



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA  
DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE MEDICINA**



**EVALUACIÓN DE LA EXPOSICIÓN A MEZCLAS DE PLAGUICIDAS  
ORGANOCOLORADOS Y DAÑO AL ADN EN BINOMIOS  
MADRE-HIJO DE UNA COMUNIDAD AGRÍCOLA  
DEL ESTADO DE SAN LUIS POTOSÍ**

**TESIS QUE PRESENTA**

Q.F.B. Diana Lorena Alvarado Hernández

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA  
EN CIENCIAS BIOMÉDICAS BÁSICAS**

**DIRECTORA DE TESIS  
Dra. Leticia Yáñez Estrada**

Diciembre del 2008

## CRÉDITOS INSTITUCIONALES

Este trabajo se llevó a cabo en el departamento de Toxicología Ambiental de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí, bajo la dirección de la Dra. Leticia Yáñez Estrada.

Este proyecto fue apoyado por el CONACYT a través del Proyecto 53052.

También recibió apoyo del Fondo de Apoyo a la Investigación (FAI) de la UASLP Convenio No. CO7-FAI-11-13-49 y del Programa de Movilidad Estudiantil Santander-BECAS ECOES para la realización de la estancia de investigación en el Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

Tesis que presenta:

**Q.F.B. Diana Lorena Alvarado Hernández**

Para obtener el título de Maestra  
en Ciencias Biomédicas Básicas.

DIRECTOR DE TESIS

Dra. Leticia Yáñez Estrada



ASESORES INTERNOS

Dr. Roberto González Amaro

Dr. Flavio Martínez Morales



JURADO

Dra. Leticia Yáñez Estrada

Dr. Roberto González Amaro

Dr. Flavio Martínez Morales



Diciembre del 2008

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a todas las personas que hicieron posible este trabajo. Gracias a Dios que me permite llegar a este día.

Gracias a mi familia.

Gracias a mi asesora, Dra Yáñez, por sus enseñanzas, su solidaridad y todo su apoyo, sobre todo en los malos momentos.

A mis asesores, Dr. Flavio Martínez y Dr. Roberto González Amaro, por toda su comprensión, apoyo y consejo. Por enriquecer con toda su experiencia y conocimientos este trabajo.

A todos mis compañeros y amigos del Laboratorio de Toxicología y de generación, pasé muy buenos momentos con ustedes.

Mi gratitud muy especialmente a la Dra. Regina Montero y al M.V.Z. Luis Serrano, por toda su ayuda con mi trabajo, por su dedicación y tiempo.

También estoy muy agradecida con el personal del Hospital de Rioverde, quienes me ayudaron de una manera excepcional durante el muestreo que ahí llevamos a cabo, especialmente a la Dra. Julia Nieto Caraveo, gracias por sus atenciones y por todas las facilidades prestadas. A Eglantina Izar, gracias por tu apoyo, tu tiempo y tu interés.

## RESUMEN

La exposición a mezclas de plaguicidas organoclorados representa un riesgo para la salud por sus propiedades de persistencia, liposolubilidad e incorporación a la cadena trófica. Las poblaciones más vulnerables, como lo es el binomio madre-hijo, requieren de programas de vigilancia para prevenir y/o disminuir los efectos adversos generados por la exposición a estos compuestos.

Los efectos tóxicos de los plaguicidas organoclorados son variados; se han reportado efectos neurológicos, reproductivos, inmunológicos y genéticos. Éstos últimos fueron evaluados en el presente trabajo, debido a las consecuencias que eventualmente pudieran surgir a partir de un daño al ADN.

Se estudiaron 50 binomios madre-hijo de una comunidad agrícola en la zona media del Estado de San Luis Potosí, de los cuales se obtuvieron muestras de sangre materna y de cordón umbilical.

Para evaluar la exposición a plaguicidas organoclorados se cuantificaron 15 plaguicidas por cromatografía de gases con detector de captura de electrones y espectrómetro de masas, tanto en plasma materno como en plasma de cordón umbilical. El daño al ADN se evaluó empleando 2 métodos: el ensayo cometa y daño clastogénico.

El intervalo de la concentración total plasmática de los plaguicidas organoclorados fue de 5,000 a 25,500 ng/g líp. en las muestras de plasma materno.

El ensayo cometa, se evaluó utilizando el parámetro de *olive tail moment* (intensidad de fluorescencia y longitud de la cola), considerando 4.0 como valor de referencia, el 60% de las madres y el 78% de los bebés presentaron daño.

Con lo que respecta al daño clastogénico, éste se reporta como la frecuencia de micronúcleos, gemaciones y puentes nucleoplásmicos por cada 1000 células. Para las madres se obtuvo un intervalo de 0.33 a 5.00, mientras que para los recién nacidos fue de 0.0 a 8.0. La frecuencia en una población no expuesta es de 0.0 a 3.0.

Se demostró la capacidad de difusión a través de la placenta de este tipo de contaminantes, ya que se detectaron concentraciones plasmáticas en el cordón umbilical de 9,800 a 285,500 ng/g líp.

Al analizar el daño al ADN de la madre contra el daño del bebé medido con el ensayo cometa se observó una asociación estadísticamente significativa, no así cuando se comparó el daño clastogénico entre ambos.

No se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre las concentraciones plasmáticas de los plaguicidas organoclorados de las madres y el daño al ADN de los recién nacidos, lo que nos habla de una cierta protección de la madre hacia el bebé.

El 84% de las madres tomó un suplemento de ácido fólico durante el embarazo; se ha reportado que éste tiene la propiedad de evitar o reparar el daño al ADN por lo que es probable que el consumo de este nutriente fue un factor fundamental para evitar daño genotóxico a pesar de que el feto en desarrollo estuvo expuesto a los plaguicidas organoclorados.

De ser esto cierto, sería la primera vez que se comprueba la eficacia del ácido fólico en la prevención del daño genotóxico en una población no ocupacionalmente expuesta a una mezcla de plaguicidas organoclorados.

## ANTECEDENTES

La agricultura ha sido y es de las actividades económicas más importantes en la mayoría de los países de América, ya que le permite satisfacer sus necesidades más básicas; México no es la excepción, de hecho, San Luis Potosí es un Estado en el que la actividad agropecuaria tiene una gran importancia tanto económica como social, ya que el 50% o más de su población vive y depende de esta actividad ([www.sedarh.gob.mx](http://www.sedarh.gob.mx)). La aparición de plagas en los campos de cultivo ha derivado en pérdidas de la cosecha y disminución de la calidad de la misma, por lo que el hombre ha tratado, desde sus inicios, de implementar medidas que le permitan tener un mejor rendimiento en sus cultivos. La medida más importante y efectiva es el uso de plaguicidas. Los plaguicidas son sustancias que, de acuerdo a la EPA, son utilizadas para prevenir, destruir, repeler o mitigar plagas (insectos, animales, maleza y algunos microorganismos como hongos, bacterias o virus) ([www.epa.gov](http://www.epa.gov)).

Los plaguicidas pueden ser clasificados en diversos grupos. Con base a

1. Su uso: doméstico (los que se emplean para reducir pequeñas plagas en viviendas, hospitales, jardines, etc.), salud pública (para el control de enfermedades transmitidas por vectores como el paludismo y el dengue), agrícola (ampliamente utilizados para aumentar la producción en las cosechas), (*Calva L.G. y cols. 1998*)
2. El organismo contra el que ejercen su efecto: insecticidas, herbicidas, fungicidas, rodenticidas, bactericidas, avicidas, etc. (*Calva L.G. y cols. 1998*)
3. Estructura química: compuestos organoclorados, carbamatos, derivados del ácido fenoxiacético, piretroides, bipiridilos, derivados del cloronitrofenol, compuestos organofosforados (*Calva L.G. y cols. 1998*).
4. Toxicidad: Ia. Extremadamente peligroso, Ib. Altamente peligroso,

en reacciones de decoloración y deshidrogenación que en algunos casos derivan en moléculas polares y menos tóxicas que pueden ser excretadas en la orina en forma de conjugados con ácido glucurónico, como es el caso del isómero gamma del hexaclorociclohexano (llamado también lindano) (ATSDR, 2003). A diferencia de este compuesto, existen otros, como el DDT, que genera metabolitos más tóxicos como el DDE y el DDE-Me SO<sub>2</sub>. Tanto el DDT como sus metabolitos DDE y DDE Me-SO<sub>2</sub>, así como el hexaclorobenceno y el isómero β del hexaclorociclohexano, son moléculas altamente liposolubles (ATSDR, 2003). En un estudio realizado en mujeres parturientas del Estado de Veracruz, se evidenció la presencia de plaguicidas organoclorados tanto en tejido adiposo, leche y suero de la madre, así como en la sangre del cordón umbilical, lo que implica una importante exposición fetal durante la gestación y neonatal durante la lactancia (Waliszewski S.M., 2001).

