



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE
LOJA**

La Universidad Católica de Loja

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA

TÍTULO DE MAGISTER EN ANÁLISIS BIOLÓGICO Y
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

**Evaluación genotóxica en la población expuesta a plaguicidas en
el cantón Calvas**

TRABAJO DE TITULACIÓN.

AUTOR: Vintimilla Gualán, Andrea Katherine

DIRECTORA: Bailón Moscoso, Natalia Catalina, PhD.

LOJA-ECUADOR

2018



Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NC-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>

Loja, mayo del 2018

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

PhD.

Natalia Catalina Bailón Moscoso

DOCENTE DE TITULACIÓN

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación: **Evaluación genotóxica en la población expuesta a plaguicidas en el Cantón Calvas** realizado por Vintimilla Gualán, Andrea Katherine, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo

Loja, Abril de 2018.

f)

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

“Yo Vintimilla Gualán, Andrea Katherine declaro ser autora del presente trabajo de titulación: Evaluación genotóxica de la población expuesta a plaguicidas en el Cantón Calvas, de la Maestría en Análisis Biológico y Diagnostico de Laboratorio, siendo PhD. Natalia Catalina Bailón Moscoso la directora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales. Además certifico que las ideas, conceptos, procedimientos y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: “Forman parte del patrimonio de la Universidad la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado que se realicen a través, o con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad”

f).....
Autor: Andrea Katherine Vintimilla Gualán
Cédula:1104015217

DEDICATORIA

El presente trabajo está dedicado con todo mi amor:

A mi pequeño hijo Juan Andrés quien ha sido mi motivación para alcanzar los pequeños logros que hemos conseguido juntos en estos años.

A mi mamá por ayudarme y apoyarme incondicionalmente, de todas las formas en las que le ha sido posible.

AGRADECIMIENTOS

Para mi es realmente importante agradecer a todas las personas que han colaborado de una u otra manera en la realización de este trabajo.

PhD. Natalia Bailón mil gracias por la confianza brindada nuevamente, aun sabiendo que iba a ser muy difícil para mí trabajar a su ritmo y lograr los resultados esperados, además de toda la paciencia proporcionada.

A todas las personas del Laboratorio de Genética toxicológica que me brindaron su ayuda, sin ellas realmente no habría sido posible culminar este trabajo. Muchas gracias Gaby G y María Alicia

INDICE DE CONTENIDOS

APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN	ii
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
INDICE DE CONTENIDOS	vi
LISTA DE TABLAS	vii
ABREVIATURAS	viii
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	5
1.1 PLAGUICIDAS	6
1.1.1 Clasificación de los plaguicidas.....	6
1.1.2 Efectos adversos de los plaguicidas y sus efectos en la salud.....	8
1.2 GENÉTICA TOXICOLÓGICA.....	10
1.3 BIOMARCADORES PARA LA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD GENOTÓXICA.....	11
1.3.1 Ensayo Micronúcleos	11
1.4 POBLACIÓN DE ESTUDIO	12
CAPITULO II. OBJETIVOS DEL PROYECTO	15
2.1 Objetivo general del proyecto.....	16
2.2 Objetivos específicos del proyecto.....	16
CAPITULO III. MÉTODOS	17
3.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO	18
3.1.1 Criterios de inclusión	18
3.1.2 Criterios de exclusión	18
3.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	18
3.3 TOMA DE Y ANÁLISIS DE MUESTRAS.....	18
3.4 ENSAYO MICRONÚCLEOS.....	19
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	20
CAPITULO IV. RESULTADOS.....	21
4.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y PARÁMETROS DE QUÍMICA SANGUÍNEA.....	22
4.2 COMPARACIÓN DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS	24
4.3 EVALUACIÓN GENOTÓXICA MEDIANTE EL ENSAYO MICRONÚCLEOS	25

CAPITULO V. DISCUSIÓN	27
CAPITULO VI CONCLUSIONES	33
CAPITULO VII RECOMENDACIONES	34
BIBLIOGRAFÍA.....	35

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Características demográficas y química sanguínea en mujeres.....	22
Tabla 2. Características demográficas y química sanguínea en varones.....	23
Tabla 3. Valores hematológicos en mujeres	24
Tabla 4. Valores hematológicos en varones	25
Tabla 5. Evaluación genotóxica mediante el ensayo Mn en mujeres.....	25
Tabla 6. Evaluación genotóxica mediante el ensayo Mn en vaones.....	25

ABREVIATURAS

AC: Aberraciones cromosómicas

ADN: Ácido Desoxirribonucleico

AN: Anormalidades nucleares

BH: Biometría hemática

BN: Células binucleadas

CC: Cromatina condensada

CL: Cariolisis

CN: Células normales

CR: Cariorrexis

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura

GGT: Gamma Glutamil Transferasa

Hb: Hemoglobina

HDL: Colesterol de alta densidad

Hto: Hematocrito

IMC: Índice de masa corporal

LDH: Lactato deshidrogenasa

LDL: Colesterol de baja densidad

Mn: Micronúcleos

NL-BE: Núcleo lobulado – broken eggs

PN: Núcleo Picnótico

TGO: Transaminasa Glutámico Oxalacético

TGP: Transaminasa Glutámico Pirúvica

VR: Valor de referencia

RESUMEN

El uso de plaguicidas se ha generalizado a nivel mundial en los últimos años y su consumo y variedad se han incrementado dramáticamente, como respuesta al crecimiento de las ciudades, incentivando a la población a la búsqueda del ingreso económico así como del sustento familiar. El principal problema es su uso indiscriminado y la falta de normas básicas de seguridad; incrementado la contaminación ambiental y los daños en la salud de los pobladores que los usan. Tomando en cuenta la falta de estudios en nuestra población, se evaluó el daño genotóxico producido por plaguicidas en los pobladores del Cantón Calvas. El estudio fue de tipo casos y controles, los participantes fueron hombres y mujeres en edad productiva, evaluándose valores hematológicos, química sanguínea y daño genotóxico mediante el ensayo micronúcleos en células del epitelio bucal.

La mayoría de los parámetros no presentaron cambios; únicamente las enzimas hepáticas (TGO, TGP y GGT) se encontraron elevadas en el grupo de mujeres expuestas. En la evaluación genotóxica se evidenció diferencias significativas en la presencia de micronúcleos, brotes y células binucleadas en mujeres y varones expuestos.

PALABRAS CLAVES: Plaguicida, enotóxico, Micronúcleos, Colaisaca, Enzimas hepáticas, Química sanguínea

ABSTRACT

The use of pesticides has become widespread worldwide in recent years and their consumption and variety have increased dramatically, in response to the growth of cities, encouraging the population to seek economic income as well as family support. The main problem is its indiscriminate use and the lack of basic safety standards; increased environmental pollution and damage to the health of the people who use them. Taking into account the lack of studies in our population, the genotoxic damage produced by pesticides in the inhabitants of Cantón Calvas was evaluated. The study was of the case and control type, the participants were men and women of productive age, evaluating hematological values, blood chemistry and genotoxic damage by means of the micronucleus test in cells of the buccal epithelium.

Most of the parameters did not show changes; only liver enzymes (SGOT, TGP and GGT) were found elevated in the group of exposed women. In the genotoxic evaluation, significant differences were found in the presence of micronuclei, outbreaks and binucleated cells in exposed women and men.

KEYWORDS: Pesticide, Genotoxic, Micronuclei, Colaisaca, Liver enzymes, Blood chemistry

INTRODUCCIÓN

El uso de plaguicidas es una práctica generalizada en casi todo el mundo es por esto que su consumo y variedad se ha visto incrementada dramáticamente, esto como respuesta al crecimiento poblacional y a la necesidad de mejorar la producción agrícola para de este modo percibir réditos económicos además de ser la principal fuente de alimentos de muchas familias, de América Latina primordialmente

El principal problema con el uso indiscriminado de plaguicidas es su mala utilización, esto ha sido la razón principal por el que se ha evidenciado un importante incremento en la contaminación ambiental además de los riesgos para la salud de quienes los utilizan; es por ello que en los últimos años en América Latina se ha reportado un incremento de intoxicaciones causadas por plaguicidas, algunas de ellas han llevado a la muerte de quien la padeció (Gómez *et al.*, 2013). La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y Agricultura (FAO), definió a los plaguicidas como "la sustancia o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, el forraje para animales o los productos que pueden administrárseles para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales" (Schaaf, 2013). Tomando en cuenta esta definición y el amplio mecanismo de acción de los plaguicidas se puede observar que una característica fundamental es su fácil acumulación en el tejido adiposo de los animales, lo que hace que se convierta en un compuesto persistente en el organismo, produciendo intoxicaciones agudas (Asela, Del Puerto, Suárez, & Palacio, 2014). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2010, se presentó dos millones de intoxicaciones agudas, de los cuales 2536 casos se registraron en Ecuador (Adum, 2015).

Los plaguicidas causan varias alteraciones en el ser humano: daño renal y hepático, problemas oculares y dérmicos, además de producir mutaciones que pueden causar algún tipo de cáncer, así como efectos teratógenos en mujeres gestantes (Bustamante *et al.*, 2014). Por ello es importante realizar un monitoreo a las personas expuestas a estos compuestos, para de esta forma conocer los daños que se pueden ocasionar por su mala utilización y educar a la población sobre el uso correcto de los plaguicidas asegurando el bienestar de quienes trabajan en las plantaciones así como de los cultivos.

