

Monitoreo de genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas. Estudio preliminar en niños.

Delia Aiassa*, Fernando Mañas**, Natalí Bernardi***, Natalia Gentile***, Álvaro Méndez****, Dardo Roma*** y Nora Gorla*****

Resumen

El monitoreo de grupos de poblaciones humanas expuestos a agentes tóxicos es una herramienta valiosa en salud pública y ocupacional. Tiene como objetivo preservar la salud y la calidad de vida. Se describen los biomarcadores utilizados en la evaluación de daño genotóxico provocado por plaguicidas en monitoreos desarrollados en Argentina en poblaciones involuntariamente expuestas a estas sustancias y se presenta el primer monitoreo citogenético en niños expuestos ambientalmente a estas sustancias. Los biomarcadores utilizados en los ocho trabajos con poblaciones argentinas son aberraciones, intercambio de cromátidas hermanas, micronúcleos y cometas. El ensayo de micronúcleos (enfoque citoma) se realizó en la mucosa bucal de 19 niños de entre 5 y 12 años de edad de las localidades de Oncativo y Marcos Juárez (Provincia de Córdoba) que están rodeadas por campos cultivados con soja y maíz con aplicaciones estándares de plaguicidas. Se encontraron diferencias significativas entre los grupos en la frecuencia de células con brotes (BR) y con micronúcleos (MN) por cada 1000 células analizadas y de los mismos con un grupo referente. El monitoreo genotóxico es importante porque constituye la base para integrar una correcta vigilancia médica en poblaciones en riesgo por exposición laboral o ambiental a sustancias químicas como plaguicidas.

Palabras clave:

monitoreo, micronúcleos, daño genotóxico, exposición a plaguicidas

Monitoring genotoxicity in humans exposed to pesticides. Preliminary study in children

Delia Aiassa, Fernando Mañas, Natalí Bernardi, Natalia Gentile, Álvaro Méndez, Dardo Roma y Nora Gorla

Summary

Monitoring human population groups exposed to toxic agents is a valuable tool in public and occupational health. It aims to preserve the health and quality of life. Biomarkers used in evaluation of genotoxic damage caused by pesticides developed in Argentina in monitoring populations chronically exposed to these substances and the first cytogenetic monitoring in children environmentally exposed to these substances occurs are described. Biomarkers used in eight jobs with Argentine populations are aberrations, sister chromatid exchange, micronuclei and comet. The micronucleus test (cytoma) was performed on the buccal mucosa of 19 children aged between 5 and 12 years of age localities Oncativo and Marcos Juarez (Cordoba province) which are surrounded by cultivated with soybean and corn fields with applications standard pesticide. Significant differences between the groups in the frequency of cells with buds (BR) and with micronuclei (MN) per 1000

* GeMA-Departamento de Ciencias Naturales, FCEF-QyN. Correo electrónico: delia.aiassa@gmail.com

** GeMA-Departamento de Ciencias Naturales, FCEF-QyN-Departamento de Clínica Animal, FAyV.

*** GeMA-Departamento de Ciencias Naturales, FCEF-QyN.

**** CAPA, Marcos Juárez

***** CONICET.

Monitoreo de genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas

cells analyzed and the relation thereof with a group were found. The genotoxic monitoring is important because it forms the basis for integrating proper medical surveillance in populations at risk for occupational or environmental chemical exposure as pesticides.

Keywords:

monitoring, micronuclei, genotoxic damage, exposure to pesticides

Introducción

Los plaguicidas son una de las mayores fuentes de contaminación por productos sintéticos generada como resultado de la actividad agrícola. Algunos están prohibidos o restringidos en muchos países debido a que son tóxicos para los seres humanos y afectan los recursos naturales, en los países latinoamericanos aún se siguen utilizando indiscriminadamente, lo cual incrementa el riesgo de exposición contribuyendo a su acción genotóxica (Gómez Arroyo y col., 2013).

En la situación antes señalada se hace necesario evaluar la genotoxicidad potencial de los plaguicidas principalmente en poblaciones expuestas para informar cuándo la exposición constituye un riesgo para la salud humana y ambiental.

