

**Documento de Trabajo N° 131**

**ISSN 1810-584X**

**Daño celular en una población infantil  
potencialmente expuesta a pesticidas**

Dra. Stela Benítez Leite\*  
Dra. María Luisa Macchi\*  
Lic. Virginia Fernández\*\*  
Lic. Deidamia Franco\*\*  
Bioquímico: Esteban Ferro\*\*\*  
Lic. Andres Mojoli\*\*  
Lic. Fabiola Cuevas\*\*  
Est. Jorge Alfonso\*\*  
Est. Luciana Sales\*\*

BASE Investigaciones Sociales  
Facultad de Ciencias Médicas (FCM) UNA  
Facultad Ciencias Exactas y Naturales (FaCEN) UNA  
Cátedra de Bioquímica FCM-UNA  
Asunción, junio de 2010

---

\* Cátedra de Pediatría – FCM - UNA.

\*\* Laboratorio de Mutagénesis Ambiental – FaCEN - UNA.

\*\*\* Cátedra de Bioquímica FCM - UNA.

## RESUMEN

Los pesticidas pueden producir efectos agudos o crónicos en la salud humana. Muchos de ellos pueden provocar daño en el material genético. Esta modificación en la información genética se ha relacionado con un alto riesgo de padecer cáncer. El objetivo del presente trabajo es indagar el daño en el material genético de una población infantil expuesta potencialmente a pesticidas en el ambiente. El diseño metodológico fue de tipo observacional y transversal. Participaron en el estudio 48 niños expuestos potencialmente a pesticidas y 46 niños no expuestos. Se obtuvo muestra de la mucosa bucal para determinar daño en el material genético a través de la frecuencia de micronúcleos (MN). Se encontró en el grupo expuesto potencialmente a pesticidas un promedio mayor de micronúcleos ( $5,1 \pm 2,9$  vs  $1,8 \pm 2,0$ ;  $p < 0,0001$ ), un promedio mayor de células binucleadas, ( $3,5 \pm 2,7$  vs  $1,4 \pm 1,4$ ;  $p < 0,0001$ ), mayor frecuencia de cariorrexis ( $18,2 \pm 18,4$  vs  $5,8 \pm 18,4$ ;  $p < 0,004$ ) y picnosis ( $24,8 \pm 18,0$  vs  $17,1 \pm 8,3$ ;  $p < 0,03$ ). El 40% (19/47) de los niños expuestos potencialmente a pesticidas tuvieron un tiempo de exposición de 6 años. Esta investigación aporta evidencias de daño genético en la población potencialmente expuesta a pesticidas en el ambiente

**Palabras claves:** genotoxicidad – pesticidas – niños – medio ambiente

## Glosario

Aneuploidia:	Cambios en el número de <a href="#">cromosomas</a> , que puede dar lugar a <a href="#">enfermedades genéticas</a> <sup>1</sup> . Ej: las trisomías (presencia de cromosomas extras) como el Sx de Down o monosomías (ausencia de uno de los cromosomas integrante de un par).
Antineoplásicos:	Sustancias que impiden el desarrollo, crecimiento, o proliferación de <a href="#">células tumorales</a> malignas <sup>2</sup> .
Apoptosis:	Es una forma de muerte celular, que está regulada genéticamente <sup>3</sup> o Muerte celular genéticamente programada y ejecutada por un mecanismo propio de la célula.
Biomarcador:	Los marcadores biológicos o biomarcadores son los cambios medibles, ya sean estos bioquímicos, fisiológicos o morfológicos, que se asocian a la exposición a un tóxico <sup>4</sup> .
Broken eggs:	Células con núcleo en "broken eggs" (huevo quebrado): donde el núcleo aparece con una protuberancia de tamaño variable. Su origen y significado aún se desconoce.
Carcinogénicos:	Es aquél que puede actuar sobre los tejidos vivos de tal forma que produce <a href="#">cáncer</a> <sup>5</sup>
Carcinogénesis:	Proceso de transformación celular de tipo irreversible con una serie de etapas o estadios
Cariolisis:	Estado de muerte del núcleo de la célula en el curso del cual no se colorea y la cromatina se difunde en el protoplasma <sup>6</sup> . Proceso de degeneración nuclear que consiste en la disolución de la cromatina del núcleo en el jugo nuclear, que acaba de desaparecer diluida en el citoplasma <sup>7</sup> .
Cariorrexis	O desintegración nuclear: estallido del núcleo de la célula donde la membrana nuclear desaparece y la cromatina se observa condensada en grupos. Fase de muerte del núcleo que sucede a la picnosis.
Cefalea	Hace referencia a los dolores y molestias localizados en cualquier parte de la cabeza <sup>8</sup> .
Cariolisis:	Estado de muerte del núcleo de la célula en el curso del cual no se colorea y la cromatina se difunde en el protoplasma <sup>9</sup> . Proceso de degeneración nuclear que consiste en la disolución de la cromatina del núcleo en el jugo nuclear, que acaba de desaparecer diluida en el citoplasma <sup>10</sup> .
Cariorrexis	O desintegración nuclear: estallido del núcleo de la célula donde la membrana nuclear desaparece y la cromatina se observa condensada en grupos. Fase de muerte del núcleo que sucede a la picnosis.
Cefalea	Hace referencia a los dolores y molestias localizados en cualquier parte de la cabeza <sup>11</sup> .
Células binucleadas	Son aquellas que tienen dos o más núcleos <sup>12</sup> .
Citogenético	Es el campo de la <a href="#">Genética</a> que comprende el estudio de la estructura y función de la célula, especialmente los <a href="#">cromosomas</a> <sup>13</sup> .
Citoquinesis	En la citoquinesis, etapa final del ciclo celular, se forma una barrera que separará el material genético recién dividido en dos células hijas <sup>14</sup> .
Cromátidas	Es una célula en división, después de la duplicación del ADN, los cromosomas están compuestos por dos unidades idénticas, unidas por el centrómero, llamadas cromátides hermanas. Durante la anafase, las cromátides se separan, para transformarse cada una en un cromosoma de las células hijas. En la siguiente fase cada uno de ellos se replican y nuevamente se forman pares de cromátides.

1 <http://es.wikipedia.org/wiki/Aneuploid%C3%ADa>

2 <http://es.wikipedia.org/wiki/Antineopl%C3%AIsico>

3 <http://es.wikipedia.org/wiki/Apoptosis>

4 <http://superfund.pharmacy.arizona.edu/toxamb/c2-2-2.html>

5 <http://es.wikipedia.org/wiki/Carcin%C3%B3geno>

6 [http://www.portalesmedicos.com/diccionario\\_medico/index.php/Cariolisis](http://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php/Cariolisis)

7 <http://www.definicion.org/cariolisis>

8 <http://es.wikipedia.org/wiki/Cefalea>

9 [http://www.portalesmedicos.com/diccionario\\_medico/index.php/Cariolisis](http://www.portalesmedicos.com/diccionario_medico/index.php/Cariolisis)

10 <http://www.definicion.org/cariolisis>

11 <http://es.wikipedia.org/wiki/Cefalea>

12 <http://es.answers.yahoo.com/question/index?qid=20090501161950AAaMyiM>

13 <http://es.wikipedia.org/wiki/Citogen%C3%A9tica>

14 [http://www.investigacionyciencia.es/03063240000540/Citoquinesis\\_en\\_c%C3%A9lulas\\_eucariotas.htm](http://www.investigacionyciencia.es/03063240000540/Citoquinesis_en_c%C3%A9lulas_eucariotas.htm)

