gauthier E, Fortier I, Courchesne F, Pepin P, Mortimer J, Gauvreau D. Environmental pesticide exposure as a risk factor for Alzheimer's disease: a case-control study. Environ. Res., 86, 37-45, 2001.

González-Horta MC, Casillas-Ituarte N, Erives-Quezada G, Reza-López S, Sanín-Aguirre LH, Levario-Carrillo M. Actividad de la acetilcolinesterasa durante el embarazo y en el recién nacido. Ginecol Obstet Méx. 68 (6): 231-235.

Goto, K., T. Akematsu, H. Schimazu & T. Sugiyama, Simple differential Giemsa staining of sister chromatids after treatment with photosensitive dyes and exposure to light and the mechanism of staining. Chromosoma 53: 223-230, 1977

Hagmar, L., A. Brogger, I.L.Hansteen, S. Heim, B. Högstedt, L. Knudsen, B.Lambert, K. Linnainmaa, F. Mitelman, I. Nordenson, Ch. Reuterwall, S. Salomaa, S. Skerfving & M, 1994.

<http://apuntes.rincondelvago.com/aberraciones-cromosomicas.html>, 13-06-09, 6:31 PM.

http://aguas.igme.es/igme/publica/libro28/pdf/lib28/2_accion.pdf

<http://buvsde.per.paho.org/tu>.

<http://www.taringa.net>

http://books.google.com.co/books?id=BoSUZ6ieVoC&pg=PT9&lpg=PT9&dq=escuelas+de+agricultura+alternativa&source=bl&ots=0Xg5zNE_1n&sig=6eVvnuJGs5xuAbr03KgUNlcYi0&hl=es&ei=N2E0Sv2pEaSqM921014K&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=2#PPA1,M2.

Hoja de seguridad fungicida Mancozeb, www.dowagro.com/webapps/lit/litorder.asp?filepath=cl/pdfs/noreg/013-60042.pdf&pdf=true 2003.

Hoyos L, Carvajal S, Solano L, Orozco L, Lopez Y, Rodriguez J, Au W, Cytogenetic Monitoring of Farmers Exposed to Pesticides in Colombia, Department of Biology, University of Cauca, Popayan, Colombia; Department of Preventive Medicine and Community Health, University of Texas Medical Branch, Galveston, Environmental Health Perspectives * Vol 104, Supplement 3 - May 1996 Texas, 1996.

Hoyos L, Carvajal S, Cajas N, tecnica modificada de Yunis J.J., in Human Chromosome Methodology, edi by Yunis. J:J: (Academis pres 1965). 2002.

Hüseyin S., Recep A., Selim Ç, The potential of using vegetable oil fuels as fuel for diesel engines, Energy Conversion and Management, Volume 42, Issue 5, Pages 529-538, 2000.

IARC, Monographs on the evaluation of carcinogenic humans, Lyon , France, International Agency for Research on Cancer, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Preamble/CurrentPreamble.pdf>, 1991.

Iglesias G y Amorín C, articulo que es el furadan y sus consecuencias, fuente <http://www.epa.gov/pesticides/safety/healthcare/handbook/Chap05.pdf>, 2007.

Iglesias G y Amorín C, articulo que es el furadan y sus consecuencias, fuente <http://www.epa.gov/pesticides/safety/healthcare/handbook/Chap05.pdf>, 2007.

Jeyaratham J. "Acute Pesticide Poisoning. A major Global Health Problem". World Health Statistics Quarterly, Vol. 43, No. 3, pages 139-44, 1990.

Kaioumova DF, Khabutdinova LKh, Cytogenetic characteristics of herbicide production workers in Ufa. Chemosphere, 37, 1755-1759, 1998.

Keith R. S. Ecotoxicological risk assessment of pesticides in the environment. En Krieger R editor. Handbook of pesticides. Toxicology principles, 2001.

Knight, S. J. & J. Flint.. Perfect endings: a review of subtelomeric probes and their use in clinical diagnosis. J. Med. Genet. 37: 401-409, 1996.