El monitoreo de poblaciones humanas expuestas a agentes potencialmente dañinos es una herramienta valiosa en salud pública y en exposiciones crónicas. Tiene como objetivo preservar la salud y la calidad de vida en aquellos grupos de población humana que son de alto riesgo por la naturaleza de las sustancias a que están expuestos, como así también aquellos terapéuticamente o accidentalmente expuestos a agentes físicos, químicos y biológicos. Los efectos más conspicuos de diversos contaminantes ambientales sobre la salud humana se producen por exposición aguda a concentraciones altas de dichos contaminantes, lo cual se traduce en efectos precoces que son ampliamente conocidos por la población. Estos incluyen el desarrollo y agravamiento de diversas enfermedades y muertes prematuras por exposición a estos agentes. Menos frecuentes son las investigaciones que refieren a exposiciones crónicas a concentraciones bajas de contaminantes ambientales, que no producen manifestaciones agudas. El efecto crónico de éstas suele ser acumulativo y reflejarse en daño a órganos y sistemas, que se hace evidente como desarrollo de diversas enfermedades en el mediano o largo plazo.

La medición de la exposición suele determinarse a través de cuestionarios o encuestas, registros de empleo y evaluación de datos sobre contaminación ambiental para zonas en las que reside una población de estudio. Un problema que se observa en la mayoría de las comunidades es la ausencia de datos reales, debido a que no se realiza un seguimiento de la información personal. Esto podría resultar en cálculos de la exposición que son demasiado altos o demasiado bajos. El tiempo de exposición y la cantidad de contaminante absorbida por la persona son importantes para documentar la exposición.

Los dos enfoques principales para evaluar la exposición total son: los métodos indirectos y los métodos directos. Los métodos indirectos son la vigilancia ambiental, el uso de la información del destino de la sustancia y de su movilidad (migración) y los modelos computadorizados (uso de cuestionarios o encuestas para residentes). Los métodos directos comprenden el uso de equipos para la vigilancia del lugar de trabajo o de residencia de la persona y los marcadores biológicos (biomarcadores).

Los biomarcadores son "medidas en los niveles molecular, bioquímico o celular, tanto en poblaciones naturales provenientes de hábitats contaminados, como en organismos expuestos experimentalmente a contaminantes, y que indican que el organismo ha estado expuesto a sustancias tóxicas y la magnitud de la respuesta del organismo al contaminante" (McCarthy y Shugart, 1990). Es posible distinguir diferentes tipos de biomarcadores: los que indican exposición (de exposición), los que indican el daño producido por la exposición (de efecto) y los que se utilizan para identificar a los individuos más susceptibles a daños en una población (de susceptibilidad).

El análisis de biomarcadores de exposición y de efecto es un instrumento clave para detectar el impacto de la contaminación sobre la salud de los ecosistemas, normalmente en combinación con otras aproximaciones para la evaluación de la calidad del medio, como los análisis químicos convencionales, los bioensayos y los estudios ecológicos a largo plazo.

Si el objetivo es hacer monitoreo de personas expuestas para evaluar daño genético en las células somáticas, se pueden aplicar diferentes ensayos a corto plazo: (1) las aberraciones cromosómicas

Monitoreo de genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas

(AC), en sus versiones más clásicas como la búsqueda de gaps, roturas y cromosomas dicéntricos en cultivos convencionales; (2) los micronúcleos (MN), tanto en linfocitos, como en células epiteliales descamadas de las mucosas; (3) los intercambio de cromátidas hermanas (ICH); (4) citogenética molecular para buscar inversiones, translocaciones, o para identificar el origen cromosómico de los micronúcleos (Phillips y Venitt, 1995, Bonassi y col., 2005) y (5) el ensayo Cometa (CO), que permite determinar el daño originado en el ADN por rupturas de cadenas (principalmente de simple cadena) y sitios lábiles a álcali (Rahman y col., 2002).

Todos estos marcadores permiten detectar un nivel de daño que todavía es reversible (Bonassi y Au, 2002; Ramírez y Cuenca, 2002; Castro et al., 2004; Cuenca y Ramírez, 2004).