Cromatina	Asociación entre ADN y proteínas que forman los cromosomas
Cromatina condensada	Es una respuesta de lesión celular, se distingue de la cariorresis porque la membrana nuclear está intacta.
Cromosomas	Son cada uno de los pequeños cuerpos en forma de bastoncillos en que se organiza la <a href="#">cromatina</a> del <a href="#">núcleo celular</a> durante las divisiones celulares <sup>15</sup> Estructuras microscópicamente visibles durante la división celular. Están constituidos por la <a href="#">cromatina</a>
Cromatina	Asociación entre ADN y proteínas que forman los cromosomas
Detoxificación	Liberación de toxinas de un sustrato
Ensayo de MN	Es un biomarcador de genotoxicidad y se utiliza para la evaluación de exposiciones ocupacionales o ambientales. Es un biomarcador de efecto que puede reflejar exposición a agentes con modo de acción clastogénico o aneugénico.
Etnicidad	Significa identificación con, sentirse parte de, un grupo étnico y exclusión de otros grupos debido a esta afiliación. El sentimiento étnico y el comportamiento con él asociado varía en intensidad dentro de los diversos grupos étnicos y países, y a través del tiempo.
F/M	Femenino/Masculino
Folatos	El folato y el ácido fólico son formas de vitamina B solubles en agua. El folato se produce de forma natural en los alimentos, y el ácido fólico es la forma sintética de esta vitamina.
Fomaldehído	El formaldehído, HCHO, también conocido como formalina, formol, aldehído fórmico, metanal, es el primer miembro de las series de los aldehídos alifáticos. Es uno de los químicos orgánicos más importantes utilizado hoy en día en una gran cantidad de actividades y aplicaciones. Se utiliza como bactericida, en la fabricación de ropa, plásticos, papel y en muchos otros usos
Genotoxicidad	Toxicidad que afecta al material genético y manifiesta una actividad retardada en el tiempo
Genómico	Todo el ADN contenido en un organismo o célula, que incluye tanto los cromosomas dentro del núcleo (genoma nuclear) como el ADN en las mitocondrias (genoma mitocondrial)
Fucsina	Colorante rojo derivado de la anilina, que se emplea en tinciones biológicas, industriales, textiles y papeleras y otras aplicaciones.
Frotis	Se denomina frotis a la extensión que se realiza sobre un portaobjetos de un tejido, membrana o líquido que se desea examinar con el microscopio.
Hidrólisis	Es una reacción química o proceso en el cual un compuesto del producto químico, es analizado por la reacción con agua.
In vitro	Que ocurre en un ambiente artificial, por ejemplo, tubo de <a href="#">ensayo</a> o cultivo de laboratorio.
In vivo	Que ocurre dentro de un ambiente natural, por, ejemplo, el cuerpo humano o animal. <a href="http://www.unapro.org/index.php?p=glosario&amp;dic=i">http://www.unapro.org/index.php?p=glosario&amp;dic=i</a>
Metanálisis	Es una revisión sistemática de toda la evidencia científica pertinente y confiable. El prefijo meta (del griego meta) significa “después de”. Se puede definir como la sistemática identificación, valoración, síntesis y, si es pertinente, la agregación estadística de todos los estudios sobre el mismo tema, siguiendo un método explícito y predeterminado.
Micronúcleo	Son masas de cromatina que aparecen en el citoplasma de la célula interfásica y son el resultado de fragmentos cromosómicos o cromosomas enteros que no se han orientado correctamente en la anafase.
Mutágeno	Es un agente físico o químico que altera o cambia la información genética (usualmente <a href="#">ADN</a> ) de un <a href="#">organismo</a> y ello incrementa la frecuencia de <a href="#">mutaciones</a> por encima del nivel natural.
Pesticidas	Los pesticidas son productos químicos utilizados para controlar varias plagas como insectos, roedores, hongos (tales como el moho y el mildew) y las malas hierbas.
Picnosis	Condensación del material del núcleo celular en forma de una masa sólida teñida de color oscuro en

---

15 <http://es.wikipedia.org/wiki/Cromosoma>

una célula moribunda.

- Policíclicos Un **hidrocarburo aromático policíclico** (HAP o PAH, por sus siglas en inglés) es un compuesto químico que se compone de anillos aromáticos simples que se han unido, y no contiene heteroátomos ni lleva sustituyentes.<sup>1</sup> Los HAPs se encuentran en el petróleo, el carbón y en depósitos de alquitrán y también como productos de la utilización de combustibles (ya sean fósiles o biomasa). Como contaminantes han despertado preocupación debido a que algunos compuestos han sido identificados como carcinógenos, mutágenos y teratógenos.
- Prueba de Kruskal-Walis Es una prueba para decidir si muestras independientes, provienen de diferentes poblaciones. Requiere que las mediciones de la variable se encuentre al menos en escala ordinal.
- Prueba de *t* La *t* de student es una prueba que ayuda a estimar los valores poblacionales a partir de los datos muestrales. La *t* de student ayuda a pronosticar la probabilidad de que dos promedios pertenezcan a una misma población (en el caso en que las diferencias no sean significativas) o que provengan de distintas poblaciones (en el caso que la diferencias de promedios sea significativas).
- Rayos X Un rayos X (radiografía) es un examen médico no invasivo que ayuda a los médicos a diagnosticar y tratar las condiciones médicas. La toma de imágenes con rayos X supone la exposición de una parte del cuerpo a una pequeña dosis de radiación ionizante para producir imágenes del interior del cuerpo.
- Radiación ionizante Es una forma de radiación más potente e incluye rayos de longitud de onda corta como los rayos X, rayos cósmicos y rayos gamma. Esta radiación causa la ionización del agua y de otras sustancias; produciéndose indirectamente efectos mutagénicos debido a esta ionización

### **Signos utilizados**

$\bar{x}$  : media aritmética

$\pm$  : más, menos

$p <$  : significancia estadística

F= : femenino

M= : masculino

## Contenido

Resumen

Glosario

Introducción .....	7
1. Marco metodológico .....	10
1.1 Objetivo General .....	10
1.2 Objetivos Específicos .....	10
1.3 Pacientes y métodos .....	10
1.4 Medición .....	12
1.5 Análisis estadístico .....	12
2. Resultado .....	13
3. Discusión .....	18
Referencias bibliográficas .....	22

## Introducción

Los pesticidas constituyen una categoría heterogénea de químicos específicamente diseñados para el control de plagas, malezas o enfermedades de las plantas<sup>(1)</sup>.

Su aplicación es todavía el modo más aceptado y efectivo para proteger a las plantas de las plagas. Han contribuido significativamente a mejorar la productividad agrícola y el rendimiento de las cosechas y ayudado a limitar la expansión de enfermedades de las plantas. Sin embargo, los pesticidas también tienen efectos nocivos y pueden dañar la salud humana así como el ambiente.

El rango de estos efectos adversos sobre la salud incluye daño agudo e injuria permanente al sistema nervioso, daño pulmonar, daño a órganos reproductivos, disfunción del sistema endocrino y del sistema inmune, defectos del nacimiento y cáncer. Un total de 890 ingredientes activos están registrados como pesticidas en los Estados Unidos de América y actualmente son comercializados en 20.700 productos pesticidas. Muchos de estos componentes permanecerán en el ambiente por muchos años<sup>(1,2,3)</sup>. Todas las personas están inevitablemente expuestas a los pesticidas a través de la contaminación ambiental o el uso ocupacional. La población general está expuesta a los residuos de los pesticidas incluyendo los productos físicos y biológicos de degradación en el aire, agua, suelo y los alimentos<sup>(1)</sup>. Los casos de intoxicación aguda por pesticidas son una causa de morbilidad y mortalidad en el mundo. Los países en desarrollo son particularmente susceptibles debido a una pobre regulación, a la ausencia de sistemas de vigilancia, a un menor cumplimiento de la ley, a una ausencia de entrenamiento y a un inadecuado acceso a sistemas de información<sup>(4)</sup>.

El grupo de tareas de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la Protección de la Salud Ambiental de los Niños ha declarado: “los niños no son adultos pequeños”. La premisa detrás de este principio es *que los niños tienen una excepcional vulnerabilidad a los efectos agudos y crónicos de los peligros ambientales* y que ellos son desproporcionadamente susceptibles en comparación con los adultos<sup>(5,6)</sup>. Se ha reconocido que los niños son un grupo, dentro de la población, que tiene características particulares de exposición y especial vulnerabilidad a los tóxicos ambientales, y requieren una estrategia para la evaluación del riesgo, que considere sus características particulares<sup>(7)</sup>. Los niños tienen una exposición desproporcionadamente intensa a muchos agentes ambientales, beben más agua, consumen más alimentos y respiran más aire por peso corporal que los adultos; debido a su conducta “mano a boca”, tienen mayor chance de ingerir compuestos tóxicos presentes en el agua, suelo y polvo de los hogares<sup>(8)</sup>. Los niños por su estatura menor pueden tener mayor exposición al vapor de pesticidas volátiles, particularmente aquellos pesticidas que en su fase gaseosa, tienen una densidad mayor que el aire<sup>(6)</sup>.

Finalmente, los niños pueden diferir de los adultos en los niveles de detoxificación, en los procesos de reparación del ADN, y en la proliferación celular. La diferencia más evidente entre niños y adultos es el impacto reducido de tradicionales factores de confusión como el fumar cigarrillos y la exposición ocupacional. Los niños usualmente no fuman activamente y no están expuestos ocupacionalmente a agentes genotóxicos, al menos hasta la adolescencia. Sin embargo, pueden ser fumadores pasivos y tienen mayor chance de ingestión de polvo contaminado. La dieta del niño, que es menos variada que la del adulto, como factor de confusión, puede ejercer un impacto reducido o mayor si alguna parte de la misma se halla contaminada con agentes genotóxicos. Los niños, por razones relacionadas con su edad, son una población vulnerable, y proteger su salud es una prioridad social, científica y emocional<sup>(8,9)</sup>.

La exposición a las toxinas ambientales puede ocurrir por varias rutas: inhalación, ingestión o absorción dérmica, y puede ser durante el período prenatal y a través de las etapas de desarrollo postnatal. Idealmente la evaluación de la exposición debería estar basada sobre cuestionarios y marcadores, caracterizando exposición interna y externa. Los marcadores externos pueden ser medidos en el aire, agua, polvo etc<sup>(8)</sup>. Los marcadores biológicos han sido definidos como una alteración en los componentes celulares, bioquímicos, procesos, estructura o funciones, que son medibles en una muestra o sistema biológico<sup>(10)</sup>.