Para evaluar el posible efecto genotóxico producido por estos compuestos químicos, se utiliza biomarcadores de exposición, entre los cuales tenemos: aberraciones cromosómicas, ensayo del cometa, intercambio entre cromátidas hermanas y micronúcleos, este último se usa con mayor frecuencia debido a que ayuda a determinar posibles daños cromosómicos y es un marcador de efecto temprano de enfermedades como el cáncer (Torres & Ramos, 2013), este ensayo con frecuencia se ha llevado a cabo en cultivo de linfocitos, pero en la actualidad se usa células del epitelio bucal, por las ventajas que proporciona al paciente así como al investigador: Es un método poco invasivo, no se requiere cultivar las células, por lo que asegura un método más económico y rápido de realizar (Gomez S, Martinez C, Carbajal Y, Martinez A, Calderon M, Villalobos R, 2013).

En Ecuador no se ha evaluado los efectos genotóxicos producidos por los plaguicidas, por ello es importante empezar con este tipo de investigaciones; razón por la cual se realizó el presente trabajo con la participación de los pobladores del Cantón Calvas, cuyo objetivo primordial es evaluar el posible daño genotóxico así como los parámetros hematológicos y bioquímicos y comparar los resultados obtenidos entre la población expuesta y la no expuesta a estos compuestos.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 PLAGUICIDAS

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), en el 2008 definió a los plaguicidas como “sustancias o mezcla de ellas, destinada a prevenir, destruir o controlar plagas, incluyendo los vectores de enfermedad humana o animal; las especies no deseadas de plantas o animales que ocasionan un daño duradero u otras que interfieren con la producción, procesamiento, almacenamiento, transporte y comercialización de alimentos; los artículos agrícolas de consumo, la madera y sus productos, el forraje para animales o los productos que pueden administrárseles para el control de insectos, arácnidos u otras plagas corporales”. Por ello el objetivo principal de estos compuestos es matar ciertos organismos vivos, con lo que se evidencia su alto grado de toxicidad para la salud humana (Schaaf, 2013); adicional a ello se pueden evidenciar otro tipo de problemas como la contaminación producida en el suelo y agua (Benitez & Miranda, 2013).

El incremento de la actividad agrícola a nivel mundial, como respuesta al crecimiento de la población y la necesidad de promover una fuente de ingresos económicos (Benitez & Miranda, 2013), ha incentivado el uso irracional de plaguicidas, esto debido a que estas sustancias son promocionadas como la solución más efectiva para el mejoramiento de la producción agrícola (Bravo *et al.*, 2013). Sin embargo su uso habitual los ha convertido en una problemática mundial debido a la alta toxicidad que se produce en las personas que los manejan; cabe destacar que estos problemas son mucho más evidentes en los países en desarrollo, donde no se cuenta con programas adecuados de educación ambiental y salud pública, así como de campañas oportunas para el uso de estos componentes (Gomez S, Martinez C, Carbajal Y, Martinez A, Calderon M, Villalobos R, 2013).

1.1.1 Clasificación de los plaguicidas

Los plaguicidas se clasifican de varias formas, entre las que se encuentran:

Por su aplicación a plagas específicas. Esta clasificación hace referencia al tipo de microorganismo que se busca controlar o eliminar, entre los que tenemos:

- ***Fungicidas:*** Producto quimiotóxico que se usa para destruir hongos. Actúan sobre las plantas o animales al penetrar en su estado gaseoso a través de las paredes del cuerpo y de los conductos respiratorios. Se dispersan como todo gas verdadero, de modo que puedan llegar en forma molecular hasta donde están las plagas. Ejm: El Cianhídrico.

- **Herbicidas:** Quimiotóxico que se aplica para destruir las malas hierbas o plantas adventicias que perjudican las cosechas, en este grupo se encuentra el 2-4 -D ácido cianamida cálcica, dinitrofenoles, entre otros.
- **Rodenticidas:** Productos que se utilizan para matar animales fisiológicamente semejantes al hombre, específicamente a los roedores, entre los cuales se encuentran: 1080, Fosfuro de Zinc, etc.
- **Insecticidas:** Todos los productos quimiotóxicos que se emplean para destruir insectos.

Según su acción Residual: Acción Residual es la capacidad de un insecticida de mantenerse activo frente a los insectos por un tiempo prolongado que puede variar entre algunos días, un año o más. En este grupo tenemos plaguicidas de acción residual inmediata, moderada o marcada.

De acuerdo al modo de penetración al vector: Se refiere a la manera en que el producto ingresa a la plaga. Estos pueden ser:

- **Estomacales:** Verde de París; fosfuro de Zn, 1080, TL SO4 entre otras.
- **Por contacto:** Cipermetrina (cymperator), Baygón®, Diazinón, etc.
- **Fumigantes:** Naftalina, cianhídricos y otras.
- **Desecantes:** Geles de sílice, actúan sobre el insecto provocándole la pérdida de líquido corporal hasta su total desecación.

De acuerdo al período de vida del insecto sobre el que actúan:

- **Ovicida:** Actúan sobre los huevos de los insectos
- **Larvicida:** Ataca a los insectos en su estado larvario. Ejm: Bactivec y Gliselef
- **Adulticida:** Mata a los insectos adultos (Ruis & Solis, 2012).

De acuerdo a su naturaleza química: Es la clasificación más usada, tenemos:

- **Inorgánicos:** Son los plaguicidas más usados en la antigüedad y su característica esencial es la de no contener carbono en su estructura. Uno de sus limitantes es la falta de especificidad, además de presentar baja toxicidad para las plagas por lo que se requiere de grandes cantidades para cumplir con su objetivo. Uno de los más usados es el que contiene en su estructura azufre.
- **Orgánicos:** Naturales y sintéticos. Estos a su vez se clasifican en:
 - **Organoclorados:** Son insecticidas cuya estructura química básicamente corresponde a hidrocarburos clorados aromáticos (Ruis & Solis, 2012).

Algunos ejemplos de estos compuestos son: DDT, HCB (Hexaclorobenceno), Lindano, Dieldrin, Aldrín, Thio, etc.

- **Órganofosforados:** Son ésteres del ácido fosfórico y una variedad de alcoholes, generalmente liposolubles (Monzón Frank, 2015). Son poco volátiles. Los organofosforados más usados son: Parathión, Malathión, Diazinón, Dipterex, Abate, Baytex, Vapona o Nogos.
- **Nitrogenados:** Los fenoles; entre estos se encuentran: Anagran, Propanil, Racumin.
- **Carbamatos:** Son ésteres derivados de los ácidos N–metil o dimetil carbámico se emplean como insecticidas, herbicidas, fungicidas y nematocidas. Ejm. Baygón (Propoxur)
- **Piretroides:** Son insecticidas sintéticos, con una estructura química similar a la de las piretrinas, modificada para mejorar su estabilidad en el ambiente (C. Martínez & Gómez, 2007) Ejm. Cymperatore (cypermetrina), Comodore, Icon, Demon, Galgotrín, etc.

1.1.2 Efectos adversos de los plaguicidas y sus implicaciones en la salud

Si bien el propósito del uso de plaguicidas es matar organismos no deseados y que causan daño a las plantaciones agrícolas, además de transmitir enfermedades a los animales y al ser humano, se debe tomar en cuenta que otros seres vivos incluyendo el hombre cuentan con funciones fisiológicas o bioquímicas similares a los de las especies que interesa eliminar y que son susceptibles a estos compuestos y a los posible efectos tóxicos producidos por los plaguicidas (Karam *et al.*, 2004).

En el ámbito internacional se estima que la exposición a plaguicidas está ocasionando un elevado número de intoxicados, principalmente entre quienes realizan labores agrícolas en países en desarrollo; sin embargo no existe un cálculo exacto de la magnitud del problema, y solo se tienen como referencia algunas estimaciones realizadas por diversos organismos. La Organización Internacional de las Uniones de Consumidores refiere que cada cuatro horas muere un trabajador agrícola por intoxicación aguda. De igual manera la Organización Mundial de la Salud (OMS) señala que durante la primera mitad de la década del ochenta ocurrieron alrededor de 1 000 000 de casos de intoxicación no intencionada con plaguicidas, de los cuales el 70% fueron originados en el ambiente laboral; durante el mismo periodo se estima que ocurrieron cerca de 2 000 000 de intoxicaciones con fines suicidas, y de todas las intoxicaciones el 7,3% fueron casos letales. La Organización Internacional del Trabajo por su parte, estima que los plaguicidas se pueden asociar con el 14% de las lesiones ocupacionales en el sector agrícola y del 10% de todas las defunciones (Idrovo, 2000).

Algunos de los principales efectos producidos en la salud humana son:

Efectos inmunológicos: Se ha evidenciado que existe cierta asociación entre la supresión de la respuesta inmune y el aumento en la incidencia de infecciones y cáncer. Entre los tipos de cáncer más comunes se encuentran: de cerebro, riñón, colon, recto, páncreas, pulmones, estomago; en hombres cáncer de próstata y testicular, en mujeres cáncer de mama; y, en niños leucemia linfocítica aguda (Badii & Landeros, 2007).