En otro trabajo, también se demostró la alta exposición a plaguicidas organoclorados, específicamente a DDT y sus metabolitos DDE, DDD y DDE-MeSO<sub>2</sub> en mujeres habitantes de zonas endémicas de paludismo (Sureste Mexicano, Huasteca Potosina). Se detectó en plasma materno niveles de hasta 26,200 ng/g líp, mientras que en plasma de cordón umbilical la concentración máxima detectada fue de 4,400 ng/g líp, con lo que se corrobora la capacidad de estos compuestos de atravesar la barrera placentaria, por lo que desde la etapa gestacional, la madre se vuelve una fuente importante de exposición para el producto. En leche materna se encontraron concentraciones de hasta 6,912 ng/g líp, con lo que se observa que también existe una exposición postnatal (López-Guzmán, 2007). De aquí la gran importancia de estudiar binomios madre-hijo.

Algunos plaguicidas organoclorados se eliminan del organismo a través de la orina (en el caso de los que forman moléculas más polares a través de reacciones de conjugación), de heces, semen y como ya se mencionó, a través de la leche materna. (ATSDR, 2003).

Los efectos tóxicos que se han observado por la exposición a plaguicidas organoclorados en modelos animales y en algunos estudios en humanos son: neurológicos (Bowers W. y cols. 2004), hepáticos (ATSDR, 2003), efectos endocrinos (ATSDR, 2003), reproductivos (ATSDR, 2003) y en algunos casos, cáncer (Dich J. y cols. 1997, Payne y cols. 2001). Estos compuestos tienen la capacidad de generar radicales libres induciendo estrés oxidativo, peroxidación de lípidos, oxidación del ADN y proteínas, lo que puede derivar en apoptosis (Boelsterli A. 2003).

En cuanto a hepatotoxicidad, se sabe que algunos organoclorados, como el isómero gamma del hexaclorociclohexano, ejercen su mecanismo de acción a través de la generación de estrés oxidativo. En animales de experimentación, esta toxicidad se manifiesta como peroxidación lipídica así como una disminución en la actividad de las enzimas superóxido dismutasa y catalasa (ATSDR.2003)

La mayoría de los plaguicidas organoclorados son considerados disruptores endocrinos, tal es el caso de los isómeros beta y gama del hexaclorociclohexano, clordano, DDT, endosulfán, hexaclorobenceno, metoxiclor y toxafeno (ATSDR. 2003), mientras que otros han sido señalados como posibles causantes de cáncer, aunque esta asociación está aún muy discutida.

En un estudio de casos y controles realizado en China, se reportó la exposición al DDT como un alto factor de riesgo para desarrollar cáncer de hígado (Mc

*Glynn K.A y cols. 2006*), mientras que estudios realizados en Estados Unidos han reportado que la exposición a plaguicidas organoclorados puede ser causante de cáncer de páncreas (*Hoppin J. 2000*).

En un estudio realizado en una población ocupacionalmente expuesta a plaguicidas organoclorados, se reportó la asociación entre la exposición a algunos plaguicidas como clordano, heptacloro, dieldrin, lindano y toxafeno con el incremento del riesgo a desarrollar algún tipo de cáncer, entre ellos el de colon, pulmón y leucemia (*Purdue M.P. y cols. 2007*).

### **EFEECTO GENOTÓXICO**

El efecto genotóxico causado por la exposición a mezclas de plaguicidas organoclorados es uno de los más estudiados tanto *in vitro* como en modelos animales. La evaluación de riesgo a la salud por la exposición a mezclas de plaguicidas es compleja; en un estudio realizado *in vitro* por *Payne y cols. (2001)*, se observa la capacidad de una mezcla de plaguicidas organoclorados (*o,p'*-DDT, *p,p'*-DDE,  $\beta$ -hexachlorociclohexano y *p,p'*-DDT) de inducir proliferación celular, lo que no ocurre cuando los mismos plaguicidas se evalúan de forma individual.

Con lo que respecta a estudios realizados en humanos, *Castillo-Cadena y cols. (2006)* evaluaron el daño genotóxico (utilizando el ensayo cometa) en una población ocupacionalmente expuesta a una mezcla compleja de plaguicidas, en la cual se encontraban algunos plaguicidas organoclorados. Al realizar la comparación con el grupo control, se observó un mayor daño genotóxico en la población expuesta.

*Montero-Montoya R. y col.s (2006)* evaluaron una zona agroindustrial en el estado de Tlaxcala, en la que la población está altamente expuesta a

compuestos químicos, debido tanto a la actividad agrícola (plaguicidas) como a la industrial (solventes). Los resultados muestran un aumento en la frecuencia de micronúcleos, específicamente en la población que habita alrededor de dos ríos en donde se llevan a cabo descargas de estos desechos tóxicos.

Con lo que respecta a estudios realizados en población no ocupacionalmente expuesta, principalmente en zonas endémicas de paludismo, en donde la exposición a plaguicidas organoclorados, sobre todo a DDT y a sus metabolitos, es muy importante, *Yáñez y cols. (2004)* estudiaron mujeres de la Huasteca Potosina en las que se evaluó el daño genotóxico empleando el ensayo cometa. Al correlacionar la concentración plasmática de los DDT's con la longitud de la cola del cometa, se demostró una asociación estadísticamente significativa entre la exposición a DDE y daño al ADN.

Un estudio realizado en una población infantil del Sureste Mexicano, expuesta a DDT's, evaluó el daño genotóxico (medido como apoptosis). Los resultados muestran una asociación significativa entre las concentraciones de DDE y el porcentaje de células apoptóticas. (*Pérez-Maldonado y cols. 2006*)

Los reportes en la literatura relacionan el daño genotóxico por la exposición principalmente a DDT en mujeres y niños, sin embargo, son escasos los que consideran al binomio madre-hijo. Esta relación es de gran importancia ya que la exposición a sustancias genotóxicas durante el embarazo muy probablemente se verá reflejado negativamente en la etapa postnatal del niño que está expuesto desde la gestación (*Goldschalk R.W. y cols. 2007*).

Con base en los antecedentes mencionados, y a la falta de información en cuanto a la exposición a plaguicidas organoclorados y su asociación con daño al ADN en poblaciones vulnerables, se planteó como objetivo en el presente trabajo de investigación, evaluar los efectos genotóxicos por la exposición a

mezclas de plaguicidas organoclorados en una población vulnerable como lo es el binomio madre-hijo.

## **METODOLOGÍA**

### **1. Población de Estudio**

Se colectaron muestras de sangre materna y de cordón umbilical de mujeres que fueron atendidas de parto en el Hospital General del Municipio de Rioverde, San Luis Potosí, obteniendo una población total de 50 binomios madre-hijo.

La muestra de sangre materna se obtuvo después del parto, previa autorización mediante firma de consentimiento informado así como también se colectó la muestra de sangre del cordón umbilical.

A cada madre se le aplicó un cuestionario. Éste constó de 6 secciones: datos generales (nombre, fecha de nacimiento, domicilio actual y anterior, ocupación), datos ginecológicos (número de embarazos, número de partos, número de abortos, etc), datos del recién nacido (talla, peso, estado de salud general, etc.), antecedentes clínicos de la madre (estado de salud al momento de la colecta de la muestra, antecedentes de alguna enfermedad como tuberculosis, diabetes, etc.), hábitos alimenticios de la madre (consumo de alimentos con alto contenido en grasa, pescado, etc), antecedentes de exposición a plaguicidas.