Los pesticidas han sido considerados mutágenos químicos potenciales. La mayoría de las exposiciones ambientales y ocupacionales está relacionada con una mezcla de pesticidas por lo cual evaluar el potencial genotóxico de componentes simples podría no ser extrapolable a los humanos. El biomonitoreo en poblaciones humanas es una herramienta útil para estimar el riesgo genético frente a la exposición de mezclas complejas de químicos. Aunque un número de biomarcadores está disponible para evaluar respuesta genotóxica transitoria y permanente, los estudios de biomonitoreo se han enfocado esencialmente sobre aberraciones cromosómicas (AC), frecuencia de micronúcleos (MN) e intercambio de cromátidas hermanas (ICH)<sup>(1)</sup>.

El daño al genoma humano es probablemente la causa más importante y fundamental de enfermedades degenerativas y del desarrollo. Está bien establecido que el daño genómico está producido por exposición ambiental a genotoxinas, procedimientos médicos (radiación y químicos), deficiencia de micronutrientes (déficit de folatos), estilos de vida (alcohol, hábito de fumar, drogas y stress) y factores genéticos tales como defectos hereditarios en el metabolismo y reparación del ADN<sup>(11)</sup>.

La medición de la frecuencia de MN en linfocitos de sangre periférica se utiliza ampliamente en epidemiología molecular y citogenética para evaluar la presencia y extensión de daño cromosómico en poblaciones humanas expuestas a agentes genotóxicos o para determinar la presencia de un perfil genético susceptible. La alta confiabilidad y el bajo costo de la técnica del MN, ha contribuido al éxito y a la adopción de este biomarcador para estudios in vitro e in vivo, de daños al genoma humano. Los micronúcleos se originan desde fragmentos cromosómicos o de cromosomas completos que no han sido incluidos en el núcleo principal de la célula hija durante la división celular. La formación de micronúcleos en células divididas es el resultado de ruptura cromosómica debido a ausencia o alteración de la reparación de lesiones del ADN, o mala agregación del cromosoma debido a mala función mitótica. El amplio uso actual del ensayo de MN es una oportunidad para aplicarlo en la planificación y validación de programas de vigilancia y prevención de cáncer<sup>(12)</sup>. Estudios conducidos en niños expuestos a contaminantes ambientales revelaron claramente un incremento en la frecuencia de micronúcleos, comparados con los niños referentes<sup>(13)</sup>.

Es esencial tener biomarcadores confiables y relevantes, mínimamente invasores, para mejorar la implementación de biomonitoreo, diagnóstico y tratamiento de enfermedades causadas o asociadas con daño genético. En este aspecto, la frecuencia de MN en células exfoliadas de la mucosa bucal es un método mínimamente invasor, y útil para el monitoreo del daño genético en humanos. El **Human Micronucleus Project** ha iniciado un proceso internacional de validación para el ensayo de MN en células de la mucosa bucal, similar al realizado previamente utilizando linfocitos humanos<sup>(11)</sup>.

A partir de estas consideraciones, se investiga la presencia de marcadores biológicos de genotoxicidad en una población infantil que asiste a una escuela del barrio Los Naranjos de la ciudad de Ñemby, que se encuentra ubicada a pocos metros de un establecimiento industrial dedicado a la formulación y



síntesis de químicos: insecticidas, fungicidas, herbicidas y coadyuvantes y otros productos para el agro. Instalado desde junio del año 2003 en ese lugar, se definió esta situación como un factor de riesgo potencial para la salud, conforme a las conclusiones del informe final de la inspección técnica de la fábrica, realizada por el Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, la Secretaría del Ambiente y la OPS/OMS. Luego de la revisión de la capacidad de producción de la planta, las condiciones de manejo de los productos, procesamiento, almacenamiento, así como las deficiencias encontradas para el manejo y tratamiento de los residuos sólidos, líquidos y gaseoso, el equipo técnico concluye: “La existencia de emisiones y la eventual exposición de la comunidad, constituyen un riesgo para la salud de la población y de los trabajadores”<sup>(14)</sup>. Se utiliza como marcador de genotoxicidad la frecuencia de MN en células exfoliadas de la mucosa oral, un método útil y mínimamente invasor para medir daño genético en humanos.

## 1. Marco metodológico

### 1.1 Objetivo General

Determinar el efecto de la exposición ambiental a pesticidas sobre el material genético de niños

### 1.2 Objetivos específicos

Determinar la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa oral, tanto en niños expuestos potencialmente a pesticidas, como no expuestos.

Identificar la frecuencia de otros marcadores de daño celular, como: células binucleadas, células con cromatinas condensadas, cariorrexis, células picnóticas y cariolíticas, en niños expuestos potencialmente a pesticidas y en niños no expuestos.

Obtener información técnica para apoyar políticas que protejan la vida y la calidad de vida de quienes habitan en la zona potencialmente expuesta.

### 1.3 Pacientes y métodos

#### a. Diseño del estudio

El estudio fue de tipo observacional y transversal.

#### b. Población potencialmente expuesta

Niño/as **sanos**, en edad escolar matriculados en la escuela de nivel escolar básico N° 5596 San Pedro y San Pablo de la ciudad de Ñemby en el año 2009. La mencionada escuela se halla situada a 50 metros de una fábrica que sintetiza y formula pesticidas.

#### c. Población no expuesta

Niños/as **sanos**, en edad escolar, que concurren a la escuela N° 601 Rita Surroca de la ciudad de San Lorenzo y que se encuentra ubicada a 5,5 km de la escuela San Pedro y San Pablo de la ciudad de Ñemby.

La distancia entre ambas escuelas, fue medida a través de un GPS marca GARMIN Etrex (Fig. 1). Las coordenadas tomadas con la misma herramienta son:

**La escuela Rita Surroca** (del grupo no expuesto) tiene la siguiente georreferencia:

Latitud sur: 25° 21' 38.0"

Longitud oeste: 57° 30' 23.1"

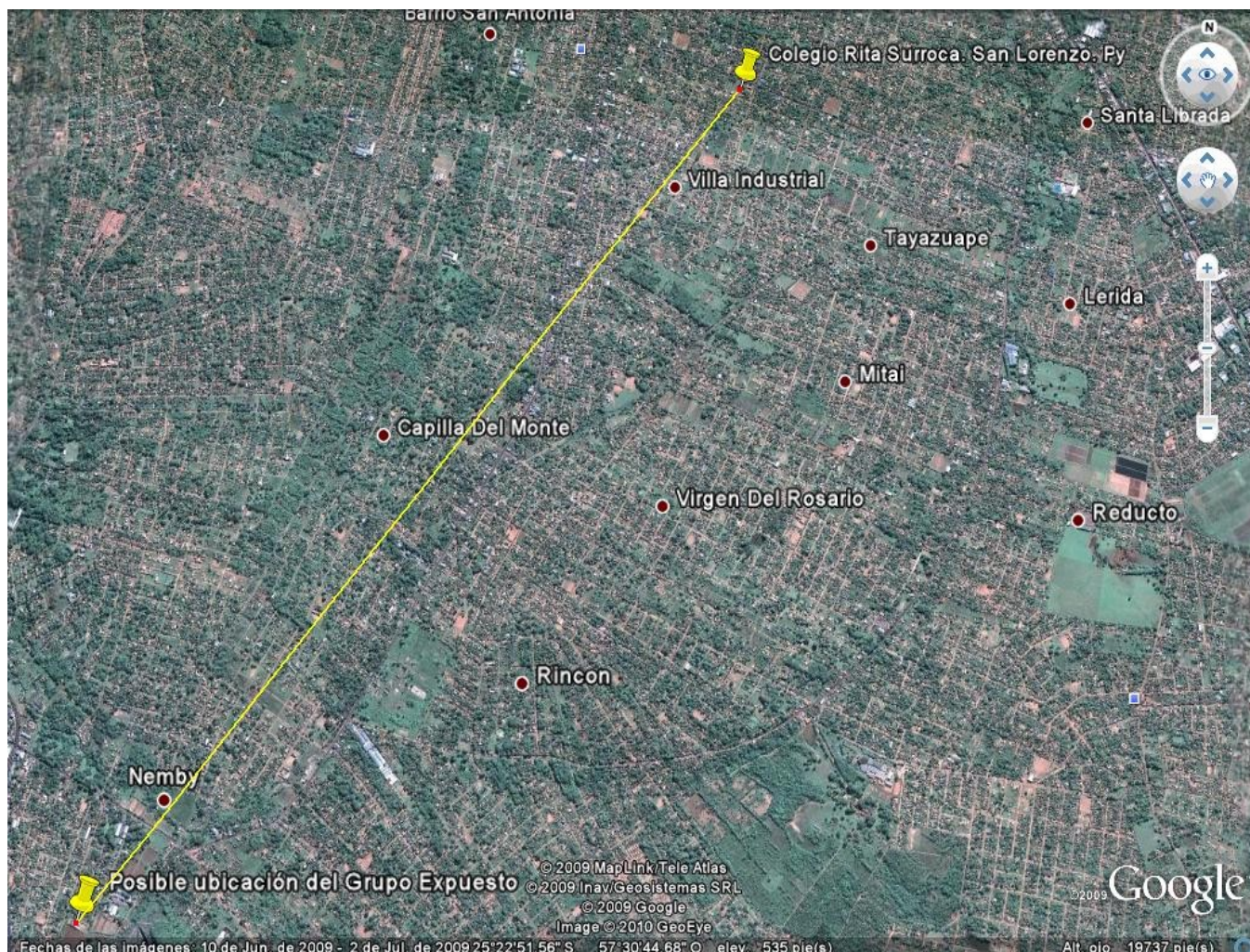
**La escuela San Pedro y San Pablo** (grupo expuesto):

Latitud sur: 25° 24' 03,5"

Longitud oeste: 57° 32' 21,5"

No se registra la presencia de ninguna otra fábrica en las proximidades de ambas escuelas.

