



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**EL ENSAYO DE MICRONÚCLEOS COMO BIOMARCADOR  
DE GENOTOXICIDAD EN UNA POBLACIÓN DE  
TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A PLAGUICIDAS  
EN UN MUNICIPIO DE LA CIÉNEGA DE CHAPALA,  
MICHOACÁN, MÉXICO.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGA**

**P R E S E N T A:**

**XIMENA HUERTA CORDERO**



**DIRECTORA DE TESIS:  
DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO  
2018**

**CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

1. Datos del alumno

Huerta  
Cordero  
Ximena  
5566119817  
Universidad Nacional Autónoma de  
México  
Facultad de Ciencias  
Biología  
309164504

2. Datos del tutor

Dra.  
Sandra Luz  
Gómez  
Arroyo

3. Datos del sinodal 1

Dr.  
Luis Felipe  
Jiménez  
García

4. Datos del sinodal 2

Dr.  
Pedro Rafael  
Valencia  
Quintana

5. Datos del sinodal 3

Dra.  
Josefina  
Cortés  
Eslava

6. Datos del sinodal 4

M. en C.  
Denisse Josefina  
Badillo  
Velázquez

7. Datos del trabajo escrito.

El ensayo de micronúcleos como biomarcador de genotoxicidad en una población de trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas en un municipio de la ciénega de Chapala, Michoacán, México.  
74 p.  
2018

**A mis padres,  
Elvia y Raúl,  
porque sin su incondicional apoyo  
nada de esto sería posible.**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a mi directora de tesis, la **Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo** por brindarme la oportunidad de trabajar en su laboratorio, por su paciencia, apoyo, enseñanza y ejemplo.

A mis sinodales:

Dr. Luis Felipe Jiménez García

Dr. Pedro Rafael Valencia Quintana

Dra. Josefina Cortés Eslava

M. en C. Denisse Josefina Badillo Velázquez

Gracias por su tiempo, ayuda, observaciones y aportaciones en la revisión de este trabajo.

A la Dra. Jose por iniciarme en el trabajo en laboratorio, por su enseñanza y apoyo.

Agradezco también a Vicky Carrillo por todo el apoyo técnico, pero sobre todo por escucharme, apoyarme, por sus consejos y su amistad.

Gracias a la Dra. María Antonieta Ochoa Ocaña por el apoyo y colaboración para la realización de este trabajo.

Agradezco infinitamente al “Team Michoacán”: Adriana, Denisse, Gabs, Julio, Pao y Zeltzin por su gran ayuda con el trabajo de campo, pero sobre todo por hacer de ésta una experiencia especial, por compartir tantos momentos y por llenar de diversión las eternas horas de trabajo en el lab.

## DEDICATORIA

En esta etapa de mi vida y durante el desarrollo de este trabajo, he recorrido este arduo camino junto a personas que me han ayudado incondicionalmente y, ya que sin su apoyo no habría logrado culminarlo, dedico a ellas esta tesis.

Principalmente a mi mamá porque le debo todo lo que soy, por ser mi soporte, por su paciencia, por ser mi mayor ejemplo y por enseñarme que todo es posible con esfuerzo y dedicación. TE AMO ma.

A mi papá, por creer en mí, por alentarme y apoyarme en todo momento. TE AMO pa.

A mi familia, porque sin darse cuenta me impulsan siempre a seguir adelante, por todos los momentos divertidos y por todo su cariño. Gracias Cire, Vili, tía Delia, tía Silvia, tío Pepe, tía Diana, tío Fer, Tulis, Adolfo, Bere, Chucho, Inik, Renacuaji, Isaac, Boo, Fercho, Shirel y Luna.

A mis primas, por adoptarme como hermana, las amo.

A mis amigos, por escucharme, rescatarme, calmarme, animarme, por los viajes, los consejos, las risas infinitas, las tardes de café y los momentos anti estrés. Gracias Julie, Horacio, Gaby, Karina, Pao Munive, Joss y Ana ¡Los quiero!

A Mushi, por aguantar las desveladas conmigo y ser mi tranquilizante con pelitos y patitas. Gracias por ser el mejor compañero de vida.

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| <b>I. RESUMEN</b> .....   | 7  |
| <b>II. INTRODUCCIÓN</b> .....   | 9  |
| <b>III. ANTECEDENTES</b> .....  | 11 |
| III.I Plaguicidas: concepto, clasificación y características.....   | 11 |
| III.II Uso y regulación de plaguicidas en México.....   | 15 |
| III.III Toxicología y tipos de exposición a plaguicidas.....  | 20 |
| III.IV Biomarcadores de genotoxicidad.....  | 22 |
| III.V Ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (MNBC).....                                      | 24 |
| <b>IV. JUSTIFICACIÓN</b> .....  | 29 |
| <b>V. HIPÓTESIS</b> .....   | 30 |
| <b>VI. OBJETIVOS</b> .....  | 30 |
| VI.I Objetivo general.....  | 30 |
| VI.II Objetivos particulares.....   | 30 |
| <b>VII. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....  | 31 |
| VII.I Área y población de estudio.....  | 31 |
| VII.II Cuestionarios y carta de consentimiento informado.....   | 33 |
| VII.III Cultivos celulares de linfocitos para MNBC.....   | 33 |
| VII.IV Cosecha celular.....   | 34 |
| VII.V Preparación de laminillas y tinción.....  | 34 |
| VII.VI Observación al microscopio y conteo celular.....   | 34 |
| VII.VII Análisis estadístico.....   | 35 |
| <b>VIII. RESULTADOS</b> .....   | 36 |
| VIII.I Datos generales de las poblaciones.....  | 36 |
| VIII.II Características de la población expuesta.....   | 36 |
| VIII.III Características de la población testigo.....   | 41 |
| VIII.IV Frecuencia de micronúcleos (MN), puentes de cromatina (PC) y yemas nucleares (YN).....              | 43 |
| VIII.V Índice de División Nuclear (IDN) e Índice de Proliferación por Bloqueo de la Citocinesis (IPBC)..... | 46 |
| VIII.VI Correlación entre el daño genotóxico con la edad y el tiempo de exposición a plaguicidas.....       | 47 |
| <b>IX. DISCUSIÓN</b> .....  | 48 |
| <b>X. CONCLUSIONES</b> .....  | 55 |
| <b>XI. REFERENCIAS</b> .....  | 56 |
| <b>XII. ANEXOS</b> .....  | 65 |

## I. RESUMEN

Durante los últimos años el estado de Michoacán se ha colocado como uno de los mayores productores de frutas y hortalizas del país. El municipio de Cojumatlán de Régules se localiza al noroeste de dicho estado, es la cabecera municipal y su actividad económica principal es la agricultura. Al aumentar la demanda de producción agrícola incrementa también el empleo de plaguicidas para el control de enfermedades y plagas de los cultivos con el fin de evitar o reducir las pérdidas en la elaboración de alimentos y, a pesar de que se han realizado estudios que documentan la actividad genotóxica asociada al contacto con éstos, el empleo masivo e inadecuado de dichos compuestos continúa, por lo que es indispensable realizar estudios de biomonitorio en poblaciones ocupacionalmente expuestas.

El objetivo de este trabajo fue evaluar el posible daño genotóxico en un grupo de individuos expuestos laboralmente a plaguicidas en Michoacán, a través del ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis en linfocitos de sangre periférica. La población expuesta a plaguicidas estuvo constituida por 30 jornaleros del municipio Cojumatlán de Régules y la población testigo la formaron 30 individuos del municipio Sahuayo, cuya actividad económica principal es ajena a la agricultura. Este estudio se llevó a cabo de acuerdo con los principios manifestados en la Declaración de Helsinki y fue aprobado por la Comisión Estatal de Bioética de Michoacán.

Se aplicó un cuestionario para conocer los datos generales, hábitos y estilo de vida de ambas poblaciones, se tomaron muestras de sangre periférica con las cuales se realizaron cultivos de linfocitos mediante la técnica de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis. Posteriormente, se realizaron laminillas teñidas con colorante Giemsa y finalmente en el microscopio óptico se registraron 1000 células binucleadas al azar para obtener la frecuencia de micronúcleos (MN), puentes de cromatina (PC) y yemas nucleares (YN). Se registraron también las primeras 500 células multinucleadas para obtener el Índice de División Nuclear (IDN) y el Índice de Proliferación con Bloqueo de la Citocinesis (IPBC).

Los datos fueron analizados estadísticamente con la prueba *t* de Student. Los resultados obtenidos muestran diferencias significativas en la frecuencia de MN, siendo mayor en la población expuesta y para la cual se obtuvo una  $p=0.002$ . También existen diferencias significativas entre ambas poblaciones con un aumento en la frecuencia de YN en la

población expuesta, con una  $p=0.001$ , demostrando así que la exposición a plaguicidas ocasiona daños cromosómicos. El IDN y el IPBC también mostraron diferencias significativas con un aumento en los valores correspondientes a la población expuesta, con  $p=0.027$  y  $p=0.023$ , respectivamente. Los PC no manifestaron diferencias significativas ni correlación entre los biomarcadores y la edad o el tiempo de exposición a plaguicidas de los trabajadores agrícolas.

Los resultados obtenidos sugieren que la exposición constante a plaguicidas causa daño genotóxico al incrementar la frecuencia de MN y YN, así como una alteración en el ritmo de división celular, lo que, de acuerdo a la literatura internacional, es un factor que podría aumentar el riesgo de incidencia de padecimientos como el cáncer, poniendo en peligro la salud de quienes se encuentran laboralmente en contacto con estos productos.

## II. INTRODUCCIÓN

A la lucha contra las distintas plagas que amenazan los alimentos y otros productos agrícolas, se suma la emprendida contra los insectos y otros animales vectores de enfermedades transmisibles. Ambas han adquirido características especiales con el formidable progreso de la industria química en el siglo XX. Este avance ha desarrollado gran cantidad de compuestos de alta agresividad contra los organismos dañinos pero cuyos efectos sobre el hombre y equilibrio del ecosistema continúan siendo debatidos (Clavijo y Salazar, 2005).

Aunque el uso de plaguicidas es necesario, resulta fundamental evaluar los riesgos para la salud en los seres humanos que están laboral y/o ambientalmente expuestos a estos agroquímicos. Esta exposición puede ocurrir durante la preparación de la mezcla, en el procesamiento de carga y/o lavado de los equipos de fumigación y en el momento de su aplicación (Simoniello *et al.*, 2010).

La actividad genotóxica de algunos agroquímicos ha sido documentada previamente. Diversos estudios en la literatura señalan efectos genotóxicos asociados a las mezclas de plaguicidas sobre los linfocitos de los trabajadores agrícolas. Métodos *in vivo* e *in vitro* revelan que ciertos compuestos tales como herbicidas, insecticidas y fungicidas ejercen efectos mutagénicos. Dichos estudios han demostrado la ocurrencia de efectos tales como daños en el sistema nervioso central, teratogénesis, mutaciones, cáncer, daños en piel, pulmones, ojos, sistema inmunológico, entre otros (Karam *et al.*, 2005 y Zuñiga *et al.*, 2012).

Actualmente existen metodologías citogenéticas capaces de detectar cambios o alteraciones que se utilizan como antecedente para tomar las medidas pertinentes para disminuir el riesgo en la salud (Gómez-Arroyo *et al.*, 2000 y Carbajal-López *et al.*, 2016). El estudio del daño del ADN a nivel de cromosomas es una parte esencial de la toxicología genética debido a que las mutaciones cromosómicas son un evento importante en la carcinogénesis. El ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis se ha convertido en uno de los métodos preferidos para la evaluación de daño cromosómico, ya que permite medir la pérdida y la ruptura de cromosomas de una manera fiable. Esta prueba es considerada práctica, accesible tecnológicamente, relativamente de bajo costo y útil para evaluar la inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos. Además de los micronúcleos (MN), en 2002 se estableció que, en células binucleadas, estructuras como

los puentes de cromatina (PC) indican daño clastogénico y se sugiere que las yemas nucleares (YN) corresponden a amplificaciones génicas (Zuñiga *et al.*, 2012).

El incremento en el número de células micronucleadas sugiere inestabilidad genómica, mayor propensión a rupturas y alteraciones como reordenamientos de material genético, además de riesgos de aneuploidía (pérdida del número normal de cromosomas). Hay indicios que revelan una relación entre el aumento en el número de células micronucleadas y un mayor riesgo de padecer cáncer (Peralta *et al.*, 2011).

Durante los últimos años el estado de Michoacán ha logrado establecerse como uno de los principales productores de frutas y hortalizas, lo que le ha permitido estar en el primer lugar de la producción y actualmente, cuenta con siete municipios de importante valor agrícola, según datos estadísticos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera, SIAP (2016). El incremento en dicha actividad económica ha aumentado el consumo de plaguicidas y éste a su vez, eleva el riesgo para la salud en las personas que están laboralmente expuestas.

Factores como la deficiencia en el marco legal, carencia general de información sobre riesgos de los plaguicidas entre las autoridades y la sociedad y, acciones oficiales insuficientes y tardías, se potencian en México por la escasa percepción social sobre la magnitud y gravedad de los problemas asociados con el uso de estos productos. Debido a esto, el estudio de las poblaciones expuestas a agentes genotóxicos es una herramienta fundamental a partir de la cual es posible obtener información que permita orientar políticas de salud e intervención en las poblaciones expuestas para mitigar y prevenir el daño genético (Albert, 2005 y Zuñiga *et al.*, 2012).

### III. ANTECEDENTES

#### III.I Plaguicidas: concepto, clasificación y características.

La Ley General de la Salud, que forma parte del Diario Oficial de la Federación, en el Art. 278, define a un plaguicida como “cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal, así como las sustancias defoliantes y las desecantes” (Ortiz *et al.*, 2013).

Diversos factores son considerados para clasificar a los plaguicidas, en el catálogo de plaguicidas publicado por la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS) éstos son agrupados de acuerdo con los organismos que controlan, a su modo de acción, al uso al que se destinan, a su composición química, a la familia química a la que pertenecen, entre otros (Tabla1):

Tabla 1. Clasificaciones de los plaguicidas.

| <b>Organismo que controlan</b> | <b>Usos al que se destinan</b> | <b>Modo de acción</b> | <b>Composición química</b> |
|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------|----------------------------|
| Insecticida                    | Agrícolas                      | Por contacto          | Orgánicos:                 |
| Acaricida                      | Forestales                     | Por ingestión         | Organoclorados             |
| Fungicida                      | Urbanos                        | Sistémico             | Organofosforados           |
| Bactericida                    | Jardinería                     | Fumigante             | Carbamatos                 |
| Antibiótico                    | Pecuarios                      | Repelente             | Piretroides                |
| Herbicida                      | Domésticos                     | Defoliante            | Inorgánicos                |
| Rodenticida                    | Industriales                   |                       | Biológicos                 |
| Molusquicida                   |                                |                       |                            |

Modificado de: Ortiz *et al.* (2013).

Las clasificaciones más comunes se describen a continuación:

De acuerdo con el organismo que controlan se agrupan en las siguientes categorías: insecticida (insectos), acaricida (ácaros), fungicida (hongos y levaduras), bactericida (bacterias), antibiótico (bacterias), herbicida (hierba y maleza), rodenticida (roedores) y molusquicida (moluscos).

Según su modo de acción los clasifica en:

- ❖ De contacto: actúa principalmente al ser absorbido por los tejidos externos de la plaga.
- ❖ De ingestión: debe ser ingerido por la plaga para su acción efectiva.
- ❖ Sistémico: al aplicarse en plantas o animales, se absorbe y traslada por su sistema vascular a puntos remotos del lugar en que se aplica y en los cuales actúa.
- ❖ Fumigante: se difunde en estado gaseoso o de vapor y penetra por todas las vías de absorción.
- ❖ Repelente: impide que las plagas ataquen.
- ❖ Defoliante: causa la caída del follaje de las plantas.

Basados en su composición química se clasifican en:

- ❖ Compuestos inorgánicos: todos los que carecen de carbono (solo consideran los derivados de cobre, azufre, zinc y aluminio).
- ❖ Compuestos orgánicos: aquellos compuestos que contienen átomos de carbono en su estructura química, la mayoría son de origen sintético, fabricados a partir de productos químicos básicos; algunos son extraídos de plantas, por lo que se conocen como botánicos.  
  
Los compuestos orgánicos sintéticos utilizados como plaguicidas pertenecen a distintos grupos o familias químicas.
- ❖ Agentes biológicos: se llama así a los virus, microorganismos o sus metabolitos, formulados como insumos, que pueden controlar a una plaga en particular.

En su mayoría, los plaguicidas presentan una estructura molecular de tipo orgánico y a su vez estos pueden dividirse en organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretrinas y piretroides (Tabla 2):

- ❖ Organoclorados: son compuestos orgánicos constituidos por un esqueleto de átomos de carbono, en el cual, algunos de los átomos de hidrógeno, son reemplazados por átomos de cloro. Poseen alta toxicidad debido a su alta

solubilidad en disolventes orgánicos y a su capacidad de bioacumularse. Pueden llegar a ser cancerígenos y en general se catalogan como contaminantes orgánicos persistentes (COP), ya que poseen una elevada estabilidad física y química, siendo insolubles en agua, no volátiles y resistentes a la fotodegradación, al igual que a la degradación biológica o química (Ramírez y Lacasaña, 2001; Ortiz *et al.*, 2013).

Si bien en un tiempo fueron el grupo más importante de insecticidas, en la actualidad su uso está prohibido o restringido en muchos países (COFEPRIS, 2004).