Efectos neurotóxicos: Se sabe que existen algunas similitudes entre el sistema nervioso de los vertebrados y los invertebrados, como consecuencia de estas semejanzas, los insecticidas tienen la capacidad de actuar en el sistema nervioso del hombre, produciendo alteraciones a nivel sensorial, motor, autónomo y en las funciones cognitivas y comportamentales, trastornos del sueño, cefaleas, entre otras (Otero G, Porcayo R, Aguirre D, 2000). Otro de los efectos que producen estas sustancias es modificar los niveles cerebrales de numerosos neurotransmisores (noradrenalina, serotonina, dopamina), las funciones sinápticas, el consumo de energía (utilización de glucosa) del Sistema Nervioso Central (SNC), la formación de fosfoinositoles y la regulación de calcio iónico neuronal, ocasionando el síndrome neurotóxico por policlorocicloalcanos (PCCAs) (Rodríguez, 2015).

Efectos endócrinos: Los plaguicidas tienen la capacidad de actuar como disruptores endócrinos, de este modo pueden alterar la cantidad de hormonas producidas o liberadas al flujo sanguíneo, o en su defecto alterar el suministro de proteínas que transportan las hormonas en la sangre. Otro posible efecto es interferir con la capacidad de las hormonas de interactuar con sus receptores, bloqueando mensajes y respuestas biológicas vitales (Estrada, Gallo, & Nuñez, 2016).

Las alteraciones producidas por estos compuestos son: obesidad y diabetes principalmente en mujeres (Arrebola, 2013). Otra característica de muchos plaguicidas es su origen estrogénico con capacidad de mimetizar o perturbar los efectos de las hormonas endógenas (Benítez, Macchil, & Acosta, 2009), lo que ocasiona una sobreexpresión de receptores estrogénicos, siendo la causa principal para la presencia de diferentes tipos de cáncer.

Intoxicación producida por plaguicidas: Los plaguicidas son productos capaces de causar toxicidad ya sea por exposición aguda (exposición corta) o crónica (exposición por un periodo prolongado) (Gutiérrez *et al.*, 2015); se ha demostrado que el hígado es el órgano blanco primario en casos de exposición crónica y aguda a plaguicidas, por lo tanto, los cambios en la función del hígado podrían ser los indicadores más sensitivos de reacciones tóxicas inducidas por estas exposiciones (Castro, 2014).

Para evaluar el daño hepático producido por la exposición a plaguicidas existen algunas determinaciones, de las cuales las que brindan mejor respuesta son: Aminotransferasas en

especial Transaminasa Glutámico Pirúvica (TGP), por ser un indicador exclusivo de daño hepático y la primera en incrementarse en intoxicaciones agudas (Monzón Frank, 2015). Otra enzima importante es la Gamma Glutamil Transferasa (GGT), es un índice sensitivo y específico de daño hepatotóxico. Se ha demostrado que estímulos apropiados como sustancias nocivas o drogas inducen a la célula hepática a incrementar su producción (Castro, 2014).

Toxicidad reproductiva y efectos en el desarrollo: Se ha observado que los plaguicidas causan efectos asociados al descenso de fertilidad en mujeres, incremento de abortos espontáneos y anomalías congénitas (Vindas, Ortiz, Ramírez, & Cuenca, 2004). En el hombre se ha observado una disminución del conteo de espermatozoides, lo que disminuye su capacidad reproductiva (Badii & Landeros, 2007).

Efectos genéticos: Algunos de estos compuestos cuentan con cierta afinidad por el ADN, esto se debe a la alta reactividad de los plaguicidas y a que la mayoría de ellos son electrofílicos, lo que les brinda la capacidad de reaccionar con varios centros nucleofílicos de las moléculas celulares, incluyendo el ADN (Valencia *et al.*, 2013), de modo que pueden producir lesiones, algunas de las cuales pueden no ser reparadas y provocar enfermedades degenerativas y presencia de descendencia con alteraciones genéticas (Aiassa *et al.*, 2012).

1.2 GENÉTICA TOXICOLÓGICA:

La Genética Toxicológica es la disciplina que se ocupa del estudio del efecto mutagénico de los agentes químicos, físicos y/o biológicos, así como las consecuencias sobre los ecosistemas, el ambiente, los seres vivos y la salud humana. En pocas palabras, esta disciplina se encarga de detectar las genotóxicas, agentes capaces de actuar directa o indirectamente sobre el ADN o sobre moléculas asociadas (proteínas que intervienen en la reparación del ADN o en la segregación cromosómica) y que producen alteraciones (mutaciones) en el material genético a concentraciones no tóxicas o subtóxicas (Mudry & Carballo, 2006). El objetivo de la genética toxicológica es medir los riesgos de exposición en etapas tempranas (Aiassal *et al.*, 2009).

El daño genotóxico radica en la presencia de modificaciones en la estructura del ADN las cuales se dan durante la división celular y se encuentran provocadas por diferentes agentes tóxicos. Esta alteración se puede dar tanto en células somáticas como germinales. Para ello la célula activa un mecanismo de defensa para reparar algunos de los daños al ADN de manera natural, activando procesos de necrosis o apoptosis, en cambio, si el daño al ADN no se repara y la célula se sigue reproduciendo, la consecuencia puede evidenciarse con

una división descontrolada de células somáticas originando un cáncer; mientras que si el daño es irreversible y se presenta en células germinales, estas alteraciones son heredadas a la siguiente generación (Arellano *et al.*, 2012).

1.3 BIOMARCADORES PARA LA DETERMINACIÓN DE ACTIVIDAD GENOTÓXICA

Los biomarcadores se usan como herramienta útil para evaluar el riesgo potencial de las diferentes exposiciones ambientales en los organismos vivos. Estos se clasifican en:

- **Biomarcadores de exposición:** Detectan si el agente genotóxico ha penetrado al organismo, usa análisis químicos, estimándose la dosis interna luego de que sucede la exposición.
- **Biomarcadores de susceptibilidad:** Identifica diferencias interindividuales que hacen de un individuo sea más susceptible o responda de manera diferente, frente a diferentes exposiciones ambientales.
- **Biomarcadores de efecto:** Son indicadores de cambios bioquímicos o fisiológicos dentro de un organismo como resultado de la exposición a un xenobiótico. En este grupo se encuentran los que miden el daño genético y son usados para evaluar la exposición ambiental a contaminantes (aberraciones cromosómicas, ensayo cometa, ensayo de micronúcleos (Rodríguez, Cuéllar, Maldonado, & Suardiaz, 2016).

1.3.1 ENSAYO MICRONÚCLEOS:

Los Micronúcleos (Mn) son masas de cromatina que tienen forma de pequeños núcleos y que aparecen cerca del núcleo principal en las células interfásicas (Lobo & Bolaños, 2014), se forman en la transición de metafase–anafase en mitosis, miden daño aneugénico (cromosomas completos rezagados ocasionado por un daño al uso mitótico); o daño clastogénico (fragmentos de cromosomas sin centrómero), en ambos casos no lograron incorporarse al núcleo de las células hijas lo que permite diferenciarlos por su tamaño (Torres & Ramos, 2013).

El ensayo de Mn se ha realizado por años en linfocitos, pero en la actualidad se está utilizando células de exfoliación del epitelio bucal, esto debido a que constituye un método poco invasor para el monitoreo de poblaciones humanas expuestas a agentes xenotóxicos (Gómez *et al.*, 2013). Otra ventaja es que cuenta con una capacidad especial proliferativa, lo que permite que la población celular se mantenga constante; sin embargo, esta característica lo vuelve más vulnerable a lesiones producidas en el ADN; por lo que cobra relevancia, ya que se calcula que el 90% de todos los tipos de cáncer tienen origen epitelial. De este modo las células del epitelio bucal se ha convertido en las células de elección

usada para monitorear eventos genotóxicos tempranos causados por posibles cancerígenos (Torres & Ramos, 2013).

Además de los Mn en células exfoliadas se describen otras anormalidades nucleares (AN), las que además de ser fenómenos que podrían ocurrir en procesos normales de diferenciación celular, son indicadores de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular:

- Células Normales (CN): Núcleo uniformemente teñido, es redondo u oval, se distinguen de las células basales porque son de mayor tamaño y el núcleo es más pequeño en relación al citoplasma.
- Célula Micronucleada (CMN): Contiene un núcleo principal y uno o más pequeñas estructuras nucleares denominadas micronúcleos (Mn). Un Mn tiene la forma redonda o almendrada, presenta la misma intensidad, textura y plano focal que el núcleo.
- Célula binucleada (BN): Células que contienen dos núcleos principales, usualmente los núcleos están muy próximos e incluso podrían hacer contacto, ambos con morfología y tinción similar a un núcleo normal.
- Cariorrexis (CR): células que presentan un núcleo que se caracteriza por agregación de la cromatina nuclear. Tienen un patrón moteado nuclear indicativo de la fragmentación nuclear conducente a la eventual desintegración del núcleo.
- Cromatina condensada (CC): Presentan núcleos intensamente teñidos, con regiones condensadas o cromatina agregada exhibiendo un patrón nuclear moteado o estriado, es evidente que la cromatina está agregada en algunas regiones del núcleo.
- Núcleo lobulado o prolongación nuclear, broken eggs (NL-BE): el núcleo presenta una constricción en un extremo, sugestivos de un proceso de eliminación de material nuclear por gemación.
- Núcleo picnótico (PN): Las células se caracterizan por tener un núcleo pequeño, con alta densidad de material nuclear uniforme e intensamente teñido.
- Cariolisis (CL): Estas células están completamente vacías de ADN y por lo tanto, no tienen núcleo (Torres & Ramos, 2013).