Fig. 1 Fotografía satelital de ambas escuelas tomada a través de Google Earth



d. Criterios de inclusión

Asentimiento de los niños y consentimiento informado de los padres para que sus hijos participen del estudio.

e. Muestreo y reclutamiento

La investigación fue socializada en el predio de la escuela con la presencia de docentes y padres de alumnos, por parte de dos pediatras que además se encargaron de realizar las encuestas y administrar el consentimiento informado. Se incluyeron niños/as que accedieron voluntariamente, junto a sus padres, a formar parte de la investigación.

Las muestras biológicas fueron obtenidas por investigadores del Laboratorio de Mutagénesis Ambiental de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (FaCEN) en junio-julio de 2009 en el grupo expuesto, y octubre-noviembre de 2009 en el grupo no expuesto. Se recolectaron dos muestras de epitelio oral realizando un frotis en la pared interna de ambas mejillas, después de un enjuague bucal con agua.

f. Bioensayo. Técnica de MN en mucosa bucal

Se raspó cuidadosamente la mucosa bucal de los niños/as con una paleta bajalenguas de madera realizándose un frotis sobre un portaobjeto limpio y dejándolo secar al aire a temperatura ambiente (2 muestras por individuo).

Se fijó el preparado en etanol: ácido acético 3:1 durante 1 hora y se dejó secar a temperatura ambiente. Se realizó la hidrólisis en HCL 1N de la siguiente manera: 5 minutos a temperatura ambiente, 10 minutos a 60° C, y 5 minutos a temperatura ambiente. Posteriormente de acuerdo a la técnica de Tolbert (1.991), las láminas se colorearon en vasos de Coplin con agua fría (5° C) durante 5 minutos con el objetivo de cortar la hidrólisis. Una vez transcurrido el tiempo se dejó secar las láminas.

Luego se colocaron las muestras hidrolizadas, en fuscina básica durante 20 minutos en ausencia de luz. Se lavaron las láminas con agua corriente, dejándolas secar a temperatura ambiente.

Luego se observaron y analizaron los preparados, en microscopios *Olympus*, Modelo BH2, de procedencia japonesa, a 1000X.

En la primera lámina se contaron 1000 células para búsqueda de MN de ambas poblaciones. Posteriormente, con la segunda lámina se volvieron a contar 1000 células, identificando además de micronúcleos otras anomalías, como células binucleadas, en broken eggs, picnosis, cromatina condensada, y diversos estadios de células en apoptosis.

El mismo procedimiento se realizó en el grupo no expuesto. Las personas que analizaron las muestras no tenían conocimiento acerca de las características biodemográficas de cada niño estudiado, únicamente las iniciales de los nombres respectivos. Las microfotografías, fueron obtenidas con aumento 100X en el laboratorio de microscopía de FaCEN-UNA con una cámara Samsung S860.

#### **1.4 Mediciones**

a. Evaluación del efecto citogenético

Para la variable resultante micronúcleo la medición se realizó sobre 2000 células por individuo. Para las demás variables resultantes (células binucleadas, broken eggs, cariólisis, cariorrexis, cromatina condensada, picnosis) el conteo se obtuvo sobre 1000 células por individuo.

b. Tiempo de exposición

Se tomó como tiempo de exposición, la presencia de los niños/as durante 4 horas diarias (turno mañana o tarde), 5 días a la semana y con un mínimo de 1 año a 6 años máximo. Las demás variables secundarias fueron indagadas como variables de confusión o de intoxicación aguda y fueron analizadas como variables cuantitativas o dicotómicas.

#### **1.5 Análisis estadístico**

Los datos fueron analizados en el programa Epiinfo 2000. Se aplicó la prueba de *t* de Student para variables que se distribuyen normalmente y el Test de Kruskal-Wallis para variables que se distribuyen asimétricamente para comparar a las dos poblaciones estudiadas. Se asumió un  $p < 0.05$  como significativo. Las variables cualitativas se resumieron en proporciones y las variables cuantitativas en media aritmética y desviación estándar



## 2. Resultados

Se analizaron las muestras de 48 niños expuestos potencialmente a pesticidas en el ambiente y de 46 niños no expuestos, provenientes de 2 escuelas diferentes y con una distancia de 5,5 km entre ambas.

Se encontró que la población potencialmente expuesta a pesticidas en el ambiente, presenta mayor frecuencia de micronúcleos, células binucleadas, cariorrexis y picnosis que la no expuesta, y la diferencia es altamente significativa, según la prueba de t, con un  $p < 0,0001$  para micronúcleos y células binucleadas y también significativas para cariorrexis y picnosis. Por otro lado, también hubo mayor proporción de células en broken eggs, cariólisis y cromatina condensada en el grupo expuesto, aunque las cifras no fueron significativas (Tablas 1 y 2).

**Tabla 1. Comparación de las medias de diferentes anomalías en el núcleo de células epiteliales bucales, entre el grupo de niños potencialmente expuesto a pesticidas en el ambiente y el grupo de niños no expuesto**

Variables	Expuestos n=48 $\bar{x}$	No expuestos n=46 $\bar{x}$	Valor p < (***)
Micronucleos *	5,1 ± 2,9	1,8 ± 2,0	<0,0001 ***
Binucleadas**	3,5 ± 2,7	1,4 ± 1,4	<0,0001 ***
Broken-eggs**	2,3 ± 2,7	1,4 ± 1,4	0,56
Cariólisis**	34,5 ± 22,4	28,2 ± 11,7	0,46
Cariorexis**	18,2 ± 18,4	5,8 ± 18,4	0,004 ***
Cromatina**	1,3 ± 2,4	0,58 ± 1,2	0,28
Picnosis**	24,8 ± 18,0	17,1 ± 8,3	0,03 ***

\*Tasa por 2000 células

\*\*Tasa por 1000 células

\*\*\* Significativo - Test de Kruskal-Wallis

**Tabla 2. Comparación en percentiles de diferentes anomalías del núcleo en el grupo expuesto y no expuesto**












	<b>Micronúcleo (MN)**</b>	<b>Células binucleadas*</b>	<b>Broken Eggs*</b>	<b>Cariolisis*</b>	<b>Cariorraxis*</b>	<b>Cromatina Condensada*</b>	<b>Picnosis*</b>
<b>EXPUESTO n=48</b>							
<b>TOTAL</b>	<b>477</b>	<b>168</b>	<b>115</b>	<b>1770</b>	<b>878</b>	<b>65</b>	<b>1195</b>
Mínimo	2,0	0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
25% percentil	6,0	2	0,0	16,5	2,5	0,0	9,5
Mediana	9,0	3	1,5	33,0	11,5	0,0	23,0
75% percentil	12,0	5	4,0	55,0	26,5	1,0	36,0
Máximo	30,0	16	9,0	110,0	75,0	10,0	70,0
Media $\bar{x}$	9,9	3,5	2,8	36,9	18,3	1,4	24,9
<b>NO EXPUESTO n=46</b>							
<b>TOTAL</b>	<b>170</b>	<b>67</b>	<b>69</b>	<b>1324</b>	<b>260</b>	<b>27</b>	<b>796</b>
Mínimo	0,0	0,0	0,0	11,0	0,0	0,0	0,0
25%percentil	1,0	0,0	0,0	20,0	1,0	0,0	11,0
Mediana	2,0	1,0	1,0	25,0	2,5	0,0	18,0
75% percentil	4,0	2,0	2,0	36,0	8,0	1,0	22,0
Máximo	19,0	5,0	8,0	59,0	25,0	7,0	40,0
Media $\bar{x}$	3,7	1,4	1,5	28,8	5,6	0,5	17,3