- ❖ Organofosforados: son sustancias orgánicas sintéticas con uno o varios fósforos en su estructura molecular. Se descomponen con mayor facilidad y se degradan por oxidación e hidrólisis, dando origen a productos solubles en agua, tentativamente menos persistentes y poco acumulables en el organismo humano (Ramírez y Lacasaña, 2001; Ortiz *et al.*, 2013).
- ❖ Carbamatos: son sustancias derivadas del ácido carbámico, relativamente inestables, se les atribuye un tiempo corto de persistencia ambiental y pueden degradarse por la exposición al sol, no son bioacumulables, su degradación se realiza por oxidación y sus metabolitos finales son hidrosolubles pudiendo excretarse por la orina y las heces fecales. En su mayoría son de mediana y baja toxicidad, con excepción del aldicarb (temik) y el carbofurán (furadán) que son sumamente peligrosos para el ser humano (Ramírez y Lacasaña, 2001; Ortiz *et al.*, 2013).
- ❖ Piretrinas y piretroides: el piretro es una mezcla de sustancias que ocurre naturalmente en las flores de crisantemo; en su extracto hay seis compuestos denominados piretrinas que poseen propiedades insecticidas. Los piretroides son compuestos sintéticos basados estructuralmente en la molécula de piretrina la cual se modifica para mejorar su estabilidad ante diferentes factores ambientales. Tienen poca tendencia a acumularse en los tejidos y son degradados rápidamente en el ambiente, debido a que, aunque se adsorben masivamente por el suelo, se eliminan fácilmente con el agua (Ramírez y Lacasaña, 2001; ATSDR, 2003; Ortiz *et al.*, 2013).

Tabla 2. Clasificación de los plaguicidas según su familia química.

| Familia química  | Ejemplos  |
|------------------|---|
| Organoclorados   | DDT*, aldrín, dieldrín, mirex, endosulfán                         |
| Organofosforados | Metil paratión, etil paratión, malatión, clorpirifos, metamidofos |
| Carbamatos       | Metomilo, carbarilo   |
| Piretroides      | Cipermetrina, fenvalerato, permetrina                             |

\*DDT: dicloro difenil tricloroetano

Información obtenida de: COFEPRIS (2004) e IARC (2018).

Pese a la importancia económica de los plaguicidas al controlar la proliferación de plagas y enfermedades de los cultivos y del ganado, así como reducir o evitar las pérdidas en la producción de alimentos, es necesario destacar que el uso y manejo incorrecto de éstos compuestos es peligroso para el hombre, lo cual se puede manifestar por intoxicaciones de grado diverso (que incluso pueden derivar en decesos) y por efectos nocivos que pueden presentarse a mediano o largo plazo, tales como cáncer, problemas de teratogénesis, esterilidad y mutaciones, entre otros (COFEPRIS, 2004).

Es por esto que, en función del riesgo a la salud, se describen a continuación tres clasificaciones más. La primera es establecida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2010 y está basada en el orden de peligrosidad, tomando como referencia la dosis letal (DL) promedio oral o cutánea. La medición llamada DL50 se calcula midiendo el número de miligramos de componente activo por kilogramo del peso del cuerpo, necesario para matar el 50% de un muestreo de animales. Obteniendo así una clasificación en cuatro categorías:

Ia, extremadamente peligroso

Ib, altamente peligroso

II, moderadamente peligroso

III, ligeramente peligroso

U, improbable que sea peligroso en condiciones normales de uso

Siguiendo las normas de la OMS (2010), aquellos productos que no han sido identificados siempre deberán ser considerados según la mayor peligrosidad, incluyendo recipientes que no tienen etiquetas, productos que han sido trasvasados a otros contenedores y materiales que han sido contaminados por compuestos no identificados.

La segunda clasificación corresponde al nivel de toxicidad, fue publicada en el “Catálogo de Plaguicidas” en el año 2004 por la COFEPRIS y señala cuatro categorías: ligeramente tóxicos (IV), moderadamente tóxicos (III), altamente tóxicos (II) y extremadamente tóxicos (I). Los valores para dichas categorías también se basan en la DL50 y fueron tomados de la clasificación recomendada por la OMS (2010).

Finalmente, la tercera clasificación está basada en la carcinogenicidad en seres humanos; es establecida por el Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) y los agrupa de la siguiente manera (IARC, 2018):

- ❖ Grupo 1. Carcinogénico para los seres humanos: existen pruebas suficientes de carcinogenicidad en seres humanos.
- ❖ Grupo 2A. Probablemente carcinogénico para los seres humanos: existen pruebas limitadas de carcinogenicidad en seres humanos y pruebas suficientes de carcinogenicidad en experimentación animal.
- ❖ Grupo 2B. Posiblemente carcinogénico para los seres humanos: existen pruebas limitadas de carcinogenicidad en seres humanos y evidencias insuficientes de la carcinogenicidad en experimentación animal.
- ❖ Grupo 3. No se clasifica como carcinogénico para los seres humanos: existen pruebas limitadas de carcinogenicidad en experimentación animal.
- ❖ Grupo 4. Probablemente no carcinogénico para los seres humanos: existen pruebas que sugieren la ausencia de carcinogenicidad en seres humanos y en animales de experimentación.

### **III.II Uso y regulación de plaguicidas en México.**

A lo largo del tiempo los plaguicidas han sido utilizados de múltiples maneras debido a que su principal objetivo es controlar y/o eliminar ciertos organismos no deseados. Por ejemplo, el DDT fue utilizado por primera vez para proteger a soldados estadounidenses de

enfermedades transmitidas por vectores durante la Segunda Guerra Mundial (Ramírez y Lacasaña, 2001).

En México, inicialmente se utilizaban cerca de 40 compuestos de tipo botánico o inorgánico; el uso agrícola de plaguicidas de síntesis química comenzó en la década de 1940 como resultado de la adopción del paradigma tecnológico de la modernización capitalista en la agricultura, conocido como “Revolución Verde” que propone una agricultura industrial intensa realizada en monocultivos dependientes de semillas, fertilizantes, plaguicidas, maquinaria agrícola, suministro de agua a través de obras de riego y otorgamiento de crédito para el financiamiento de las operaciones agrícolas. Es en esta época en donde se introduce el DDT y, posteriormente, otros plaguicidas organoclorados; después se agregaron diversos organofosforados y carbamatos (Albert, 2005; Bejarano, 2017).

Tomando como referencia los datos de la FAO y de diversas fuentes gubernamentales, Bejarano (2017) menciona dentro del libro “Los plaguicidas altamente peligrosos en México” que, a partir del 2000, el pico más alto de consumo de los principales grupos de plaguicidas en productos formulados (insecticidas, herbicidas, fungicidas y bactericidas) en México, ocurrió en 2010 con un total de 113,880 toneladas. Los tipos de plaguicidas de mayor uso en todo este período han sido los fungicidas y bactericidas (40.5%), les siguen los insecticidas (32.8%) y finalmente, los herbicidas (26.7%). También agrega que, en el contexto regional, México es el tercer mercado más importante de plaguicidas en América Latina, después de Brasil y Argentina; ocupando también el segundo lugar en consumo de fungicidas y bactericidas con un poco más de 42 mil toneladas de ingredientes activos y el mismo lugar en el uso de insecticidas con 37,455 toneladas para 2013.

Con base en los datos obtenidos por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI, 2016b), en 2015, México contaba con 30 millones de hectáreas destinadas al cultivo, 15% del territorio total. La población dedicada a las actividades agrícolas en nuestro país rondaba por los 5.5 millones de personas, de las cuales 56% eran agricultores y 44% trabajadores de apoyo (peones o jornaleros); de éstos 11 de cada 100 eran mujeres y las entidades de Chiapas, Guerrero, Michoacán, Oaxaca, Puebla y Veracruz, concentraban 58.7% de éstos.

De acuerdo con la última Actualización del Marco Censal Agropecuario, emitido por la misma institución, para 2016 en México ya existían cerca de 6 millones de terrenos cuya actividad principal corresponde a la agricultura, abarcando una superficie total muy cercana

a los 50 millones de hectáreas, cerca de 20 millones de hectáreas más que en 2015 (INEGI, 2016a), por lo que se puede deducir que al aumentar la demanda a nivel nacional en la producción agrícola, incrementa también el número de personas que se dedica a ella y por lo tanto, crece el número de individuos que pueden estar expuestos a plaguicidas debido a su actividad laboral.

Si bien la agricultura es la actividad en la que más se emplean estos compuestos para el control de plagas y enfermedades que ponen en riesgo la calidad y cantidad de los cultivos, existen también otras áreas en las que su uso es muy frecuente. Tal es el caso de la ganadería, ya que se aplican para la desinfección de animales de ganado e incluso de animales domésticos como perros y gatos.

Son utilizados también al controlar vectores de enfermedades como la malaria, el dengue, la enfermedad de Chagas, entre otras. Asimismo, se aplican para el control de plagas en grandes estructuras como edificios públicos y privados, hospitales, etc. Finalmente, su uso en el hogar es bastante frecuente ya que se encuentran incorporados en artículos de uso diario como cosméticos, champús, jabones, repelentes de insectos y en productos para el cuidado de mascotas y plantas. También llegan a ser empleados dentro de casa, así como en cultivos en terrenos muy cercanos a las viviendas (Ramírez y Lacasaña, 2001).

Internacionalmente, México ha firmado varios instrumentos que han contribuido a que las autoridades reconozcan la peligrosidad de los plaguicidas; destacan el Código Internacional de Conducta de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO, por sus siglas en inglés), los acuerdos para el manejo adecuado de plaguicidas que se gestaron en la Comisión de Cooperación Ambiental del Tratado de Libre Comercio y el Convenio de Estocolmo para eliminar los plaguicidas persistentes (Albert, 2005).

A nivel nacional, son diversas las dependencias que están involucradas con la reglamentación relacionada con la producción, distribución y uso de plaguicidas. Los aspectos sanitarios son regulados por la Secretaría de Salud (SSA); el impacto al ambiente por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT); la eficacia biológica de los productos para uso agrícola por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA); mientras que el transporte de estas sustancias es regulado por la Secretaría de Comunicaciones y Transporte (SCT) y la Secretaría de Trabajo y Previsión Social (STPS) emite los criterios de higiene y seguridad industriales (Ortiz *et al.*, 2013).

De acuerdo con la Ley General de la Salud (LGS), le corresponde a la SSA autorizar los nuevos productos que puedan resultar tóxicos, entre éstos los plaguicidas, así como coordinar con otras dependencias las condiciones de fabricación, formulación, envasado y etiquetado. Asimismo, otra de las atribuciones que le corresponde es la emisión de Normas Oficiales referentes a la aplicación y protección contra los plaguicidas y las autorizaciones para su importación (Ortiz *et al.*, 2013).

En el Reglamento en Materia de Registros, Autorizaciones de Importación y Exportación y Certificados de Exportación de Plaguicidas, Nutrientes Vegetales y Sustancias y Materiales Tóxicos Peligrosos, expedido también por la SSA en 2004, se establecen los requisitos para que se garantice que los plaguicidas que llegan al mercado mexicano sean seguros durante su manejo; en ellos se destaca una batería de estudios toxicológicos, que incluyen: toxicidad aguda, crónica y de efectos específicos (neurotóxicos, teratogénicos) (Ortiz *et al.*, 2013).

La Tabla 3 presenta la descripción de algunas Normas Oficiales importantes para este trabajo, relacionadas con la exposición laboral a plaguicidas y organizadas de acuerdo al organismo que las expide.

Entre las instituciones gubernamentales involucradas con la regulación de los plaguicidas se encuentran:

- ❖ La Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS): le corresponde autorizar el registro y expedición de certificados de libre venta para la exportación de plaguicidas y nutrientes vegetales, así como, otorgar permisos de importación de plaguicidas, nutrientes vegetales y sustancias tóxicas o peligrosas, previo análisis, evaluación y dictamen de la información técnica, toxicológica y de seguridad correspondiente. Además, publicó en 2004 el “Catálogo de Plaguicidas” en conjunto con la SSA, la SAGARPA, la SEMARNAT y la Secretaría de Economía (SE). Este documento incluye información sobre los usos, sinonimia, mezclas y coadyuvantes de las sustancias registradas (Ortiz *et al.*, 2013).
- ❖ La Comisión Intersecretarial Para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST): creada en 1987 y facultada para regular la exploración, elaboración, fabricación, formulación, mezclado, acondicionamiento, envasado, manipulación, transporte, distribución, aplicación, almacenamiento, comercialización, uso y disposición final de los plaguicidas, fertilizantes y sustancias tóxicas (DOF, 1987; Ortiz *et al.*, 2013).

Tabla 3. Normas oficiales mexicanas relacionadas con la exposición laboral a plaguicidas.

| Tipo de Norma                                  | Norma oficial mexicana   |
|--|--|
| Ecológicas<br>(SEMARNAT,<br>INECC)             | NOM-052-SEMARNAT-2005 (DOF,2005), cataloga a los plaguicidas en el “Giro 6, plaguicidas y herbicidas”. Debido a la complejidad estructural de estos compuestos y a sus características intrínsecas algunos plaguicidas pueden ser considerados como sustancias peligrosas.   |
| Sanitarias<br>(SSA)                            | NOM-232-SSA1-2009, establece los requisitos, indicaciones y características que deben cumplir el envase, embalaje y etiquetado de plaguicidas, tanto técnicos como formulados y en sus diferentes presentaciones, a fin de minimizar los riesgos a la salud de los trabajadores ocupacionalmente expuestos y de la población en general, durante su almacenamiento, transporte, manejo y aplicación.                     |
| Fitosanitarias<br>(SAGARPA)                    | Proyecto de NOM-051-FITO-1995, establece requisitos y especificaciones fitosanitarias para el manejo de plaguicidas agrícolas cuya adquisición y aplicación está sujeta a la recomendación escrita de un profesional fitosanitario.  |
| Higiene y<br>Seguridad<br>Industrial<br>(STPS) | <p>NOM-003-STPS-1999, regula las condiciones de higiene y seguridad para prevenir riesgos a los trabajadores que desarrollan actividades agrícolas por el manejo y uso de plaguicidas.</p> <p>NOM-010-STPS-1993, es relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo donde se produzcan, almacenen o manejen sustancias químicas capaces de generar contaminación en el ambiente laboral.</p> |

\*INECC: Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático.  
Modificado de: Ortiz *et al.* (2013).

Finalmente, destaca también la Asociación Mexicana de la Industria Fitosanitaria (AMIFAC), asociación civil que lleva a cabo diversos programas relacionados con estos productos, entre ellos se encuentra el “Plan de Manejo de Envases Vacíos de Agroquímicos y Afines” (PLAMEVAA), “Buen Uso y Manejo de Agroquímicos (BUMA)” y el “Servicio de Información Toxicológica” (SINTOX) (Ortiz *et al.*, 2013).

### III.III Toxicología y tipos de exposición a plaguicidas.

Si bien el propósito del uso de plaguicidas es matar organismos no deseados, otros seres vivos, incluyendo el ser humano, tienen funciones fisiológicas o bioquímicas similares a las de especies que interesa eliminar y, por lo tanto, son susceptibles, en diversos grados, a los efectos tóxicos de estos compuestos (Karam *et al.*, 2005).

La OMS reconoce que los plaguicidas son potencialmente tóxicos para los seres humanos y que pueden tener efectos perjudiciales para la salud, por ejemplo, es posible que provoquen cáncer o acarren consecuencias para los sistemas reproductivo, inmune o nervioso (Gómez-Arroyo *et al.*, 2011). Debido a lo anterior, establece que antes de que se autorice su uso, los plaguicidas deben estudiarse a fin de determinar todos sus posibles efectos para la salud y los resultados deben ser analizados por expertos que evalúen cualquier riesgo que los productos puedan implicar para las personas.

Al estar compuestos por diferentes grupos químicos, los plaguicidas presentan también distintos mecanismos de acción sobre los organismos (Tabla 4); la mayoría de éstos actuando sobre el sistema nervioso.

Tabla 4. Mecanismos de acción de los diferentes tipos de plaguicidas.

| <b>Tipo de plaguicida</b> | <b>Mecanismo de acción</b>   |
|---------------------------|--|
| Organoclorados            | Despolarización de las membranas nerviosas.                                  |
| Organofosforados          | Inhibición irreversible de la acetilcolinesterasa.                           |
| Carbamatos                | Inhibición reversible de la acetilcolinesterasa.                             |
| Piretrinas y piretroides  | Alteración de la permeabilidad de la membrana nerviosa a los iones de sodio. |

Información obtenida de: Weiss *et al.* (2004).

Las intoxicaciones y los efectos en la salud ocasionadas por la exposición a plaguicidas dependerán de diversos factores como la susceptibilidad de los individuos, su estado nutricional, el tipo de plaguicida; así como de las condiciones, la dosis, el tiempo y la vía de exposición.

Los organoclorados se absorben en intestino, pulmón y piel en diferentes grados. La absorción gastrointestinal aumenta con la ingesta simultánea de grasas. Después de ésta, la mayor parte se almacena en tejido adiposo; el resto es metabolizado y excretado principalmente por la bilis y la orina. Alteran también el metabolismo, así como la acumulación y excreción de medicamentos, minerales, vitaminas y hormonas e incluso se ha comprobado que inhiben la comunicación intercelular y actúan como promotores de tumores (Karam *et al.*, 2005; COFEPRIS, 2004).

Los organofosforados son considerados de baja persistencia (de horas a días), no acumulables en el organismo y generalmente presentan bajo potencial de carcinogenicidad, sin embargo, algunos de éstos son extremadamente tóxicos (COFEPRIS, 2004). Penetran principalmente por la piel y la absorción por esta vía es generalmente lenta, aunque suele acelerarse cuando hay temperaturas altas por los disolventes orgánicos utilizados durante su formulación (Karam *et al.*, 2005).

Los efectos a largo plazo por intoxicación con organofosforados son más difíciles de evaluar, sin embargo, se han realizado estudios en donde las personas ocupacionalmente expuestas a estos plaguicidas mostraron una mayor frecuencia de infecciones del sistema respiratorio, incremento en la ocurrencia de asma y también mayor frecuencia de leucemia linfocítica crónica (Tasali y Van Cauter, 2002; Weiss *et al.*, 2004; Karam *et al.*, 2005).