Kobayashi M, Nagayama T, Takano I, Ito M, Tamura Y, Tateishi Y, Kimura N, Kitayama K, Yasuda K, Saito K. Survey of pesticide residues in baby foods, Journal of the Food Hygienic Society of Japan, Journal Code:G0622A, ISSN:0015-6426, Vol.42;No.4;Page.283-288, 2001.

Kourakis A, Mouratidou M., Barbouti A., Dimikiotou M., Cytogenetic effects of occupational exposure in the peripheral blood lymphocytes of pesticide sprayers, Carcinogenesis 17 (1996) 99–101.

Labrada, R. Manejo de malezas en hortalizas. En Labrada, R., Caseley, J.C.,

Parker, C. Manejo de malezas para países en desarrollo. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal 120. FAO, Roma. pp. 298-308, 1996.

Laboive Unidad VII. Fungicidas Ditiocarbamatos, Ftalonitrilos (clorotalonil) y compuesto de cobre, <http://www.cepis.org.pe/tutorial2/e/unidad7/index.html>, 1999.
Leiss y Savitz, home pesticide use and childhood cancer a Case-control study 1995.

Madeley J, Paraquat el controvertido herbicida de Syngenta, www.raaa.org.pe/documentos/Paraquat.pdf, 2002.

Maldonado A. Daños genéticos en la frontera del Ecuador por las fumigaciones del plan Colombia. Comité interinstitucional contra las fumigaciones. 2003.

Martin R, Yelamos F, Laynez F, Córdoba J, Diez F, Lardelli A, Blanco JL, Vicente JR. Poisoning caused by organophosphate insecticides. Study of 506 cases. Rev. Clin. Esp., 145-149, 1996.

Martínez C y Gómez S, Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas, Revista internacional contaminantes ambientales, Universidad Nacional Autónoma de México, 2007.

Martínez M., Manual de Agricultura Alternativa: <http://www.clades.cl/revistas/4/rev4art2.htm>, 2004.

Manual de ecología, www.cepis.org.pe/bvsacd/eco/033965/033965-01.pdf

Mediclopedia instituto Quimico Biológico. <http://www.iqb.es>. 2004.

Metcalf, C. L. y Flint, W. P., Insectos destructivos e insectos útiles, sus costumbres y su control. 4ª Ed. Continental S.A., México, 1979.

Montiel V., Plaguicidas y salud, <http://www.alu.ua.es/l/lmv5/index.html>, 2004.

Nehéz M., Berencsi G., Paldy A., Selypes A., Czeilzel A., Szentesi I., Csankó J. y Nagy K. Data on the chromosome examinations of workers exposed to pesticides. Regul. Toxicol. Pharm. 1, 116-122, 1981.

Nehéz M., Boros P., Terke A., Mohos J., Palotas M., Vetro G., Zimanyl M. y Desi Y. Cytogenetic examination of people working with agrochemicals in the southern region of Hungary, Regul. Toxicol. Pharm. 1989.

Nivia E, foro internacional, "evaluando las fumigaciones con ciencia, conciencia y corazón" Bogotá, 2002

Nordenson, I., L.Beckman, S. Liden & N. Stjernberg. Chromosomal Aberration and Cancer Risk. Hum. Hered. 34: 76-81, 1984.

Observatorio Latinoamericano de Conflicto Ambientales. www.relca.net/oca.

Olea N., y Fernández M., Plaguicidas persistentes, laboratorio de investigaciones médicas, hospital clínico universidad de granada, 18071, Granada 1996.

Paldy A., Puskás N., Vincze N. y Hadházi M. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. Mutat. Res. 187, 127-132, 1987.

Paramananda D, George J, Induction of sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in vivo in *Etroplus suratensis* (Bloch) following exposure to organophosphorus pesticides, Central Marine Fisheries Research Institute, Cochin, 28, India, 1998.

Parrón T, Hernández AF, Villanueva E: Increased risk of suicide with exposure to pesticides in an intensive agricultural area. A 12-year retrospective study. Forensic Sci Int 17:53-63, 1996.