1.4 POBLACIÓN DE ESTUDIO

La parroquia Colaisaca se encuentra ubicada en la parte suroccidental del cantón Calvas, cuenta con una extensión territorial de 196,71 km₂; 1854 habitantes de los cuales 913 (49,24%) son mujeres y 941 (50,76%) son hombres.

Geográficamente limita al Norte con el río Catamayo y las parroquias Catacocha y Guachanamá; al Sur con la parroquia Utuana; al Este con la parroquia Cariamanga; y al Oeste con las parroquias Utuana y Sozoranga.

La cabecera parroquial y la zona baja poseen climas frío, templado y tropical, de modo que su temperatura se encuentra entre 8°C y 20°C. A lo largo del año se presentan 2 estaciones: invierno y verano. Esto hace que en algunas épocas del año se observe deterioro en las vías acompañadas de baja productividad y problemas de salud en la población.

La parroquia presenta una topografía irregular lo que hace que el uso del suelo sea inadecuado, así como el abastecimiento de agua por lo que la población se abastece del agua natural proveniente de las vertientes del lugar.

Dentro de la parroquia se ha podido evidenciar dos conflictos socioeconómicos: El primero es la tala y quema del bosque nativo con lo que se deja a la población en escases de recursos naturales; y, el segundo es la minería indiscriminada, la misma que se lleva a cabo de forma artesanal y sin las medidas básicas de seguridad (Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial., 2015)

En el Censo Nacional realizado en el año 2010, se estableció que el 80,88% de la población económicamente activa se dedica a la agricultura, caza y pesca. Es decir la economía se sustenta en el sector primario; los principales productos agrícolas que se cultivan en la zona son: maíz blanco y amarillo, el problema evidenciado con estos productos es que genera altos costos de producción y bajos ingresos para las familias productoras. Otros de los productos cultivados son: fréjol y café que constituyen la base de la economía familiar al ser los productos mayormente comercializados. Adicional a estos productos se cultivan otros destinados al autoconsumo: arveja, zarandaja, haba, caña (panela), guineo, camote; y, árboles frutales de mango y naranja.

La producción ganadera de la zona es: porcina, aves de corral, bovina, caprina, equino, baja producción de ganado vacuno y mular. De estos la producción de ganado caprino y aves de corral sirven para autoconsumo y para la venta ocasional. La producción de leche es escasa, esta depende de la estación en la que se encuentren.

En la parroquia se cuenta con dos centros de Salud los mismos que prestan servicios a la población. Los casos de alta complejidad que no pueden ser atendidos en los mismos son referidos al Hospital Zonal José Miguel Rosillo de la Ciudad de Cariamanga, cabe indicar que únicamente el 19,98% de la población cuenta con afiliación al seguro social, el resto de la población no se encuentra asegurada o desconoce por completo la seguridad social.

En lo concerniente al acceso a los servicios básicos: El 33,4% de la población recibe agua de la red pública, el 57% de vertiente, río o canal, el 9% de pozo y el 0,6% de otros medios. En cuanto al alcantarillado, solo el 3,4% de la Parroquia cuenta con este servicio y la población utiliza otras formas para la eliminación de los residuos sanitarios como: pozo séptico, pozo ciego, letrina y el mayor porcentaje 44,5% no tiene forma de eliminar sus desechos. El servicio de recolección de basura por carro recolector es mínima, el 58,9% de la población arroja la basura en terrenos baldíos o quebradas, mientras que el 27,2% la quema y en menores porcentajes pasa el carro recolector o la entierran (Salcedo, L. 2018)

CAPITULO II. OBJETIVOS DEL PROYECTO

2.1 Objetivo general del proyecto.

Evaluar el efecto genotóxico en la población expuesta a plaguicidas en el Catón Calvas (Parroquia Colaisaca).

2.2 Objetivos específicos del proyecto.

- Estimar la posible asociación entre cambios en los valores de química sanguínea y hematológicos inducidos por plaguicidas en el grupo de expuestos y sus controles del cantón Calvas.
- Determinar el daño genotóxico producido en la población, mediante la técnica de micronúcleos en células epiteliales de la mucosa bucal.

CAPITULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 POBLACIÓN DE ESTUDIO

El presente es un estudio de tipo casos y controles, en el mismo participaron hombres y mujeres mayores de edad. El grupo de casos está conformado por personas que se han encontrado expuestos a algún tipo de plaguicida; y, para los controles se tomó en cuenta a la población que realiza actividades en las que no se encuentren expuestos al uso de plaguicidas.

3.1.1 Criterios de Inclusión: Hombres y mujeres laboralmente activos (18 a 65 años), que aceptaron participar en el proyecto, para lo cual firmaron el respectivo consentimiento informado.

3.1.2 Criterios de Exclusión: Menores de edad, mujeres gestantes, personas que han sido diagnosticados con cáncer; y, todos aquellos que no acepten participar y por ende no firmen el respectivo consentimiento informado.

3.2 TAMAÑO DE LA MUESTRA

Se trabajó con 82 participantes: 21 varones 61 mujeres. De la población masculina 5 participantes son los no expuestos y 16 los expuestos a plaguicidas; mientras que en la población femenina se tiene 28 no expuestos y 33 expuestos.

3.3 TOMA Y ANÁLISIS DE MUESTRAS

El estudio se desarrolló en cuatro partes, las mismas se detallan a continuación:

- Cada una de las personas interesadas en participar en la investigación, firmaron el respectivo consentimiento informado luego de haber entendido las implicaciones de su intervención.
- Se realizó una encuesta a cada participante, la misma contenía información acerca de aspectos demográficos, uso de plaguicidas y estado de salud.
- Se tomó datos antropométricos (peso y talla), para la obtención del Índice de Masa Corporal (IMC).
- Se tomó muestras de sangre para la realización de exámenes de laboratorio: medición de parámetros hematológicos (Biometría hemática); y, química sanguínea (glucosa, urea, creatinina, TGO, TGP, GGT, colesterol, HDL, LDL, triglicéridos).
- Para el estudio genotóxico se usó células del epitelio bucal, para ello, a cada participante se le realizó un raspado de la parte interna de las mejillas, tratando de obtener la mayor cantidad de mucosa, una vez obtenida la misma, se la colocó en

PBS, para luego ser transportado hasta el laboratorio de Genética Toxicológica de la UTPL. Las muestras se mantuvieron a 4°C hasta su análisis.

3.4 ENSAYO MICRONÚCLEOS

Las muestras de mucosa bucal, para ser llevadas al ensayo de micronúcleos debieron seguir el siguiente procedimiento: se realizó tres lavados, para cada uno de ellos se usó PBS y se centrifugó durante 10 minutos a 1200 rpm. Luego del último lavado se dejó el pellet reconstituido con 1 ml de Fijador de Carnoy;

Luego de la fijación de las células, el pellet se homogenizo mediante centrifugación durante 3 minutos a 1200 rpm; y, se realizó el respectivo plaqueo, para esto se colocó todo el pellet reconstituido en una placa porta objetos previamente enfriada. Las placas se dejaron secar y envejecer para una mejor observación microscópica.

Previo a la revisión microscópica se realizó la tinción de cada placa, para ello se usó tinción de Wrigth, durante 4 minutos; transcurrido este tiempo se lavó la placa con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente.

La observación microscópica se realizó con aumento de 100 X, se contó 2000 células por placa

Las células que se encontraban en Fijador de Carnoy, fueron llevadas a una placa porta objetos, estas flacas se dejaron secar aproximadamente por una noche, luego de ello se realizó la tinción con Wrigth, la tinción se realizó por un lapso de 4 minutos, se lavó las placas con agua destilada y se dejó secar al aire libre. Posterior a ello se procedió a la observación microscópica, para esto se evaluó 2000 células por placa, dentro de las cuales se observó: células normales, células binucleadas, Mn, brotes y células incompletas.

En la figura 1 se observa las diferentes alteraciones nucleares que se pueden evidenciar en las células del epitelio bucal

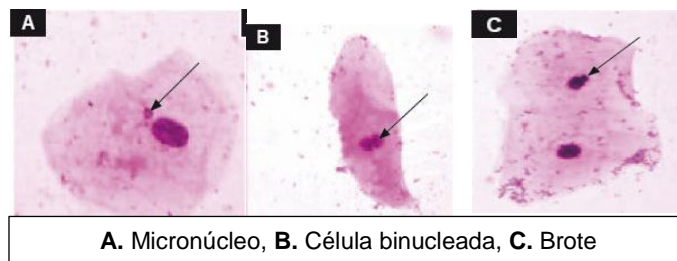


Figura 1. Observación microscópica de Mn y las alteraciones nucleares en células del epitelio bucal

Fuente y Elaboración: (Rosales *et al.*, 2013)

3.5 ANALISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se usó el programa IBM SPSS, el cual nos ayudó a comparar los resultados obtenidos en las diferentes determinaciones: Parámetros hematológicos, química sanguínea y ensayo micronúcleos, entre los casos y los controles. Se empleó el test de Mann Whitney con un valor de significancia menor $p < 0,05$; siendo biológicamente relevantes.