Los carbamatos son poco penetrables por la piel, sin embargo, los vapores son rápidamente absorbidos por las mucosas del aparato respiratorio (Karam *et al.*, 2005).

En general, las piretrinas y los piretroides se absorben relativamente bien por los sistemas gastrointestinal y respiratorio, por el contrario, su absorción a través de la piel intacta es relativamente baja. Las enzimas hepáticas de los mamíferos son capaces de hidrolizarlos con gran eficacia para dar productos inertes y son eliminados en la orina, en las heces y el aliento (Lozano *et al.*, 2002; ATSDR, 2003).

A menudo las piretrinas y los piretroides se combinan comercialmente con otras sustancias llamadas sinergistas, lo que aumenta su actividad insecticida ya que evitan que ciertas enzimas los degraden y, como consecuencia, incrementan su toxicidad (ATSDR, 2003).

Un daño crónico se presenta cuando se ha estado en contacto con concentraciones bajas de un producto, los efectos se manifiestan después de varios meses e incluso años con cáncer, mutaciones o lesiones degenerativas en hígado y riñón. Los riesgos de tipo crónico, en particular aquellos que tienen relación con la exposición a plaguicidas, dependen de las

medidas de protección que se adopten durante su aplicación y del tipo de plaguicida de que se trate (Karam *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2013). Dentro de los efectos a largo plazo por exposición a plaguicidas en células germinales, se encuentran las malformaciones congénitas, infertilidad y abortos espontáneos; por el contrario, el daño en las células somáticas está asociado con enfermedades neurodegenerativas como Parkinson y Alzheimer y, recientemente se ha vinculado también con el desarrollo de linfoma no-Hodgkin, así como con la probabilidad de desarrollar cáncer de pulmón, páncreas, vejiga, hígado y próstata (Gentile *et al.*, 2012).

Un daño agudo se presenta cuando por algún evento extraordinario el organismo entra en contacto directo con la sustancia tóxica a altas concentraciones, los daños ocurren poco tiempo después del contacto con el producto provocando ciertas manifestaciones clínicas cuyos efectos dependerán principalmente del tipo de plaguicida (Tabla 5), llegando incluso a provocar la muerte (Karam *et al.*, 2005; Ortiz *et al.*, 2013).

Considerando la información anterior, es de suma importancia realizar estudios de biomonitoreo en trabajadores expuestos a plaguicidas debido a que su actividad laboral es considerada una fuente de exposición directa que involucra mezclas complejas de diferentes tipos químicos, ingredientes activos y otras sustancias incluidas en las formulaciones (Gómez-Arroyo *et al.*, 2011). Este grupo en riesgo incluye a los trabajadores de la industria química fabricante de estos productos y aquellos que formulan, mezclan, transportan, almacenan o aplican plaguicidas. Todo esto, con el fin de crear conciencia sobre el riesgo al que están expuestos y para fomentar el uso y la aplicación adecuada de estas sustancias, así como el cumplimiento correcto de las leyes y normas que de alguna manera fueron creadas para evitar estos riesgos.

#### **III.IV Biomarcadores de genotoxicidad.**

Con el propósito de incrementar los estudios que brinden información adecuada para la prevención de enfermedades, se utilizan biomarcadores para la detección temprana de los efectos que éstas puedan provocar. El término “biomarcador” se utiliza para medir la interacción entre un sistema biológico y un agente de tipo químico, físico o biológico, la cual es evaluada como una respuesta funcional o fisiológica, que ocurre a nivel celular o molecular y además está asociada con la probabilidad del desarrollo de una enfermedad; se interpreta también como un indicador del estado de salud, de la esperanza de vida o del riesgo de enfermedad.

Tabla 5. Toxicidad y manifestaciones clínicas por exposición aguda a los diferentes tipos de plaguicidas.

| <b>Tipo de plaguicida</b> | <b>Toxicidad</b>                                  | <b>Manifestaciones clínicas</b>   |
|---------------------------|---|---|
| Organoclorados            | Toxicidad aguda baja<br>Toxicidad crónica elevada | Hiperexcitabilidad, temblores, convulsiones.  |
| Organofosforados          | Toxicidad aguda elevada<br>Toxicidad crónica baja | Dolor de cabeza, debilidad, falta de coordinación, temblores musculares, salivación, alteraciones urinarias, contracción anormal de la pupila, diarrea, lagrimeo y vértigo.   |
| Carbamatos                | Toxicidad moderada                                | Las mismas que las ocasionadas por organofosforados, pero de menor duración debido a la unión reversible de la enzima acetilcolinesterasa.  |
| Piretrinas y piretroides  | Toxicidad baja                                    | En la piel: adormecimiento, comezón, ardor, hormigueo o calor.<br>Por ingestión o inhalación de cantidades altas: dolor de cabeza, mareos, náuseas, temblores musculares, debilidad, alteración de la conciencia, convulsiones y pérdida de conocimiento. |

Información obtenida de: Palacios-Nava *et al.* (1999), Weiss *et al.* (2004) y Karam *et al.* (2005).

La interacción dependerá de las características heredadas y adquiridas del individuo (o del sistema biológico), y de las circunstancias de la exposición, y como resultado es posible no encontrar efecto o tener algún efecto adverso (Arango, 2011).

Un agente genotóxico es todo aquel ente capaz de dañar la integridad del material genético y/o sus componentes asociados, incluyendo aquellos que interaccionan directa o indirectamente con el ADN, provocando el aumento de mutaciones; también se incluyen a los que interfieren en algunos procesos enzimáticos, así como en la reparación o en la génesis del material proteico involucrado en la segregación cromosómica. Como

consecuencia, el efecto genotóxico se expresará en diferentes formas como: teratogénico, mutagénico y carcinogénico (Cedano *et al.*, 2012). Una gran ventaja de utilizar biomarcadores de genotoxicidad es que permiten establecer la interacción directa del xenobiótico con el material genético, lo que facilita la detección temprana de posibles daños en el ADN (Simoniello *et al.*, 2010).

Los estudios de control y biomonitorio ocupacionales mediante el uso de biomarcadores, investigan los efectos en la salud de los trabajadores por exposición laboral y han contribuido de forma significativa al desarrollo de políticas en salud ocupacional, ya que son una herramienta complementaria en los estudios de epidemiología ambiental, a partir de los cuales, se realizan programas de vigilancia (Simoniello *et al.*, 2010; Arango, 2011).

Los biomarcadores que evalúan los cambios y alteraciones en el número o la estructura de los cromosomas provocados por la acción de agentes genotóxicos son: aberraciones cromosómicas (AC), micronúcleos (MN), intercambio de cromátidas hermanas (ICH) y la electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa (CoA) (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007; Gómez-Arroyo *et al.*, 2011).

### **III.V Ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (MNBC).**

El ensayo de micronúcleos es uno de los biomarcadores de genotoxicidad frecuentemente empleados en mamíferos y en la actualidad se utiliza para la evaluación de exposiciones ocupacionales a mutágenos (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007). Factores como su análisis relativamente sencillo, su alta confiabilidad, su bajo costo y el ser considerado un análisis más robusto desde el punto de vista estadístico, contribuyen al éxito y a la adopción de este biomarcador para estudios *in vitro* e *in vivo* de daños al genoma humano (Fenech y Morley, 1985; Aiassa *et al.*, 2012; Matheus y Bolaños, 2014).

El uso de la técnica del análisis de micronúcleos (MN) como medida de daño cromosómico sobre cultivos de linfocitos humanos fue propuesto por primera vez en 1976, cuyo único requisito era la elección de tipos celulares con gran actividad mitótica. Más tarde, en 1985, el ensayo fue mejorado empleando la citocalasina-B (cit-B), un inhibidor de ensamblaje de microfilamentos (al inhibir la polimerización de actina) que impide la citocinesis celular, logrando así que las células que se han sometido a una división nuclear y, por lo tanto, son capaces de expresar un micronúcleo, se identifiquen al microscopio óptico por su aspecto binucleado (Fenech *et al.*, 1999; Matheus y Bolaños, 2014).

La técnica fue validada a nivel mundial en 1999, por el programa internacional de micronúcleos humanos (HUMN: Human MicroNucleus Project, por sus siglas en inglés), con la participación de 42 laboratorios incluyendo aproximadamente 16,500 individuos de diferentes poblaciones del mundo (Matheus y Bolaños, 2014).

El MNBC proporciona evidencias de daño genotóxico y citotóxico mediante los criterios morfológicos característicos de este ensayo, ya que permite detectar fallas en los sistemas de reparación, alteraciones a nivel de cromosomas como: rompimientos, pérdida y reordenamiento cromosómico; también alteraciones a nivel del aparato mitótico; así como, necrosis y apoptosis. Debido a esto, permite identificar aquellos compuestos que provocan efectos aneugénicos y clastogénicos (Fenech, 2000; Aiassa *et al.*, 2012).

Los agentes aneugénicos se caracterizan por bloquear la polimerización de microtúbulos durante la formación del huso mitótico; originando de esta manera el rezago de cromosomas completos que no se incluyen en los núcleos hijos. Mientras que los agentes clastogénicos pueden actuar como análogos de base, intercalándose en el ADN e inhibiendo su síntesis, ocasionando un debilitamiento de enlace entre las bases, lo que termina por producir un rompimiento cromosómico (Cedano *et al.*, 2012).

Dichos rompimientos darán lugar a fragmentos cromosómicos acéntricos, que al no disponer de centrómeros no serán incluidos en los núcleos hijos. Tal y como se muestra en la Figura 1, estos fragmentos, al igual que los cromosomas completos rezagados, se rodean de membrana nuclear y aparecen en el citoplasma en interfase como pequeños núcleos que son visibles al microscopio óptico (Matheus y Bolaños, 2014). Su identificación resulta fácil debido a que, al bloquear el proceso de citocinesis, se obtienen células binucleadas (CBN) que lograron completar la división nuclear pero no la división citoplasmática (Fenech y Morley, 1985).

Además de los MN, otros biomarcadores que se pueden observar en este ensayo en las CBN y que también indican daño cromosómico son los puentes de cromatina (PC) y las yemas nucleares (YN).

Los PC (Figura 2) son finos puentes nucleoplasmáticos que unen los núcleos de una célula binucleada. Pueden mostrar evidencia de daño clastogénico originado por cromosomas dicéntricos cuyos centrómeros fueron empujados a polos opuestos de la célula durante la anafase (Fenech *et al.*, 2003a; Zuñiga *et al.*, 2012).

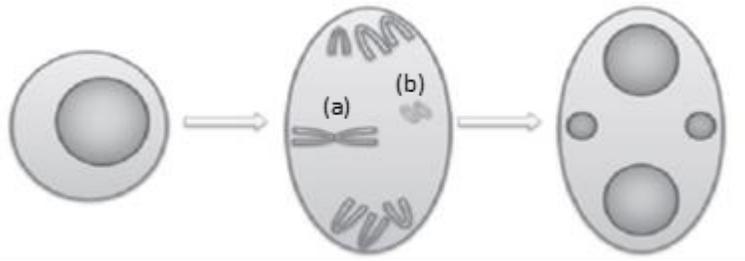


Figura 1. Formación de micronúcleos (MN) por alteraciones en la anafase durante la división celular. (a) cromosoma completo rezagado. (b) fragmentos cromosómicos acéntricos rezagados (Modificado de Matheus y Bolaños, 2014).

Por último, las YN son protuberancias que muestran una unión nucleoplasmática al núcleo principal, presentan formas redondas u ovaladas. La evidencia indica que dichas yemas nucleares provienen de la eliminación de ADN amplificado en la fase de síntesis y posiblemente también de la eliminación de complejos de reparación del ADN (Fenech *et al.*, 2003a; b; Zuñiga *et al.*, 2012).

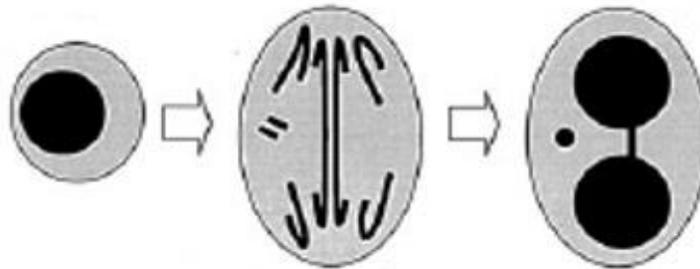


Figura 2. Formación de puente de cromatina (PC) y micronúcleo (MN) en anafase, a partir de un cromosoma dicéntrico, los centrómeros son jalados a polos opuestos de la célula (Modificado de Fenech, 2000).

Con el fin de que la técnica del MNBC sea considerada como una metodología estandarizada y fiable, Fenech *et al.* (2003b) establecieron los criterios para la selección adecuada y objetiva de las células en las que se debe realizar el conteo de los biomarcadores de daño genético. Fenech (2007) publica el protocolo para el MNBC como parte del HUMN. Los criterios a considerar se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Criterios de selección de células binucleadas (CBN), micronúcleos (MN), puentes de cromatina (PC) y yemas nucleares (YN).

| <b>Criterios de selección</b> |   |
|-------------------------------|---|
| CBN                           | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Citoplasma fácilmente distinguible.</li> <li>• Membrana citoplasmática y membranas nucleares intactas.</li> <li>• Núcleos del mismo tamaño, forma, grado de condensación de la cromatina, patrón e intensidad de tinción. Estos pueden tocarse, pero no solaparse.</li> </ul>  |
| MN                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• El diámetro oscila entre 1/16 y 1/3 de la media del diámetro del núcleo principal.</li> <li>• Forma redonda u ovalada.</li> <li>• No refráctil y con patrón e intensidad de tinción similar a los núcleos principales.</li> <li>• No conectados a ninguno de los núcleos principales, pueden tocarlos, pero no solaparse con ellos.</li> </ul> |
| PC                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tener continuidad entre ambos núcleos principales.</li> <li>• Su ancho no debe ser mayor que ¼ de diámetro de los núcleos principales.</li> <li>• Mismo patrón de tinción al de los núcleos principales.</li> </ul>  |
| YN                            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Similares a los MN en apariencia con la excepción de que están conectados al núcleo principal, puede ser a través de un puente.</li> <li>• Mismo patrón e intensidad de tinción al de los MN.</li> </ul>   |

Con base en la información anterior, la Figura 3 representa algunos ejemplos con los esquemas de las principales características a considerar para la observación y conteo de los biomarcadores del MNBC.

El MNBC también permite comparar la respuesta mitogénica de los linfocitos y los efectos citotóxicos de los agentes examinados mediante este ensayo. Para tal fin, se utiliza el Índice de División Nuclear (IDN) establecido en el HUMN, y el Índice de Proliferación con Bloqueo de la Citocinesis (IPBC) (Gentile *et al.*, 2012).

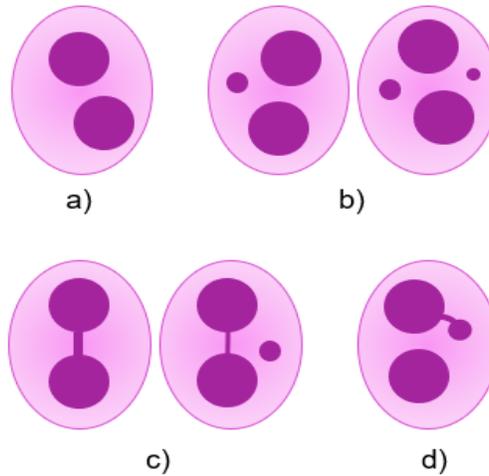


Figura 3. Esquemas de células viables para conteo según los criterios establecidos en el HUMN. a) CBN ideal, b) apariencia típica de MN en CBN, c) CBN con PC de diferentes diámetros y d) CBN con YN. a),c) y d) pueden o no contener MN.

El IDN evalúa el promedio de núcleos por célula utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{IDN} = (M_1 + 2M_2 + 3M_3 + 4M_4) / N$$

El IPBC indica el promedio de divisiones completadas por célula y para su cálculo se aplica la fórmula:

$$\text{IPBC} = (M_1 + 2M_2 + 3(M_3 + M_4)) / N$$

Para ambos casos,  $M_1 - M_4$  representa el número de células con 1 a 4 núcleos y N será el número total de células viables contadas (Fenech, 2007).

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

Los plaguicidas son considerados una herramienta fundamental para evitar o mitigar plagas en los cultivos y reducir pérdidas en la producción de alimentos, sin embargo, existen diversos estudios que documentan el daño que estos compuestos causan tanto al ambiente como a la salud de quienes están expuestos a ellos. Con el aumento en la demanda de producción agrícola, crece el número de terrenos dedicados a los cultivos, por lo tanto, incrementa el uso a gran escala y de manera inadecuada de los plaguicidas. Como consecuencia, la cantidad de trabajadores agrícolas que ponen en riesgo su salud al estar laboralmente expuestos a éstos también es mayor.

A partir de estudios epidemiológicos y de biomonitorio por exposición a plaguicidas es posible obtener información que permita tomar acciones en el marco regulatorio y legal relacionado a estos compuestos y así evitar el daño genotóxico. Dichos estudios son escasos en nuestro país, por ello, es necesario realizarlos principalmente en trabajadores agrícolas de aquellos estados con importancia en producción agrícola. Tal es el caso de Michoacán que, según datos estadísticos del Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), es uno de los principales estados productores de frutas y hortalizas en el país.

## **V. HIPÓTESIS**

Dado que existen evidencias de que diferentes plaguicidas han inducido daño genotóxico, entonces la exposición constante de trabajadores agrícolas a ellos provocará incremento en la frecuencia de micronúcleos (MN), puentes de cromatina (PC) y yemas nucleares (YN) en linfocitos de sangre periférica. Así mismo, provocará efectos citotóxicos alterando la cinética de proliferación y división celular.