Pasquini R., Scassellati-Sforzolini G., Angeli G., Fatigoni C., Monarca S., Beneventi L., Digiulio A., y Bauleo F. Cytogenetic Biomonitoring of pesticide exposed farmers in central Italy. J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol, 19, 29-39, 1996.

Pastor S, Tesis Doctoral Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas Europeas, expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de micronúcleos, Universidad Autónoma de Barcelona, www.tdr.cesca.es/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-1113103-151308//spb1de5.pdf, 2002.

Paz C, Arévalo M, Sanchez ME, Leone P. Chromosome and DNA damage analysis in individuals occupationally exposed to pesticides with relation to genetic polymorphism for CYP 1A1gene in Ecuador. Mutation Research 562 77–89, 2004.

Pearson J.C., Kromhout L. y King E.B. Evaluation of collection and preservation techniques for urinary cytology. Acta Cytol. 25, 328-333, 1981.

Pineda J, Plaguicidas: Monitoreo Efectivo de la Exposición a Carbamatos y Órgano-Fosforados, 2007.

Piperakis S., Petrkou E., Tsilimigaki S., Sagnou M., Monogiudis E., Haniotakis G., Karkaseli H. y Sarikaki E. Biomonitoring with the comet assay of Greek greenhouse workers exposed to pesticides. Environ. Mol. Mutagen. 41, 104-110, 2003.

Preston, R.J. Chromosomal changes, pp. 395-408. In D.B. McGregor, J.M. Rice & S. Venitt. (eds.). The use of short- and medium-term test for carcinogens and data on genetic effects in carcinogenic Hazard evaluation. IARC Scientific Publications N° 146. Lyon, 1999.

Preussman R., Schneider H. y Epple F. Untersuchungen sur wachweis alkylierender agentien. Arzneimittel Forschung 19, 1059-1073, 1969.

Protocolo de intoxicaciones por sustancias químicas
www.ins.gov.co/?idcategoria=5635&download=Y,2007.

Revista sobre plaguicidas organofosforados,
<http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/57/1/Intoxicacion-por-organofosforados-y-carbamatos-en-pediatria.html>

Rufus D. Edwards, Edward J. Yurkow, Paul J. Liroy, Seasonal deposition of housedusts onto household surfaces, The Science of The Total Environment, Volume 224, Issues 1-3, 11, Pages 69-80, 2000.

Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton field workers exposed to pesticides. Environ. Res. 49, 1-6, 1989.

Rupa D.S., Reddy P.P. y Reddi O.S. Clastogenic effect of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton-field workers. Mutat. Res. 261, 177-180, 1991.

Russell, P. J. (2002). Genetics. Pearson Education

Sanchez J, Romero F, Calderon E. Los plaguicidas su impacto en el medio ambiente la salud y el desarrollo. Los plaguicidas en América Latina. Ministerio de salud subdirección de control de factores de riesgo del ambiente y desarrollo, tomo II, Santafe de Bogota. 1992.

Sarbani Giri, Anirudha Giri, Gouri Dutt Sharma and Surya Bali Prasad, Induction of sister chromatid exchanges by cypermethrin and carbosulfan in bone marrow cells of mice in vivo, Mutagenesis, Environmental Mutagen Vol. 18, No. 1, 53-58, 2002,

Schinas V. Leotsinidis M, Alexopoulos A, Tsapanos V, Kondakis XG. Organochloride pesticide residues in human breast milk from southwest Greece: associations with weekly food consumption patterns of mothers. Arch. Environ. Health, 2000.

Shaw GM, Wasserman CR, O'Malley, Nelson V, Jackson RJ. Maternal pesticide exposure from multiple sources and selected congenital anomalies. Epidemiology, 1999

Solans X. y Hernández. R. Control biológico de la exposición a genotóxicos: Técnicas Citogenéticas. En: NTP 354 del Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Ministerio del Trabajo y Asuntos Sociales, España, 2000.

Soloneski S., González M., Piaggio E., Apezteguía M, Miguel A. Reigosa and Marcelo L. Larramendy. Effect of the dithiocarbamate pesticide zineb and its commercial formulation azzurro. I. Genotoxic evaluation on cultured human lymphocytes exposed in vitro. Laboratorio de Citogenética, Cátedra de Citología, Facultad de Ciencias, 2003.