El ensayo de AC es una técnica citogenética que permite identificar cambios en la estructura normal o en el número de cromosomas. Esta técnica es muy útil para el seguimiento de poblaciones expuestas, ya que permite identificar sustancias químicas con propiedades mutagénicas y cancerígenas mediante la evaluación de la totalidad del genoma celular (Au y col., 1998). Está demostrado que, en estudios prospectivos realizados en países europeos, la mayor frecuencia de aberraciones cromosómicas en las personas expuestas es un buen predictor del aumento del riesgo para cáncer ([Hagmar y col. 1998](#), Cuenca y Ramirez, 2004; Bonassi y col., 2005).

Los estudios realizados en poblaciones expuestas a agroquímicos, en su mayoría en aplicadores europeos, informan una asociación positiva entre la exposición a una mezcla compleja de agroquímicos y la presencia de AC, ICH, MN y/o CO (Pastor Benito, 2002; Bolognesi, 2003; Ergene y col., 2007; Aiassa y col., 2012).

En América Latina a partir de 1985, se reportan 41 estudios llevados a cabo en diversos países, utilizando como biomarcadores AC, MN, ICH y CO, seis de estos estudios corresponden a Argentina (Gómez Arroyo y col. 2013).

En relación a poblaciones expuestas sin motivo laboral, los niños son considerados un subgrupo específico en salud pública, porque podrían ser más sensibles que los adultos al efecto de la exposición ambiental y al tratamiento médico; además el daño al genoma producido durante la niñez puede influenciar el riesgo de aparición temprana de efectos adversos sobre la salud. Ese riesgo está determinado por las características anatómicas del niño y por la mayor expectativa de vida durante la cual se puede expresar el riesgo (Neri y col., 2005).

La susceptibilidad genética y la exposición ambiental durante periodos vulnerables del desarrollo contribuyen también a la etiología de muchas enfermedades de la niñez. Entre los efectos adversos que pueden ser estudiados en los niños expuestos a varios peligros ambientales, el daño citogenético recibe una atención especial después que se ha demostrado que la frecuencia aumentada al daño al ADN y a los cromosomas en la niñez es predictivo del desarrollo de cáncer en adultos sanos (Gallo y col., 2008). Los niños están aún en una fase de desarrollo activo, y esta condición puede tener influencia sobre una respuesta diferente a la que tienen los adultos al daño ambiental. Los efectos del ambiente que podrían manifestarse muchos años, aun décadas después de la exposición, pueden ser monitoreados en la niñez a través de estudios citogenéticos.

Además, en los monitoreos en adultos, uno de los problemas difíciles de sortear son los efectos de los factores de confusión que interfieren en el análisis de los resultados obtenidos, como el hábito de fumar, el consumo de alcohol, el riesgo ocupacional. Estos factores de confusión están reducidos al mínimo e incluso están ausentes en la niñez (Gajskia y col., 2013). Los monitoreos en poblaciones infantiles sí pueden incluir el estudio del efecto del humo de cigarrillo en ambientes cerrados, los niveles regionales de ozono, nanopartículas del aire, contaminantes de los alimentos como residuos de plaguicidas y compuestos generados durante la cocción de los mismos (Holland y col., 2011), fuentes naturales de radiación ionizante y no ionizante, contaminantes ambientales, emisiones de combustibles e hidrocarburos, las cuales pueden variar en forma importante entre las residencias rurales y urbanas (Gajskia y col., 2013).

El ensayo de micronúcleos con enfoque citoma, en células epiteliales exfoliadas de la mucosa bucal para detectar daño genético es un método económico y además no invasivo lo cual es particularmente importante en estudios pediátricos. La presencia de micronúcleos (MN) y otras anomalías nucleares dentro de las células (citoma) se ha visto que está asociado a defectos genéticos en el mantenimiento del genoma, envejecimiento acelerado, daño genotóxico, y algunas enfermedades degenerativas (Fenech, 2011).

Por todo lo antes expuesto se plantearon los siguientes objetivos: describir los biomarcadores utilizados en la evaluación de daño genotóxico provocado por plaguicidas en monitoreos desarrollados en Argentina en poblaciones crónicamente expuestas a estas sustancias y presentar el primer monitoreo citogenético en niños expuestos ambientalmente a estas sustancias.