## **VI. OBJETIVOS**

### **VI.I Objetivo general**

- Determinar el posible daño genotóxico en un grupo de trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas en el Municipio Cojumatlán de Régules, Michoacán.

### **VI.II Objetivos particulares**

- Evaluar la correlación entre la frecuencia de micronúcleos (MN), puentes de cromatina (PC) y yemas nucleares (YN) con la edad y el tiempo de exposición a plaguicidas.
- Determinar si la exposición a plaguicidas provoca alteraciones en el ritmo de división celular.

## VII. MATERIALES Y MÉTODOS

### VII.I Área y población de estudio.

Factores como la diversidad de climas y tipos de suelo colocan al estado de Michoacán como líder nacional en producción agrícola, siendo el aguacate su principal producto, seguido del maíz, la zarzamora, el limón y la fresa. El Producto Interno Bruto (PIB) del estado ascendió a cerca de 468 mil millones de pesos en 2016, con lo que aportó 2.5% al PIB nacional (SAGARPA, 2016; SE, 2017). La principal actividad económica del estado es la agricultura y según los datos publicados en la Actualización del Marco Censal Agropecuario por el INEGI en 2016, Michoacán pertenece a uno de los 6 estados del país que concentran la mayor cantidad de trabajadores agrícolas. Ocupa también el quinto lugar en cuanto al mayor número de terrenos dedicados a la agricultura con 357,899 terrenos, de los cuales 1,395 pertenecen al municipio Cojumatlán de Régules y abarcan un total de 3,517 hectáreas. De éstas, 3,513 pertenecen a cultivos a cielo abierto.

Debido a la información anterior, se seleccionó a un grupo de trabajadores agrícolas del municipio de Cojumatlán de Régules como la población expuesta a plaguicidas para este estudio. La población testigo pertenece al municipio de Sahuayo. A pesar de que ambas poblaciones pertenecen a la región de la ciénega de Chapala, presentan características diferentes importantes para este estudio, mismas que se detallarán más adelante.

Cojumatlán de Régules (Figura 4a) se localiza al noroeste del estado, en las coordenadas 20° 7' de latitud norte y 102° 0' de longitud oeste, a una altura de 1,540 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte y al oeste con el estado de Jalisco, al este con Venustiano Carranza y Sahuayo y al sur con Marcos Castellanos, con una distancia a la capital del estado de 237 Km.

Cuenta con 9,980 habitantes: 5,117 mujeres y 4,863 hombres; es la cabecera municipal y su principal actividad es la agricultura, predominando el cultivo de col, pepino, calabaza y lechuga; destacando la producción de cebolla y semilla de cebolla de la cual el municipio es productor y exportador al extranjero (INAFED, 2010; INEGI, 2010a).



Figura 4. Mapa de municipios de las poblaciones que participaron en el estudio. a) Cojumatlán de Régules (población expuesta) b) Sahuayo (población testigo). (Modificado de INEGI, 2016a).

El municipio Sahuayo (Figura 4b) se localiza al noroeste del estado de Michoacán, en las coordenadas  $20^{\circ} 3'$  de latitud norte y  $102^{\circ} 0'$  de longitud oeste, a una altura de 1,530 metros sobre el nivel del mar. Limita al norte con Venustiano Carranza, al este con Villamar, al sur con Jiquilpan, y al Noreste con Cojumatlán de Régules. Su distancia a la capital del estado es de 215 km y sus principales actividades son el comercio y la industria (INAFED, 2010; INEGI, 2010b).

El biomonitoreo se realizó a 60 personas con condiciones socioeconómicas similares que accedieron voluntariamente a participar. La población expuesta a plaguicidas estuvo constituida por 30 trabajadores agrícolas del municipio Cojumatlán de Régules y la población testigo por 30 individuos del municipio de Sahuayo.

Para evitar factores externos a la exposición de plaguicidas que pudieran influir en la frecuencia de los biomarcadores del MNBC, se consideró como población expuesta a los adultos trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas. Por el contrario, a la población testigo la conformaron solo aquellos adultos cuya actividad principal fuera ajena a la agricultura y al contacto con plaguicidas. Para ambas poblaciones se consideraron como criterios de exclusión a aquellas personas que presentaran alguna enfermedad crónico-degenerativa, toxicomanías y enfermedades como SIDA o hepatitis.

## **VII.II Cuestionarios y carta de consentimiento informado.**

El estudio se llevó a cabo de acuerdo con los principios manifestados en la Declaración de Helsinki y fue aprobado por la Comisión Estatal de Bioética de Michoacán (Anexo 1).

Previo a la toma de muestras se informó el propósito del estudio y se solicitó la firma de una carta de consentimiento informado (Anexo 2) sobre el uso de los datos obtenidos. Posteriormente, a cada individuo se le aplicó un cuestionario (Anexo 3) que incluía preguntas relacionadas con datos demográficos, antecedentes familiares y sobre su estilo de vida, salud, alimentación, tratamientos con medicamentos y hábitos de empleo de productos tóxicos.

También se incluyeron preguntas relacionadas con la exposición a plaguicidas como la actividad agrícola que se realiza, empleo de equipo de protección, tipo, manejo de plaguicidas y sus desechos, tiempo de exposición a éstos, etc.

## **VII.III Cultivos celulares de linfocitos para ensayo de MNBC.**

Por individuo se extrajeron 5 mL de sangre periférica, con jeringas y agujas nuevas y estériles, con 0.2 mL de heparina. Las muestras fueron transportadas a temperatura ambiente al laboratorio de Genotoxicología y Mutagénesis Ambientales del Centro de Ciencias de la Atmósfera, UNAM, donde se realizó la siembra de cultivos convencionales de linfocitos correspondiente a la técnica estandarizada del MNBC (Fenech, 2000, 2007).

Por persona se prepararon dos tubos cónicos, cada uno con 4.5 mL de medio de cultivo RPMI 1640 (MicroLab) y 0.2 mL de fitohemaglutinina (MicroLab) para estimular el proceso de división celular y garantizar la proliferación de los linfocitos; la sangre se añadió por goteo (de 8 a 10 gotas), de manera que cada tubo contenía aproximadamente 0.5 mL de muestra. Posteriormente se incubaron durante 48 horas a 37 °C.

Transcurrido el tiempo necesario para la duplicación de los núcleos celulares (48 h) se agregaron 370 µL de citocalasina-B (Gibco) con el fin de inhibir la polimerización de actina e impedir la citocinesis celular. Posteriormente los tubos se incubaron a 37 °C durante 24 h más.

#### **VII.IV Cosecha celular.**

A las 72 h de incubación se llevó a cabo la cosecha celular, se centrifugaron los tubos durante 10 minutos a 1,500 rpm y al finalizar se retiró cuidadosamente el sobrenadante. Para la fijación y separación de las células por centrifugaciones sucesivas, se utilizó una solución fría (fijador Carnoy) compuesta por metanol y ácido acético en proporción de 3:1 (MAA).

Por cada lavado, se añadieron 5 mL de fijador MAA frío a cada tubo y se centrifugaron durante 10 minutos a 1,500 rpm, el procedimiento se repitió, entre 3 y 5 veces, hasta obtener un botón celular blanquecino y finalmente, se mantuvieron los tubos en refrigeración hasta la realización de laminillas.

#### **VII.V Preparación de laminillas y tinción.**

Para tomar la muestra del botón celular se realizó una centrifugación previa durante 10 min a 1,500 rpm, se retiró el sobrenadante y las células se resuspendieron en 1 mL de fijador MAA para enseguida colocar 2 gotas en portaobjetos limpios. Se dejaron secar y posteriormente, fueron teñidas durante 5 min en colorante Giemsa (Sigma-Aldrich) previamente diluido en amortiguador de fosfatos pH 6.8, en proporción 1:9. Finalmente se enjuagaron las preparaciones para continuar con la observación en el microscopio óptico.

Para este estudio se realizaron 2 laminillas por cada tubo, en total, 4 laminillas por individuo.

#### **VII.VI Observación al microscopio y conteo celular.**

Es importante destacar que las muestras fueron procesadas con una clave numérica desconocida y asignada al azar para evitar prejuicios al momento de realizar el conteo celular.

La lectura de laminillas se realizó en un microscopio óptico a 40x. Para el conteo celular se registraron las primeras 500 células multinucleadas para obtener el Índice de División Nuclear (IDN) y el Índice de Proliferación por Bloqueo de la Citocinesis (IPBC).

También se registraron 1000 células binucleadas al azar para obtener la frecuencia de MN, PC y YN.

Para el conteo y registro celular de los biomarcadores se utilizaron los criterios de selección establecidos por Fenech *et al.* (2003b).

#### **VII.VII Análisis estadístico.**

Se utilizó la prueba *t* de Student para detectar diferencias significativas entre la población expuesta y la población testigo en cuanto a la frecuencia de MN, PC, y YN, así como en el IDN y en el IPBC.

Finalmente, para evaluar si existe correlación entre la frecuencia de los biomarcadores (MN, PC, y YN) con la edad y el tiempo de exposición a plaguicidas en la población expuesta, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson.

## VIII. RESULTADOS

### VIII.I Datos generales sobre las poblaciones.

En este estudio participaron 60 habitantes de la ciénega de Chapala, Michoacán, clasificadas en dos categorías, 30 individuos formaron la población expuesta a plaguicidas y otros 30, la población testigo. El promedio de edad para el total de personas es de 43.78 años (Tabla 7). Todos en condiciones socioeconómicas similares y ninguno con antecedentes de drogadicción, alcoholismo, tabaquismo, ni patologías como cáncer, SIDA o hepatitis.

Tabla 7. Edad de la población total del estudio.

| Población    | Personas | Mujeres | Hombres | Edad<br>(MEDIA ± E.E) |
|--------------|----------|---------|---------|-----------------------|
| Expuesta     | 30       | 9       | 21      | 44.7 ± 16.36          |
| Testigo      | 30       | 21      | 9       | 42.86 ± 12.01         |
| <b>Total</b> | 60       | 30      | 30      | 43.78 ± 14.26         |

A continuación, se detalla la información sociodemográfica, antecedentes laborales, hábitos, así como información sobre las condiciones de trabajo, uso y aplicación de plaguicidas, obtenida con ayuda de los cuestionarios aplicados a los participantes.

### VIII.II Características de la población expuesta.

De los 30 trabajadores agrícolas de Cojumatlán de Régules que conforman este grupo, 21 son del sexo masculino y 9 del sexo femenino. El promedio de edad fue de 44.7 años (Tabla 7), encontrándose la mayoría dentro de la categoría de 29 a 38 años, así como dentro de la que agrupa de los 59 a 68 años (Figura 5).

Este grupo lo conformaron las personas que trabajan en el campo debido a que, si bien tenían diferentes actividades laborales, todos refirieron encontrarse en contacto con plaguicidas, esto incluye a los campesinos sembradores, recolectores y a los aplicadores de plaguicidas.

### CATEGORÍAS DE EDADES POBLACIÓN EXPUESTA

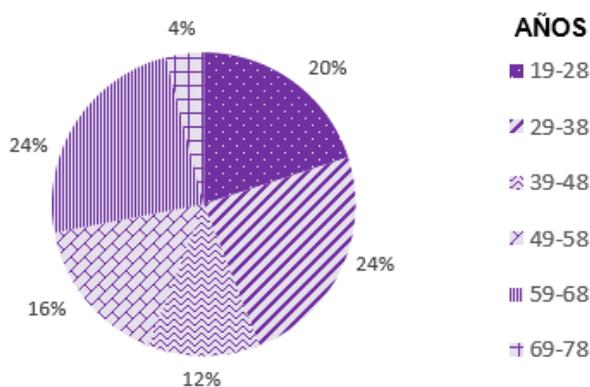


Figura 5. Porcentajes de las frecuencias de edades de la población expuesta a plaguicidas.

Entre los antecedentes laborales se encontró que la jornada de trabajo en el campo abarca de las 8 a las 14 horas, con un promedio entre la población de 8.5 horas diarias.

El 72% mencionó que consumía alimentos durante la jornada de trabajo y de éstos, el 57% negó lavarse las manos antes de comer y después de aplicar los plaguicidas.

En la Tabla 8 se observa la lista de los 24 plaguicidas utilizados en esta región, de éstos, 19 se encuentran dentro de las categorías de peligrosidad de la OMS y 7 dentro de la clasificación basada en la carcinogenicidad en seres humanos de la IARC.

El 86% respondió que aplicaba generalmente los plaguicidas de tipo líquido. Asimismo, 84% hizo referencia a que no suelen aplicar un solo tipo de plaguicida por jornada o cultivo, es decir, aplican en su mayoría mezclas de estos compuestos.

El 56% de los trabajadores agrícolas mencionó haber recibido algún tipo de capacitación para el uso y aplicación correcta de los agroquímicos y el 84% coincidió con que antes de la aplicación, llevaban a cabo la lectura de las instrucciones que vienen indicadas en las etiquetas de los productos. Sin embargo, solo el 58% de éstos confirmó el uso de equipo de protección al aplicarlos.

Tabla 8. Plaguicidas utilizados en Cojumatlán de Régules, Michoacán.

| Clasificación química | Ingrediente activo  | Clasificación OMS (2009) | Clasificación IARC (2018) |
|-----------------------|---------------------|--------------------------|---------------------------|
| Organoclorados        | Aldrín              | *                        | 2A                        |
|                       | Dieldrín            | *                        | 2A                        |
|                       | Endosulfán          | II                       | -                         |
|                       | Mirex               | *                        | 2B                        |
| Organofosforados      | Malatión            | III                      | 2A                        |
|                       | Metamidofos         | Ib                       | -                         |
|                       | Paratión            | Ia                       | 2B                        |
| Carbamatos            | Carbofurán          | II                       | -                         |
|                       | Metomilo            | II                       | -                         |
|                       | Oxamilo             | II                       | -                         |
| Piretroides           | Alfa-cipermetrina   | II                       | -                         |
|                       | Beta-ciflutrina     | Ib                       | -                         |
|                       | Cipermetrina        | II                       | -                         |
|                       | Lamda-cialotrina    | II                       | -                         |
|                       | Permetrina          | II                       | 3                         |
| Otros                 | Clorotalonil        | -                        | 2B                        |
|                       | Diflubenzuron       | III                      | -                         |
|                       | Fipronil            | II                       | -                         |
|                       | Fosfuro de aluminio | -                        | -                         |
|                       | Glifosato           | III                      | 2A                        |
|                       | Hidróxido cúprico   | III                      | -                         |
|                       | Paraquat            | II                       | -                         |
|                       | Terbutrina          | III                      | -                         |
| Tiacloprid            | II                  | -                        |                           |

Ia: extremadamente peligroso (OMS, 2010).

Ib: altamente peligroso (OMS, 2010).

II: moderadamente peligroso (OMS, 2010).

III: ligeramente peligroso (OMS, 2010).

\*Deben ser considerados obsoletos o discontinuados para su uso como plaguicidas (OMS, 2010).

2A: probablemente carcinogénico para los seres humanos (IARC, 2018).

2B: posiblemente carcinogénico para los seres humanos (IARC, 2018).

3: no se clasifica como carcinogénico para los seres humanos (IARC, 2018).

También se logró obtener datos sobre la sintomatología presentada en algunos trabajadores agrícolas (Tabla 9), es importante aclarar que la información fue obtenida de los cuestionarios y solo se consideraron aquellos síntomas presentados dentro de las actividades laborales relacionadas con el uso de los plaguicidas.

Tabla 9. Síntomas presentados en los trabajadores agrícolas de Cojumatlán de Régules.

| Síntoma                             | Porcentaje |
|-------------------------------------|------------|
| Dolor de cabeza*                    | 15%        |
| Mareos*                             | 12%        |
| Lagrimeo*                           | 9%         |
| Visión borrosa                      | 4.5%       |
| Resequedad de boca*                 | 9%         |
| Salivación excesiva                 | 6%         |
| Náuseas                             | 4.5%       |
| Dolor estomacal                     | 4.5%       |
| Dificultad para respirar            | 2.5%       |
| Tos                                 | 6%         |
| Dolor en el tórax                   | 6%         |
| Sudoración excesiva                 | 7.5%       |
| Comezón, ronchas o ardor en la piel | 4.5%       |
| Hormigueo*                          | 9%         |

\*Síntomas más frecuentes.

El síntoma que se presentó con mayor frecuencia fue el dolor de cabeza (15%), seguido por mareos (12%) y lagrimeo (9%), resequedad en la boca (9%) así como, hormigueo o temblor en alguna extremidad (9%).

Finalmente, como se muestra en la Tabla 10, se consideró en años el tiempo de exposición a plaguicidas, esto debido a que todos los participantes refirieron que sus actividades laborales estuvieron relacionadas con la agricultura y el contacto a estos productos. Fue así que se encontró un rango de años para la exposición que abarca desde los 5 hasta los 67 años, con un promedio en la población de 25.33 años.

La Tabla 10 muestra también los datos obtenidos para las frecuencias de los biomarcadores y los IDN e IPBC, por individuo.