\*Frecuencia en 1000 células

\*\*Frecuencia en 2000 células

Se tomó como grado de exposición potencial a pesticidas en el ambiente, el tiempo de permanencia en la escuela de los niños expuestos a partir del funcionamiento de la fábrica de pesticidas. El 83% (39/47) de la muestra estudiada tuvo una exposición potencial entre 1 y 6 años, considerando que la fábrica opera en el lugar desde hace 6 años. Así, el 40% (19/47) de la muestra estudiada tuvo un tiempo de exposición ambiental de 6 años. El 32% (15/47) tuvo un tiempo de exposición entre 4 y 5 años y el 27,7% (13/47) un tiempo de exposición de 1 a 3 años. (Tabla N° 3)

**Tabla 3. Distribución según años de estudio de niños de la escuela N° 5596 San Pedro y San Pablo del barrio Los Naranjos de la ciudad de Ñemby**

<b>AÑOS DE ESTUDIO:</b>	<b>Frecuencia</b>	<b>%</b>	<b>% acumulado</b>	
<b>1</b>	7	14,9	14,9	
<b>2</b>	2	4,3	19,1	
<b>3</b>	4	8,5	27,7	
<b>4</b>	11	23,4	51,1	
<b>5</b>	4	8,5	59,6	
<b>6</b>	11	23,4	83	
<b>7</b>	2	4,3	87,2	
<b>8</b>	2	4,3	91,5	
<b>9</b>	3	6,4	97,9	
<b>10</b>	1	2,1	100	
<b>Total</b>	47	100	100	

No hubo diferencias estadísticamente significativas en relación a la edad, años de escolarización y género. La edad promedio de ambos grupos fue de 9,6 años (expuestos) y 9,8 años (no expuestos) respectivamente ( $p < 0,3$ ). En los expuestos, el promedio de escolarización fue  $4,6 \pm 2,3$  y  $4,4 \pm 2,1$  en el grupo de niños no expuestos ( $p < 0,6$ ).

La proporción F/M fue del 25/22 (53/47%) en el grupo expuesto y F/M 27/19 (59/41%) en el grupo no expuesto ( $p < 0,3$ ).

En el grupo potencialmente expuesto, la frecuencia de micronúcleos (por cada 2000 células/individuos) fue mayor en el sexo femenino ( $10,6 \pm 5,9$ ) que en el masculino ( $9,1 \pm 5,3$ ) ( $p < 0,3$ , prueba de Kruskal-Wallis), mientras que en el grupo no expuesto la frecuencia fue mayor en el sexo masculino ( $4,8 \pm 4,7$ ) que en el femenino ( $2,8 \pm 3,6$ ) ( $p < 0,03$ , prueba de Kruskal-Wallis). Las diferencias observadas entre sexos no son suficientes como para considerar a éste como un factor de confusión en la comparación del parámetro entre expuestos y no expuestos.

La exposición a rayos X en los últimos 6 meses, el uso crónico de medicamentos y la utilización de plaguicidas en el hogar, fue mayor en el grupo de no expuestos, con diferencias estadísticamente significativas. No hubo diferencias significativas en ambos grupos con las variables de padres fumadores, enfermedad respiratoria, antecedente de abortos, malformación congénita y muerte de un hijo antes de nacer.

Hubo mayor proporción de cefaleas, lesiones en piel, decaimiento (desgano, falta de fuerza muscular, mareos) y trastornos de la visión en el grupo expuesto a plaguicidas del medio ambiente, con diferencias estadísticamente significativas.

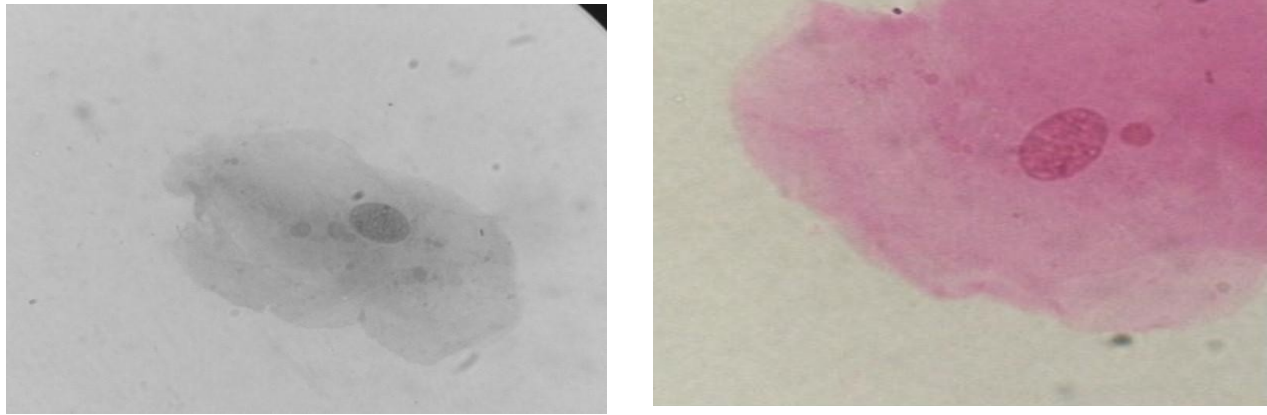
Tabla 4. Análisis de las variables independientes más influyentes en la formación de células anormales

Variables	Expuestos (n=48)		No expuestos (n=46)		Significancia
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
<b>Sexo</b>					
Femenino	25	52,1	27	58,7	p< 0,3
Masculino	23	47,9	19	41,3	
<b>Rx en los últimos 6 meses</b>					
Si	0	0	4	8,7	p< 0,05*
No	48	100	42	91,3	
<b>Medicamentos de uso crónico</b>					
Si	1	2,1	9	10,6	p< 0,006*
No	47	97,9	37	89,4	
<b>Padre fumador</b>					
Si	13	28,3	12	30,8	p< 0,5
No	33	71,7	17	69,2	
<b>Uso de plaguicida dentro de la casa</b>					
Si	16	33,3	27	58,7	p< 0,001*
No	32	66,7	19	41,3	
<b>Dolor de cabeza</b>					
Si	32	66,7	12	26,1	p< 0,00007*
No	16	33,3	34	73,9	
<b>Lesiones en piel</b>					
Si	23	47,9	10	21,7	p< 0,006*
No	25	52,1	36	78,3	
<b>Decaimiento (desgano, mareos)</b>					
Si	22	45,8	5	10,9	p< 0,0001*
No	26	54,2	41	89	
<b>Trastornos de la visión</b>					
Si	18	37,5	7	15,2	p< 0,01*
No	30	62,5	39	84,8	
<b>Enfermedades respiratorias</b>					
Si	7	14,6	10	21,7	p< 0,2
No	41	85,4	36	78,3	
<b>Antecedente de abortos</b>					
Si	10	20,8	9	21,4	p< 0,5
No	38	79,2	33	78,6	
<b>Antec. de Malf. Congénita</b>					
Si	5	10,4	5	11,6	p< 0,5
No	43	89,6	38	88,4	
<b>Muerte de Hijo antes de nacer</b>					
Si	9	19,1	10	23,3	p< 0,4
No	38	80,9	33	76,7	

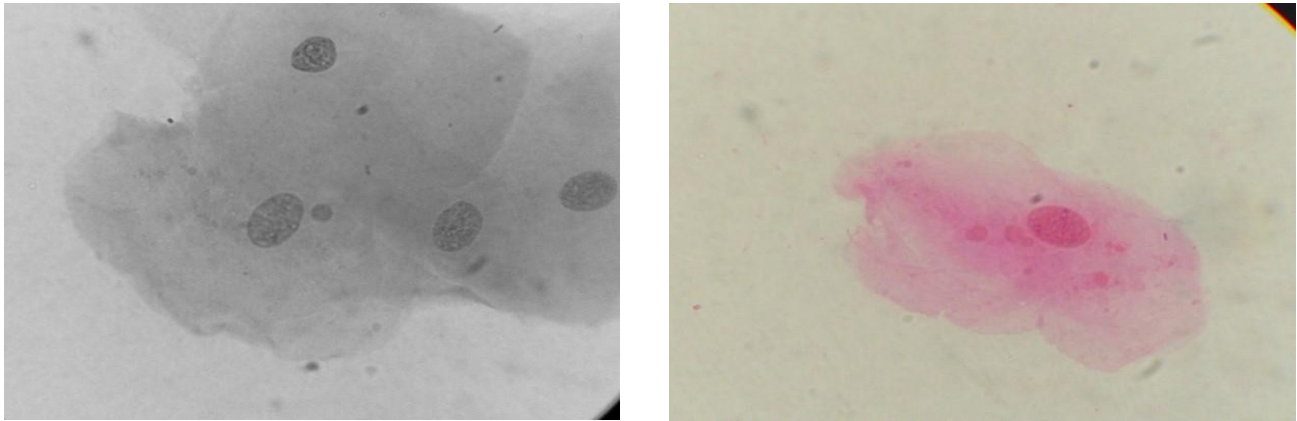
En las figuras 2, 3 y 4 se observan las fotos de las células con uno y con varios micronúcleos.