### **2. Muestras Biológicas**

Se tomaron 12 ml de sangre venosa de la madre en 2 tubos Vacutainer de vidrio con heparina sódica como anticoagulante, mientras que del cordón umbilical se colectaron 12 ml de una mezcla de sangre venosa y arterial en tubos vacutainer con heparina sódica (2 tubos de 6 ml cada uno).

De las muestras de sangre tanto de la madre como del cordón umbilical se tomó una alícuota de 20  $\mu$ l de uno de los tubos para realizar el ensayo cometa

y el resto fue centrifugado a 2500 rpm por 5 minutos para la obtención del plasma, el cual fue almacenado en congelación hasta la determinación de los plaguicidas organoclorados. El otro tubo fue enviado al Departamento de Toxicología de la UASLP para realizar el cultivo de los linfocitos, cosecha de los mismos, así como la fijación con solución de Carnoy, para su posterior análisis para evaluar daño clastogénico.

### **3. Determinación de Lípidos**

Se realizó mediante un método colorimétrico utilizando un kit de lípidos totales de *Spinreact*. Su principio está basado en la formación de iones carbonio (a partir de la reacción entre los lípidos insaturados y ácido sulfúrico) los cuales a su vez reaccionan con fosfo vainillina para dar una coloración que es proporcional a la presencia de lípidos en la muestra. Los lípidos fueron determinados en las muestras problema y en el blanco de referencia. Éstos se reportaron como gramos de lípidos / L de muestra.

### **4. Ensayo Cometa**

La preparación de las laminillas se realizó de acuerdo al método descrito por *Singh y cols (1988)*. La evaluación se llevó a cabo utilizando el software *Komet v. 4.0*. Cada muestra fue evaluada por duplicado, analizando 50 células por cada laminilla. El daño al ADN se reportó como *Olive Tail Moment*.

### **5. Evaluación del Daño Clastogénico**

Se realizó de acuerdo al método reportado por *Montero-Montoya. y cols. (1997)* las muestras de cordón umbilical se analizaron por triplicado y las de las madres por duplicado. Se evaluaron 1000 células por muestra. Los resultados

fueron reportados como frecuencia de micronúcleos (MN), gemaciones y puentes nucleoplásmicos por 1000 células.

## **6. Cuantificación de los Plaguicidas Organoclorados**

Las muestras fueron analizadas por cromatografía de gases de acuerdo al método descrito por *Hovander y cols. (2000)*. Éstas se agruparon en lotes de 20 cada uno. En cada lote se incluyó un estándar de control de calidad (plasma blanco proveniente de un donador clínicamente sano, fortificado con 8 ng/ml de la mezcla de los plaguicidas organoclorados más 10 ng/ml de CB-189 como estándar interno).

Se construyeron gráficas de control de calidad a partir de la media de la concentración obtenida de tres réplicas de los “estándares de control de calidad”  $\pm 2$  desviaciones estándar. El objetivo de estas gráficas fue monitorear la precisión durante el análisis de las muestras problema.

El análisis de las muestras se realizó a doble ciego y la concentración se expresó en ng/g lípidos.

### **6.1 Extracción**

A las muestras de plasma, previamente descongeladas a temperatura ambiente se les adicionó CB-189 como estándar interno en una concentración final de 10 ng/ml, las muestras se dejaron en refrigeración por al menos 12 horas. Posteriormente se desproteinizaron utilizando alcohol desnaturalizado y sulfato de amonio saturado. Se realizaron tres extracciones líquido-líquido con hexano, centrifugando cada vez a 2300 rpm durante 8 minutos, para obtener la fase orgánica. Posteriormente se realizó la limpieza de la muestra en columnas de florisil (previamente activada con cloruro de metileno y acetona) empleando

dos columnas por muestra para disminuir el efecto de matriz. Los analitos se eluyeron con una mezcla de cloruro de metileno-hexano (30:70), éste se concentró hasta un volumen aproximado de 200  $\mu\text{l}$ , se realizó cambio de solvente a hexano a 25°C y corriente de nitrógeno. El volumen final fue transferido a un vial cromatográfico y aforado a 100  $\mu\text{l}$  con hexano para posteriormente ser analizado por cromatografía de gases.

## **6.2 Análisis Cromatográfico**

Se cuantificaron los plaguicidas:  $\alpha$ -Endosulfán,  $\beta$ -Endosulfán y DDT por cromatografía de gases con detector de captura de electrones (CG-DCE), mientras que  $\alpha$ -HCH,  $\beta$ -HCH,  $\gamma$ -HCH, HCB, aldrin, heptacloro epóxido, oxiclordano, DDE, trans clordano, cis clordano, cis nonaclor y mirex por cromatografía de gases con detector de espectrometría de masas (CG-MS). Para los plaguicidas analizados por CG-DCE, la identificación de los mismos se realizó en base a su tiempo de retención; se empleó una columna DB-608 de 30 metros de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de la película; se utilizó una temperatura de 210°C en el inyector y de 300 °C en el detector. La temperatura del horno fue de 150°C durante 1 minuto, seguida de una rampa de temperatura de 10°C/min hasta 270°C y otra de 20°C/min hasta 285°C. Se utilizó el modo de inyección splitless, helio como gas de arrastre (1 ml/min) y nitrógeno en el make up (30 ml/min).

Para los plaguicidas analizados por CG-MS, la identificación de los diferentes plaguicidas se hizo por el método de ión selectivo, se empleó una columna *HP-5MS* de 30 metros de longitud, 0.25 mm de diámetro interno y 0.25  $\mu\text{m}$  de espesor de la película, la temperatura del inyector fue de 270°C, se utilizó el modo de inyección splitless pulsado, presión de 10.5 psi y helio como gas

acarreador (1 ml/min). En el horno se utilizó una temperatura inicial de 100 °C, que se mantuvo por 2 minutos, seguida de 4 programas de temperatura: 20°C/min hasta 200°C; 10°C/min hasta 245°C; 4°C/min hasta 310°C.

Para determinar la concentración de los plaguicidas organoclorados en las muestras problema se emplearon curvas de calibración en plasma.

### ***7. Análisis Estadístico***

Los datos fueron transformados a logaritmo para ajustarlos a una distribución normal. Se empleó la correlación de Pearson para analizar la asociación entre la concentración plasmática de la sumatoria de los plaguicidas organoclorados de la madre contra la concentración en cordón umbilical, daño al ADN de la madre contra daño al ADN del bebé, así como también para evaluar la influencia de la concentración plasmática de los plaguicidas de la madre sobre el daño al ADN del bebé. Se empleó el paquete estadístico STATISTICA versión 6.0.

## RESULTADOS

Las principales características de la población de estudio, se resumen en las tablas 1, 2 y 3.

Los resultados obtenidos de los diferentes indicadores de las muestras de sangre de cordón umbilical son reportados como “datos del recién nacido”.

**Determinación de plaguicidas organoclorados:** Se cuantificaron los niveles plasmáticos por cromatografía de gases de 15 plaguicidas organoclorados:  $\alpha$ -Hexaclorociclohexano, Hexaclorobenceno,  $\beta$ -Hexaclorociclohexano,  $\gamma$ -hexaclorociclohexano (lindano), aldrin, heptacloro epóxido, oxiclordano, trans-clordano, cis-clordano, DDE, cis-nonaclor y mirex por CG-MS (utilizando el modo de inyección splitless pulsado), mientras que:  $\alpha$ -Endosulfán,  $\beta$ -Endosulfán y DDT fueron cuantificados por CG-DCE, debido a que éstos tres últimos son compuestos termolábiles y pueden “romperse” durante el análisis cromatográfico; se utilizó el modo de inyección split/splitless y el detector de captura de electrones, ya que éste es más sensible para estos compuestos. La validación de los métodos instrumental y analítico se realizó en cada uno de los equipos, ambos cumplieron con los lineamientos establecidos por la EURACHEM (datos no mostrados) (EURACHEM, 2007).