CAPITULO IV. RESULTADOS

En esta sección se comparó los resultados obtenidos entre los casos y controles, para esto se dividió la población en el grupo de mujeres y varones. Para cada uno de los grupos se realizó las siguientes valoraciones: Relación de las características demográficas y parámetros de química sanguínea, comparación de valores hematológicos y evaluación del efecto genotóxico mediante el ensayo de micronúcleos. Para la evaluación estadística se trabajó con los valores de las medias y sus respectivas desviaciones estándar, adicional a ello se usó el test estadístico de Mann Whitney, estableciéndose como diferencia significativa los valores de $p < 0,05$.

La población de estudio estuvo conformada por 82 participantes de los cuales 21 son varones (26%) y 61 mujeres (74%). De la población masculina 5 participantes (24%) corresponden a los controles y 16 (76%) a los casos; mientras que en la población femenina se contó con 28 controles (46%) y 33 casos (54%).

4.1 CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS Y PARAMETROS DE QUÍMICA SANGUÍNEA

En las Tablas 1 y 2 se presentan los valores de las características demográficas: edad peso e IMC; y, los valores de química sanguínea para mujeres y hombres respectivamente.

En la Tabla 1 correspondiente a las mujeres se observa que los casos tienen un IMC ligeramente mayor que los controles. También se puede evidenciar algunos valores del perfil lipídico alterados, el colesterol se encuentra aumentado por fuera de los rangos de referencia en el grupo de los controles mientras que en los casos el valor es normal; por el contrario los triglicéridos se observan incrementados en los casos y no así en los controles. Las lipoproteínas HDL y LDL presentan diferencia significativa, sin encontrarse fuera de los parámetros normales. Las enzimas hepáticas se presentaron incrementadas en los casos en comparación con los controles y presentan diferencia estadísticamente significativa.

Tabla 1. Características demográficas y química sanguínea en mujeres

	NO EXPUESTOS	EXPUESTOS			
Parámetros	Media \pm DE	Media \pm DE	Unidad	V.R	<i>P value</i>
Edad	42,79 \pm 14,06	46,55 \pm 11,18	años		0,297
Peso	60,10 \pm 10,21	61,60 \pm 10,75	Kg		0,937
Talla	1,52 \pm 0,076	1,49 \pm 0,051	m		0,31
IMC	26,05 \pm 3,75	27,90 \pm 4,53	Kg/m ²	\leq 25	0,235

Glucosa	85,59 ± 32,69	85,92 ± 40,03	mg/dl	75 - 110	0,332
Urea	30,80 ± 9,51	27,33 ± 6,99	mg/dl	≤ 50	0,09
Creatinina	0,87 ± 0,14	0,80 ± 0,08	mg/dl	≤ 0,9	0,67
Colesterol	212,21 ± 53,63	192,24 ± 44,06	mg/dl	≤ 200	0,90
Triglicéridos	123,07 ± 63,65	152,21 ± 69,50	mg/dl	≤ 150	0,05
HDL	49,18 ± 13,71	56,09 ± 9,17	mg/dl	≥ 55	0,005
LDL	138,6 ± 51,50	105,41 ± 35,70	mg/dl	≤ 150	0,004
Lip. Tot	546,79 ± 149,5	536,70 ± 145,81	mg/dl	≤ 800	0,868
TGO	25,43 ± 9,99	43,58 ± 37,76	U/L	≤ 31	0,001
TGP	19,50 ± 12,67	44,91 ± 60,46	U/L	≤ 35	0,001
GGT	18,89 ± 12,81	37,30 ± 57,12	U/L	≤ 42	0,01

Fuente y elaboración: Vintimilla, 2018

En la Tabla se observa la comparación de los valores de química sanguínea en mujeres mediante el Test de Mann Whitney. Se evidencia que las determinaciones de triglicéridos, HDL, LDL, TGO, TGP y GGT presentan diferencia significativa entre los casos y los controles $p < 0,05$.

En la Tabla 2 de los varones se observa que el IMC y la creatinina se encuentran incrementados con respecto a sus valores normales para el grupo de los controles, no así en los casos. La glucosa presenta diferencia significativa para el análisis estadístico, pese a que los valores no se encuentran fuera de los rangos normales. De los valores del perfil lipídico, los triglicéridos y HDL se hallan elevados en los casos, pero únicamente el último presenta diferencia significativa. Aquí al contrario que en las mujeres no se observa diferencias en el perfil hepático.

Tabla 2. Características demográficas y química sanguínea en varones

	NO EXPUESTOS	EXPUESTOS			
Parámetros	Media ± DE	Media ± DE	Unidad	V.R	P value
Edad	41, ± 14,30	48,75 ± 14,43	años		0,39
Peso	87,44 ± 24,74	63,74 ± 8,63	Kg		0,008
Talla	1,73 ± 0,54	1,60 ± 0,07	m		0,001
IMC	28,98 ± 7,63	24,77 ± 2,27	Kg/m ²	≤ 25	0,28
Glucosa	85,64 ± 5,95	72,84 ± 11,05	mg/dl	75 - 110	0,02
Urea	33,96 ± 11,77	31,91 ± 8,06	mg/dl	≤ 50	0,72
Creatinina	1,12 ± 0,18	0,93 ± 0,12	mg/dl	≤ 1,1	0,04
Colesterol	213,60 ± 51,87	216,13 ± 57,42	mg/dl	≤ 200	0,67

Triglicéridos	160,00 ± 98,51	182,81 ± 200,73	mg/dl	≤ 150	0,72
HDL	39,86 ± 12,36	94,54 ± 103,20	mg/dl	≥ 45	0,003
LDL	141,74 ± 46,17	118,67 ± 45,39	mg/dl	≤ 150	0,32
Lip. Tot	587,20 ± 159,86	615,06 ± 257,54	mg/dl	≤ 800	0,79
TGO	32,60 ± 15,74	38,25 ± 17,43	U/L	≤ 37	0,28
TGP	22,20 ± 4,66	26,63 ± 11,65	U/L	≤ 50	0,61
GGT	43,0 ± 37,15	39,25 ± 26,99	U/L	≤ 61	0,91

Fuente y elaboración: Vintimilla, 2018

En la Tabla se observa la comparación de los valores de química sanguínea en varones mediante el Test de Mann Whitney. Observándose diferencia significativa en los valores de peso, talla, glucosa, creatinina, HDL.

4.2 COMPARACIÓN DE LOS VALORES HEMATOLÓGICOS

Se realizó la comparación de los diferentes parámetros hematológicos entre los casos y los controles, los principales valores evaluados fueron: número de glóbulos blancos y rojos, concentración de hemoglobina, hematocrito y plaquetas.

En la Tabla 3 de mujeres se observa los valores hematológicos, ninguno de ellos se encuentra fuera de sus rangos de referencia, sin embargo se evidencia diferencia significativa para glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas.

Tabla 3. Valores hematológicos en mujeres

	NO EXPUESTOS	EXPUESTOS			
Parámetros	Media ± DE	Media ± DE	Unidad	V.R	P value
Glóbulos Blancos	7,23 ± 1,93	6,77 ± 1,63	10 ³ /μl	4,5 - 10	0,43
Glóbulos Rojos	4,61 ± 0,33	4,83 ± 0,44	10 ⁶ / μl	4 – 5	0,03
Hemoglobina	13,46 ± 1,38	14,49 ± 1,14	g/dl	12 – 15	0,009
Hematocrito	39,39 ± 3,31	42,31 ± 3,39	%	36 – 44	0,002
Plaquetas	305,68 ± 63,26	255,91 ± 53,50	10 ³ / μl	140 – 450	0,003

Fuente y elaboración: Vintimilla, 2018

En la Tabla se observa la comparación de los valores obtenidos en la Biometría hemática, en el caso de las mujeres se observa diferencia significativa en los valores de glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas, esto mediante el análisis estadístico de Mann Whitney $p \leq 0,05$.

En la tabla 4 se presentan los resultados de los varones en los que se puede notar que todos los parámetros evaluados se encuentran dentro de los respectivos valores de referencia, de la misma forma no se observa diferencia significativa para ninguno de los grupos.

Tabla 4. Valores hematológicos en varones

	NO EXPUESTOS	EXPUESTOS			
Parámetros	Media ± DE	Media ± DE	Unidad	V.R	<i>P value</i>
Glóbulos Blancos	7,30 ± 1,87	6,19 ± 1,04	10 ³ /μl	4,5 – 10	0,24
Glóbulos Rojos	5,44 ± 0,12	5,47 ± 0,47	10 ⁶ / μl	5 – 6	0,72
Hemoglobina	15,96 ± 0,51	16,24 ± 1,12	g/dl	14 – 17	0,39
Hematocrito	46,28 ± 1,97	46,89 ± 2,98	%	41 – 50	0,50
Plaquetas	263,40 ± 18,19	245,88 ± 63,89	10 ³ / μl	140 – 450	0,66

Fuente y elaboración: Vintimilla, 2018

En la Tabla se observa la comparación de los valores hematológicos en varones mediante el análisis estadístico de Mann Whitney, en el cual no se observa diferencia significativa en los resultados obtenidos.

4.3 EVALUACIÓN GENOTÓXICA MEDIANTE EL ENSAYO MICRONÚCLEOS

En la Tabla 5 se indica el daño genotóxico en el grupo de mujeres, de los casos y controles, evaluada mediante el ensayo de Mn en células de la mucosa bucal. En la misma se observa que existe diferencia significativa para el análisis de Mn, brotes y células binucleadas. Mientras que para células incompletas no hay diferencia significativa.