**Fig. 2 y 3 Fotografía de célula de mucosa bucal con la presencia de 1 micronúcleo, con aumento 100X, con cámara Samsung S860**

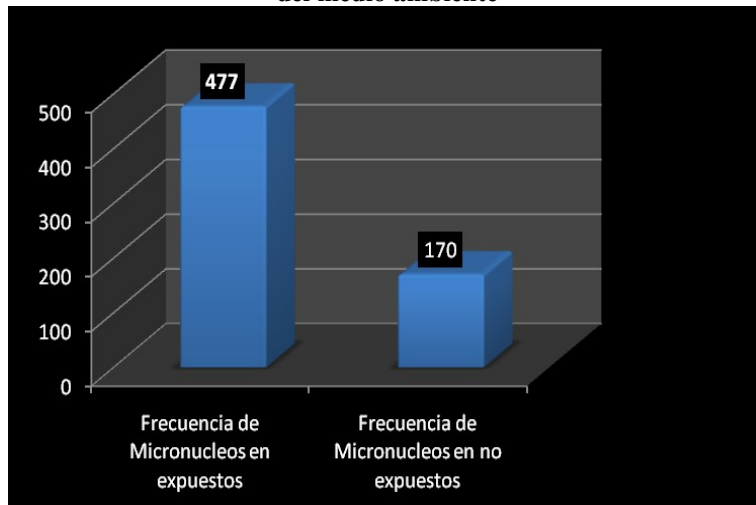


**Fig. 4 y 5 Fotografía de célula de mucosa bucal que presenta varios micronúcleos**



En la figura 5 se observa la proporción de micronúcleos en ambos grupos de estudio sobre 2000 células observadas.

**Fig.5 Comparación de la frecuencia de micronúcleos en niños potencialmente expuestos y no expuestos a plaguicidas del medio ambiente**





### 3. Discusión

Los resultados de este estudio muestran una frecuencia significativamente mayor de micronúcleos, células binucleadas, cariorrexis y picnosis, en el grupo de niños potencialmente expuestos a pesticidas, y la diferencia es altamente significativa para micronúcleos, células binucleadas ( $p < 0,0001$ ) y cariorrexis ( $p < 0,004$ ) y significativa para picnosis ( $p < 0,03$ ). Se halló una mayor proporción de células en broken eggs, cariólisis y con cromatina condensada en el grupo expuesto, aunque las diferencias no fueron significativas.

Estos hallazgos demuestran la presencia de biomarcadores que evalúan daño cromosómico como los MN y otros marcadores que indican fallo en la citoquinesis y muerte celular (células binucleadas, células en broken eggs, en cariorrexis, picnosis, cariólisis) en células exfoliadas de la mucosa bucal de niños que asisten a una escuela ubicada a pocos metros de una fábrica dedicada a la formulación y síntesis de agroquímicos (insecticidas, fungicidas, herbicidas y coadyuvantes) y proveen evidencia de genotoxicidad en una población potencialmente expuesta a pesticidas en el ambiente.

Los micronúcleos son pequeños núcleos separados del núcleo central de la célula, que se producen durante la telofase de la mitosis (meiosis) y pueden formarse por la exclusión de un cromosoma completo (pérdida cromosómica) o por fragmentos cromosómicos (ruptura cromosómica) durante la división celular. Su presencia en las células es reflejo de aberraciones estructurales y/o numéricas (efectos clastogénicos y/o aneugénicos). El ensayo de MN en células exfoliadas comprende el análisis microscópico de extendidos epiteliales para determinar la prevalencia de micronucleación. La habilidad del ensayo de MN para detectar, tanto efectos clastogénicos como aneugénicos, es una ventaja de la técnica<sup>(15-19)</sup>.

En los niños potencialmente expuestos se halló una frecuencia mayor, estadísticamente significativa, de otras alteraciones nucleares: células binucleadas, células en cariorrexis y células picnóticas, indicando daño cromosómico, alteración en la citoquinesis y muerte celular. Las células con doble núcleo podrían ser un marcador importante de falla en la citoquinesis causada por una frecuencia anormalmente elevada de aneuploidia. La significancia biológica de las células picnóticas y el mecanismo de formación son desconocidos, puede representar un mecanismo alternativo de desintegración nuclear, diferente a la cariorrexis y a la cromatina condensada<sup>(18)</sup>. La experiencia con el ensayo de MN en el bloque citogenético de linfocitos, ha mostrado que el uso de un citoma en el que no solamente se mide la frecuencia de MN sino también otros marcadores de daño al genoma, células muertas, o degeneradas, así como índice de proliferación, asegura una medición más comprensiva de citotoxicidad y efectos genotóxicos<sup>(11)</sup>.

El ensayo de MN ha sido aplicado para evaluar el daño cromosómico en el monitoreo biológico de poblaciones humanas expuestas a una variedad de agentes químicos o físicos mutagénicos y carcinogénicos. Un amplio intervalo de frecuencia basal de MN en células de la mucosa oral ha sido reportado; 0,05 a 11,5 MN/1000 células, con la mayoría de los valores entre 0,5 y 2,5 MN/1000 células y no existe un claro patrón de variación entre los laboratorios de diferentes países. Muchos estudios reportan una elevada frecuencia, estadísticamente significativa en individuos expuestos, comparados con un grupo control, aunque los efectos observados son relativamente pequeños, con valores entre 1,1 y 4,0<sup>(11,20,21)</sup>. Sin embargo, otros estudios no han mostrado cambios estadísticamente significativos<sup>(22,23)</sup>. Una investigación sobre efectos de la exposición acumulativa a formaldehído, mostró un incremento de 12 veces la frecuencia de MN en células de la mucosa oral, luego de la exposición. Este hallazgo, fue

confirmado en una siguiente investigación utilizando una técnica diferente de tinción<sup>(11,24)</sup>.

Se ha hallado incremento significativo de MN en células exfoliadas de la mucosa oral en personas expuestas a solventes orgánicos, agentes antineoplásicos derivados del diesel, hidrocarburos aromáticos policíclicos, pintura que contiene plomo y disolventes, y agua contaminada con arsénico, en diversos estudios<sup>(11,25)</sup>. Nery et-al.<sup>(13)</sup> encontraron que todos los estudios conducidos en niños expuestos a contaminantes ambientales, revelaron claramente, un aumento en la frecuencia de MN, comparados con los niños referentes. Los incrementos de MN fueron estadísticamente significativos, en todos. Los resultados de un estudio realizado en cuatro poblaciones agrícolas ocupacionalmente expuestas a pesticidas, no reveló una inducción significativa de daño citogenético medido por la frecuencia de MN, tanto en linfocitos de sangre periférica como en células de la mucosa oral<sup>(26)</sup>.

Otros estudios han fallado en demostrar efectos citogenéticos asociados a los pesticidas, en población ocupacionalmente expuesta, con ensayos para Aberración Cromosómica (AC) y MN en linfocitos de sangre periférica y algunos también para MN en células de mucosa bucal<sup>(22,23,27,28)</sup>. Se ha mostrado aumento de la frecuencia de MN en células de la mucosa oral en un grupo de 30 floricultores mexicanos, siendo la frecuencia de MN con relación a los no expuestos, estadísticamente significativa<sup>(29)</sup>. En un estudio reciente que incluyó una población de 70 floricultores expuestos, en el Norte de Sinaloa, México, se halló frecuencia aumentada de MN en células de la mucosa oral, con relación a la población no expuesta<sup>(30)</sup>. En una investigación realizada en 29 trabajadores agrícolas brasileños, expuestos a pesticidas en campos de soja, se encontró una frecuencia significativamente mayor de MN en células de la mucosa oral, que en el grupo no expuesto<sup>(31)</sup>. Una investigación realizada en la India, en 54 trabajadores de una unidad de fabricación de plaguicidas, demostró un aumento significativo en la frecuencia de MN en células de la mucosa bucal en comparación con igual número de sujetos no expuestos<sup>(32)</sup>. En el delta de Goksu, Turquía, una región contaminada con una mezcla de pesticidas, se investigó genotoxicidad en 32 personas viviendo en la región, y se halló un aumento significativo de MN en células de la mucosa oral, comparado con igual número de personas no expuestas<sup>(33)</sup>.

La frecuencia de MN en linfocitos de sangre periférica, es extensamente utilizada como biomarcador para señalar la presencia y extensión de daño cromosómico y la estabilidad del genoma, en poblaciones humanas expuestas a agentes genotóxicos, o para determinar la presencia de un perfil genético susceptible. Un total de 6.718 sujetos en quienes se determinó frecuencia de MN, fueron seleccionados de la base de datos del proyecto internacional del MN humano (Human MicroNucleus (HUMN)). Los resultados de la investigación proveen evidencias preliminares de que la frecuencia de MN en linfocitos de sangre periférica es un marcador biológico predictivo de riesgo de cáncer en una población de sujetos sanos<sup>(34)</sup>.