La concentración total de plaguicidas en las muestras plasmáticas fue de 5,000 ng/g líp hasta 25,500 ng/g líp en las madres, mientras que en los recién nacidos se tuvo un intervalo de 9,800 ng/g líp a 285,500 ng/g líp. Solo en una muestra, correspondiente a un recién nacido, se detectaron los 15 plaguicidas organoclorados. Con lo que respecta a las muestras de plasma materno, en el 100% se encontró HCB,  $\beta$ -HCH, aldrin, heptacloro epóxido y oxiclordano, mientras que trans-clordano, cis-clordano y cis-nonaclor no fueron detectables

en ninguna de estas muestras.  $\alpha$ -HCH fue detectable en el 98% de las muestras de plasma materno,  $\gamma$ -HCH en el 96%, mientras que DDE, mirex,  $\alpha$ -Endosulfán y  $\beta$ -Endosulfán fueron detectables en el 88% de las muestras, y finalmente, el DDT se encontró en el 66%.

En las muestras de plasma de cordón umbilical, por su parte, se encontró que HCB,  $\beta$ -HCH, aldrin y heptacloro epóxido fueron detectables en el 100% de las muestras, oxiclordano lo fue en el 99%,  $\alpha$ -HCH,  $\gamma$ -HCH en el 96%, DDE y mirex en el 94%,  $\alpha$ - Endosulfán,  $\beta$ -Endosulfán y DDT en el 76, 86 y 54% respectivamente. Cis-clordano se detectó en el 2% de las muestras y finalmente trans-clordano y cis-nonaclor se cuantificaron en el 0.5%.

En la tabla 4 se muestra la concentración plasmática de cada uno de los plaguicidas organoclorados analizados tanto en las madres como en los recién nacidos (cordón umbilical) y la sumatoria de los mismos. La concentración total de los plaguicidas organoclorados en plasma materno fue estadísticamente menor que la de plasma de cordón umbilical, ( $p < 0.008$ ).

En la figura 2 se muestra la asociación entre la sumatoria de la concentración de los plaguicidas presentes en el plasma materno y en el plasma de cordón umbilical. Como se puede observar, no existe una asociación estadísticamente significativa ( $p = 0.36$ ), sin embargo es posible apreciar una tendencia positiva entre ambas poblaciones.

**Ensayo cometa:** Debido a que no se cuenta con una población de referencia, se tomó un valor de *olive tail moment* de 4.0 como normal, en función a un estudio realizado en una población infantil de una zona minera del altiplano de San Luis Potosí (Jasso P. y cols. 2007). En la tabla 5 se muestra el daño al

ADN evaluado con el ensayo cometa de los binomios madre-hijo. Como se puede observar, el porcentaje por arriba de 4.0 de los recién nacidos fue mayor que el de las madres aunque esta diferencia no es estadísticamente significativa.

En la fig. 3 se compara el daño al ADN evaluado por el ensayo cometa entre la madre y el bebé (cordón umbilical); se observa una asociación positiva y estadísticamente significativa ( $p < 0.001$ ) es decir un aumento en el daño al ADN en la madre se ve directamente reflejado en el recién nacido. Los valores por arriba de 0.6 (log de 4.0), de acuerdo al valor establecido como referencia, son considerados como daño al ADN.

**Daño clastogénico:** se analizaron 1000 células por muestra tanto de plasma materno como de plasma de cordón umbilical. Se evaluó la frecuencia de micronúcleos, chromatin buds (gemaciones) y puentes nucleoplásmicos. El daño clastogénico se reporta como la sumatoria de estos tres indicadores. De acuerdo con la literatura, un recién nacido no debería presentar micronúcleos, sin embargo en la tabla 6 en la que se muestran los resultados obtenidos, se puede observar que el 70% de los bebés presentaron daño clastogénico, aunque éste fue menor que el de sus madres.

En la fig. 4 se compara el daño clastogénico entre la madre y el bebé. En este caso no se observa asociación, es decir, el daño observado en el bebé es independiente al de la madre. Sin embargo el 6% de las madres y el 12% de las muestras de cordón umbilical presentaron daño por arriba del valor de referencia ( $\log 3 = 0.47$ ).

No se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la concentración plasmática de los plaguicidas y daño al ADN, tanto en la madre

como en el recién nacido (datos no mostrados). Por lo que para definir si la exposición a plaguicidas de la madre fue determinante en la magnitud de daño al ADN en el bebé (evaluado por el ensayo cometa), se construyó la fig. 5, en la cual se muestra la asociación entre ambos factores. De acuerdo al valor obtenido de  $r$  (- 0.07) y  $p$  (0.63), no existe una asociación significativa. Sin embargo, podemos observar tanto en la fig. 3 como en la tabla 5, que el 78% de las muestras de cordón umbilical presentaron un valor por arriba de 4.0, punto establecido como referencia.

En la fig. 6 se muestra la concentración de los 15 plaguicidas organoclorados en plasma materno contra el daño al ADN en el plasma de cordón umbilical medido como daño clastogénico. No se observa una asociación estadísticamente significativa, pero es de llamar la atención que el 54% de los bebés presentaron daño, 7 de ellos por arriba de lo establecido como normal, que es de 0 a 3 micronúcleos ( $\log 3 = 0.477$ , línea roja marcada en la figura), y en uno de los bebés se detectó una frecuencia de 6 micronúcleos, valor muy alto para un recién nacido, que inclusive ninguna de las madres presentó.

## DISCUSIÓN

La exposición a mezclas de plaguicidas organoclorados tiene un gran impacto en grupos vulnerables como el binomio madre-hijo, por los efectos a la salud en una etapa temprana. Se sabe que el contacto durante la etapa fetal con xenobióticos puede llegar a traducirse en un deterioro de la salud en etapas tardías de la vida, incluyendo problemas neurológicos, reproductivos, metabólicos, genéticos e incluso la muerte temprana (*Mc Millen I. C y cols. 2008*). De ahí la importancia de realizar en este tipo de poblaciones la evaluación del daño temprano a la salud por la exposición a mezclas de plaguicidas, con la finalidad de generar programas de intervención que permitan disminuir los efectos tóxicos. En el presente trabajo se evaluó la exposición no ocupacional a 15 plaguicidas organoclorados y el daño genotóxico en 50 binomios madre-hijo de una comunidad agrícola.

Los resultados obtenidos de las concentraciones plasmáticas de los plaguicidas organoclorados en las madres demostraron que éstas están expuestas a los insecticidas analizados, a pesar de que el uso de algunos de ellos ha sido restringido o prohibido en México, tal es el caso del DDT, el cual no se emplea oficialmente en nuestro País desde el año 2000 por lo que seguir detectándolo es un reflejo de su alta persistencia y su capacidad de incorporarse a la cadena trófica y como consecuencia la población está expuesta al DDT residual (*Casarett and Doull's. 2001*). Otro hallazgo relevante fue el haber detectado plaguicidas organoclorados en el plasma del cordón umbilical, si bien ya se ha demostrado que algunos de estos tienen la habilidad de difundir a través de la placenta (*Waliszewski S.M. 2000*), no se tienen reportes del comportamiento de los mismos cuando se encuentran en mezcla. Es importante resaltar que la capacidad de difusión a través de la placenta de estos compuestos, convierten

a la madre en la fuente de exposición para el feto en desarrollo (*Casarett and Doull's. 2001*). En algunos binomios la concentración plasmática en cordón umbilical fue mayor que la detectada en el plasma materno, lo que sugiere que la cinética de difusión de estos compuestos se ve afectada cuando se encuentran en mezcla, facilitándose la misma para algunos de ellos, por lo que el riesgo para el feto puede verse incrementado.

Un estudio realizado en Japón en una población de mujeres habitantes de una zona urbana, *Fukata H. y cols (2005)* reportó la presencia de plaguicidas organoclorados (HCB, HCH, DDT, DDE, cis-clordano, trans-clordano, oxiclordano, trans-nonaclor, dieldrin, endosulfán, heptacloro, heptacloro epóxido), tanto en plasma materno como en plasma de cordón umbilical. La concentración de éstos es inferior en una magnitud de 10 veces con respecto a los reportados en nuestro estudio, lo que corrobora la alta exposición a plaguicidas en poblaciones que viven en una zona agrícola, además de la capacidad que tienen este tipo de contaminantes de transportarse de zonas rurales a urbanas, sitios en donde normalmente no son aplicados, por lo que la fuente de exposición en ambas zonas será diferente.