Tabla 5. Evaluación genotóxica mediante el ensayo Mn en mujeres.

Parámetros	NO EXPUESTOS N° de células/2000	EXPUESTOS N° de células/2000	<i>P value</i>
Micronúcleos	0,52 ± 0,51	1,27 ± 0,67	< 0,001
Brotos	0,78 ± 0,64	1,52 ± 0,76	< 0,001
Células incompletas	0,04 ± 0,19	0,06 ± 0,24	0,68
Células binucleadas	0,11 ± 0,32	1,39 ± 0,86	< 0, 001

Fuente y elaboración: Vintimilla, 2018

En la Tabla se observa los resultados del número de Mn, brotes, células incompletas y células binucleadas en 2000 células, mediante el análisis estadístico de Mann Whitney se observa diferencia significativa para Mn, brotes y células binucleadas, $p \leq 0,05$

En el caso de los varones se observa el análisis genotóxico en la Tabla 6, donde existe diferencia significativa para Mn, brotes y células incompletas, mientras que para células incompletas no se observa diferencia significativa.

Tabla 6. Evaluación genotóxica mediante el ensayo Mn en varones

Parámetros	NO EXPUESTOS No de células/2000	EXPUESTOS No de células/2000	<i>P value</i>
Micronúcleos	0,60 ± 0,55	1,73 ± 0,88	0,01
Brotos	0,80 ± 0,45	1,33 ± 0,49	0,05

Células incompletas	0,00 ± 0,00	0,06 ± 0,26	0,57
Células Binucleadas	0,20 ± 0,45	1,40 ± 0,51	0,002

Fuente y elaboración: Vintimilla, 2018

En la Tabla se observa los resultados del número de Mn, brotes, células incompletas y células binucleadas en 2000 células, observándose diferencia significativa para Mn, brotes y células binucleadas, para células incompletas no se observa diferencia significativa según el test de Mann Whitney $p \leq 0,05$

DISCUSIÓN

El estilo de vida es la base de la salud y es por ello que incluye varios aspectos relevantes entre los que se encuentran alimentación, actividad física y hábitos tóxicos y cada uno ocupa un lugar importante. Si uno o varios de estos factores se encuentran alterados pueden convertirse en factores de riesgo de enfermedad cardiovascular, hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus, obesidad entre otras (González *et al.*, 2015). Otro aspecto importante que se toma en cuenta en la actualidad y que afecta considerablemente a la población, es el estrés, el mismo que se ha convertido en un problema de salud pública en todo el mundo, ya que afecta a toda la población sin distinción de sexo, raza o edad, siendo el principal causante de enfermedades agudas ya que repercute en las funciones básicas del organismo alterando su equilibrio (Maruris, Cortés, Gómez, & Godínez, 2011).

La población rural cuenta con una ventaja sobre las grandes ciudades y es el hecho de no encontrarse expuestos a los factores que facilitan y predisponen a situaciones de estrés laboral o familiar por lo que pueden contar con este efecto protector. Pero viven expuestos a agroquímicos lo que los ha vuelto susceptibles a otros tipos de problemas de salud a causa de tareas agrícolas que realizan; así, la exposición comienza desde edades muy tempranas, inclusive, desde la misma concepción de la vida; existiendo una característica general en la mayoría de casos y es que los aplicadores de estos productos son de mano de obra de escasos recursos, no capacitada en el manejo de agroquímicos y desconociendo sus peligros potenciales (Agudelo, Soto, Pérez, Jaramillo, & Moreno, 2013). Otro aspecto relevante es el notable incremento de las actividades agrícolas a nivel mundial, esto como respuesta a los avances tecnológicos que se han venido presentando, la búsqueda constante de la autosuficiencia humana tanto económica como alimentaria (González *et al.*, 2015), y esto ha conllevado a un uso irracional de plaguicidas (Santos, Segura, Sanmartin, Perez, & Falconi, 2015).

Ecuador, al ser un país diverso, cuenta con una producción altamente agrícola, es así que en la provincia de El Oro existen grandes plantaciones de banano, en el Carchi se produce cantidades importantes de papa, la provincia de Loja se caracteriza por sembríos de maíz y arroz, pero además en todos sus cantones existe diversidad de climas y por ende variedad de producción agrícola.

La parroquia Colaisaca no es la excepción, por su ubicación geográfica y por la necesidad de la población de proporcionar alimentos a sus familias y de encontrar una fuente de ingresos económicos, su producción es netamente agrícola, es por ello la necesidad de hacer este estudio, para determinar los posibles efectos producidos tanto en la salud como

a nivel genético de la población que se encuentra expuesta al uso de plaguicidas y comparar los resultados obtenidos con la población no expuesta.

En el presente estudio se contó con la participación de varones y mujeres mayores de edad, es importante recalcar que el 74% de la población estudiada correspondió al género femenino, esto se puede deber a que en nuestro país al igual que el resto de América Latina, se dispone de un trabajo agrícola familiar en el que la mujer juega un papel preponderante no solo dentro del hogar sino en el incremento de la producción económica (Rentería & Ballara, 2014).

A todos los participantes se les evaluó características antropométricas, además de realizar determinaciones de química sanguínea, los resultados obtenidos para las mujeres se observan en la Tabla 1. En el análisis del IMC se evidencia un incremento por arriba de 25 Kg/m² lo que nos indica que tanto el grupo control como los casos presentan cierto grado de sobrepeso, sin llegar a encontrarse en obesidad, esto podría estar relacionado directamente con el uso de Compuestos Orgánicos Persistentes dentro de los que se encuentran los plaguicidas, principalmente los organoclorados, que cuentan con una estructura lipofílica y esto hace que se puedan observar posibles efectos obesógenos, es decir que tienen la capacidad de inducir a estados de sobrepeso y obesidad en el ser humano y estos pueden ser causa principal para la posible presencia de otras enfermedades metabólicas (Arrebola, 2013).

En los resultados de las determinaciones bioquímicas se observa un ligero incremento de los valores de urea en el grupo de los controles, es importante destacar que no se encuentra por arriba de su rango referencial. Las enzimas hepáticas (TGO, TGP y GGT) en cambio presentan incremento para el grupo de los casos, las primeras con valores por arriba del límite permitido y la última dentro de su valor de referencia; y todas evidencian diferencia significativa. Esto tiene relación con el estudio realizado por López y colaboradores en el 2015 donde publicaron que estas elevaciones pueden deberse a posibles alteraciones subclínicas de la función hepática y renal, pues se ha observado que las exposiciones crónicas a bajas dosis de plaguicidas producen estos cambios bioquímicos aún antes de la manifestación de efectos clínicos y pueden afectar a múltiples órganos incluyendo el hígado y riñón. En otros estudios realizados en pacientes expuestos a organofosfatos, en los cuales se evaluó los niveles de colinesterasa, se observó una disminución importante de este parámetro por lo que se evidenció que este mecanismo se vuelve pasivo haciendo que se presenten señales de exposición aguda, causando toxicidad la misma se manifestó con alteraciones hepáticas evidenciadas por incremento de transaminasas y fosfatasa alcalina (Santos *et al.*, 2015).

Así mismo en el año 2014 en Paraguay se reportó que existe una relación directa entre las intoxicaciones agudas producidas por plaguicidas, con el incremento de las enzimas hepáticas principalmente TGO y TGP (Pedrozo *et al.*, 2017). Con esta información podemos sugerir que la elevación de las enzimas hepáticas se debe a la posible exposición aguda a la que se encuentra expuesto el grupo de casos del estudio.

En cuanto a los valores del perfil lipídico se observa incremento en el colesterol y LDL en la población no expuesta, mientras que el valor de triglicéridos es mayor en el grupo de casos, lo mismo sucede con el HDL que se encuentra en el límite superior, mostrándose diferencia significativa en los tres últimos. Se han reportado trabajos de investigación en los que se determinó los valores de los lípidos junto con la respuesta inmune humoral, en trabajadores de una fábrica de plaguicidas observándose indicios de alteraciones en las determinaciones realizadas, pese a ello aún no se ha logrado establecer el mecanismo por el que se produce esta respuesta, sugiriendo la realización de otros estudios (Varea, Masoero, Gentile, Bosch, & Aiassa, 2016).

En la Tabla 2 se presentan los valores correspondientes las determinaciones de química sanguínea de varones, aquí se observa incremento en el IMC en el grupo de no expuestos indicando presencia de sobrepeso en los participantes.

Con respecto a la función renal se observa un ligero incremento en los valores de urea y creatinina, en el grupo de no expuestos, en el primer caso el valor se encuentra dentro de los rangos de referencia, mientras que en el segundo caso se halla en el límite superior. En el estudio realizado en hombres y mujeres expuestos a plaguicidas, en México evidenció que existe mayor probabilidad de presentar alteraciones renales en los varones, principalmente mayores de 40 años, adicional a ello se podría observar disminución de colinesterasa (Mendoza *et al.*, 2015).

Los valores correspondientes a las enzimas hepáticas (TGO y TGP), no presentan alteraciones, únicamente la GGT se encuentra incrementada en el grupo control, sin hallarse en valores patológicos. Esto es importante ya que esta enzima es la primera en elevarse en procesos de intoxicación producida por diversos compuestos (Castro, 2014).