Materiales y Métodos

Se analizaron los trabajos de monitoreo de poblaciones expuestas laboralmente a plaguicidas que cumplieran con estar publicados en una revista revisada por pares.

Para el estudio de MN en niños se realizaron muestreos en dos localidades de la provincia de Córdoba, distantes a 194 Km una de otra. Oncativo está ubicada a 83 km, y Marcos Juárez a 197 Km de Córdoba capital ambas en dirección sur-este. Ambas localidades están rodeadas de cultivos de soja y maíz. Los participantes viven en la zona urbana. Se compararon con niños que viven en una localidad donde los cultivos se encuentran a un mínimo de 10 Km de sus viviendas.

Se extrajeron células de la mucosa bucal utilizando hisopos estériles, frotando el interior de la mejilla sin tocar dientes y lengua, durante 30 segundos, previo enjuague bucal. Para la preparación de los extendidos se siguió la técnica descrita por Larrea Poma (2007) con modificaciones. El Protocolo de trabajo está aprobado por el CIEIS, UNRC- Ministerio de Salud de la Provincia de Córdoba. Incluye un escrito con la información básica sobre el estudio, actas de consentimiento y asentimiento informado.

Se observaron 1000 células por individuo. Los criterios de inclusión para la consideración de MN son los indicados por Budak, Diler y Ergene (2010).

Se realizó el test de Kolmogorov- Smirnov para determinar la distribución normal de los datos. Se realizó la prueba t-test de Student con un nivel de significancia menor al 5% ($p < 0,05$). El análisis estadístico se realizó utilizando el programa GraphPad Prism versión 5.02.

Resultados

Monitoreo genotóxico en poblaciones crónicamente y ambientalmente expuestas a plaguicidas de Argentina

Se analizaron ocho estudios llevados a cabo en Argentina, utilizando como biomarcadores AC, MN, ICH y CO (Tabla I).

Dulout y col. (1985), es el primer trabajo reportado para Argentina y uno de los primeros que se hicieron en América Latina, fue realizado en floricultores empleando AC e ICH encontrando resultados negativos para AC y positivos para ICH. En 1987 el mismo autor (Dulout y col., 1987) en otra población de floricultores utiliza AC, obteniendo resultados negativos y posteriormente (Dulout y col., 1992) realizando ICH reporta resultados positivos también en poblaciones de floricultores. Le siguen a estos trabajos la información en trabajadores rurales (aplicadores de plaguicidas) de Mañas y col. (2009) que evalúan AC con resultados positivos, Simoniello y col. (2010) analizan CO con resultados positivos, Peralta y col. (2011), que estudian AC, MN en sangre y CO tanto en personas ocupacionalmente expuestas como ambientalmente, con resultados positivos, Gentile y col. (2012),

Monitoreo de genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas

analizan MN en sangre con resultados positivos. En todos los casos los trabajadores estuvieron expuestos a diversas mezclas de plaguicidas, lo que hace difícil atribuir sus efectos a algún compuesto específico y también obstaculiza la comparación entre las diferentes investigaciones debido a la gran cantidad y variedad de productos aplicados. En cuanto a exposición a otros contaminantes en ningún trabajo se hace referencia a exposición a otras fuentes (factores de confusión) que pudieran interferir con los resultados expresados.

No existen reportes de evaluación de daño en el material genético de niños expuestos a plaguicidas.

TABLA I. Biomarcadores utilizados en poblaciones expuestas a plaguicidas en Argentina