En otro estudio realizado en mujeres suecas, habitantes de una zona con un alto consumo de pescado (*Wycklund Glynn A. y cols. 2002*), las concentraciones plasmáticas detectadas de compuestos organoclorados fueron similares a las encontradas en nuestro estudio, con ello se evidencian dos características de estos compuestos, uno, el efecto saltamontes (movimiento de zonas cálidas a frías), ya que en lugares cercanos al polo norte, esta clase de plaguicidas no son aplicados, y dos, su capacidad de incorporarse a la cadena trófica, en este estudio el pescado fue la principal fuente de exposición.

Para el efecto genotóxico, se utilizaron dos diferentes indicadores: el ensayo cometa y el daño clastogénico. El ensayo cometa, es una prueba sencilla y sensible que permite detectar daño temprano al ADN (Lu y. y cols. 1997) mientras que el ensayo para detectar daño clastogénico, permite identificar alteraciones más severas como la ruptura o malsegregación de los cromosomas durante la anafase lo que genera la formación de micronúcleos, gemaciones (chromatin buds) y puentes nucleoplásmicos (Fenech M. y cole. 1999). En el presente estudio, el ensayo para detectar daño clastogénico se realizó de acuerdo a la metodología desarrollada por Montero-Montoya R. y cols (1997), la cual a diferencia de la mayoría de los estudios reportados en la literatura que emplean citocalasina-B, usa bromodesoxiuridina.

De acuerdo con reportes en la literatura, algunos plaguicidas organoclorados como el DDT y sus metabolitos causan daño al ADN como apoptosis (Yáñez y cols. 2004., Pérez-Maldonado I. y cols. 2006), sin embargo no se cuentan con antecedentes del efecto genotóxico inducido por la exposición a mezclas de éstos.

Si bien es cierto que el ensayo cometa es un indicador de daño inespecífico, éste nos permite detectar daño temprano al ADN. Con respecto a la evaluación de daño genotóxico por el ensayo cometa, se observó una asociación positiva entre el daño en la madre y el daño en el bebé (cordón umbilical), aunque ésta no fué lineal (Fig. 3). Si se considera como valor de referencia de *olive tail moment* igual a 4.0, el 60% de las madres y el 78% de los recién nacidos presentaron daño al ADN (Tabla 5). Mientras que la evaluación de daño clastogénico, permite detectar un daño específico y dependiendo de la magnitud, éste puede ser irreversible. Teóricamente se asume que el recién nacido, al no estar expuesto a agentes tóxicos externos, no debe presentar

daño clastogénico. Sin embargo, cuando la madre se convierte en fuente de exposición, los bebés nacen con un daño importante.

*Grujičić D. y cols (2008)*, reportaron la frecuencia de micronúcleos en sangre de cordón umbilical de una muestra de recién nacidos, que habían sido expuestos durante la gestación al fármaco verapamilo. La población control mostró una frecuencia de  $3.30 \pm 2.63$  (0-9 MN/1000 células), mientras que en los expuestos al fármaco se observó una frecuencia de  $8.13 \pm 2.19$  MN.

*Miloevi –Djordjevi O. y cols (2004)*, estudiaron a un grupo de recién nacidos expuestos a bifenilos policlorados (compuestos organoclorados) generados por una serie de bombardeos en Serbia. El muestreo se llevó a cabo antes (población control) y después del bombardeo (grupo de expuestos). Se analizó la presencia de micronúcleos en muestras de sangre periférica de los recién nacidos, encontrándose una frecuencia para el grupo control de  $5.77 \pm 0.85$  (1-13 MN/1000 células), mientras que para los expuestos fue de  $8.11 \pm 0.85$  (1-23 MN/1000 células).

*Levario y cols (2005)* estudiaron la frecuencia de micronúcleos en sangre de cordón umbilical de recién nacidos, clínicamente sanos, no expuestos a agentes tóxicos y de recién nacidos de madres habitantes de una zona agrícola expuestas a plaguicidas. Los resultados muestran, para el primer grupo (control) una frecuencia de  $1 \pm 0.75$  (0-3 MN/100 células), y para el grupo expuesto se encontró una frecuencia de  $2 \pm 1.5$  (0-5 MN/1000 células). Mientras que en las madres no expuestas se registró una frecuencia de  $3.7 \pm 1.4$  (2-7 MN/1000 células), y en el grupo de madres expuestas, la frecuencia fue de  $4.5 \pm 2.4$  (0-9 MN/1000 células).

Al comparar nuestros resultados con los reportados por *Levario y cols*, que fue quien estudió a una población expuesta a plaguicidas, ninguna de las madres evaluadas en nuestro trabajo sobrepasa el valor de 3.7 MN (valor reportado en la población no expuesta), mientras que el 18.75 % de los bebés se encuentra por arriba del valor establecido como de referencia (1 MN).

La concentración detectada de los plaguicidas en el plasma materno no reflejó la magnitud de daño al ADN en el recién nacido (empleando ambas metodologías). Es preocupante que algunos bebés presentaron daño de hasta cuatro veces superior al de una población no expuesta, no obstante que la concentración plasmática de los plaguicidas organoclorados de sus madres fueron de las más bajas (5,441 ng/g líp) .

Con respecto al daño clastogénico, el 14% tuvo un daño incluso mayor al esperado para una persona adulta. Aunado a lo anterior, el recién nacido que presentó el mayor daño clastogénico (MN = 8), su madre tuvo la menor concentración de plaguicidas en plasma (5,441 ng/g líp).

Esta falta de asociación puede deberse a diversos factores, como el nivel nutricional de la madre, exposición a otros contaminantes (plaguicidas organofosforados) no reportados en el cuestionario, algún factor de susceptibilidad por parte del neonato e incluso a la presencia de polimorfismos, entre los mas reportados están los del citocromo *P-450* y los de la familia de las enzimas de glutatión-S-transferasa (*Liu Y.J. y cols. 2006., Bolognesi C. 2003., Montero-Montoya R. y cols 2006*).

El índice obtenido al dividir el promedio del daño clastogénico de la madre entre el del recién nacido (1.78 / 1.27) fue de 1.4, lo que indica que el daño en

para establecer la administración de este compuesto como medida de prevención de daño genotóxico.

## BIBLIOGRAFÍA

ATSDR Tox Profiles. 2003

Boelsterli Urs A. Mechanistic Toxicology, The molecular basis of how chemicals disrupt biological targets. Switzerland. Taylor & Francis Group, 2003.

Bolognesi C. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research* **543**. 251–272, 2003.

Bonassi S., Znaor A., Ceppi M., Lando C., Chang W., Holland N., Zeiger E., Ban S., Barale R., Bigatti M., Fabianova E., Fucic A., Bolognesi C., Martelli A., Migliore L., Mirkova E., Norppa H., Fenech M. An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis* Advance access published September 14, 2006.

Bowers. W.J., Nakai J.S., Chu I., Wade M., Moir D., Yagminas Al., Gill S. Early Developmental Neurotoxicity of a PCB/Organochlorine mixture in rodents alter Gestational and Lactational Exposure. *Toxicological Sciences*. **77**. 51-62, 2004.

Calva L.G., Torres M.R. Plaguicidas organoclorados. *Contactos* **30**, 35-46, 1998.

[www.cancer.gov](http://www.cancer.gov) revisado enero, 2008

Casarett and Doull's. TOXICOLOGY The Basic Science of Poisons. Capitulo 22. pag 770. Ed. Mc Graw Hill. 6a. Edición, 2001.

Castillo-Cadena J., Tenorio-Vieyra L.E., Quintana-Carabia A.I., García-Fabila M.M., Ramírez-San Juan E., Madrigal-Bujaidar E. Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* . 1-12, 2006.

[www.croplife.ca/english/pdf/Analyzing2003/T1History.pdf](http://www.croplife.ca/english/pdf/Analyzing2003/T1History.pdf) ("A History of Crop Protection and Pest Control in our Society. Analyzing the risks, balancing the benefits: The facts on pesticides and human safety), revisado mayo, 2008.