El estudio de daño al ADN en células exfoliadas de la mucosa oral, es un método mínimamente invasor para monitorear poblaciones expuestas a agentes genotóxicos. La presencia de MN y otras anomalías dentro de estas células ha mostrado estar asociada con defectos genéticos en el mantenimiento del genoma, en el envejecimiento temprano, en daño genotóxico y en algunas enfermedades degenerativas. Sin embargo, es prioritaria la estandarización del método, ya que todavía no se sabe si una frecuencia elevada de MN en la mucosa bucal en población humana, es predictiva de riesgo de cáncer, si es específica del sitio o puede extrapolarse a otros sitios<sup>(35)</sup>.

Con relación a la edad y al género, la muestra en ambos grupos ha sido homogénea ya que no mostró diferencias significativas al compararlos. La influencia del sexo ha sido informada para adultos; sin embargo, su influencia no ha sido estadísticamente significativa en individuos menores de 40 años. Llega a ser más pronunciada en sujetos de mayor edad. En una revisión de un conjunto de estudios en adultos, se encontró que las mujeres tenían un nivel mayor de frecuencia de MN, equivalente a un 19% más<sup>(36)</sup>.

Datos publicados por Neri et al, en una revisión sobre investigaciones realizadas en niños de 0 a 18 años, expuestos a mutágenos, mostraron que la influencia del sexo sobre la frecuencia de MN era irrelevante<sup>(37)</sup>. Así mismo, en un metanálisis y en un conjunto de estudios de frecuencia basal de MN en niños, no se han encontrado diferencias con relación al sexo<sup>(38)</sup>.

El estudio y la prevención de enfermedades que afectan a los niños por exposición no intencional a agentes biológicos, químicos y físicos, está emergiendo como un nuevo campo de investigación, de políticas y de prácticas clínicas. Hoy se sabe que el daño a la salud puede producirse con niveles elevados de exposición, así como con bajos y prolongados niveles de exposición a tóxicos en el ambiente. Muchas de estas sustancias están ampliamente distribuidas en el ambiente y pueden ser halladas en sangre, fluidos corporales y tejidos de niños y mujeres embarazadas. Aunque las alteraciones son a menudo sutiles a nivel individual, el daño puede ser sustancial a nivel poblacional, en especial cuando una exposición es prevalente<sup>(39)</sup>. En esta investigación, el 83% de los niños estudiados tuvo un periodo de exposición potencial entre uno y seis años, con un promedio de 4,6 años.

Los plaguicidas pueden generar contaminación en el ambiente de trabajo donde son manipulados, o en general, en el ambiente que rodea dichas zonas. Las etapas que componen la cadena de los plaguicidas son: la fabricación, la formulación, el fraccionamiento y/o envasado, la distribución y la aplicación. En cualquiera de las etapas mencionadas se puede generar contaminación ambiental: del aire, con los polvos de plaguicidas o solventes evaporados; del agua, por derrames y corrientes de lavado; y del suelo, también por derrames y disposición inadecuada de residuos sólidos<sup>(40,41)</sup>. Existen evidencias sobre efectos ambientales de actividades industriales, aún después del cese de operaciones por un largo tiempo<sup>(42,43)</sup>.

El aspecto relevante de éste estudio, es la significativa diferencia de MN en dos grupos de niños escolares. La frecuencia mayor de MN en los que asisten a una escuela próxima a una fábrica de sustancias químicas para el agro, señala que éstos se hallan expuestos a genotóxicos. Se debe ampliar la investigación para determinar con mayor aproximación las causas, a través del monitoreo ambiental y otros marcadores biológicos de exposición, de los efectos hallados.

En esta investigación, potenciales variables de confusión como la exposición a rayos X en los últimos seis meses, el uso de medicamentos crónicos, la utilización de plaguicidas en el hogar, fue mayor en el grupo de no expuestos a plaguicidas, con diferencias significativas. No hubo diferencias significativas entre ambos grupos con relación a otras variables como padres fumadores, enfermedad respiratoria, antecedente de abortos, malformación congénita y muerte de un hijo antes de nacer.

Hubo mayor proporción de cefalea, lesiones en piel, decaimiento (desgano, falta de fuerza muscular, mareos) y trastornos de la visión, en el grupo expuesto a plaguicidas del medio ambiente, con diferencias significativas que pueden interpretarse como síntomas y signos de exposición aguda. La intoxicación por pesticidas es comúnmente sub-diagnosticada, los hallazgos clínicos de la intoxicación

aguda raramente son patognomónicos, puede remedar una enfermedad respiratoria aguda, conjuntivitis, enfermedad gastrointestinal, manifestaciones cutáneas, entre otras<sup>(44)</sup>.

Los problemas que promueven el deterioro genómico en las comunidades y que atañen a la bioética ambiental son: la distribución desigual de tóxicos en relación con la etnicidad o el nivel de ingresos, fallas de protección en el ambiente laboral en regiones de menor desarrollo socioeconómico, ausencia deliberada de información sobre los riesgos de exposición a genotóxicos en el ambiente laboral o en la zona de residencia, deficiente o insuficiente evaluación de genotoxicidad de medicamentos o aditivos alimentarios, deficiente evaluación de genotoxicidad de actividades industriales y de otras no asociadas con la producción de bienes. En la bioética ambiental, el primer principio debe ser el de no maleficencia (*primum non nocere*). El deber de informar a la sociedad civil se origina en el principio de consentimiento informado. Una comunidad debe elegir si acepta que en su entorno se localicen actividades nocivas. Mientras que los principios de justicia y equidad se encaminan a la distribución de beneficios y riesgos, especialmente al determinar quiénes en la comunidad sufrirán y quiénes se beneficiarán<sup>(45)</sup>. Muchas políticas regulatorias no toman en cuenta la vulnerabilidad única de los niños, cuando establecen los límites<sup>(46)</sup>. El perfeccionamiento de estrategias de evaluación de riesgo, que tengan en cuenta las distintas etapas del desarrollo a través del cual todas las generaciones futuras deben pasar, es esencial para la salud pública. El objetivo principal es formular políticas que protejan al niño contra agentes potencialmente tóxicos y permita que ellos crezcan, se desarrollen y lleguen a la madurez sin daños. Ningún documento sobre la evaluación del riesgo que no considere las características únicas de exposición y vulnerabilidad de fetos, infantes, niños y adolescentes, puede ser considerado hoy adecuado para proteger la salud humana. La participación activa de todos los sectores de la sociedad juega un papel importante en la promoción de entornos seguros y saludables para todos<sup>(47,48)</sup>.

La salud de una sociedad puede ser juzgada por la salud de sus niños. Esto supone la identificación precoz de riesgos prevenibles y la traducción inmediata de estos conocimientos en intervenciones eficaces con políticas de protección<sup>(49)</sup>.

Esta investigación permite afirmar que *existe una exposición a genotóxicos en un grupo de niños con relación a otro*. Se debería establecer un seguimiento a través de marcadores de efecto, como frecuencia de MN una vez interrumpida la exposición, para determinar la persistencia o no de los indicadores biológicos de daño celular.

El principio de *precaución* puede invocarse cuando es urgente intervenir ante un posible peligro para la salud, o cuando éste se requiere para proteger el medio ambiente en caso de que los datos científicos no permitan una determinación completa del riesgo. En este caso, el principio de precaución debe primar e interrumpir la exposición potencial al riesgo en el menor tiempo posible, mientras tanto se obtengan datos y se definan acciones que protejan la salud de las personas y del medio ambiente en el que ellas viven.

## **En conclusión**

Se encontró mayor frecuencia de marcadores biológicos de daño celular en la población infantil potencialmente expuesta a pesticidas en el ambiente, al compararla con una población similar no expuesta. Las diferencias observadas en los marcadores celulares no pueden ser explicados por la influencia de otros factores demográficos o ambientales examinados.