Tabla 10. Datos obtenidos de la población de trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas.

|                      | <b>Edad*</b>        | <b>MN**</b>         | <b>PC**</b>        | <b>YN**</b>        | <b>IDN***</b>      | <b>IPBC***</b>     | <b>Tiempo de exposición*</b> |
|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|
| 1                    | 75                  | 10                  | 0                  | 3                  | 1.304              | 1.300              | 67                           |
| 2                    | 37                  | 10                  | 0                  | 0                  | 1.322              | 1.322              | 16                           |
| 3                    | 49                  | 12                  | 0                  | 3                  | 1.52               | 1.512              | 41                           |
| 4                    | 24                  | 26                  | 2                  | 2                  | 1.576              | 1.556              | 5                            |
| 5                    | 37                  | 20                  | 0                  | 1                  | 1.742              | 1.706              | 16                           |
| 6                    | 42                  | 5                   | 0                  | 6                  | 1.374              | 1.368              | 27                           |
| 7                    | 49                  | 5                   | 0                  | 4                  | 1.874              | 1.836              | 40                           |
| 8                    | 54                  | 33                  | 8                  | 1                  | 1.881              | 1.788              | 5                            |
| 9                    | 41                  | 13                  | 0                  | 4                  | 1.65               | 1.650              | 30                           |
| 10                   | 30                  | 12                  | 0                  | 6                  | 1.842              | 1.804              | 20                           |
| 11                   | 34                  | 5                   | 0                  | 2                  | 1.268              | 1.268              | 19                           |
| 12                   | 66                  | 18                  | 0                  | 7                  | 1.422              | 1.416              | 40                           |
| 13                   | 43                  | 17                  | 0                  | 2                  | 1.654              | 1.636              | 33                           |
| 14                   | 31                  | 8                   | 0                  | 14                 | 1.374              | 1.370              | 15                           |
| 15                   | 68                  | 26                  | 2                  | 2                  | 1.522              | 1.520              | 10                           |
| 16                   | 19                  | 6                   | 1                  | 19                 | 1.382              | 1.372              | 13                           |
| 17                   | 60                  | 6                   | 0                  | 0                  | 1.212              | 1.210              | 30                           |
| 18                   | 67                  | 5                   | 0                  | 0                  | 1.504              | 1.496              | 55                           |
| 19                   | 30                  | 25                  | 6                  | 0                  | 1.846              | 1.806              | 5                            |
| 20                   | 64                  | 9                   | 0                  | 9                  | 1.306              | 1.306              | 40                           |
| 21                   | 63                  | 7                   | 0                  | 2                  | 1.378              | 1.376              | 55                           |
| 22                   | 28                  | 10                  | 0                  | 7                  | 1.320              | 1.320              | 9                            |
| 23                   | 54                  | 30                  | 2                  | 1                  | 1.608              | 1.596              | 7                            |
| 24                   | 53                  | 5                   | 0                  | 5                  | 1.438              | 1.428              | 39                           |
| 25                   | 55                  | 8                   | 0                  | 2                  | 1.23               | 1.230              | 30                           |
| 26                   | 28                  | 13                  | 0                  | 14                 | 1.324              | 1.320              | 10                           |
| 27                   | 23                  | 5                   | 0                  | 2                  | 1.324              | 1.322              | 12                           |
| 28                   | 63                  | 7                   | 0                  | 0                  | 1.306              | 1.306              | 45                           |
| 29                   | 21                  | 7                   | 0                  | 16                 | 1.188              | 1.186              | 10                           |
| 30                   | 33                  | 6                   | 0                  | 6                  | 1.328              | 1.328              | 16                           |
| <b>(MEDIA ± E.E)</b> | <b>44.7 ± 16.36</b> | <b>12.30 ± 1.50</b> | <b>0.70 ± 0.33</b> | <b>4.66 ± 0.92</b> | <b>1.46 ± 0.03</b> | <b>1.45 ± 0.03</b> | <b>25.33 ± 17.02</b>         |

\*Años

\*\*Frecuencia en 1,000 CBN

\*\*\*Frecuencia en 500 células polinucleadas

### VIII.III Características de la población testigo.

Está formada por 30 personas del municipio de Sahuayo cuya actividad laboral es ajena a la agricultura, así como al contacto o uso de plaguicidas, dedicadas en su mayoría al comercio o al hogar. De estos, 21 son mujeres y 9 son hombres, con un promedio de edad similar al de la población expuesta con 42.86 años (Tabla 7).

En la Figura 6 se puede observar la frecuencia de edades en rangos de la población testigo, con un mayor porcentaje en aquellos que tienen de 28 a 35 años, así como de 52 a 59 años, de manera muy similar a la distribución de edades de la población expuesta.

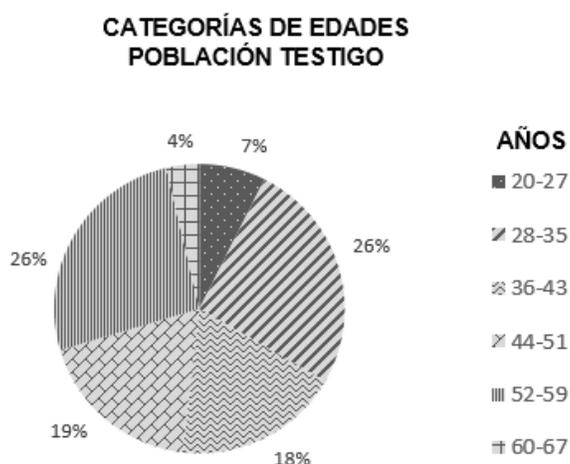


Figura 6. Porcentajes de las frecuencias de edades de la población testigo.

Los datos correspondientes a las frecuencias de los biomarcadores y a los IDN e IPBC para esta población se agrupan en la Tabla 11.

Tabla 11. Datos obtenidos de la población testigo.

|                      | Edad*                | MN**               | PC**               | YN**               | IDN***             | IPBC***            |
|----------------------|----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| 1                    | 48                   | 18                 | 0                  | 0                  | 1.870              | 1.798              |
| 2                    | 32                   | 5                  | 0                  | 1                  | 1.268              | 1.268              |
| 3                    | 57                   | 9                  | 0                  | 10                 | 1.616              | 1.602              |
| 4                    | 63                   | 2                  | 0                  | 1                  | 1.676              | 1.656              |
| 5                    | 34                   | 10                 | 1                  | 2                  | 1.548              | 1.528              |
| 6                    | 45                   | 5                  | 1                  | 0                  | 1.066              | 1.066              |
| 7                    | 54                   | 12                 | 0                  | 4                  | 1.064              | 1.064              |
| 8                    | 44                   | 11                 | 0                  | 0                  | 1.288              | 1.290              |
| 9                    | 34                   | 5                  | 0                  | 0                  | 1.288              | 1.288              |
| 10                   | 53                   | 5                  | 0                  | 2                  | 1.204              | 1.204              |
| 11                   | 45                   | 6                  | 0                  | 1                  | 1.172              | 1.170              |
| 12                   | 37                   | 5                  | 0                  | 0                  | 1.398              | 1.394              |
| 13                   | 20                   | 8                  | 1                  | 1                  | 1.208              | 1.208              |
| 14                   | 22                   | 6                  | 0                  | 0                  | 1.274              | 1.274              |
| 15                   | 36                   | 10                 | 0                  | 3                  | 1.276              | 1.272              |
| 16                   | 54                   | 18                 | 0                  | 5                  | 1.654              | 1.612              |
| 17                   | 57                   | 7                  | 2                  | 1                  | 1.488              | 1.474              |
| 18                   | 40                   | 0                  | 0                  | 0                  | 1.312              | 1.310              |
| 19                   | 31                   | 4                  | 0                  | 0                  | 1.216              | 1.216              |
| 20                   | 36                   | 4                  | 0                  | 1                  | 1.170              | 1.170              |
| 21                   | 49                   | 13                 | 0                  | 3                  | 1.432              | 1.422              |
| 22                   | 31                   | 2                  | 0                  | 0                  | 1.240              | 1.240              |
| 23                   | 53                   | 6                  | 1                  | 0                  | 1.104              | 1.104              |
| 24                   | 39                   | 7                  | 0                  | 2                  | 1.192              | 1.220              |
| 25                   | 34                   | 6                  | 0                  | 2                  | 1.438              | 1.430              |
| 26                   | 58                   | 4                  | 0                  | 1                  | 1.224              | 1.220              |
| 27                   | 29                   | 6                  | 0                  | 0                  | 1.308              | 1.306              |
| 28                   | 32                   | 3                  | 0                  | 0                  | 1.499              | 1.489              |
| 29                   | 57                   | 7                  | 0                  | 0                  | 1.222              | 1.220              |
| 30                   | 62                   | 3                  | 0                  | 0                  | 1.700              | 1.686              |
| <b>(MEDIA ± E.E)</b> | <b>42.86 ± 12.01</b> | <b>6.90 ± 0.77</b> | <b>0.20 ± 0.08</b> | <b>1.33 ± 0.38</b> | <b>1.34 ± 0.03</b> | <b>1.33 ± 0.03</b> |

\*Años

\*\*Frecuencia en 1,000 CBN

\*\*\*Frecuencia en 500 células polinucleadas

### VIII.IV Frecuencia de micronúcleos (MN), puentes de cromatina (PC) y yemas nucleares (YN).

La Tabla 12 muestra de manera general los resultados obtenidos después de analizar estadísticamente las frecuencias de los biomarcadores del MNBC por cada 1000 CBN.

Tabla 12. Frecuencias de biomarcadores de ambas poblaciones.

| Población | Micronúcleos (MN)<br>(MEDIA ± E.E) | Puentes de cromatina (PC)<br>(MEDIA ± E.E) | Yemas nucleares (YN)<br>(MEDIA ± E.E) |
|-----------|------------------------------------|--|---------------------------------------|
| Expuesta  | 12.30 ± 1.50*                      | 0.70 ± 0.33                                | 4.66 ± 0.92*                          |
| Testigo   | 6.90 ± 0.77                        | 0.20 ± 0.08                                | 1.33 ± 0.38                           |

\*Diferencias significativas obtenidas por la prueba *t* de Student ( $p < 0.05$ )

Al utilizar la prueba *t* de Student se obtuvieron diferencias significativas entre la población testigo y la expuesta en cuanto a frecuencia de MN y YN, por el contrario, los PC no mostraron diferencias significativas ( $p = 0.1556$ ) (Figura 6).

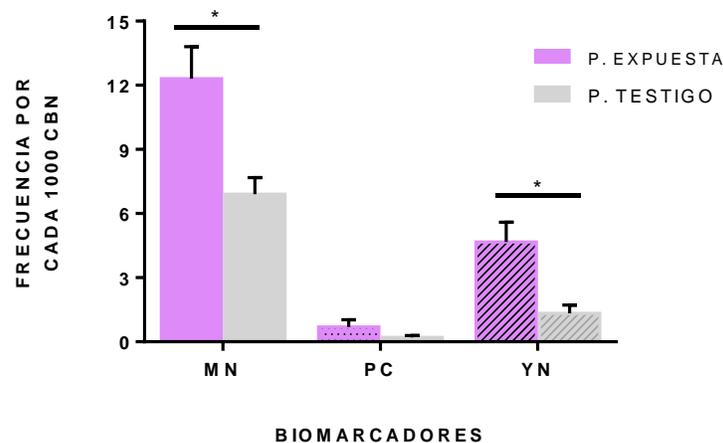


Figura 6. Frecuencias de MN, YN y PC.

\*Diferencias significativas obtenidas por la prueba *t* de Student ( $p < 0.05$ ).

La frecuencia de MN en linfocitos de sangre periférica entre ambas poblaciones mostró diferencias significativas con una  $p=0.002$  (Figura 7). El promedio de MN fue mayor en la población expuesta con  $12.30 \pm 1.50$ , comparado con el promedio de  $6.90 \pm 0.77$  de la población testigo.

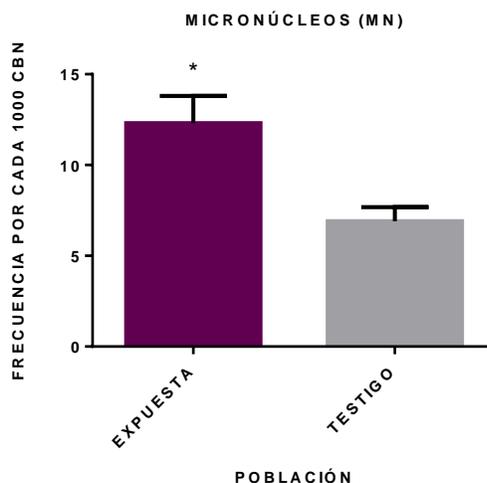


Figura 7. Frecuencia de MN en ambas poblaciones.  
\*Diferencias significativas obtenidas por la prueba  $t$  de Student ( $p<0.05$ ).

La Figura 8 representa las diferencias significativas encontradas para la frecuencia de YN con una  $p=0.001$ , la población expuesta mostró el valor más alto en promedio con un valor de  $4.66 \pm 0.92$ , en contraste con el valor de  $1.33 \pm 0.38$  de la población testigo.

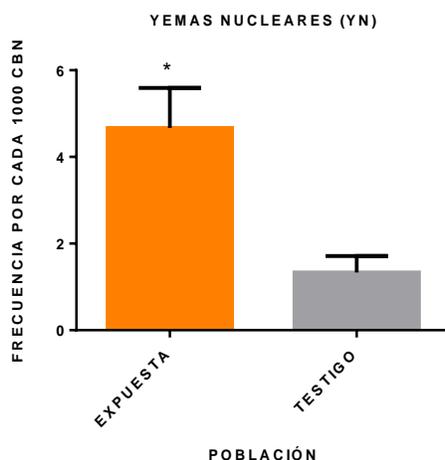


Figura 8. Frecuencia de YN en ambas poblaciones.  
\*Diferencias significativas obtenidas por la prueba  $t$  de Student ( $p<0.05$ ).

En la Figura 9 pueden observarse imágenes al microscopio óptico de los biomarcadores utilizados en este estudio.

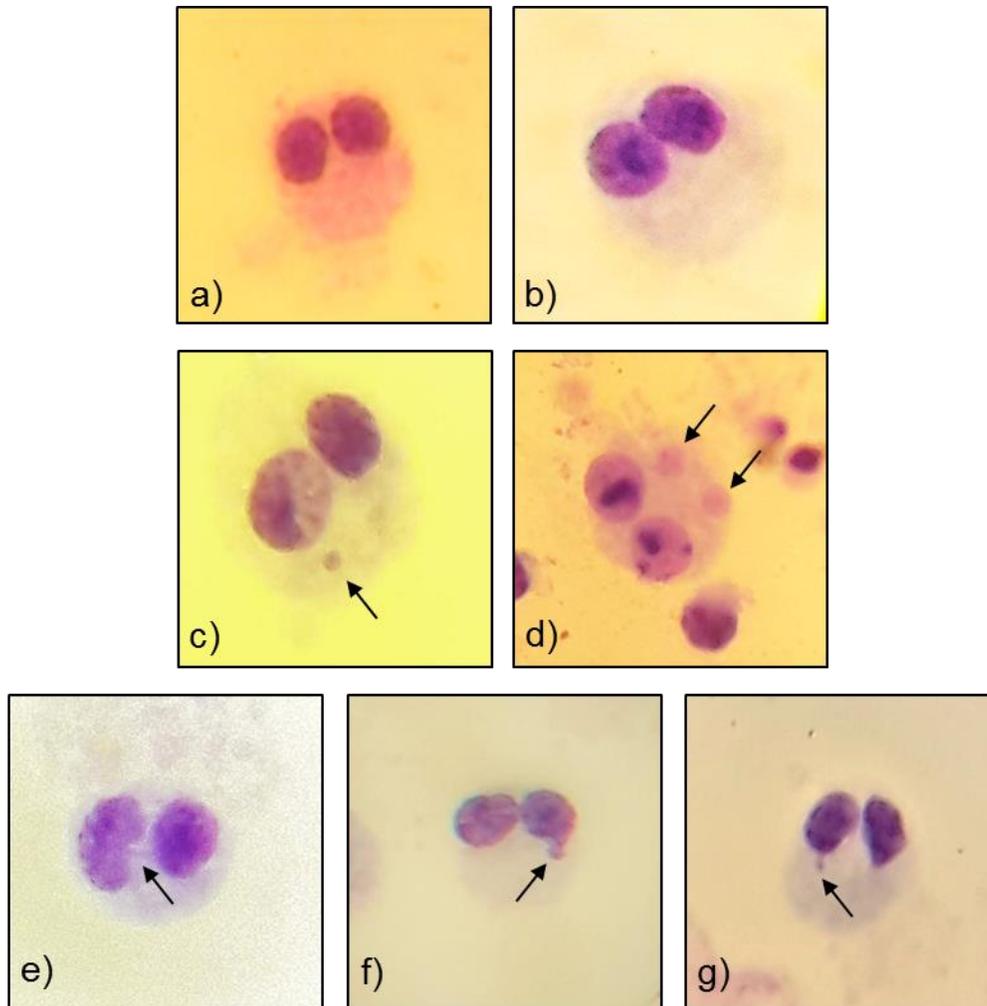


Figura 9. Linfocitos observados en microscopio óptico a 40x.

a) y b) CBN sin MN. c) CBN con un MN. d) CBN con dos MN. e) CBN con un PC. f) y g) CBN con una YN.

### VIII.V Índice de División Nuclear (IDN) e Índice de Proliferación con Bloqueo de la Citocinesis (IPBC).

El IDN y el IPBC también fueron analizados mediante la prueba *t* de Student y se encontraron diferencias significativas para ambos entre las dos poblaciones (Tabla 13).

Tabla 13. IDN e IPBC de ambas poblaciones.

| Población | Índice de División Nuclear (IDN)<br>(MEDIA ± E.E) | Índice de Proliferación con Bloqueo de la Citocinesis (IPBC)<br>(MEDIA ± E.E) |
|-----------|---|---|
| Expuesta  | 1.46 ± 0.03*                                      | 1.45 ± 0.03*  |
| Testigo   | 1.34 ± 0.03                                       | 1.33 ± 0.03   |

\*Diferencias significativas obtenidas por la prueba *t* de Student ( $p < 0.05$ )

El IDN mostró un promedio mayor en la población expuesta ( $1.46 \pm 0.03$ ) comparado con el promedio de la población testigo ( $1.34 \pm 0.03$ ) (Figura 10). Este análisis mostró una  $p=0.027$ .