Dich. J., Zahm S.H., Hanberg A., Adami H.-O. Pesticides and cancer. *Cancer Causes and Control*. **8**. pp 420-443, 1997

[www.epa.gov/pesticides/](http://www.epa.gov/pesticides/) revisado mayo, 2008

[www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/handbook](http://www.epa.gov/oppfead1/safety/spanish/healthcare/handbook/handbook) revisado mayo, 2008

Fenech M., Aitken C., Rinaldi J. Folate, vitamin B12, homocysteine status and DNA damage in young Australian adults. *Carcinogenesis*. **19**. 1163-1171, 1998.

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

Fenech M., Chang W.P., Volders-Kirsch M., Holland N., Bonassi S., Zeiger E. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*. **534**. 63-75, 2003.

Godschalk R.W., Kleinjans J. C. Characterization of the Exposure–Disease Continuum in Neonates of Mothers Exposed to Carcinogens during Pregnancy. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* . **102**. 109-117, 2007.

Hoppin J. A., Tolbert P.E., Holly E.A., Brock J.W., Korrock S.A., Altshul L.M., Zhang R.H., Bracci P.M., Burse V.W. Pancreatic Cancer and serum Organochlorine levels. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention* **9**. 199-205, 2000.

Jasso Pineda Y. Genotoxicidad en niños que viven en zonas minero-metalúrgicas. Tesis de Doctorado del Programa de Posgrado en Ciencias Biomédicas Básicas. Facultad de Medicina, 2007.

Lee E., Oh E., Lee J., Sul D., Lee J. Use of the tail moment of the lymphocytes to evaluate DNA damage in human biomonitoring studies. *Toxicological Sciences*. **81**, 121-132, 2004.

Levario-Carrillo M., Sordo M., Rocha F., González-Orta C., Amato D., Ostrosky-Wegman P. Micronucleus frequency in human umbilical cord lymphocytes. *Mutation Research* **586**. 68-75, 2005.

Liu Yi-Jie, Huang Pei-Lin, Chang Yu-Fen., Chen Yen-Hui, Chiou Yu-Hu, Xu Zong-Lin, Wong Ruey-Hong. *GSTP1* Genetic polymorphism is associated with higher risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* **15**, 2006

López Guzmán Olga Dania. Tesis de Doctorado: Determinación de los niveles de exposición perinatal al DDT y sus metabolitos a través de sangre y leche materna en comunidades endémicas de paludismo. Programa Multidisciplinario de Posgrado en Ciencias Ambientales, 2007.

Lu Y., Morimoto K., Takeshita T. Single-Cell Gel Electrophoresis (SCG) - A Review and Discussion. *Environmental Health and Preventive Medicine*. **2**. 53-58, 1997.

Lu Y., Morimoto K., Takeshita T., Takeuchi T., Saito T. Genotoxic Effects of a-Endosulfan and b-Endosulfan on human HepG2 cells. *Environmental Health Perspectives*. **108**. No. 6, 2000.

Mc Glynn K.A., Abnet C.C., Zhang M., Sun X.-D., Fan J.-H., O'Brien T.R., Wei W.Q., Ortiz-Conde B.A., Dawsey S.M., Weber J.P., Taylor P., Katki H., Mark S., Qiao Y.-L. Serum Concentrations of 1,1,1-Trichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethane (DDT) and 1,1-Dichloro-2,2-bis (p-chlorophenyl) ethylene (DDE) and Risk of Primary Liver Cancer. *Journal of the National Cancer Institute*, Vol. 98, No. 14, July 19, 2006

Mc Millen I.C., Mc Laughlin S., Muhlhausler B.S., Gentili Sh., Duffield J., Morrison J L. Developmental Origins of Adult Health and Disease: The Role of Periconceptual and Foetal Nutrition. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*. **102**. 82–89, 2008

Montero-Montoya R., Serrano L., Araujo A., Dávila V., Ponce J., Camacho R., Morales E., Méndez A. Increased cytogenetic damage in a zone in transition from agricultural to industrial use: comprehensive analysis of the micronucleus test in peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*. **21** No. 5. pp 335-342, 2006.

Montero-Montoya R., Serrano G. L., Ostrosky-Wegman P. In Vitro induction of micronuclei in lymphocytes: the use of bromodeoxyuridine as a proliferation marker. *Mutation Research* **391**. 135-141, 1997.

[www.pan-uk.org/pestnews/actives/endocrin.htm](http://www.pan-uk.org/pestnews/actives/endocrin.htm) revisado enero, 2008

Payne J., Scholze M., Kortenkamp A. Mixtures of Four Organochlorines Enhance Human Breast Cancer Cell Proliferation. *Environmental Health Perspectives* **109**. 391–397, 2001.

Pérez-Maldonado I., Díaz-Barriga F., De la Fuente H., González-Amaro R., Calderón J., Yáñez L. DDT induces apoptosis in human mononuclear cells in Vitro and is associated with increased apoptosis in exposed children. *Environmental Research* **94**. pp 38-46, 2004.

Purdue M.P., Hoppin J.A., Blair A., Dosemeci M., Alavanja M.C.R. Occupational exposure to organochlorine insecticides and cancer incidence in the Agricultural Health Study. *Int J Cancer*. **120**. 642–649, 2007.

[www.sedarh.gob.mx](http://www.sedarh.gob.mx) revisado, septiembre, 2008

Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L. A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp. Cell Res.*, **175**, 184–191, 1988

The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification. 2004.

Waliszewski S.M., Aguirre A., Infanzón R. M., Silva C.S. Siliceo J. Carry-over of persistent organochlorine pesticides through placenta to fetus. *Salud Pública de México*. **42** No. 5, 2000.

Waliszewski S.M., Aguirre A., Infanzón R. M., Silva C.S. Siliceo J. Organochlorine Pesticide Levels in Maternal Adipose Tissue, Maternal Blood Serum, Umbilical Blood Serum, and Milk from Inhabitants of Veracruz, Mexico. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* **40**. 432-438, 2001.

Wang Xu, Fenech M. A comparison of folic acid and 5-methyltetrahydrofolate for prevention of DNA damage and cell death in human lymphocytes *in vitro*. *Mutagenesis*. **18**. No. 1 pp 81-86, 2003.

Wicklund-Glynn A., Granath F., Aune M., Atuma S., Darnerud P.O., Bjerselius R., Vainio H., Weiderpass E. Organochlorine in Swedish women: determinants of serum concentrations. *Environmental Health Perspectives*. **111**. 349-355, 2003.

Wyatt N.P., Falque-González C., Farrart D., Tufnell., Whitelaw D., Knudsen L.E., Anderson D. In vitro susceptibilities in lymphocytes from mothers and cord blood to the monofunctional alkylating agent EMS. *Mutagenesis*. **22**. No. 2. 123-127, 2007.

Yáñez L., Borja-Aburto VH, Rojas E, de la Fuente H, González-Amaro R, Gómez H, Jongitud AA, Díaz-Barriga F.. DDT induces DNA damage in blood cells. Studies in vitro and in women chronically exposed to this insecticide. *Environmental Research*. **94**(1):18-24. 2004.

**Tabla 1. Datos generales de las madres participantes en el estudio**

Edad promedio	23.6 años (14-36)
Actividad <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Ama de casa</li> <li>○ Otros (empleada, comerciante, maestra)</li> </ul>	86.5% 13.5%
Datos ginecológicos <ul style="list-style-type: none"> <li>○ No. de Partos</li> <li>○ Abortos</li> <li>○ Malformaciones</li> <li>○ Obitos</li> </ul>	2.3 (1-8) 20.4% 6.1% 10.2%
Antecedentes clínicos <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Tuberculosis, diabetes, hipertensión, parasitosis</li> </ul>	0%
Ingesta de medicamentos durante el embarazo <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Ácido fólico/complejo B</li> </ul>	84%
Hábitos alimenticios <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Pescado, cangrejos, atún</li> <li>○ Huevo</li> <li>○ Leche</li> <li>○ Mantequilla o manteca</li> </ul>	63.4% 100% 82.7% 27%
Exposición a plaguicidas <ul style="list-style-type: none"> <li>○ Durante el embarazo</li> <li>○ Otra ocasión</li> </ul>	52% 68%

Datos generales de las madres participantes en el estudio. Entre paréntesis se muestra el intervalo. Los hábitos alimenticios se reportan como la frecuencia de ingesta por semana. La exposición a plaguicidas se refiere a uso casero, campañas de salud (dengue, paludismo). n = 50.