El valor de colesterol y HDL, se encuentra elevado en el grupo de varones expuestos. El primero puede sugerir posibles implicaciones de salud posteriores, mientras que el segundo ejerce un efecto protector e riesgo cardiovascular, lo que es importante para este grupo. El LDL se observa elevado en los controles, sin hallarse en los valores patológicos.

En la comparación de los valores hematológicos en mujeres, mostrada en la Tabla 3 se evidencia un ligero incremento en el hematocrito del grupo control; e incremento de plaquetas en los casos, ninguno de ellos presentan elevación por arriba de los parámetros normales, pero si se evidencia diferencia significativa para glóbulos rojos, hemoglobina, hematocrito y plaquetas.

En la tabla 4 se presenta los valores pertenecientes a los varones, en ninguno de los parámetros evaluados se evidencia diferencia significativa, y todos los valores se encuentran en los rangos permisibles, tanto en el grupo de expuestos como de no expuestos.

Se puede ver que los datos obtenidos no presentan alteraciones significativas, sin embargo en la investigación realizada en Colombia se reportó disminución del número de glóbulos blancos en hombres y mujeres expuestos a plaguicidas, esto se puede dar por un posible efecto citotóxico producido en estas células lo que hace que se pierdan luego de un proceso de apoptosis (Pinilla *et al.*, 2014). En otro estudio realizado en la década de los 90, en Argentina, también se observó alta incidencia de leucopenia en individuos expuestos ocupacionalmente, resultados similares se encontraron en Brasil en un grupo de trabajadores agropecuarios expuesto a plaguicidas (Varea *et al.*, 2016).

En lo referente a los glóbulos rojos se ha reportado en el estudio realizado a niños escolares, de Machala expuestos a plaguicidas, en el cual más del 50% de la población estudiada presentó valores normales de glóbulos rojos (Luna, Iraizoz, Peláez, Torres, & Chávez, 2017).

Con respecto a la concentración de hemoglobina, en la investigación realizada en adolescentes de un área rural de Argentina, donde se comparó los resultados obtenidos en dos poblaciones, se evidencio disminución en la concentración de Hb en las participantes femeninas, esto debido a la edad en la que se encuentran y a los procesos de maduración sexual por los que están atravesando; por el contrario en los varones se observó un incremento significativo de Hb, siendo normal en este grupo de participantes por sus características físicas y fisiológicas (F. Martínez, Santoli, López, & Carballo, 2018). Resultados similares se obtuvieron en niños de Machala expuestos a plaguicidas por las plantaciones bananeras, en donde el 55% de la población presentó valores normales de Hb y Hto, mientras en 45 % restante presento cierto grado de anemia, esto se puede deber a la etapa de crecimiento en la que se encuentran los niños junto con la mala alimentación a la que están expuestos (Luna *et al.*, 2017).

El último parámetro evaluado dentro de la biometría hemática es el recuento plaquetario en el que se observa valores normales para casos y controles tanto en mujeres como varones, se analiza una pequeña variante en los grupos evaluados ya que en mujeres el número plaquetario es menor en los controles que en los casos, por el contrario en el grupo de varones las plaquetas se encuentran disminuidas en los casos, esto es similar a los resultados obtenidos en Paraguay donde se estudió individuos expuestos accidentalmente a pesticidas organofosforados, observándose un bajo recuento de plaquetas (Varea *et al.*, 2016).

El monitoreo genotóxico en humanos es una herramienta útil para estimar el riesgo genético de una exposición a un compuesto o mezclas complejas de productos químicos constituyéndose en un sistema de advertencia temprana para enfermedades genéticas y/o cáncer (Bernadi *et al.*, 2015) para cumplir con estos objetivos se usa diferentes biomarcadores en nuestro estudio se usó el análisis de Mn, la importancia de la detección precoz del daño genético a través de este ensayo radica en poder permitir evaluar las medidas necesarias para disminuir o suprimir la exposición al agente deletéreo cuando aún este es reversible. Para esto se usó células provenientes de la exfoliación de la mucosa bucal, en los últimos años se han complementado los estudios realizados en linfocitos junto con el uso de mucosa bucal esto se debe a las ventajas que presenta este nuevo modelo de estudio: las células no necesitan ser cultivadas con lo que se ahorra un tiempo considerable, se puede evidenciar eventos genotóxicos que han ocurrido en las células de división basal en las últimas tres semanas, es una técnica rápida, simple y las muestras son fáciles de obtener (Gomez S, Martinez C, Carbajal Y, Martinez A, Calderon M, Villalobos R, 2013). En las tablas 5 y 6 se observan los resultados de la evaluación genotóxica para mujeres y varones divididos en subgrupos de controles y casos, medido por la presencia de diferentes tipos de células de las cuales cada una nos ayuda a detectar otras anomalías nucleares (Gomez S, Martinez C, Carbajal Y, Martinez A, Calderon M, Villalobos R, 2013). Luego de realizar el análisis estadístico mediante el test de Mann Whitney se observa que existe diferencia significativa para la presencia de Mn, brotes y células binucleadas, en el grupo de casos para mujeres y varones; por lo que podemos sugerir que la población de Colisaca expuesta a plaguicidas por varios años si evidencian un daño genotóxico, esto se puede deber a que la mayoría de los contaminantes ambientales como plaguicidas tienen una característica altamente reactivos y la mayoría electrofílicos, es decir, son compuestos que pueden reaccionar con varios centros nucleofílicos de las moléculas celulares, incluyendo al ADN (Asela *et al.*, 2014). Al contrario de nuestros resultados, Ferre y colaboradores reportan la ausencia de daño genotóxico en pobladores rurales expuestos, esto puede deberse a que estos pobladores han mantenido una exposición crónica induciendo a los procesos de reparación de ADN. En otra investigación realizada en Argentina, país considerado agroindustrial se evidencia la presencia de daño genotóxico en los agricultores que viven cerca del área de sembrío y que la implicación del daño estará dado por la susceptibilidad de cada individuo expuesto (Butinof *et al.*, 2018). En Ecuador existen pocos estudios que evalúen el daño genotóxico de pobladores expuestos a plaguicidas, Paz y Miño *et al.* 2004 evaluó el ADN en sangre periférica de 45 aplicadores de la frontera Colombia-Ecuador mediante ensayo cometa, en el que se observó un incremento significativo en la migración del ADN al compararse con la población de referencia. Asimismo, mediante el ensayo de aberraciones cromosómicas se

halló una diferencia estadísticamente significativa entre los valores observados en los individuos expuestos en relación a los encontrados en el grupo de referencia.

El uso de plaguicidas por sus beneficios económicos se ha incrementado considerablemente particularmente en América Latina y El Caribe, de acuerdo con datos reportados por la FAO, durante el 2010 el Ecuador se encuentra en tercer lugar en el uso de plaguicidas, antecedido únicamente por Colombia y Chile (Gomez S, Martinez C, Carbajal Y, Martinez A, Calderon M, Villalobos R, 2013), esto ha hecho que en los últimos años el MSP se vea obligado a implementar estrategias para el tratamiento y erradicación de las intoxicaciones producidas por estos compuestos. Adicional a ello es importante recalcar que el Ecuador es un país eminentemente agrícola en cada una de sus regiones por lo que se debería motivar la realización de estudios complementarios en los diferentes grupos etareos, evaluando el estado de salud de la población así como el posible efecto genotóxico producido por las sustancias que usan en sus sembríos.

Finalmente es de vital importancia que se trabaje en concientizar y educar a la población del peligro que corren ellos y sus familias al usar compuestos altamente tóxicos sin los debidos sistemas de seguridad para de esta forma erradicar paulatinamente el riesgo ocupacional al que están expuesto.

CONCLUSIONES

- Las mujeres agricultoras de la parroquia Colaisaca expuestas a plaguicidas presentan alteración en los valores de las enzimas hepáticas, lo que puede ser un indicio del daño producido por la exposición constante a plaguicidas.
- Los agricultores tanto hombres como en mujeres de la parroquia Colaisaca expuestos a plaguicidas presentan daño genotóxico en comparación con el grupo control.

RECOMENDACIONES

- Es importante que se continúe realizando estudios que evalúen el estado de salud y el posible riesgo genotóxico al que se encuentran expuestos los agricultores y sus familias, trabajando con otros grupos etareos en los que se evidencie mayor susceptibilidad.
- Se debería integrar este tipo de estudios con otras técnicas que evalúen otros tipos de daño genotóxico, usando otros biomarcadores.
- Complementar con actividades educativas para los agricultores, para concientizarlos acerca del riesgo al que se encuentran expuestos, junto con sus familias.