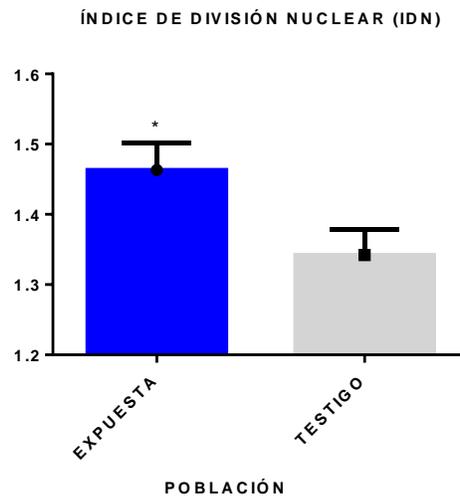


Figura 10. IDN de ambas poblaciones.

\*Diferencias significativas obtenidas por la prueba *t* de Student ( $p < 0.05$ ).

Con valor de  $p=0.023$ , el IPBC también mostró diferencias significativas entre el promedio de la población expuesta ( $1.45 \pm 0.03$ ) y el promedio de la población testigo ( $1.33 \pm 0.03$ ) como se observa en la Figura 11.

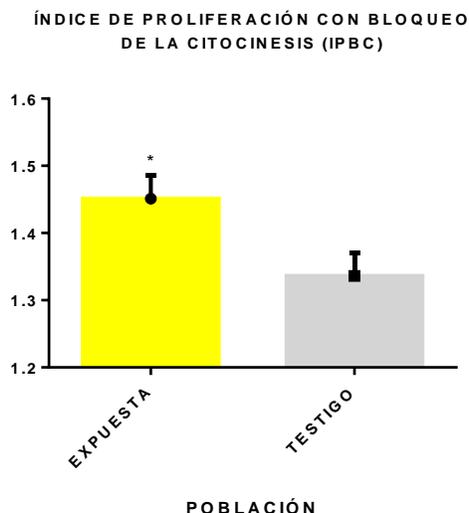


Figura 11. Representación gráfica de IPBC entre ambas poblaciones.  
\*Diferencias significativas obtenidas por la prueba *t* de Student ( $p<0.05$ ).

### VIII.VI Correlación entre el daño genotóxico con la edad y el tiempo de exposición a plaguicidas.

Finalmente se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson para evaluar la existencia de alguna correspondencia entre la frecuencia de los biomarcadores de este ensayo (MN, PC y YN), contra el tiempo de exposición a plaguicidas (años que llevan trabajando en contacto con estos compuestos) y la edad de los trabajadores agrícolas de Cojumatlán de Régules. En la tabla 14 se observan los valores obtenidos que indican que no existe correlación entre estos factores.

Tabla 14. Valores obtenidos mediante el coeficiente de correlación de Pearson (*r*).

|                             | MN     | PC     | YN     |
|-----------------------------|--------|--------|--------|
| <b>EDAD</b>                 | 0.066  | -0.018 | -0.460 |
| <b>TIEMPO DE EXPOSICIÓN</b> | -0.383 | -0.420 | -0.255 |

## IX. DISCUSIÓN

A finales del siglo XIX y principios del siglo XX se impulsaron obras que buscaban articular la infraestructura productiva en los suelos de la ciénega de Chapala y, como consecuencia, aumentó el número de tierras para la agricultura y ganadería tras la desecación de suelos (Dávila, 2014). Durante los años cincuenta, sesenta y setenta, la ciénega fue casi totalmente destinada a la producción de granos como sorgo, maíz, cártamo, girasol y alpiste. Después, la demanda de hortalizas introdujo nuevos cultivos (Covarrubias *et al.*, 2012; Loaeza *et al.*, 2015) y, al aumentar la industrialización se fomentó la producción agrícola a gran escala, entrando a plenitud la Revolución Verde y con ella, el uso intensivo de plaguicidas de síntesis química.

Con el paso del tiempo aumentó la urbanización en los valles de la región y la producción agrícola permitió la autosuficiencia alimentaria; sin embargo, se incrementó también el deterioro ambiental generando incluso una relación conflictiva por el uso de los recursos. Creció también el número de organizaciones jornaleras y de campesinos, así como la contaminación por las descargas urbanas y agrícolas de aguas contaminadas por el empleo indiscriminado de agroquímicos que no solo han deteriorado la vida lacustre, sino que afectan también a las poblaciones humanas expuestas directamente a ellos (Loaeza *et al.*, 2015).

Debido a lo anterior, es importante destacar que a pesar de que el uso de los plaguicidas brinda beneficios a la ciénega de Chapala, en cuanto a la producción de alimentos, tanto de autoconsumo como para su exportación, su uso intensivo y sin las medidas de protección adecuadas puede resultar en efectos negativos para la salud de la población.

El municipio Cojumatlán de Régules, perteneciente a esta región, es un claro ejemplo de esto, debido a que, al ser una población dedicada en su mayoría a la agricultura, consume grandes cantidades de agroquímicos para el mantenimiento de los campos agrícolas.

En este estudio se obtuvo una lista de 24 plaguicidas utilizados por los campesinos de esta región. De los ingredientes activos que forman esta lista, 19 se encuentran dentro de las categorías de peligrosidad de la OMS y 7 dentro de la clasificación basada en la carcinogenicidad en seres humanos de la IARC.

Dentro de la clasificación de la OMS (2010), aparece paratión como extremadamente peligroso (Ia) y metamidofos, al igual que Beta-ciflutrina, como altamente peligroso (Ib).

Alfa-cipermetrina, carbofurán, cipermetrina, endosulfán, fipronil, lamda-cialotrina, metomilo, oxamilo, paraquat, permetrina y tiacloprid pertenecen al grupo moderadamente peligrosos (II). Dentro de los ligeramente peligrosos (III) se encuentran diflubenzuron, glifosato, hidróxido cúprico, malatión y terbutrina.

Finalmente, aldrín, dieldrín y mirex son incluidos en los ingredientes activos que deben ser considerados obsoletos o descontinuados para su uso como plaguicidas.

También, se encuentran dentro de la clasificación de la IARC (2018), basada en la carcinogenicidad en seres humanos, aldrín, dieldrín, glifosato y malatión como probablemente carcinogénicos para los seres humanos (2A) y, clorotalonil y mirex como posiblemente carcinogénicos para los seres humanos (2B).

Es importante destacar que, dentro del Catálogo de Plaguicidas emitido por la COFEPRIS en 2004, aparecen también aldrín, dieldrín y mirex como parte de la lista de los plaguicidas prohibidos en México y refiere también que su importación, fabricación, formulación, comercialización y uso han sido prohibidos conforme al Diario Oficial de la Federación del 3 de enero de 1991.

Datos de la OMS indican que anualmente y a nivel mundial se registran cerca de 2 millones de personas intoxicadas por plaguicidas. En México, según los datos publicados en el Boletín Epidemiológico emitido por la Dirección General de Epidemiología (DGE), para 2017 se registraron 3,050 casos de intoxicaciones por plaguicidas, de éstos, 2,041 fueron hombres y 1,009 mujeres. Para el caso particular de Michoacán, se presentaron 195 casos en hombres y 73 en mujeres. Esta diferencia puede atribuirse a que tal y como se observó en este trabajo y en concordancia con los trabajos previos realizados por Muñoz (2016), García (2016) y Badillo (2017) en la misma región, la mayoría de los trabajadores agrícolas son hombres. A pesar de esto, debe considerarse que no hay información precisa que indique la cantidad o porcentaje de los casos registrados que pertenece a personas expuestas laboralmente.

Dentro de los resultados obtenidos en los cuestionarios, destaca que el 85% de los jornaleros mencionó la presencia de síntomas relacionados con la exposición aguda y/o intoxicación a plaguicidas durante la jornada de trabajo y de exposición o contacto con estos compuestos, y cabe destacar, que las personas desconocían la relación de su uso con la sintomatología presentada. Sin embargo, algunos conocían casos sobre la muerte de campesinos que estuvieron previamente en contacto directo con dichos químicos.

Los síntomas mencionados con mayor frecuencia fueron: dolor de cabeza (15%), mareos (12%), lagrimeo (9%), resequeidad en la boca (9%) y hormigueo o temblor en alguna extremidad (9%), entre otros. Estas manifestaciones clínicas son características de la exposición aguda a plaguicidas, principalmente de los grupos organofosforados y carbamatos (Ortega-Ceseña *et al.*, 1994; Palacios-Nava *et al.*, 1999; Palacios-Nava, 2003; Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007; Palacios y Paz, 2011), mismos que se encuentran dentro de los plaguicidas utilizados en la región. Debido a esto, se puede sugerir que más de la mitad de los trabajadores agrícolas ha presentado antecedentes de intoxicación por exposición aguda.

Al comprobar que los trabajadores desconocían que estos productos pueden ser los causantes de dichos síntomas, se refuerza la idea de que los datos estadísticos sobre intoxicaciones causadas por plaguicidas no reflejan la realidad sobre los efectos producidos por la exposición a éstos, tal y como se menciona en Ortiz *et al.* (2013), puesto que las estadísticas consideran solo a aquellos diagnosticados y registrados en instituciones de salud y en muchas ocasiones los accidentes no se reportan o el diagnóstico no es el adecuado, por lo que es necesario destacar la importancia del incremento en los estudios de biomonitorio.

Las intoxicaciones y las muertes provocadas por plaguicidas son principalmente debidas a la falta de equipo de protección y al manejo inadecuado de estas sustancias (Gómez-Arroyo *et al.*, 2013). Esta razón vuelve aún más vulnerables a sufrir daño crónico o agudo a los trabajadores agrícolas que se encuentran en constante contacto con estos compuestos. Tal es el caso de los campesinos de Cojumatlán pues a pesar de que la mayoría refirió utilizar equipo de protección al aplicarlos, de éstos solo una persona dijo utilizar una máscara especial y el resto emplea solo un pañuelo para cubrir nariz y boca, lo cual resulta ineficiente ante la exposición a estos productos debido a que existen otras vías de riesgo: la ingestión y la absorción.

Aunado a lo anterior, los trabajadores son más propensos a intoxicarse debido a los malos hábitos de higiene al consumir alimentos durante la jornada de trabajo sin lavarse las manos, además, la mayoría no maneja ropa adecuada ni especial para realizar sus actividades laborales a diferencia de las cotidianas, aumentando así el tiempo y las vías de exposición, tanto para ellos, como para las personas cercanas a ellos.

El 84% de los trabajadores agrícolas hizo referencia a que no suelen aplicar un solo tipo de plaguicida por jornada o cultivo, es decir, aplican en su mayoría mezclas de estos

compuestos. Esta información coincide con la reportada en otros estudios (Alavanja *et al.*, 2004; Aiassa *et al.*, 2012; Matheus y Bolaños, 2014).

Coalova *et al.* (2013) hacen referencia a que esta práctica es común en el país, pues permite ahorrar tiempo y recursos debido a que en un solo tanque de aplicación se mezclan varios plaguicidas con distintos principios activos, aditivos y para diferentes organismos blanco, cuando en teoría, las formulaciones están diseñadas para ser usadas de forma individual. De esta manera, coincide con Karam *et al.* (2005) en que en estas mezclas se desestiman las posibles interacciones y efectos, como sinergia, potenciación e inhibición de la desintoxicación, no solo entre los principios activos, sino también entre los aditivos. Esto trae como consecuencia que la exposición de las poblaciones a plaguicidas se manifieste en formas complejas que son afectadas por distintos factores, lo que provoca que sea más difícil calcular el grado y la calidad de la exposición.

De igual manera, Coalova *et al.* (2013) refieren que en un estudio en donde se utilizó la técnica de AC y la de CoA como biomarcadores para evaluar el efecto de mezclas de endosulfán, carbofurán (ambos dentro de la lista de plaguicidas utilizados en la región de este estudio) y monocrotofos, se encontró que los compuestos por separado producen daño al ADN a altas concentraciones, pero se obtiene el mismo efecto cuando se emplean concentraciones más bajas de dichos compuestos en mezcla. También refirieron que, en estudios realizados en linfocitos de sangre periférica, tratados con imidacloprid y metalaxil, que son habitualmente aplicados en conjunto, se observó incremento de la frecuencia de ICH y de MN cuando los compuestos se aplicaron como una mezcla, lo cual podría indicar un posible efecto sinérgico entre ambos. Dicha información demuestra la importancia del aumento de estudios que consideren estos factores y así arrojen la información que contemple y refleje las condiciones lo más cercano a la realidad.

Los MN implican daño cromosómico y/o del aparato mitótico. Un aumento en el número de células con MN es sugestivo de inestabilidad genómica, mayor propensión a rompimiento y alteraciones a nivel de cromosomas, así como ausencia o alteraciones en la reparación de lesiones del ADN. De igual manera, las YN indican daño genético, ya que son consideradas un marcador de amplificación génica y representan mecanismos en los que las células eliminan ADN amplificado y también complejos de reparación (Fenech *et al.*, 2003a, b; Peralta *et al.*, 2011; Zuñiga *et al.*, 2012).

Debido a la importancia del daño que evidencian estos biomarcadores, en este estudio se utilizó el MNBC. Se obtuvieron diferencias significativas entre la población testigo y la

expuesta en cuanto a frecuencia de MN y YN. Estos datos coinciden con los resultados publicados por Bolognesi *et al.* (2002) en poblaciones expuestas de Italia, Ascarrunz *et al.* (2005) en Bolivia, así como Costa *et al.* (2006) en Portugal, en los cuales se obtuvieron también diferencias significativas, siendo mayor la frecuencia de MN en la población expuesta, y por lo tanto, demuestra que la exposición a mezclas de plaguicidas causa daño genotóxico.

En relación con lo anterior, estudios asociados a problemas de piel, alteraciones en el sistema nervioso y en el funcionamiento hepático, así como en sistema reproductivo: malformaciones congénitas, infertilidad y abortos espontáneos, han revelado un incremento en el riesgo de estos padecimientos entre agricultores y trabajadores forestales expuestos en periodos prolongados a plaguicidas (Palacios-Nava *et al.*, 1999; Alavanja *et al.*, 2004; Ascarrunz *et al.*, 2005; Karam *et al.*, 2005).

Los MN constituyen también un marcador de estados tempranos de enfermedades crónicas como el cáncer, una frecuencia elevada de ellos predice el riesgo de esta enfermedad en seres humanos (Gómez-Arroyo *et al.*, 2011). Lo anterior puede explicarse con la relación de los reordenamientos cromosómicos y formación de PC en anafase debido a que conducen a ciclos de rompimientos-fusión-puente y a la regeneración de más MN; su importancia radica en que estos eventos se ven comúnmente en las primeras etapas de la carcinogénesis, por lo que frecuencias elevadas de MN son indicativas de defectos en la reparación del ADN y en los cromosomas segregados (Matheus y Bolaños, 2014).

Aunado a lo anterior y a que existen evidencias que asocian la exposición crónica a plaguicidas con el riesgo de contraer distintos tipos de cáncer como: leucemia, linfoma no-Hodkin, cáncer de piel, próstata, páncreas, estómago, ovario, seno y pulmón (Van y Willems, 2003; Alavanja *et al.*, 2004; Burns, 2005; Mahajan *et al.*, 2006; Lerro *et al.*, 2016) se puede considerar a la población de trabajadores agrícolas en riesgo de padecer éstas enfermedades, debido a que presentan un número elevado de MN en contraste con la población testigo y a su vez, como se mencionó anteriormente, la mitad de los plaguicidas que utilizan en la región están catalogados como alta y extremadamente peligrosos así como probables o posibles carcinógenos según la OMS (2010) y la IARC (2018).

El IDN y el IPBC mostraron diferencias significativas, con un número mayor en la población expuesta a plaguicidas lo que sugiere que la exposición a las mezclas de productos químicos no solo causa efectos genotóxicos, también provoca daños citotóxicos que alteran la cinética de proliferación y división celular (Fenech, 2000; Fenech *et al.*, 2003b).

La jornada laboral de los trabajadores agrícolas de Cojumatlán en promedio es de 8.5 horas diarias, es decir, se encuentran en constante exposición a agentes químicos, el equivalente a 1/3 parte del día. Aunque este dato puede resultar alarmante, este estudio no presentó correlación entre el tiempo de exposición y el daño genético. Esto coincide con los resultados obtenidos por Muñoz (2016) en un estudio realizado en la misma región con personas expuestas directa e indirectamente a plaguicidas; así como con lo reportado por Gómez-Arroyo *et al.* (2013) debido a que mencionan que en estudios de Márquez *et al.* 2005, Kehdy *et al.* 2007 y da Silva *et al.* 2008, también se describen frecuencias positivas, pero sin correlación. Lo anterior se puede explicar con base a lo publicado por Matheus y Bolaños (2014) al considerar el tiempo de exposición como una variable difícil de cuantificar, ya que en muchas ocasiones existen intervalos en los que no se usan los plaguicidas o periodos de descanso entre una siembra y otra. Tal es el caso de la región de este estudio, ya que, según la información obtenida en campo, se utiliza el tipo de riego de temporal y, por lo tanto, existen periodos en los que se suspende la aplicación de agroquímicos; sin embargo, se puede deducir que existe un daño crónico acumulativo que se va incrementando con el paso del tiempo, tal y como se muestra en estudios con resultados positivos y con correlaciones entre la frecuencia de MN en linfocitos y el tiempo de exposición (Bolognesi *et al.*, 2002).

Los resultados obtenidos en este trabajo confirman el daño genético causado por los plaguicidas en los trabajadores agrícolas y a su vez, reiteran la importancia de la realización de ensayos de biomonitorio para la detección temprana de éstos. Si bien existen en México reglamentos relacionados con el uso de estos productos, la mayoría están enfocados en la importación y venta desde un punto de vista administrativo. Por esto se debe considerar el aumento de los estudios epidemiológicos que permitan la creación de normatividad adecuada para la prevención de riesgos en la salud.