## REFERENCIAS

1. Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutat Res.* 2003;543:251–72.
2. Palani-Kumar L, Panneerselvam N. Toxic effects of pesticides: a review on cytogenetic biomonitoring studies. *Medicine and Biology.* 2008;15(2):46–50.
3. Oleskey C, Fleischman A, Goldman L, Hirschhorn K, Landrigan P, Lappé M, et-al. Pesticide testing in humans: ethics and public policy. *Environ Health Perspect.* 2004;112(8):914-19.
4. Thundiyil JG, Stober J, Besbelli N, Pronczuk J. Acute pesticide poisoning: a proposed classification tool. *Bull World Health Organ.* 2008;86:205–209.
5. Wild CP, Kleinjans J. Children and increased susceptibility to environmental carcinogens: evidence or empathy? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2003;12:1389-394.
6. Garry VF. Pesticides and children. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2004;198:152–63.
7. Landrigan PJ, Kimmel CA, Correa A, Eskenazi B. Children’s health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environ Health Perspect.* 2004;112(2):257-65.
8. Neri M, Bonassi S, Knudsen LE, Sram RJ, Holland N, Ugolini D, et-al. Children’s exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage. I. Overview and critical issues. *Mutat Res.* 2006;612(1):1-13.
9. Merlo DF, Knudsen LE, Matusiewicz K, Niebro’j L, Va-há-kangas KH. Ethics in studies on children and environmental health. *Med Ethics.* 2007;33:408–13.
10. Manno M, Viau C. Biomonitoring for occupational health risk assessment (BOHRA). *Toxicol Lett.* 2010;192(1):3-16.
11. Holland N, Bolognesi C, Kirsh-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, Knasmueller S, et-al. The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutat Res.* 2008;656(1-2):93-108.
12. Bonassi S, Znaor A, Ceppi M, Lando C, Chang WP, Holland N, et-al. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis.* 2007;28(3):625-31.
13. Neri M, Ugolini D, Bonassi S, Fucic A, Holland N, Knudsen LE, et-al. Children’s exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage II. Results of a comprehensive literature search and meta-analysis. *Mutat Res.* 2006;612(1):14-39.
14. Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social. Secretaría del Ambiente. Informe de la Inspección de la Fábrica “Chemtec SAE”. Asunción: OPS/OMS; 2009.
15. Tolbert PE, Shy CM, Allen JW. Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal smears: methods development. *Mutat-Res.* 1992;271(1):69-77.
16. Norppa H, Ghita C, Falck M. What do human micronuclei contain? *Mutagenesis.* 2003;18(3):221-33.
17. Kirsch-Volders M, Fenech M. Inclusion of micronuclei in non-divided mononuclear lymphocytes and necrosis/apoptosis may provide a more comprehensive cytokinesis block micronucleus assay for biomonitoring purposes. *Mutagenesis.* 2001;16(1):51-58.
18. Thomas P, Holland N, Bolognesi C, Kirsch-Volders M, Bonassi S, Zeiger E, et-al. Buccal micronucleus cytome assay. *Nat Protoc.* 2009;4(6):825-37.
19. Fenech M, Crott J, Turner J, Brown S. Necrosis, apoptosis, cytoxicity and DNA damage in human lymphocytes measured simultaneously within the cytokinesis-block micronucleus assay: description of the method and results for hydrogen peroxide. *Mutagenesis.* 1999;14(6):605-12.
20. Celik A, Cavas T, S. Ergene-Gozukara S. Cytogenetic biomonitoring in petrol station attendants: micronucleus test in exfoliated buccal cells. *Mutagenesis.* 2003;18(5):417–21.
21. Gattás GJ, Cardoso-L de A, Medrado-Faria-M de A, Saldanha PH. Frequency of oral mucosa

- micronuclei in gas station operators after introducing methanol. *Occup Med (Lond)*. 2001;51(2):107–13.
22. Pastor S, Creus A, Xamena N, Siffel C, Marcos R. Occupational exposure to pesticides and cytogenetic damage: results of a Hungarian population study using the micronucleus assay in lymphocytes and buccal cells. *Environ Mol Mutagen*. 2002;40:101–109
  23. Pastor S, Gutierrez S, Creus A, Xamena N, Piperakis S, Marcos R. Cytogenetic analysis of Greek farmers using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and buccal cells. *Mutagenesis*. 2001;16:539–45.
  24. Suruda A, Schulte P, Boeniger M, Hayes RB, Livingston GT, Steenland K, et-al. Cytogenetic effects of formaldehyde exposure in students of mortuary science. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1993;2:453–60.
  25. Ghosh P, Basu A, Singh KK, Giri AK. Evaluation of cell types for assessment of cytogenetic damage in arsenic exposed population. *Mol Cancer*. 2008;7:45.
  26. Pastor S, Creus A, Parron T, Cebulka-Wasilewska A, Siffel C, Piperakis S, et-al. Biomonitoring of four european populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers. *Mutagenesis*. 2003;18:249–58.
  27. Hoyos LS, Carvajal S, Solano L, Rodríguez J, Orozco L, López Y, et-al. Cytogenetic monitoring of farmers exposed to pesticides in Colombia. *Environ Health Perspect*. 1996;104:535–38.
  28. Lander BF, Knudsen LE, Gamborg MO, Jarventaus H, Norppa H. Chromosome aberrations in pesticide-exposed greenhouse workers. *Scand J Work Environ Health*. 2000;26:436–42.
  29. Gómez-Arroyo S, Díaz-Sánchez Y, Meneses-Perez MA, Villalobos-Pietrini R, De-León-Rodríguez D. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutat Res*. 2000;466:117–24.
  30. Martínez-Valenzuela C, Gómez-Arroyo S, Villalobos-Pietrini R, Waliszewski S, Calderón ME. Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. [Environment International](#). 2009;35(8):1155-159.
  31. Bortoli GM, Azevedo MB, Silva LB. Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutat Res*. 2009;675(1-2):1-4.
  32. Sailaja N, Chandrasekhar M, Rekhadevi PV, Mahboob M, Rahman MF, Vuyyuri SB, et-al. Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat Res*. 2006;609(1):74-80.
  33. Ergene S, Celik A, Cavaş T, Kaya F. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ Int*. 2007;33(7):877-85.
  34. Mateuca RA, Roelants M, Lamarcovai G, Aka PV, Godderis L, Trem A, et al. Polymorphisms influence micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo. *Mutagenesis*. 2008;23(1):35-41.
  35. Bonassi S, Biasotti B, Kirsch-Volders M, Knasmueller S, Zeiger E, Burgaz S, et-al. State of the art Survey of the buccal micronucleus assay--a first stage in the HUMN(XL) project initiative. *Mutagenesis*. 2009;24(4):295-302.
  36. Bonassi S, Fenech M, Lando C, Lin YP, Ceppi M, Chang WP, et-al. Human MicroNucleus project: international database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. *Environ Mol Mutagen*. 2001;37(1):31-45.
  37. Neri M, Fucic A, Knudsen LE, Lando C, Merlo F, Bonassi S. Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. *Mutat Res*. 2003;544(2-3):243-54.
  38. Neri M, Ceppi M, Knudsen LE, Franco Merlo D, Barale R, Puntoni R, et-al. Baseline micronuclei



- frequency in children: estimates from meta- and pooled analyses. *Environ Health Perspect.* 2005;113(9):1226–1229.
39. Lamphear BP, Bearer CF. Biomarkers in paediatric research and practice. *Arch Dis Child.* 2005;90:594–600.
  40. Comisión Nacional del Medio Ambiente-Región Metropolitana. Guía para el control y prevención de la contaminación industrial: fabricación de plaguicidas, pesticidas y funguicidas. Santiago: Comisión Nacional del Medio Ambiente; 1998.
  41. International Finance Corporation [homepage on the Internet]. Washington. Environmental Health and Safety Guidelines for Pesticide Manufacturing, Formulation, and Packaging. [citado 2010 Junio 20]; 2007. Disponible en: [www.ifc.org/ifcext/enviro.nsf/Content/EnvironmentalGuidelines](http://www.ifc.org/ifcext/enviro.nsf/Content/EnvironmentalGuidelines)
  42. Asmus CI, Alonzo HG, Palácios M, Silva AP, Freitas-Filhote MI, Buosi D, et-al. Assessment of human health risk from organochlorine pesticide residues in Cidade dos Meninos, Duque de Caxias, Rio de Janeiro, Brazil. *Cad. Saúde Pública* [serie en Internet]. 2008 Abril [citado 2010 Junio 27] ; 24(4): 755-766. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-311X2008000400005&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-311X2008000400005&lng=en). doi: 10.1590/S0102-311X2008000400005.
  43. Wang G, Lu Y, Wang T, Zhang X, Han J, Luo W, et-al. Factors influencing the spatial distribution of organochlorine pesticides in soils surrounding chemical industrial parks. *J Environ Qual.* 2009;38:180-187.
  44. Alarcon WA, Calvert GM, Blondell JM, Meheler LN, Sievert J, Propeck M et-al. Acute Illnesses Associated With Pesticide Exposure at Schools . *JAMA.* 2005;294:455-65.
  45. Prieto-González EA. Deterioro genómico y manipulación genética: desequilibrio en la prioridad de las agendas públicas. *Acta Bioethica.* 2007;13(2):223-31.
  46. Bearer C. How are children different from adults? *Environ Health Perspect.* 1995;103(Suppl 6):7-12.
  47. World Health Organization. Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. Ginebra: WHO; 2006.
  48. Landrigan PJ, Kimmel CA, Correa A, Eskenazi B. Children's health and the environment: public health issues and challenges for risk assessment. *Environ Health Perspect.* 2004;112(2):257-65.
  49. Perera FP, Ilman SM, Kinney PL, Whyatt RM, Kelvin EA, Shepard P, E. et-al. The challenge of preventing environmentally related disease in young children: community-based research in New York City. *Environ Health Perspect.* 2002;110(2):197-204.