Nº	POBLACIONES ANALIZADAS	LUGAR	BIOMARCADORES	DIFERENCIAS	AUTORES
1	27 floricultores, 14 con síntomas de intoxicación crónica y 13 sin sintomatología	Buenos Aires	ICH: intercambio de cromátidas hermanas	Significativa	Dulout y col., 1985
2	38 floricultores y 44 controles	Buenos Aires	AC: aberraciones cromosómicas	NO Significativa	Dulout y col., 1987
3	27 floricultores y 32 no expuestos	Buenos Aires	ICH	Significativa	Dulout y col., 1992
4	14 trabajadores rurales (aplicadores) y 12 controles	Córdoba	AC	Significativa	Mañas y col., 2009
5	45 trabajadores frutihortícolas, 50 con exposición indirecta y 50 controles	Santa Fe	EC: ensayo cometa	Significativa	Simoniello y col., 2010
6	17 trabajadores rurales (aplicadores), 15 personas ambientalmente expuestas a mezclas de plaguicidas, 12 controles	Córdoba	AC, EC, MN: micronúcleos en sangre	Significativa	Peralta y col., 2011
7	20 trabajadores rurales (aplicadores) y 20 controles	Córdoba	MN sangre	Significativa	Gentile y col., 2012
9	19 niños ambientalmente expuestos a mezclas de plaguicidas y 20 controles	Córdoba	MN mucosa bucal	Significativa	Este trabajo

Ensayo de MN en niños ambientalmente expuestos a plaguicidas de dos localidades de Córdoba rodeadas de cultivos.

En la tabla 1 y 2 se presentan los resultados obtenidos en el Ensayo de Micronúcleos (enfoque citoma) en los dos grupos estudiados.

Tabla 1: Ensayo de Micronúcleos (enfoque citoma) en niños de la localidad de Oncativo (Córdoba).

sexo	Edad (en años)	Distancia*	Alteraciones nucleares en 1000 células analizadas							MN/ 1000 cél.
			Células. Basales	Células BN	Células PICs	Células CONDs	Células CAL	Células CX	Células con BR	
M	11	100m	96	2	2	1	96	8	1	5
F	5	100m	39	3	7	4	38	2	2	2
M	7	20m	23	10	0	0	182	6	0	6
M	7	500m	14	6	0	1	121	8	0	0
M	8	200m	18	7	3	4	101	9	0	5
M	7	300m	13	3	5	3	50	17	0	11
M	8	100m	36	3	2	7	81	10	2	5
			34,14± 11,01	4,86± 1,10	2,71± 0,97	2,86± 0,91	95,57±18,09	8,57± 1,72	0,71± 0,36	4,86± 1,30

*Distancia entre el lugar donde habita a los cultivos fumigados, BN: binucleadas, PICs: picnóticas, CONDs: condensadas, CAL: cariolíticas, CX: cariorréxicas, BR: brotes. Los resultados se presentan como media ± error estándar de la media.

Monitoreo de genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas

Tabla 1: Ensayo de Micronúcleos (enfoque citoma) en niños de la localidad de Marcos Juárez (Córdoba).

Sexo	Edad (en años)	Distancia*	Alteraciones nucleares en 1000 células analizadas							
			Células basales	Células BN	Células PICs	Células CONDs	Células CAL	Células CX	Células con BR	MN/1000 cél.
F	10	200m	28	13	5	2	50	6	10	4
F	9	300m	11	7	1	2	6	2	4	7
F	11	200m	12	8	3	1	11	4	4	3
F	5	200m	17	9	13	3	15	7	3	4
F	11	200m	6	9	9	1	25	1	2	7
F	10	150m	42	2	2	0	15	0	1	8
M	12	150m	24	8	0	0	2	0	1	14
M	11	150m	34	8	4	4	61	2	1	2
F	5	150m	22	3	0	1	3	3	4	5
M	7	150m	20	3	13	3	28	2	0	0
F	10	100m	61	9	2	4	7	1	2	2
M	5	100m	44	14	3	6	70	5	3	9
			26,75± 4,6	7,75± 1,07	4,58± 1,33	2,25± 0,52	24,42*± 6,77	2,75*± 0,66	2,92*±0,75	5,42±1,10

**Distancia entre el lugar donde habita a los cultivos fumigados, BN: binucleadas, PICs: picnóticas, CONDs: condensadas, CAL: cariolíticas, CX: cariorréxicas, BR: brotes. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de la media.* diferencias significativas respecto del grupo de Oncativo $P \leq 0,05$.

Discusión

El monitoreo genotóxico es importante porque constituye la base para integrar una correcta vigilancia médica, que permita evaluar el riesgo potencial de exposiciones sostenidas y que ayude a seguir los pasos adecuados para identificar el riesgo genético de manera preventiva.