BIBLIOGRAFÍA

- Adum, M. (2015). Determinación de intervalos de referencia de la colinesterasa plasmática y eritrocítica en adultos sanos , en Portoviejo , Ecuador. *Revista San Gregorio*, 1(9), 56–67.
- Agudelo, R., Soto, M., Pérez, M., Jaramillo, M., & Moreno, N. (2013). Condiciones de vida y trabajo de familias campesinas agricultoras de Marinilla, un pueblo agrario del oriente Antioqueño, Colombia, 2011. (Spanish). *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 31(3), 319–328.
- Aiassa, D., Mañas, F., Bosch, B., Gentile, N., Bernardi, N., & Gorla, N. (2012). Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana*, 17(3), 485–510.
- Aiassal, D., Mañas, F., Bosch, B., Peralta, L., Gentile, N., Bevilacqua, S., ... Gorla, N. (2009). Los plaguicidas . Su relación con la salud humana y ambiental en la provincia de Córdoba. *Experiencia Medica*, 27(2), 39–43.
- Arellano, M., Camarena, L., Von-Glascoe, C., Ruiz, B., Zúñiga, E., & Montaña, T. (2012). Daño genotóxico en mujeres y hombres expuestos a plaguicidas en cuatro localidades de Baja California. *Género, Ambiente Y Contaminación Por Sustancias Químicas*, 95–113.
- Arrebola, J. (2013). Diabetes , obesidad y alteradores endocrinos, 13, 73–75.
- Asela, M., Del Puerto, M., Suárez, S., & Palacio, D. (2014). Efectos de los plaguicidas sobre el ambiente y la salud. *Revista Cubana de Higiene Y Epidemiología*, 52(3), 372–387.
- Badii, M. H., & Landeros, J. (2007). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT*, 4(19), 21–34.
- Benitez, P., & Miranda, L. (2013). Contaminación de Aguas Superficiales por residuos de plaguicidas en Venezuela y otros Países de Latinomerica. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 29, 1–18.
- Benítez, S., Macchil, M., & Acosta, M. (2009). Malformaciones congénitas asociadas a agrotóxicos. *Archivos de Pediatría de Uruguay*, 80(3), 237–247.
- Bernadi, N., Gentile, N., Mañas, F., Mendez, A., Gorla, N., & Aiassa, D. (2015). Evaluación del nivel de daño en el material genético de niños de la provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 113(2), 126–132.
- Bravo Durán, V., Malavassi, E. de la C., Herrera Ledezma, G., & Ramírez, F. (2013). Uso de

- plaguicidas en cultivos agrícolas como herramienta para el monitoreo de peligros en salud. *Uniciencia*, 27, 351–376.
- Bustamante, S., Segales, D., Zurita, L., Fernandez, M., Torrico, S., & R, J. (2014). Uso inadecuado de plaguicidas y sus consecuencias en la salud de la población La Villa, Punata, Cochabamba, Bolivia, 2013. *Gaceta Médica Boliviana*, 37(1), 11–14.
- Butinof, M., Fernández, R. A., Lerda, D., Lantieri, M. J., Filippi, I., & Díaz, M. del P. (2018). Biomonitorio en exposición a plaguicidas y su aporte en vigilancia epidemiológica en agroaplicadores en Córdoba, Argentina. *Gaceta Sanitaria*, (xx), 2–7.
- Castro, A. (2014). *Valoración del perfil hepático en trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas. Tesis de grado de Magister en Bioquímica Clínica.*
- Estrada, A., Gallo, M., & Nuñez, E. (2016). Universidad y sociedad. *Revista Universidad Y Sociedad*, 8(3), 80–86.
- Gómez, S., Martínez, C., Carbajal, Y., Martínez, A., Calderón, M., Villalobos, R., & Waliszewski. (2013). RIESGO GENOTÓXICO POR LA EXPOSICIÓN OCUPACIONAL A PLAGUICIDAS EN AMÉRICA LATINA 1 Centro de Ciencias de la Atmósfera , Universidad Nacional Autónoma de México Ciudad Universitaria , Coyoacán 04510 D . F ., México 2 Instituto de Investigación en Ambiente y. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 29, 159–180.
- Gomez S, Martinez C, Carbajal Y, Martinez A, Calderon M, Villalobos R, W. S. (2013). Riesgo genotóxico por la exposición ocupacional a plaguicidas en América Latina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29, 159–180.
- González, R., Milián, R., Cuesta, M., Illa, M., López, E., & Perez, D. (2015). Estilos de vida, hipertensión arterial y obesidad en adolescentes Lifestyles, blood hypertension and obesity in adolescents. *Revista Cubana de Pediatría*, 87(3), 273–284.
- Gutiérrez, W., Cerda, P., Plaza, J., Mieres, J., Paris, E., & Ríos, J. (2015). Characterization of pesticide exposures reported between 2006 and 2013 to a poison information center in Chile. *Revista Médica de Chile*, 143(10), 1269–76.
- Idrovo, A. J. (2000). Vigilancia de las Intoxicaciones con Plaguicidas en Colombia. *Rev. Salud Pública*, 2(1), 36–46.
- Karam, M. Á., Ramírez, G., Montes, L. P. B., Galván, J. M., Karam, M. Á., Ramírez, G., ... Manuel, J. (2004). Plaguicidas y salud de la población. *Red de Revistas Científicas de America Latina, El Caribe, España Y Portugal*, 11(REDALYC.ORG), 246–254.

- Lobo, T. M., & Bolaños, A. (2014). Micronúcleos: Biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. *Salus*, 18(2), 18–26.
- Luna, J., Iraizoz, A., Peláez, S., Torres, M., & Chávez, J. (2017). Elaboración del perfil patológico de niños en edad escolar de la zona urbano marginal de Machala , expuestos a pesticidas utilizados en cultivos de banano en Machala , Ecuador (2013-2014) Elaboration of the pathological profile of schools in the urban a. *Revista Del Instituto de Investigación FIGMMC-UNMSM*, 20(39), 111–118.
- Martínez, C., & Gómez, S. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23(4), 185–200.
- Martínez, F., Santoli, López, M., & Carballo, M. (2018). Assessment of the health status and risk of genotoxic and cytotoxic damage in Argentinian adolescents living near horticultural crops. *Environmental Science and Pollution Research*.
- Maruris, M., Cortés, P., Gómez, L., & Godínez, F. (2011). Niveles de estrés en una población del sur de México. *Psicología Y Salud*, 21(5), 239–244. Retrieved from
- Mendoza, E., González, C., Martínez, M., Avelar, F., Valdivia, A., Aldana, M., ... F, J. (2015). Estudio de exposición a malatión y cipermetrina y su relación con el riesgo de daño renal en habitantes del municipio de Calvillo Aguascalientes. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 46(3), 62–72.
- Monzón Frank. (2015). *Polimorfismos del gen hOGG1, daño genotóxico y alteraciones de enzimas hepáticas, en trabajadores ocupacionalemnte expuestos a plaguicidas, gestión 2012*.
- Otero G, Porcayo R , Aguirre D, P. M. (2000). Estudio neuroconductual en sujetos laboralmente expuestos a plaguicidas. *Rev. Int. Contam. Ambient.*, 16(2), 67–74.
- Paz-y-Miño, C., Sánchez, M., Arévalo, M., Muñoz, M., Witte, T., De-la-Carrera, G., & Leone, P. (2007). Evaluation of DNA damage in an Ecuadorian population exposed to glyphosate. *Genetics and Molecular Biology*, 30(2), 456–460.
- Pedrozo, M. E., Ocampos, S., Galeano, R., Ojeda, A., Cabello, A., & De Assis, D. (2017). Casos de intoxicación aguda por plaguicidas en la colonia Puerto Pirapó, Itapúa, Paraguay, febrero de 2014. *Biomédica*, 37(2), 158–163.
- Pinilla, G., Manrique, E., Caballero, A., Gómez, E., Marín, L., Portilla, A., ... Gamboa, N. (2014). Síndromes neurotóxicos causados por plaguicidas. *Médicas UIS*, 27(3), 57–67.

- Rentería, C., & Ballara, M. (2014). Una mirada a las mujeres de la agricultura familiar. *Fundación de Estudios Rurales Anuario* , 193–202. Retrieved from
- Rodríguez, A., Cuéllar, L., Maldonado, G., & Suardiaz, M. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre Harmful effects of lead on human health. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(3), 251–271.
- Rodriguez, E. (2015). Síndromes neurotóxicos causados por plaguicidas. *ResearchGate*, 1–9.
- Ruis, J., & Solis, N. (2012). Folleto sobre el uso de plaguicidas en la campaña de vigilancia y lucha antivectorial. *Revista Electrónica de Veterinaria*, 13.
- Santos, J., Segura, M., Sanmartin, D., Perez, J., & Falconi, S. (2015). Efectos de los fungicidas organofosforados y carbamatos en la salud de los escolares Effects of organophosphate and carbamate fungicides in school health. *Revista Ciencia UNEMI*, 8, 62–67.
- Schaaf, A. A. (2013). Uso de pesticidas y toxicidad: relevamiento en la zona agrícola de San Vicente, Santa Fe, Argentina. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 4(2), 323–331.
- Torres, O., & Ramos, M. (2013). Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico. *International Journal of Morphology*, 31(2), 650–657.
- Valencia, R., Sanchez, J., Gomez, S., Cortés, J., Waliszewski, S., Fernandez, S., & Villalobos, R. (2013). de Agrobiología , Universidad Autónoma de Tlaxcala , Tlaxcala , México de Ciencias de la Atmósfera , Universidad Nacional Autónoma de México , México D . F . 3 Centro de Investigaciones Biomédicas , Universidad Veracruzana , Xalapa , Veracruz , México 4 F. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 29, 133–157.
- Varea, M., Masoero, C., Gentile, N., Bosch, B., & Aiassa, D. (2016). Biomarcadores posibles para evaluar la exposición laboral a plaguicidas. Trabajo de Revisión Toxicología Ocupacional. *Retel*, 13.
- Vindas, R., Ortiz, F., Ramírez, V., & Cuenca, P. (2004). Genotoxicidad de tres plaguicidas utilizados en la actividad bananera de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*.