**Tabla 2. Actividad económica del padre**

Jornalero agrícola	46.1%
Albañil	19.2%
Empleado	13.46%
Comerciante	7.7%
Otros (mecánico, plomero, hojalatero, carpintero)	13.54%

Se muestra la actividad de los esposos de las madres participantes, esta información es importante ya que ellos podrían ser una fuente de exposición dependiendo de la actividad que desarrollan. n = 50.

**Tabla 3. Características del recién nacido**

Peso	3.01 kg (1.38-3.95)
Talla	51.1 cm (36-59)
Bajo peso al nacer (<2.5kg)	10%
Perímetro cefálico	33.6 ± 1.85 cm
Perímetro torácico	33.17± 1.91 cm

Características del bebé cuyas madres fueron incluidas en el estudio. Los valores entre paréntesis de peso y talla es el intervalo, mientras que los valores del perímetro cefálico y torácico se expresan como la media ± DE. n = 50

**Tabla 4. Concentración de plaguicidas organoclorados analizados en plasma materno y plasma de cordón umbilical**

	<b>Concentración de plaguicidas en madres (ng/g líp)</b>	<b>Concentración de plaguicidas en recién nacidos (ng/g líp)</b>
<b>α-HCH</b>	465 (ND-1,710)	2603 (ND-22,692)
<b>HCB</b>	65 (22-190)	154 (75-388)
<b>β-HCH</b>	1683 (6-5,850)	4337 (22-54,534)
<b>γ-HCH</b>	456 (ND-1,673)	1145 (ND-3,312)
<b>Aldrin</b>	369 (1-858)	1,721 (0.8-13,491)
<b>Heptacloro epóxido</b>	4245 (1,101-10,777)	12476 (2,967-181,958)
<b>Oxiclordano</b>	1952 (ND-9,929)	1939 (ND-8,576)
<b>Trans-Clordano</b>	6 (ND-29)	21.2 (ND-299)
<b>Cis-Clordano</b>	10 (ND-31)	28.1 (ND-265)
<b>DDE</b>	840 (ND-7,385)	471 (ND-6,448)
<b>Cis-Nonaclor</b>	9 (ND-31)	31 (ND-136)
<b>Mirex</b>	18 (ND-49)	44 (ND-630)
<b>α-Endosulfán</b>	161 (ND-673)	421 (ND-1,554)
<b>β-Endosulfán</b>	110 (ND-679)	353 (ND-1,982)
<b>DDT</b>	236 (ND-1,235)	483 (ND-2,554)
<b>Σ15 plaguicidas</b>	10,600 (5000-25,500)	26,300 (9,800-285,500)

La cuantificación de los plaguicidas organoclorados en plasma se realizó por CG-MS y CG-DCE de acuerdo al método descrito por *Hovander L. y cols (2000)*. Los datos se reportan como media aritmética y entre paréntesis (la concentración mínima y máxima). Concentración expresada en ng/g líp. n = 50.

**Tabla 5. Daño al ADN evaluado con el ensayo cometa**

	<b>Olive tail moment para las madres (n=50)</b>	<b>Olive tail moment para los recién nacidos (n=50)</b>
<b>Media aritmética</b>	7.24 $\pm$ 6.5	8.7 $\pm$ 5.1
<b>Mínimo</b>	1.27	1.58
<b>Máximo</b>	32.03	26.57
<b>Olive tail moment &gt; 4</b>	60%	78%

El daño al ADN fue evaluado empleando el ensayo cometa de acuerdo a la metodología establecida por *Singh N.P. (1988)* . Los datos son el resultado del análisis de 100 células por muestra. Los resultados se reportan como la media aritmética  $\pm$  DE.

**Tabla 6. Daño clastogénico en los binomios madre-hijo**

	<b>Daño clastogénico en las madres (n=50)</b>	<b>Daño clastogénico en los recién nacidos (n=50)</b>
	<b>Frecuencia de Micronúcleos</b>	
<b>Media</b>	1.10 ± 0.7	0.81± 1.09
<b>Mínimo</b>	0	0
<b>Máximo</b>	3	6
	<b>Frecuencia de Chromatin Buds (gemaciones)</b>	
<b>Media</b>	0.58 ± 0.8	0.42± 0.71
<b>Mínimo</b>	0	0
<b>Máximo</b>	3.5	3
	<b>Frecuencia de Puentes Nucleoplásmicos</b>	
<b>Media</b>	0.10 ± 0.27	0.04± 0.20
<b>Mínimo</b>	0	0
<b>Máximo</b>	1	1
	<b>Suma de Daño Clastogénico</b>	
<b>Media</b>	1.78 ± 1.14	1.27± 1.5
<b>Mínimo</b>	0.33	0
<b>Máximo</b>	5	8

El daño clastogénico se evaluó de acuerdo a la metodología descrita por *Montero-Montoya R. y cols (1997)*. La frecuencia se reporta como la resultante del análisis de 1000 células, las muestra de cordón umbilical se analizaron por triplicado, mientras que las de la madre por duplicado. Los resultados se reportan como la media aritmética ± DE

## Pie de Figuras

**Figura 1.** Estructura química de plaguicidas organoclorados

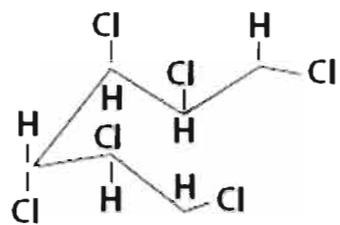
**Figura 2.** Logaritmo de la concentración de plaguicidas organoclorados en plasma materno contra logaritmo de la concentración de plaguicidas organoclorados en plasma de cordón umbilical. Los plaguicidas fueron cuantificados por CG-MS o CG-DCE de acuerdo a la metodología descrita por *Hovander L. y cols (2000)*. La concentración está expresada como log ng/g líp, n=50. Los datos fueron transformados a logaritmo para ajustarse a una distribución normal.

**Figura 3.** Logaritmo de olive tail moment en plasma materno contra logaritmo de olive tail moment en plasma de cordón umbilical. El daño al ADN fue evaluado con el ensayo cometa de acuerdo a la metodología establecida por *Singh N.P. y cols. (1988)*. Los valores superiores a 0.6 (log de 4.0) se consideran daño al ADN. Valores reportados en logaritmo para ajustar a una distribución normal, n = 50

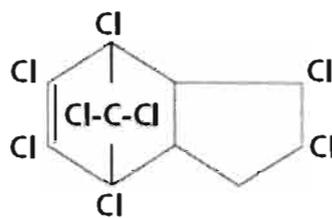
**Figura 4.** Logaritmo de la frecuencia de daño clastogénico en plasma materno contra logaritmo de la frecuencia de daño clastogénico en plasma de cordón umbilical. El daño al ADN como daño clastogénico se realizó según la metodología validada por *Montero-Montoya y cols (1997)*, éste se expresa como la sumatoria de la frecuencia de micronúcleos, chromatin buds (gemaciones) y puentes nucleoplásmicos. Los datos están expresados como logaritmo para ajustarlos a una distribución normal. Todos los binomios dentro del cuadrante inferior izquierdo son considerados como normales, n=50.

**Figura 5.** Logaritmo de la concentración de plaguicidas organoclorados en plasma materno contra logaritmo de olive tail moment en plasma de cordón umbilical. Los plaguicidas organoclorados se determinaron por CG-DCE y CG-MS, de acuerdo al método establecido por *Hovander L. y cols (2000)*. El daño al ADN fue evaluado por el ensayo cometa según la metodología de *Singh N.P. y cols. (1988)*. Las concentraciones se expresan como logaritmo de ng/g líp, los valores se reportan como logaritmo para ajustar a una distribución normal. Todos los binomios por arriba de 0.6 (log 4.0, línea roja) son considerados con daño al ADN, n=50.