Actualmente existen a nivel mundial trabajos y estudios toxicológicos y epidemiológicos que abordan la problemática de este tema, sin embargo, la información sigue siendo escasa y no ha tenido gran alcance. Como consecuencia, el uso desmedido de estos productos continúa, debido a los beneficios económicos relacionados con la demanda de altos niveles de producción agrícola. Por lo que se sugiere brindar la información y equipo necesario, así como la capacitación a los trabajadores agrícolas, para crear conciencia sobre el daño al que están expuestos y poder reducir al menos el riesgo, utilizando equipo de protección adecuado. Lo anterior se sustenta con un estudio realizado por Simoniello *et al.* (2010) en

donde se encontró que el uso correcto y constante de equipo de protección en jornaleros redujo la presencia de daño genético.

Aunque este trabajo se enfocó en la evaluación del daño genético en la salud de la población expuesta laboralmente, no se debe minimizar la importancia de la necesidad de medidas preventivas para la población en general, ya que el mal uso de estos compuestos contaminan y dañan al ambiente, así como a otros seres vivos, provocando que el efecto de éstos sea aún mayor y no solo afecte a las personas expuestas directamente, sino también a aquellas que pueden estar en contacto indirecto con los mismos.

## X. CONCLUSIONES

- El ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis (MNBC) en linfocitos de sangre periférica es un biomarcador que permite la detección de daño genético en poblaciones expuestas laboralmente a plaguicidas.
- Los trabajadores agrícolas de Cojumatlán de Régules mostraron diferencias significativas en la frecuencia de MN y YN, lo que demuestra daño cromosómico y eliminación de ADN amplificado atribuido a la exposición a mezclas de plaguicidas.
- No se encontró correlación entre la frecuencia de los biomarcadores y factores como la edad y tiempo de exposición.
- El IDN y el IPBC mostraron diferencias significativas entre ambas poblaciones con un número mayor en la población expuesta, lo que sugiere que la exposición a las mezclas de plaguicidas causa efectos citotóxicos.

## XI. REFERENCIAS

Aiassa D., Mañas F., Bosch B., Gentile N., Bernardi N. y Gorla N. (2012). Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana*. 17: 485-510.

Alavanja M., Hoppin J. y Kamel F. (2004). Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annual Review of Public Health*. 25: 155-197.

Albert L.A. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. *Revista de Toxicología en línea (retel)*.

Disponible en:

<http://www.sertox.com.ar/modules.php?name=Content&pa=showpage&pid=124>

Arango V.S. (2011). Biomarcadores para la evaluación de riesgo en la salud humana. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 30: 75-82.

Ascarrunz M., Tirado N., González A., Cuti M., Cervantes R., Huici O. y Jors E. (2005). Evaluación de riesgo genotóxico: biomonitorización de trabajadores agrícolas de Caranavi, Gunay, Palca y Mecapaca, expuestos a plaguicidas. *Cuadernos del Hospital de Clínicas*. 50: 27-37.

ATSDR. (2003). Piretrinas y Piretroides. Departamento de Salud y Servicios Humanos de los EE.UU. Servicio de Salud Pública. Estados Unidos. Disponible en: [https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es\\_phs155.pdf](https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs155.pdf)

Badillo D. (2017). Evaluación del daño genotóxico, causado por exposición a plaguicidas en una población rural. (Tesis de Maestría). Posgrado en Ciencias Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Bejarano F. (2017). Los plaguicidas altamente peligrosos en México. Red de Acción sobre Plaguicidas y Alternativas en México, A. C. (RAPAM). México. Libro datos. 364 p.

Bolognesi C., Perrone E. y Landini E. (2002). Micronucleus monitoring of a floriculturist population from western Liguria, Italy. *Mutagenesis*. 17: 391-397.

Burns C. (2005). Cancer among pesticide manufacturers and applicators. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health*. 31: 9-17.

Carbajal-López Y., Gómez Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Calderón-Segura M.E. y Martínez-Arroyo A. (2016). Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide mixture in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronuclei test. *Environmental Science and Pollution Research*. 23: 2513-2520.

Cedano D.A., Martínez G.S., Escalera V.F., Salgado M.S., Carrillo D.F., Macías C.H. y Peña P.B. (2012). La prueba de micronúcleos en sangre como bioindicador de genotóxicos. *Abanico Veterinario*. 2: 43-54.

Clavijo H.C. y Salazar M.G. (2005). Enfoque del paciente con intoxicación aguda por plaguicidas organofosforados. *Revista de la Facultad de Medicina, Universidad Nacional de Colombia*. 53: 244-258.

Coalova I., Mencacci S. y Fassiano A. (2013). Genotoxicidad de mezclas de pesticidas: ¿algo más que la suma de las partes?. *Acta Toxicológica Argentina*. 21: 5-14.

COFEPRIS. (2004). Catálogo de plaguicidas. México. Disponible en: <http://www.cofepris.gob.mx/AZ/Paginas/Plaguicidas%20y%20Fertilizantes/CatalogoPlaguicidas.aspx>

Costa C., Texeira J., Silva S., Roma-Torres J., Coehlo P., Gaspar J., Alves M., Laffon B., Rueff J. y Mayan O. (2006). Cytogenetic and molecular biomonitoring of a Portuguese population exposed to pesticides. *Mutagenesis*. 21: 343-350.

Covarrubias F., Cruz M. y Ojeda A. (2012). El desarrollo de la agricultura en la Ciénega de Chapala. *Tecsisotecatl*. 4: 1-12.

da Silva J., Moraes R., Heuser V., Andrade V., Silva F., Kvitko K., Emmel V., Rohr P., Bordin D., Andrezza C., Salvador M., Henriques J. y Erdtmann B. (2008). Evaluation of genetic damage in a Brazilian population exposed to pesticides and its correlation with polymorphisms in metabolizing genes. *Mutagenesis*. 23: 415-422.

Dávila M. (2014). El surgimiento de la ganadería en la Ciénega de Chapala (Michoacán, México). El caso de la Hacienda Guaracha (siglos XVI-XIX). *HiSTOReLo. Revista de Historia Regional y Local*. 6: 185-218.

DGE. (2017). Boletín Epidemiológico. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. 52. 64 p.

DOF. (1987). Creación de la Comisión Intersecretarial Para el Control del Proceso y uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Toxicas, CICOPLAFEST.

Fenech M. y Morley A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research*. 147: 29-36.

Fenech M., Holland N., Chang W.P., Zeiger E. y Bonassi S. (1999). The HUMAN MicroNucleus Project- An international collaborative study on the use of the micronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research*. 428: 271-283.

Fenech M. (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research*. 455: 81-95.

Fenech M., Bonassi S., Turner J., Lando C., Ceppi M., Chang W.P., Holland N., Kirsch-Volders M., Zeiger E., Bigatti M., Bolognesi C., Cao J., De Luca G., Di Giorgio M., Ferguson L., Fucic A., Garcia O., V. Hadjidekova V., Hrelia P., Jaworska A., Joksic G., Krishnaja A.P., Lee Tung-Kwang., Martelli A., J. McKay M., Migliore L., Mirkova E., Müller Wolfgang-Ulrich., Odagiri Y., Orsiere T., Scarfi M., Silva M., Sofuni T., Suralles J., Trenta G., Vorobtsova I., Vral A. y Zijno A. (2003a). Intra- and inter-laboratory variation in the scoring of micronuclei and nucleoplasmic bridges in binucleated human lymphocytes: Results of an international slide-scoring exercise by the HUMN project. *Mutation Research*. 534: 45-64.

Fenech M., Chang W.P., Kirsch-Volders M., Holland N., Bonassi S. y Zeiger E. (2003b). HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*. 534: 65-75.

Fenech M. (2007). Cytokinesis- block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*. 2: 1084-1104.

García A. (2016). El ensayo cometa como un biomarcador de genotoxicidad en la exposición a plaguicidas de una población de campesinos de la Ciénega de Chapala, Michoacán, México. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

Gentile N., Mañas F., Bosch B., Peralta L., Gorla N. y Aiassa D. (2012). Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicity in the occupational exposure to agrochemicals in rural workers. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 88: 816-22.

Gómez-Arroyo S., Díaz-Sánchez Y., Meneses-Pérez M.A., Villalobos-Pietrini R. y De León Rodríguez J. (2000). Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutation Research*. 466: 117-124.

Gómez-Arroyo S., Martínez-Valenzuela C., Villalobos-Pietrini R. y Waliszewski S. (2011). Pesticides: Genotoxic Risk of Occupational Exposure. Pesticides – The Impacts of Pesticide Exposure. 1a. ed. InTech Rijeka, Croacia, 458 pp.

Gómez-Arroyo S., Martínez-Valenzuela C., Carbajal-López Y., Martínez-Arroyo A., Calderón-Segura M., Villalobos-Pietrini R., y Waliszewski S. (2013). Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América Latina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 29: 159-180.

IARC. (2018). Agents classified by the IARC monographs, volumes 1–122. Disponible en: <https://monographs.iarc.fr/agents-classified-by-the-iarc/>

INAFED. (2010). Enciclopedia de los Municipios y Delegaciones de México.

Disponible en:

<http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM16michoacan/index.html>

INEGI. (2010a). Cojumatlán de Régules, Buscador de Áreas Geográficas. Disponible en:

<http://www.beta.inegi.org.mx/app/buscador/default.html?q=cojumtlan+de+regules#tabMCCollapse-Indicadores>

INEGI. (2010b). Sahuayo, Buscador de Áreas Geográficas. Disponible en:

<http://www.beta.inegi.org.mx/app/buscador/default.html?q=sahuayo#tabMCCollapse-Indicadores>

INEGI. (2016a). Actualización del Marco Censal Agropecuario. México. Disponible en: <http://www.beta.inegi.org.mx/proyectos/agro/amca/>

INEGI. (2016b). Estadísticas a propósito del día del trabajador agrícola (15 de mayo). México.  
Disponible en: [http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/agricola2016\\_0.pdf](http://www.inegi.org.mx/saladeprensa/aproposito/2016/agricola2016_0.pdf)

Karam M., Ramírez G., Bustamante P. y Galván J. (2005). Plaguicidas y salud de la población. *CIENCIA Ergo-Sum*. 11: 246-254.

Kehdy F., Cerqueira E., Bonjardin M., Camelo R. y Castro M. (2007). Study of the cytogenetic effects of occupational exposure of pesticides on sanitation workers in Belo Horizonte, Brazil. *Genetics and Molecular Research*. 6: 581-593.

Lerro C., Koutros S., Andreotti G., Friesen M., Alavanja M., Blair A., Hoppin J., Sandler D., Lubin J., Ma X., Zhang Y. y Beane L. (2016). Organophosphate insecticide use and cancer incidence among spouses of pesticide applicators in the Agricultural Health Study. *Occupational and Environmental Medicine*. 72: 736-44.

Loeza P., Ramírez R. y Reyes M. (2015). La Ciénaga de Chapala, Michoacán: cambios y permanencias en la construcción regional. *Relaciones. Estudios de historia y sociedad*. 142: 237-259.

Lozano M., Marín J. y Silva P. (2002). Intoxicaciones por plaguicidas y mordeduras de serpientes. Ministerio de Salud. Centro Nacional Toxicología. Nicaragua. 171 p. Disponible en: [http://www.bvsde.org.ni/Web\\_textos/CIES/Cies0002/inicio.pdf](http://www.bvsde.org.ni/Web_textos/CIES/Cies0002/inicio.pdf)

Mahajan R., Blair A., F. Lynch F., Schroeder P., Hoppin J., Sandler D. y Alavanja M. (2006). Fonofos exposure and cancer incidence in the agricultural health study. *Environmental Health Perspectives*. 114: 1838-1842.

Márquez C., Villalobos C., Poblete S., Villalobos E., García M. y Duk S. (2005). Cytogenetic damage in female Chilean agricultural workers exposed to mixtures of pesticides. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. 45: 1-7.

Martínez-Valenzuela C. y Gómez-Arroyo S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 23: 185-200.

Matheus T. y Bolaños A. (2014). Micronúcleos: biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. *Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de Carabobo (Salus)*. 18: 18-26.

Muñoz Z. (2016). Evaluación del daño genético ocasionado por plaguicidas en una población expuesta de la ciénega de Chapala, Michoacán, México. (Tesis de Licenciatura). Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México, México.

OMS. (2010). The WHO recommended classification of pesticides by hazard and guidelines to classification 2009. Geneva: World Health Organization. Disponible en: <http://www.who.int/iris/handle/10665/44271>

Ortega-Ceseña J., Espinosa-Torres F. y López Carrillo L. (1994). El control de los riesgos para la salud generados por los plaguicidas organofosforados en México: retos ante el Tratado de Libre Comercio. *Salud Pública de México*. 36: 624-632.

Ortíz I., Avila-Chávez M.A. y Torres L.G. (2013). Plaguicidas en México: usos, riesgos y marco regulatorio. *Revista Latinoamericana de Biotecnología Ambiental y Algal*. 4: 26-46.

Palacios-Nava M., Paz-Román P., Hernández-Robles S., y Mendoza-Alvarado L. (1999). Sintomatología persistente en trabajadores industrialmente expuestos a plaguicidas organofosforados. *Salud Pública de México*. 41: 55-61.

Palacios-Nava M. (2003). Aplicación de un instrumento para evaluar la exposición a plaguicidas organofosforados, efectos agudos y subagudos en la salud de trabajadores agrícolas. *Revista de la Facultad de Medicina, UNAM*. 46: 22-27.

Palacios M. y Paz M. (2011). Sintomatología persistente en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas órgano-fosforados. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*. 29: 153-162.

Peralta L., Mañas F., Gentile N., Bosch B., Méndez A. y Aiassa D. (2011). Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. *Revista Diálogos*. 2: 7-26.

Ramírez J.A. y Lacasaña M. (2001). Plaguicidas: clasificación, uso, toxicología y medición de la exposición. *Archivos de Prevención de Riesgos Laborales*. 4: 67-75.

SAGARPA. (2016). ¡Qué rico es Michoacán!. Disponible en:

<https://www.gob.mx/sagarpa/articulos/que-rico-es-michoacan?idiom=es>

SE. (2017). Pro México, Michoacán de Ocampo. Disponible en:

[http://mim.promexico.gob.mx/work/models/mim/Documentos/PDF/mim/FE\\_MICHOACAN\\_vf.pdf](http://mim.promexico.gob.mx/work/models/mim/Documentos/PDF/mim/FE_MICHOACAN_vf.pdf)

SIAP. (2016). Avance de Siembras y Cosechas, Resumen Nacional por estado México. Recuperado el 10 de febrero de 2018 de: [http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/)

Simoniello M. F., Kleinsorge E. C. y Carballo A. (2010). Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a pesticidas. *Medicina (Buenos Aires)*. 70: 489-498.

Tasali E. y Van Cauther E. (2002). Pesticide exposure and asthma. *American Journal Respiratory and Critical Care Medicine*. 165: 563-564.

Van M. y Willems J. (2003). Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate: a meta-analysis. *Occupational and Environmental Medicine*. 60: 634-642.

Weiss B., Amler S. y Amler R. (2004). Pesticides. *Pediatrics* 113: 1030-1036.

Zúñiga V. E., Arellano G. E., Camarena O. L., Daesslé H. W., Von-Glascoe C., Leyva A. J. y Ruiz R. B. (2012). Daño genético y exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín, Baja California, México. *Revista de Salud Ambiental*. 12: 93-101.

## XII. ANEXOS

### ANEXO I. Carta de Comisión Estatal de Bioética de Michoacán.



Gobierno del Estado  
de Michoacán de Ocampo

Sub-dependencia CEBM  
Oficina  
No. de oficio 107/16  
Expediente  
Asunto: COMISIÓN OFICIAL

#### PRESIDENTE

DRA. SILVIA  
HERNÁNDEZ CAPI  
SECRETARIO TÉCNICO  
DR. J. DANIEL HERRERA  
GUZMÁN

Morelia Michoacán a 19 de diciembre de 2016

**DR. EDUARDO ALEJANDRO LÓPEZ SÁNCHEZ**  
**COORDINADOR DE LA UNIDAD ACADÉMICA**  
**DE ESTUDIOS REGIONALES UNAM JIQUILPAN MICHOACÁN.**  
**P R E S E N T E**

#### VOCALÍAS:

IMSS  
ISSSTE  
COLÉGIO DE MÉDICO  
U.M.S.N.H.  
\* FAC. DE FILOSOFÍA  
"Dr. Samuel Ramos"  
\* FAC. DE CIENCIAS  
MÉDICAS Y BIOLÓGICAS  
"Dr. Ignacio Chávez"  
\* FACULTAD DE  
DERECHO Y C.S  
\* FACULTAD DE  
ODONTOLOGÍA  
\* FACULTAD DE  
MEDICINA,  
VETERINARIA Y  
ZOOTECNIA  
\* ESCUELA DE  
LICENCIATURA EN  
ENFERMERÍA

Por medio de la presente le informamos que han sido aprobados los proyectos de investigación denominados "Evaluación de daño genotóxico ocasionado por plaguicidas en una población ocupacionalmente expuesta de la ciénega de Chapala, Michoacán, México" a cargo de la Dra. María Antonieta Ochoa Ocaña y la Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo. Así como el proyecto "Obesidad y Diabetes mellitus asociadas a la presencia de residuos de compuestos organoclorados en población adulta de la Ciénega de Chapala, Michoacán. Una perspectiva biosocial". Por lo anterior, esta Comisión, no tiene objeción alguna para que se realicen dichas investigaciones ya que no se encontraron consideraciones éticas que afecten a los participantes de los mismos.

Sin más por el momento agradezco la atención prestada y me despido enviándole un cordial saludo.