Los biomarcadores utilizados en los trabajos realizados en poblaciones argentinas son la frecuencia de AC, de MN, el índice de intercambio de ICH y el CO. El sistema celular utilizado en estos trabajos es linfocitos de sangre periférica, no habiendo información en las células de la mucosa bucal.

En los trabajos citados se observa que existe una asociación positiva entre la exposición crónica a las mezclas de plaguicidas y la modificación de los biomarcadores de genotoxicidad. A pesar de la asociación, no es posible atribuir los resultados observados directamente a un tipo de plaguicida o a mezclas definidas.

Los resultados de los estudios realizados en Argentina (concordantes con otros de Latinoamérica y Europa –Aiasa y col., 2012; Gómez Arroyo y col., 2013–) constituyen evidencias claras que indican que la exposición a plaguicidas causa daño genotóxico y esto permite establecer las bases científicas para que se comience con acciones que contribuyan al cuidado de la salud fundamentalmente en aquellas poblaciones más vulnerables.

En cuanto al monitoreo en niños para Argentina estos son los primeros datos. Se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos de niños estudiados, en el parámetro células con yemas o brotes (BR), cariolíticas (CAL) y cariorréxicas (CX) (* $p \leq 0,05$; Test de Student). Las yemas nucleares se estima que son un reflejo de amplificación génica (Bonassi y col., 2011). El nivel de células cariorréxicas y cariolíticas, son indicadores de algún tipo de muerte celular, la cantidad de estas fue mayor en el grupo de Oncativo.

El enfoque citoma del ensayo de MN en mucosa bucal, que consiste en la cuantificación no solo de MN sino de otras anomalías nucleares, todavía tiene importantes “lagunas” de conocimiento

acerca de las características de las anomalías nucleares. Es poco lo que se conoce sobre la biología básica que explique la aparición de algunos tipos de células bucales y los efectos de diversos procedimientos de tinción y criterios de conteo en los laboratorios de todo el mundo (Holland y col., 2008). Esto “invita” a continuar los estudios para ampliar el conocimiento, recabar aún más información e implementar más y mejores técnicas que permitan disminuir los falsos positivos e incrementar la certeza en los resultados y complementar los resultados del ensayo con otras anomalías.

Los MN pueden estar formados por fragmentos cromosómicos producto de un daño directo a nivel de cromosomas, replicación de un ADN dañado, inhibición de la síntesis de ADN, o fallas estructurales o de funcionamiento a nivel del huso mitótico, de los cinetocoros cromosómicos o de otra parte del aparato mitótico (Albertini et al., 2000). La frecuencia de micronúcleos se comparó con los valores históricos del grupo de referencia del laboratorio GeMA (UNRC): $1.00 \pm 0,32$ por cada mil céls analizadas. Este grupo etario está constituido por niños que habitan zonas urbanas de Río Cuarto, distantes a aproximadamente 10 Km de campos de soja rociados con plaguicidas. En ambas poblaciones las diferencias entre las mismas y el grupo de referencia son significativas, lo cual indica un riesgo de daño genético en estos grupos, que si bien habitan en la zona urbana, habitan a pocos metros de campos pulverizados con plaguicidas.

Las investigaciones de este tipo en niños son poco frecuentes en la bibliografía internacional. Los más cercanos y semejantes a nuestra cultura son dos trabajos de los vecinos países de Paraguay y Brasil. Benitez Leite y col. (2010) en Paraguay en un grupo de 46 niños edad promedio 9,8 años obtuvo niveles controles de MN en células bucales exfoliadas de $1,8 \pm 2,0$ por cada dos mil células. En Brasil, Coelho Lorenzoni y col.(2013) en un grupo de 25 niños de $11,2 \pm 1,4$ años obtuvieron niveles controles de MN en células bucales exfoliadas de 0,08 por mil células analizadas. Es decir en ambos estudios, los valores controles son muy semejantes de los del grupo referente histórico de nuestro Laboratorio.