Sorgob-Sánchez, MA., Vilanova-Gisbert, E. y Carrera González, V. Nuevas perspectivas en los tratamientos de intoxicaciones por insecticidas organofosforados y agentes nerviosos de guerra. Revista de Neurología 39(8): 739-747, 2002.

Sorsa, M., J. Wibourn & H. Vainio. Human Cytogenetic damage as a predict of cancer risk, pp 543-544. In Vainio, H., P.N. Magee, D.B. McGregor & A.J. Mc Michael (eds.). Mechanism of carcinogenesis in risk identification, IARC Scientific Publications, Lyon, 1992

Trujillo M, Intoxicaciones masivas de pilotos fumigadores de banano y del personal de trabajo, RAPAL- Ecuador, <http://www.accionecologica.org/index.php?option=comcontent&task=view&id=784&Itemid=7546>, 2005.

Torkelson TR, Sadek SE, Rowe VK, y col. Toxicologic investigations of 1,2-dibromo-3-chloropropane. Toxicol. Appl. Pharmacol., 1961

Trupp, L.A. Esterilización de los trabajadores expuestos al uso de pesticidas. Causas y consecuencias del DBCP. 4: 731-57, 1991.

Vallejo MC. .Los plaguicidas en América Latina: memorias del seminario taller internacional, Seminario taller internacional de la problemática de los plaguicidas en la región de las Americas, ARQ Ltda. Diseñadores gráficos, 1992.

Varona M, Morales L, Ortiz J, Sánchez J, Cárdenas O, De la Hoz F. Panorama epidemiológico de exposición a plaguicidas inhibidores de la colinesterasa en 17 departamentos del país. Biomédica. 18:22-9. 2003.

Vigreux C, Poul JM, Deslandes E, Lebailly P, Godard T, Sichel F, Amar M, Gauduchon P. DNA damaging effects of pesticides measured by the single cell gel electrophoresis assay_comet assay/and the chromosomal aberration test, in CHOK1 cells. Mutation Research 419_79-90, 1998.

www.fuchsiarama.com/pensarlo.htm-93k

www.fmcagroquimica.com.mx/Home/tabid

Webster LR, McKenzie GH, Moriarty HT, Organophosphate based pesticides and genetic damage implicated in bladder cancer, *Cancer Genet, cytogenet*, 2002.

Wesseling C, Anlbom A, Antich D, Rodriguez AC, Castro R. Cancer in banana plantation workers in Costa Rica. *Int J Epidemiol*, (25) 1125-1131, 1997.

Wilcosky TC and Tyroler HA. Mortality from heart disease among workers exposed to solvents. *J Occup Med*;25:879-85,1983.

Woodward G. Autism and Parkinson's disease. *Med Hypotheses*. 2001 Feb;56(2):246-249.

Yuille M., Condie A., Hudson C., Kote-Jarai Z., Stone E., Eeles R., Matutes E., Catovsky D. y Houlston R. Relationship between glutathione S-transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 99, 4216-4218, 2002.

Zeljezic D, Vrhovac V, Chromosomal aberrations, micronuclei and nuclear buds induced in human lymphocytes by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid pesticide formulation, Division for Mutagenesis, Institute for Medical Research and Occupational Health, Ksaverska 2, 10000 Zagreb, Croatia,2004.

Zhang J, Cai WW, Lee DJ. Occupational hazards and pregnancy outcomes. *Am J. Ind; Med.*, 1992.

Zheng W., Wen W., Gustafson D., Gross M. Cerhan J. y Folsom A. GSMTM1 and GSTT1 polymorphisms and postmenopausal breast cancer risk. *Breast Cancer Res. Treat.* 74, 9-16, 2002.

Zhurkov V. y Yakovenko K. The culture of human lymphocytes as a test for evaluation of mutagenic activity of chemicals. *Mutat. Res.* 41,107-112, 1976.