ATENTAMENTE

  
**DR. J. DANIEL HERRERA GUZMÁN**  
**SECRETARIO TÉCNICO DE LA CEBM**  
**DIRECTOR DEL CEMISAM**

C.c.p. CEBM  
JDHG\*mary



"2015, Bicentenario Luctuoso de José María Morelos y Pavón, Siervo de la Nación"

## ANEXO 2. Carta de consentimiento informado.

### CARTA DE CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN PARA INVESTIGACIÓN

Por medio de la presente, el (la) que suscribe \_\_\_\_\_ de manera libre y sin coerción alguna, autorizo a ser sometido(a) a la toma de muestra de sangre y de células de descamados de la mucosa oral que será practicado el día \_\_\_\_\_ del mes de \_\_\_\_\_ del año \_\_\_\_\_ a las \_\_\_\_\_ hrs. para que se realice en ellas los estudios denominados:

Ensayo de micronúcleos por bloqueo de citocinesis, ensayo de electroforesis alcalina e hibridación *in situ* con fluorescencia en linfocitos de sangre periférica, así como ensayo de micronúcleos, ensayo de electroforesis alcalina y extracción de microRNAs en células de mucosa oral.

De igual forma, se me informo que no tiene riesgo para mi salud, ya que consiste en la toma de una muestra sanguínea de 5ml del antebrazo con materiales nuevos y estériles también se hará la exfoliación de las células epiteliales de mis mejillas mediante una cucharilla limpia y única que será desechada a la basura en mi presencia.

Además, se me ha dado la oportunidad de despejar todas mis dudas. Atendiendo al principio de confidencialidad autorizo que se publique la información que proporcione únicamente para los fines de investigación, respetándose en todo momento mi integridad y privacidad.

Designo a \_\_\_\_\_ para que solo él (ella) reciba información sobre el resultado del procedimiento.

---

Nombre y Firma

### ANEXO 3. Cuestionarios para población expuesta y población testigo.

#### HISTORIA CLÍNICA Y CUESTIONARIO PARA POBLACIÓN LABORALMENTE EXPUETA

Folio: \_\_

**NOTA:** ANTES DE LLENAR EL CUESTIONARIO ES IMPORTANTE DESCARTAR ENFERMEDADES COMO: **CÁNCER, SIDA, HEPATITIS, HERPES Y TOXICOMANÍAS** YA QUE SON MOTIVOS DE EXCLUSIÓN DEL ENSAYO. CUALQUIER ENFERMEDAD SERÁ REGISTRADA EN ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS.

#### FICHA DE IDENTIFICACIÓN

Nombre: \_\_\_\_\_ Sexo: M ( ) F ( )  
Apellido Paterno, Materno y Nombre (s)  
 Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_ Estatura: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_  
(Día/mes/año) (Años)  
 Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_  
(municipio y estado)  
 Residencia: \_\_\_\_\_ Tiempo de residencia: \_\_\_\_\_

DIRECCION Y/O TELEFONO:

---



---

#### ANTECEDENTES FAMILIARES

- Padre: Vivo ( ) Finado ( )

Causa de la muerte: Enf. Cardiovasculares ( ) Enf. Respiratorias ( ) Cáncer ( ) Diabetes ( )  
 otra (especificar): \_\_\_\_\_  
 Ocupación del padre: \_\_\_\_\_

- Madre: Viva ( ) Finada ( )

Causa de la muerte: Enf. Cardiovasculares ( ) Enf. Respiratorias ( ) Cáncer ( )  
 Diabetes ( ) otra (especificar): \_\_\_\_\_  
 Ocupación de la madre: \_\_\_\_\_

- Hermanos: Si ( ) No ( ) Cuantos (No. \_\_\_\_\_) Sanos (No. \_\_\_\_\_)

| Enfermos ( _____ )  | Finados ( _____ ) |
|---|-------------------|
| Cardíaca ( )<br>Respiratoria ( )<br>Neurológica ( )<br>Cáncer ( )<br>Diabetes ( ) | Causas:           |

Con quien vive actualmente: \_\_\_\_\_  
 Desde hace cuánto tiempo \_\_\_\_\_

Ocupación de la(s) personas con quien(es) vive: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES PERSONALES.**

- Tabaquismo

Fuma actualmente: Si ( ) \*No ( ) \*En el pasado ha fumado si ( ) no ( )

Durante cuánto tiempo ha fumado: \_\_\_\_\_ (años o meses).

Número de cigarrillos por día: \_\_\_\_\_

Mastica o fuma tabaco en pipa: Si ( ) No ( ) Con qué frecuencia: \_\_\_\_\_

En donde suele fumar: Casa ( ) Trabajo ( ) Vía pública ( )

- Bebidas alcohólicas

Consumo bebidas alcohólicas: Si ( ) \*No ( )

\*En el pasado consumió: \*Si ( ) No ( )

\*Cuántas copas al día consumía: No. \_\_\_\_\_

\*Que tipo de bebida consumía: \_\_\_\_\_

Hace cuanto tiempo que consume bebidas alcohólicas: \_\_\_\_\_  
(Años o meses)

Cuántos días a la semana consume bebidas alcohólicas: \_\_\_\_\_

Cuántas copas por día: No. \_\_\_\_\_

Qué tipo de bebida consume: \_\_\_\_\_

**\*LAS TOXICOMANÍAS SON CRITERIO DE EXCLUSIÓN**

- Dieta

Cuántas veces a la semana consume:

Carnes (pescado, pollo, res, cerdo): \_\_\_\_\_

Verduras: \_\_\_\_\_ Frutas: \_\_\_\_\_

Cereales: \_\_\_\_\_

Tiene algún cultivo en su domicilio: Si ( ) No ( )

Aplica algún plaguicida Si ( ) No ( ) Cuál: \_\_\_\_\_

Lugar donde compra sus alimentos: Mercado ( ) Supermercado ( )

Cultivos propios ( )

Lugar donde consume sus alimentos: Casa ( ) Trabajo ( ) Vía pública ( )

Se lava las manos antes de consumir alimentos: Si ( ) No ( )

Se lava las manos al llegar a su domicilio: Si ( ) No ( )

**ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS.**

\*Cáncer, SIDA y Hepatitis son criterios de exclusión

Padece alguna enfermedad: Si ( ) No ( )

Cual(es): \_\_\_\_\_

Que tratamiento recibe: \_\_\_\_\_

Ha visitado al médico en los últimos tres meses: Si ( ) No ( )

Porque: \_\_\_\_\_

Ha sido hospitalizado alguna vez en su vida: Si ( ) No ( )

Ha ingerido medicamentos de forma constante en los últimos 6 meses: Si ( ) No ( )

Cual y cuanto tiempo: \_\_\_\_\_

Actualmente ingiere algún medicamento: Si ( ) No ( )

Cual(es): \_\_\_\_\_

Le han tomado alguna placa de rayos X (dental o de otro tipo) en los últimos tres meses: Si ( )

No ( ) Fecha: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES GINECOBSTRICOS.**

Ha estado embarazada: Si ( ) No ( )  
Cuántas veces ha estado embarazada: \_\_\_\_\_  
Cree estar embarazada actualmente: Si ( ) No ( )  
Ha tenido algún aborto: Si ( ) No ( ) No. \_\_\_\_\_  
Tiempo de gestación aproximada al momento de la pérdida: \_\_\_\_\_  
Tiene hijos: Si ( ) No ( ) Cuántos: \_\_\_\_\_  
Alguno de sus hijos presentó al nacer:  
Bajo peso: Si ( ) No ( )  
Malformaciones: Si ( ) No ( )  
Enfermedades congénitas: Si ( ) No ( )  
Nacimiento prematuro: Si ( ) No ( ) Meses de gestación: \_\_\_\_\_  
Muerte dentro de las primeras 48 horas de vida; Si ( ) No ( )  
Causa: \_\_\_\_\_  
Tuvo o tiene alguna dificultad para embarazarse: Si ( ) No ( )  
Conoce el motivo: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES LABORALES

Trabajador de expendio ( ) Campesino ( ) Recolector ( )

Edad a la que comenzó a trabajar: \_\_\_\_\_

Lugar de trabajo: \_\_\_\_\_

Puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Antigüedad en el puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Actividad laboral: \_\_\_\_\_

Durante su actividad laboral tiene contacto con:

Plaguicidas( ) \*Solventes( ) \*Pinturas( ) \*Gasolina, petróleo, thinner, ether( ) \*Metales pesados ( )

\* CRITÉRIO DE EXCLUSIÓN

De cuantas horas es su jornada laboral: \_\_\_\_\_

Consume sus alimentos en el lugar de trabajo Si ( ) No ( )

Cuántos días y cuántas horas a la semana está en contacto con plaguicidas:

El plaguicida(s) que usted generalmente utiliza es: Líquido ( ) Sólido ( )

Gas ( ) Spray ( )

Que cantidad de plaguicida aplica a la semana : \_\_\_\_\_ (Kg, Lt)

Cuántos días a la semana aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Cuántas semanas al mes aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Cuántos meses al año aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Cuántas horas al día aplica plaguicidas: \_\_\_\_\_

Superficie aproximada de aplicación: \_\_\_\_\_ metros .

Cuándo fue la última vez que aplicó plaguicidas: \_\_\_\_\_ (día/mes/año)

Lee las instrucciones antes de aplicar un plaguicida: Si ( ) No ( )

Ha recibido alguna capacitación para el manejo de los plaguicidas: Si ( ) No ( )

En alguna ocasión se ha intoxicado con un plaguicidas: Si ( ) No ( )

Cuántas veces: \_\_\_\_\_

#### ● REVISAR LA TABLA DEL FINAL PARA SÍNTOMATOLOGÍA

Al terminar de usar plaguicidas que hace con el envase:

Tirarlo a la basura municipal ( ) Tirarlo a la calle( )

Reutilizarlo para almacenar líquidos [tipo de líquidos] ( ) Quemarlo ( ) Venderlo ( )

Donde almacena los envases con plaguicidas:

En casa ( ) En un lugar aislado ( ) Especifique: \_\_\_\_\_

Generalmente usted mezcla dos o más plaguicidas: Si ( ) No ( )

Cuales: \_\_\_\_\_

Qué equipo utiliza para aplicar plaguicidas:

Bomba de espalda manual ( ) Bomba de espalda a motor ( )

Nebulizadora ( ) Mano ( ) Jícara ( )

Otros: \_\_\_\_\_

Qué tipo de protección personal utiliza durante la aplicación de plaguicidas:

Sombrero ( ) Mascarilla ( ) Pañuelo ( ) Camisa de manga larga ( )

Guantes ( ) Pantalón por debajo de los tobillos ( ) Zapato cerrado ( )

Traje especializado ( )

Que manejo le da a la ropa que utiliza para aplicar plaguicidas:

Se lava con toda la ropa de casa ( ) Se lava aparte ( )

No se lava y se reutiliza ( )

Durante la aplicación de plaguicidas usted realiza alguna de las siguientes actividades:

Comer ( ) Beber ( ) Mujeres: Amamantar ( ) Da de comer a niños pequeños ( )

Al terminar de aplicar plaguicidas usted:

Se lava las manos: Si ( ) No ( )

Se baña: Si ( ) No ( )

Se lava la cara: Si ( ) No ( )

Se cambia de ropa: Si ( ) No ( )

**Durante las horas posteriores a la aplicación de plaguicidas usted presenta alguno de los siguientes síntomas:**

| SINTOMAS  | SI | NO |
|---|----|----|
| Dolor de cabeza                                     |    |    |
| Mareo   |    |    |
| Convulsiones  |    |    |
| Desmayo   |    |    |
| Ardor de ojos y/o lagrimeo                          |    |    |
| Visión borrosa                                      |    |    |
| Resequedad de boca                                  |    |    |
| Salivación excesiva                                 |    |    |
| Nauseas y/o vomito                                  |    |    |
| Dolor abdominal o diarrea                           |    |    |
| Dificultad para respirar                            |    |    |
| Tos   |    |    |
| Dolor en el tórax                                   |    |    |
| Sudoración excesiva                                 |    |    |
| Sed   |    |    |
| Comezón, ronchas o ardor en la piel                 |    |    |
| Hormigueo, temblor o debilidad de alguna extremidad |    |    |
| Otros:  |    |    |

HISTORIA CLÍNICA Y CUESTIONARIO PARA POBLACIÓN TESTIGO

Folio: \_\_\_\_\_

**NOTA:** ANTES DE LLENAR EL CUESTIONARIO ES IMPORTANTE DESCARTAR ENFERMEDADES COMO: CÁNCER, SIDA, HEPATITIS, HERPES Y TOXICOMANÍAS YA QUE SON MOTIVOS DE EXCLUSIÓN DEL ENSAYO. CUALQUIER ENFERMEDAD SERÁ REGISTRADA EN ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS.

**FICHA DE IDENTIFICACIÓN**

Nombre: \_\_\_\_\_ Sexo: M( ) F( )  
(Apellido Paterno, Materno y Nombre(s))

Fecha de nacimiento: \_\_\_\_\_ Edad: \_\_\_\_\_  
(Día/Mes/Año)

Lugar de nacimiento: \_\_\_\_\_ (Municipio y estado)

Residencia: \_\_\_\_\_ Tiempo de residencia: \_\_\_\_\_

**ANTECEDENTES FAMILIARES**

• Padre: Vivo ( ) Finado ( )

Causa de la muerte: Enf. del Corazón ( ) Enf. Respiratoria ( ) Cáncer ( )  
Diabetes ( ) Otra (especifique): \_\_\_\_\_

Ocupación del padre: \_\_\_\_\_

• Madre: Viva ( ) Finada ( )

Causa de la muerte: Enf. del Corazón ( ) Enf. Respiratoria ( ) Cáncer ( )  
Diabetes ( ) Otra (especifique): \_\_\_\_\_

Ocupación de la madre: \_\_\_\_\_

• Hermanos: Sí( ) No( ) Cuantos (No. \_\_\_\_\_) Sanos (No. \_\_\_\_\_)

| Enfermos( _____ )   | Finados ( _____ ) |
|---|-------------------|
| Cardíaca ( )<br>Respiratoria ( )<br>Neurológica ( )<br>Cáncer ( )<br>Diabetes ( ) | Causas:           |

|  |  |
|--|--|
|  |  |
|--|--|

- Con quien vive actualmente: \_\_\_\_\_

Desde hace cuanto tiempo \_\_\_\_\_; ocupación de la(s) personas con quien (es) vive \_\_\_\_\_.

#### ANTECEDENTES PERSONALES

- **Tabaquismo**

Fuma actualmente: Si ( ) \*No ( ) \*En el pasado ha fumado si ( ) no ( )

Durante cuánto tiempo ha fumado: \_\_\_\_\_ (años o meses).

Número de cigarrillos por día: \_\_\_\_\_

Mastica o fuma tabaco en pipa: Si ( ) No ( ) Con qué frecuencia: \_\_\_\_\_

En donde suele fumar: Casa ( ) Trabajo ( ) Vía pública ( )

- **Bebidas alcohólicas**

Consume bebidas alcohólicas: Si ( ) \*No ( )

\*En el pasado consumió: \*Si ( ) No ( )

\*Cuántas copas al día consumía: No. \_\_\_\_\_

\* Que tipo de bebida consumía: \_\_\_\_\_

Hace cuanto tiempo que consume bebidas alcohólicas: \_\_\_\_\_  
(Años o meses)

Cuántos días a la semana consume bebidas alcohólicas: \_\_\_\_\_

Cuántas copas por día: No. \_\_\_\_\_

Qué tipo de bebida consume: \_\_\_\_\_

\*LAS TOXICOMANÍAS SON CRITERIO DE EXCLUSIÓN

- **Dieta**

Cuántas veces a la semana consume:

Carnes (pescado, pollo, res, cerdo): \_\_\_\_\_

Verduras: \_\_\_\_\_ Frutas: \_\_\_\_\_

Cereales: \_\_\_\_\_

Tiene algún cultivo en su domicilio: Si ( ) No ( )

Aplica algún plaguicida Si ( ) No ( ) Cuál: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS.

\*Cáncer, SIDA y Hepatitis son criterios de exclusión

Padece alguna enfermedad: Si ( ) No ( )

Cual(es): \_\_\_\_\_

Que tratamiento recibe:

\_\_\_\_\_

Ha visitado al médico en los últimos tres meses: Si ( ) No ( )

Porque: \_\_\_\_\_

Ha sido hospitalizado alguna vez en su vida: Si ( ) No ( )

Actualmente ingiere algún medicamento: Si ( ) No ( )

Cual(es): \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Le han tomado alguna placa de rayos X (dental o de otro tipo) en los últimos tres meses: Si\* ( ) No ( ) Fecha: \_\_\_\_\_

\* Criterio de exclusión

#### ANTECEDENTES GINECOBSTETRICOS.

Ha estado embarazada: Si ( ) No ( )

Cuántas veces ha estado embarazada: \_\_\_\_\_

Cree estar embarazada actualmente: Si ( ) No ( )

Ha tenido algún aborto: Si ( ) No ( ) No. \_\_\_\_\_

Tiempo de gestación aproximada al momento de la pérdida: \_\_\_\_\_

Tiene hijos: Si ( ) No ( ) Cuántos: \_\_\_\_\_

Alguno de sus hijos presentó al nacer:

Bajo peso: Si ( ) No ( )

Malformaciones: Si ( ) No ( )

Enfermedades congénitas: Si ( ) No ( )

Nacimiento prematuro: Si ( ) No ( ) Meses de gestación: \_\_\_\_\_

Muerte dentro de las primeras 48 horas de vida: Si ( ) No ( )

Causa: \_\_\_\_\_

Tuvo o tiene alguna dificultad para embarazarse: Si ( ) No ( )

Conoce el motivo: \_\_\_\_\_

#### ANTECEDENTES LABORALES

Edad a la que comenzó a trabajar: \_\_\_\_\_

Lugar de trabajo: \_\_\_\_\_

Puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Antigüedad en el puesto de trabajo: \_\_\_\_\_

Actividad laboral: \_\_\_\_\_

Durante su actividad laboral tiene contacto con :

Plaguicidas ( ) solventes ( ) pinturas ( ) hidrocarburos ( ) asbestos ( ).

NOTAS ADICIONALES.

---

---

---

---

---