La evidencia de los efectos de la exposición ambiental en edad temprana es tan fuerte que deben hacerse todos los esfuerzos posibles para eliminar tales exposiciones en las mujeres embarazadas y en los niños, para proteger la salud presente y futura de los mismos (Holland y col., 2011).

Los niveles de daño genético encontrados en los grupos de niños de Oncativo y de Marcos Juárez estudiados están muy por arriba de los valores de referencia comentados. La dinámica de la división celular en niños puede ser diferente a la de los adultos. En el caso de células epiteliales de la mucosa bucal, se sabe que en adultos lleva de 2-3 semanas para que las células dañadas en la parte basal, migren hasta la superficie. Sin embargo, la proliferación celular puede variar en niños por edad y en diferentes tipos celulares, por lo que más estudios deben ser realizados en este grupo etario. Se ha establecido que las frecuencias basales de MN en niños recién nacidos son relativamente bajas en comparación con los adultos, sin embargo, los efectos de la edad y del sexo en los niveles de MN en linfocitos y en células exfoliadas durante la niñez y la adolescencia no son claros y requieren mayor investigación.

Evaluar el problema de los efectos de contaminantes ambientales sobre el material genético lleva implícito un deber en la concienciación sobre las medidas de prevención, protección y cuidado de la salud y del ambiente, con la participación de las respectivas instancias gubernamentales y con mecanismos que permitan ampliar dichas evaluaciones.

Es posible prever que la toma de medidas que lleven a disminuir los efectos de los contaminantes ambientales que afectan la salud humana, tales como los metales, los plaguicidas, los solventes orgánicos, los aditivos de alimentos, algunos productos naturales, y en especial sus efectos diferidos, determinará una notable mejoría de las condiciones de salud de los habitantes expuestos.

Agradecimientos

Al Ing. Marcos Tomassoni de Oncativo por la generosa gestión para la recolección de las muestras.

Bibliografía

- Aiassa, D., F. Mañas, B. Bosch, N. Gentile, N. Bernardi y N. Gorla. 2012. Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana*. 17(3): 485-510.
- Au, W., N. Cajas-Salazar y S. Salama S. 1998. Factors contributing to discrepancies in population monitoring studies. *Mutation Research* 400: 467-78.
- Bolognesi, C. 2003. Review Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies *Mutation Research* 543, 51-272
- Bonassi S, Au WW. 2002. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat Res*. 511(1):73-86.
- Bonassi S., B. Biasotti, M. Kirsch-Volders, S. Knasmueller, E. Zeiger, S. Burgaz. HUMNXL Project Consortium; State of the art survey of the buccal micronucleus assay—a first stage in the HUMNXL project initiative, *Mutagenesis* 24 (2009) 295- 302.
- Bonassi S., E. Coskun, M. Ceppi, C. Lando, C. Bolognesi, S. Burgaz. 2011. The HUMAN MicroNucleus project on exfoliated buccal cells (HUMNXL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol, *Mutation Research* 728: 88-97.
- Budak Diler, S., Ergene S. 2010. Nuclear anomalies in the buccal cells of calcite factory workers. *Genetics and Molecular Biology* Online Ahead of Print. Sociedade Brasileira de Genética. Printed in Brazil.
- Castro R, V. Ramírez y P. Cuenca. 2004. Micronúcleos y otras anomalías nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Rev Biol Trop*. 52(3):611-621.
- Cuenca, P. y V. Ramírez. 2004. Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Revista de Biología Tropical* 52: 219-224.
- Dulout F, J. López Camelo y H. Guradze. 1992. Analysis Of Sister Chromatid Exchanges (SCE) In Human Populations Studies. *Rev Brazil Genet*. 15(1):169-182.
- Dulout F., M. Pastori, M. González Cid, E. Matos, H. Von Guradze, C. Maderna 1987. Cytogenetic Analysis In Plant Breeders. *Mutation Research* 189(4):381-386.
- Dulout, F., M. Pastori, O. Olivero, M. Gonzales Cid, D. Loria, E. Matos, N. Sobel, E. de Bujan, N. Albiano. 1985. Sister-chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides, *Mutation Research* 143, 237-244.
- Ergene, S, A. Çelik, T. Çavaş y F. Kaya 2007. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environment International* 33: 877-885.
- Fenech M, C. Bolognesi, M. Kirsch-Volders, S. Bonassi, E. Zeiger, S. Knasmuller, N. Holland, 2007. Harmonisation of the micronucleus assay in human buccal cells—a human micronucleus (HUMN) project (www.humn.org) initiative commencing in 2007, *Mutagenesis* 22: 3-4.
- Gajskia G, M Gerića, V Oreščaninb, Garaj-Vrhovaca, 2013. Cytogenetic status of healthy children assessed with the alkaline comet assay and the cytokinesis-block micronucleus cytome assay, *Mutation Research*. 750, 55-62.