ANEXOS

Anexo 1 Encuesta larga:

UNIVERSIDAD DEL CAUCA
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA
UNIDAD DE TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENETICA

Código

Fecha _____

Nombre _____ Edad _____

Dirección _____ Teléfono _____

Tiempo de exposición a plaguicidas en el cultivo de papa

Consumo bebidas alcohólicas _____ con que frecuencia _____

Nivel de escolaridad

Consumo cigarrillo _____

En su familia han ocurrido casos de malformaciones SI NO

Ha sido hospitalizado

SI NO _____ hace cuanto _____ debido a que _____

En algún momento, usted ha presentado algunas de estas alteraciones:

ALTERACIONES RESPIRATORIAS:

| ALTERACIONES | SI | NO | FRECUENCIA |
|---|----|----|------------|
| Irritación nasal | | | |
| Ardor de garganta | | | |
| Tos seca | | | |
| Obstrucción nasal | | | |
| Sequedad de la boca | | | |
| Dolor o dificultad para respirar (Disnea) | | | |
| Hemorragia nasal | | | |

| | | | |
|-------------|--|--|--|
| (Epistaxis) | | | |
| Asma | | | |
| Hiposmia | | | |

ALTERACIONES DERMATOLÓGICAS:

| ALTERACIONES | SI | NO | FRECUENCIA |
|--------------------------|----|----|------------|
| Urticaria | | | |
| Prurito | | | |
| Ampollas | | | |
| Dermatitis | | | |
| Daño de uñas | | | |
| Sequedad de la piel | | | |
| Engrosamiento de la piel | | | |

ALTERACIONES OCULARES:

| ALTERACIONES | SI | NO | FRECUENCIA |
|-------------------|----|----|------------|
| Lagrimo | | | |
| Irritación ocular | | | |
| Conjuntivitis | | | |

ALTERACIONES NEUROLÓGICAS:

| ALTERACIONES | SI | NO | FRECUENCIA |
|---------------------------|----|----|------------|
| Dolor de cabeza | | | |
| Fatiga | | | |
| Somnolencia | | | |
| Mareo | | | |
| Disminución de la memoria | | | |

Utiliza adecuadamente los implementos de protección y las medidas preventivas
Porque _____

Tiene exposición a otros químicos SI NO

Cuales

PLAGUICIDAS UTILIZADOS EN EL CULTIVO DE PAPA

A cuales de estos plaguicidas se ha encontrado expuesto:

**Plaguicidas utilizados en el
cultivo de papa**

TMTD Metamidofos

Captan

Metribuzin

Carbofuran

Manconzeb + Cimoxanil

Manconzeb + Metalaxil

Clorotalonil

Azoxystrobin

Trifenil hidroxido de estaño

Manconzeb

Oxicloruro de cobre

Dithane

Curzate

Lorsban

Furadan

Elosal

Gramoxone

Antracol

Agrotin

Apache

Score

Previcur

Carbendazil

Endosulfan

Ridomil

Anexo 2 CONSENTIMIENTO INFORMADO

“MONITOREO GENÉTICO DE UNA POBLACIÓN EXPUESTA A PLAGUICIDAS EN CULTIVOS DE PAPA EN EL MUNICIPIO DE TOTORÓ (CAUCA), MEDIANTE EL REGISTRO DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS (AC)”.

YO _____, mayor de edad, declaro que, he sido informado por los estudiantes del grupo de TOXICOLOGÍA GENÉTICA Y CITOGENÉTICA de la Universidad del Cauca, que realizarán el estudio “MONITOREO GENÉTICO DE UNA POBLACIÓN EXPUESTA A PLAGUICIDAS EN CULTIVOS DE PAPA EN EL MUNICIPIO DE TOTORÓ (CAUCA), MEDIANTE EL REGISTRO DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS (AC)”. Se me ha solicitado participar voluntariamente como sujeto de estudio.

OBJETIVO Y PROPÓSITO DEL ESTUDIO

Identificar el efecto citotóxico y genotóxico asociado al uso de plaguicidas empleando los biomarcadores: índice mitótico (IM), y alteraciones cromosómicas en linfocitos de sangre periférica.

Los resultados de este estudio son de gran utilidad para motivar a la población en general, sobre estrategias de prevenir el desarrollo de problemas de salud debido a los factores de riesgo que no son tenidos en cuenta en el aspecto laboral (trabajo) y el personal (estilo de vida).

YO HE SIDO INFORMADO SOBRE LOS OBJETIVOS, PROPÓSITOS, JUSTIFICACIÓN, METODOLOGÍA, RIESGOS Y BENEFICIOS DEL ESTUDIO. En este estudio serán seleccionadas aproximadamente 20 personas expuestas a plaguicidas y 20 no expuestas, El propósito de esta investigación tiene relevancia Social y Científica y obedece a una problemática de salud pública.

Los resultados del estudio son confidenciales y serán informados y explicados de manera personal y confidencial al grupo objeto de estudio en forma anónima por parte de los estudiantes.

REQUERIMIENTOS. Yo en pleno uso de mis facultades mentales, libre y consiente, estoy de acuerdo en participar en este estudio y entiendo que éste requiere de mí, lo siguiente: contestar un cuestionario de aproximadamente 10 minutos, para suministrar información personal, no expuesto a mi edad, estado de salud, estilo de vida, historia ocupacional y familiar. Si soy seleccionado para el estudio debo donar 5 mL de sangre periférica a las personas encargadas de la investigación. La sangre se tomara del brazo por personal capacitado, para ser procesada en el laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética de la Universidad del Cauca, mediante las pruebas de índice mitótico y alteraciones cromosómicas

RIESGO DE PARTICIPACIÓN: Los riesgos de participación en el estudio son: el sangrado e infección en el sitio de la toma de la muestra, los cuales serán controlados por

un profesional experto en la toma de la muestra de sangre del brazo, y el empleo de técnicas médicamente aceptadas y jeringas estériles nuevas.

Para garantizar la confiabilidad de la información suministrada, los resultados de las pruebas serán codificados y se dará a conocer en forma grupal, más no individual.

Los resultados de este trabajo no podrán ser usados para discriminación social, política, económica, étnica, religiosa, laboral, ni de ninguna índole.

BENEFICIOS PARA EL PARTICIPANTE: Motivación hacia el cambio de actitud para la prevención de problemas de salud.

YO ENTIENDO QUE Mi participación es completamente voluntaria y puedo rehusarme a responder cualquier pregunta, si así lo deseo o puedo tomar la decisión de finalizar mi participación en este monitoreo, en cualquier momento sin que ello represente perjuicios de índole legal con mi trabajo.

La información recolectada, será tratada de manera confidencial y mis respuestas serán reunidas con las de los otros participantes, para obtener resultados grupales.

La Universidad del Cauca se compromete a vigilar que las muestras de sangre serán reunidas por un profesional experto y autorizado, en forma aséptica para evitar complicaciones.

Puedo preguntar cualquier interrogante o duda que tenga, durante o después del estudio, a los estudiantes de la Universidad del Cauca, responsables del estudio, en el Laboratorio de Toxicología Genética y Citogenética, en la carrera 2° No 1 A 25, Barrio Caldas, Popayán. En el teléfono: 8209800 Ext. 2614.P

Los procedimientos alternativos principales, incluyendo procedimientos experimentales en este estudio, me han sido explicados en un lenguaje claro que yo he podido entender.

Los riesgos y molestias que puedan presentarse, me han sido explicados claramente.

Los resultados de este estudio podrán ser divulgados y/o publicados en revistas científicas, en forma grupal, sin que se de a conocer nombres.

He leído este consentimiento, he entendido en que consiste el estudio y también me fueron aclaradas las dudas al respecto, en consecuencia voluntariamente, acepto participar como sujeto de estudio en el "MONITOREO GENÉTICO DE UNA POBLACIÓN EXPUESTA A PLAGUICIDAS EN CULTIVOS DE PAPA EN EL MUNICIPIO DE TOTORÓ (CAUCA), MEDIANTE EL REGISTRO DE ALTERACIONES CROMOSOMICAS (AC)"

Nombre del participante Firma del Participante

Nombre del testigo Firma del testigo

Firmado en _____ a los _____ días del mes de _____ de 2008