- Gallo V, A. Khan, C. Gonzales, D.H. Phillips, B. Schoket, E. Györffy, L. Anna, K. Kovács, P. Møller, S. Loft, S. Kyrtopoulos, G. Matullo, P. Vineis, 2008. Validation of biomarkers for the study of environmental carcinogens: a review, *Biomarkers*, 13: 505–534.
- Gentile N, Mañas F, Bosch B, Peralta L, Gorla N, Aiassa D. 2012. Micronucleus Assay As A Biomarker Of Genotoxicity In The Occupational Exposure To Agrochemicals In Rural Workers. *Bull. Environ Contam Toxicol.* 88(6):1-7.
- Gómez Arroyo, S., C. Martínez Valenzuela, Y. Carbajal-López, A. Martínez-Arroyo, M. Calderón-Segura, R. Villalobos-Pietrini y S. Waliszewski. 2013. Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América Latina. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 29 (Número especial sobre plaguicidas) 159-180.
- Hagmar, L., S. Bonassi, U. Stromberg, A. Brogger, L.E. Knudsen, H. Norppa, C. Reuterwall & The European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. 1998. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: A report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Res.* 58: 4117-4121.
- Holland N, A. Fucic, D. F. Merlo, Radim Sram, M. Kirsch-Volders, 2011. Micronuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables, *Mutagenesis.* 26(1): 51–56.
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S. and Fenech, M. 2008. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research* 659,93–108.
- Larrea Poma, 2007. M. Evaluación del Daño Genotóxico por Exposición a Plaguicidas en Agricultores del Municipio de Luribay. Tesis de Grado. Universidad Mayor de San Andrés. 150pp.
- McCarthy JF y LR Shugart (eds.). 1990. Biomarkers of environmental contamination, *Lewis Publ.*
- Neri M, M. Ceppi, L.E. Knudsen, D.F. Merlo, R. Barale, R. Puntoni, S. Bonassi, 2005. Baseline micronuclei frequency in children: estimates from meta- and pooled analyses, *Environ. Health Perspect.* 113: 1226–1229.
- Pastor Benito, S. 2002. Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a agroquímicos, mediante el ensayo de micronúcleos. Tesis doctoral. Universitat Autònoma de Barcelona. Facultat de ciències. Departament de Genètica i de Microbiologia. Grup de mutagenei.
- Peralta L, Mañas F, Gentile N, Bosch B, Méndez A, Aiassa D. 2011. Evaluación Del Daño Genético En Pobladores De Marcos Juárez Expuestos A Plaguicidas: Estudio De Un Caso En Córdoba, Argentina. *Rev Cient Psicol Ciencias Soc Human Ciencias Salud;*2(1):7-26.
- Phillips, D.H. y S Venitt (eds.). 1995. Environmental Mutagenesis. Bios Scientific. London. 403 p.
- Ramírez V, Cuenca P. 2002. Daño del ADN en trabajadoras bananeras expuestas a plaguicidas en Limón, Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 50(2):507-518.
- Rahman, M., M. Mahboob, K. Danadevi, B. Banu & P. Grover. 2002. Assessment of genotoxic effects of chloropyrifos and acephate by the comet assay in mice leucocytes. *Mutation Research* 516: 139-147.
- Simoniello Mf, Kleinsorge Ec, Carballo Ma. 2010. Evaluación Bioquímica De Trabajadores Rurales Expuestos A Pesticidas. *Medicina (B. Aires).* 70(6):489-498.