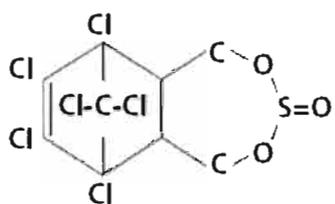
**Figura 6.** Logaritmo de la concentración de plaguicidas organoclorados en plasma materno contra logaritmo del daño clastogénico en plasma de cordón umbilical. Los plaguicidas organoclorados se determinaron por CG-DCE y CG-MS, de acuerdo al método establecido por *Hovander L. y cols. (2000)*. Las concentraciones se expresan como logaritmo de ng/g líp. El daño al ADN como daño clastogénico se evaluó según la metodología validada por *Montero-Montoya y cols (1997)*. Los valores se reportan como logaritmo para ajustar a una distribución normal. La línea roja marca el valor mínimo aceptable como normal ( $\log 3 = 0.477$ ),  $n = 50$ .



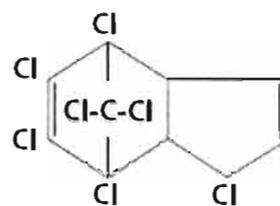
Lindano



Clordano



Endosulfán



Heptacloro

Figura 1.

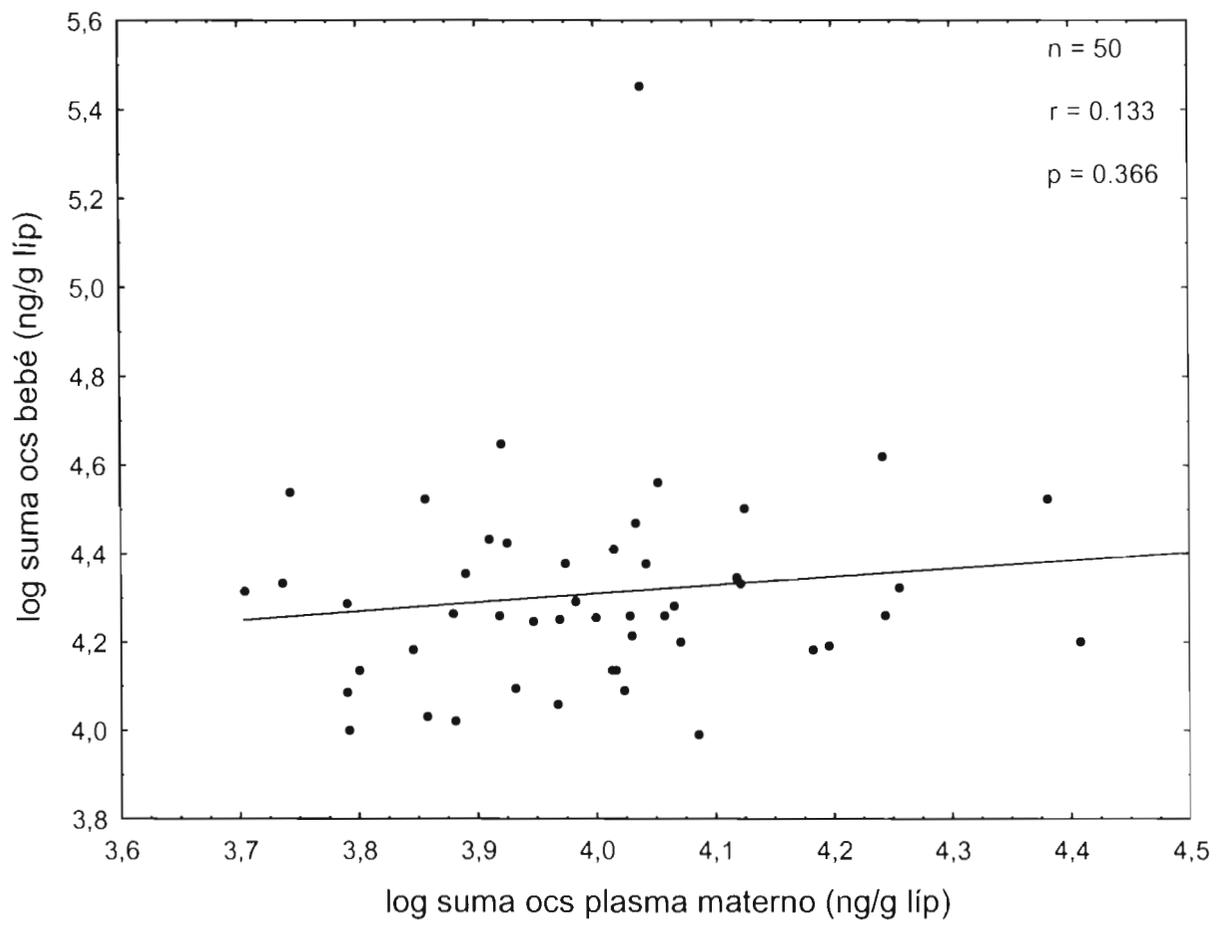


Figura 2.

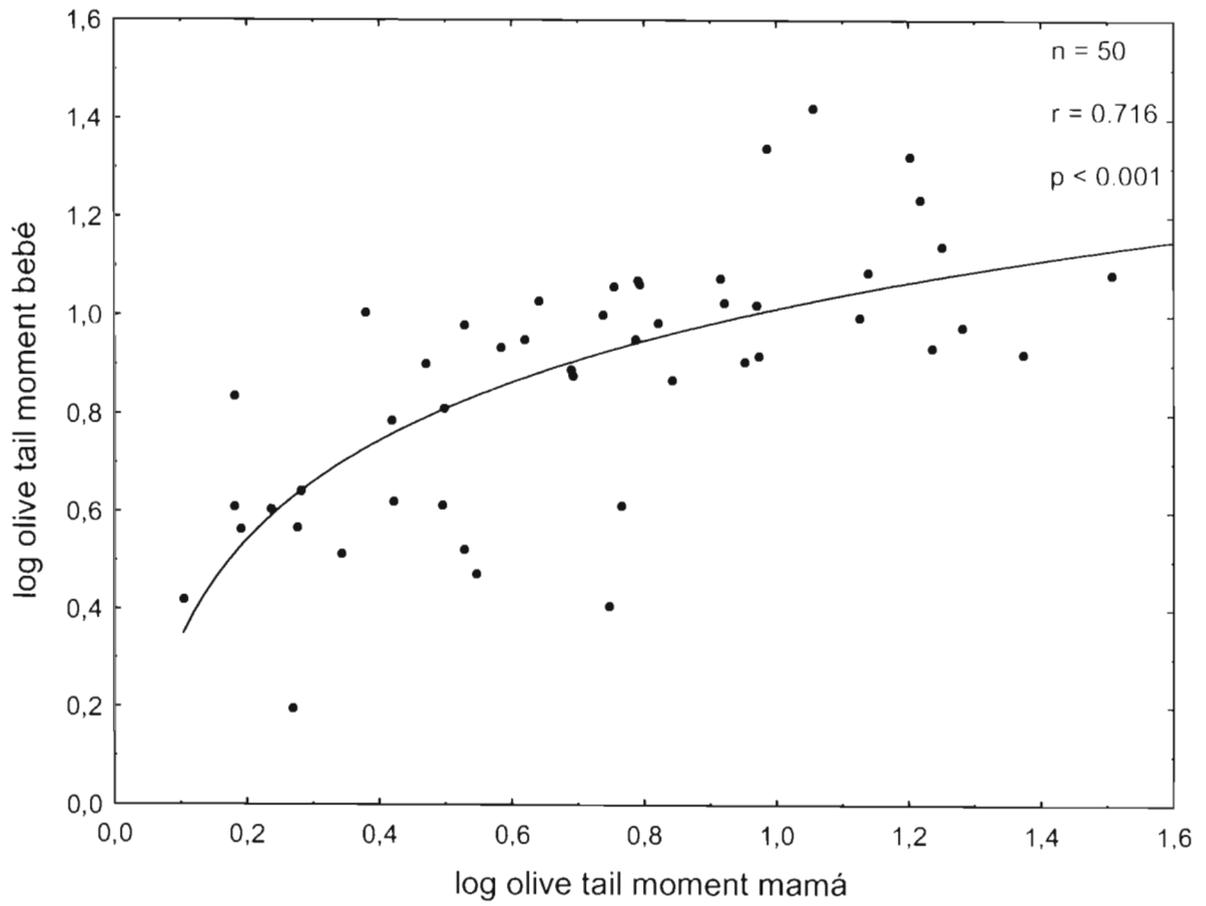


Figura 3.

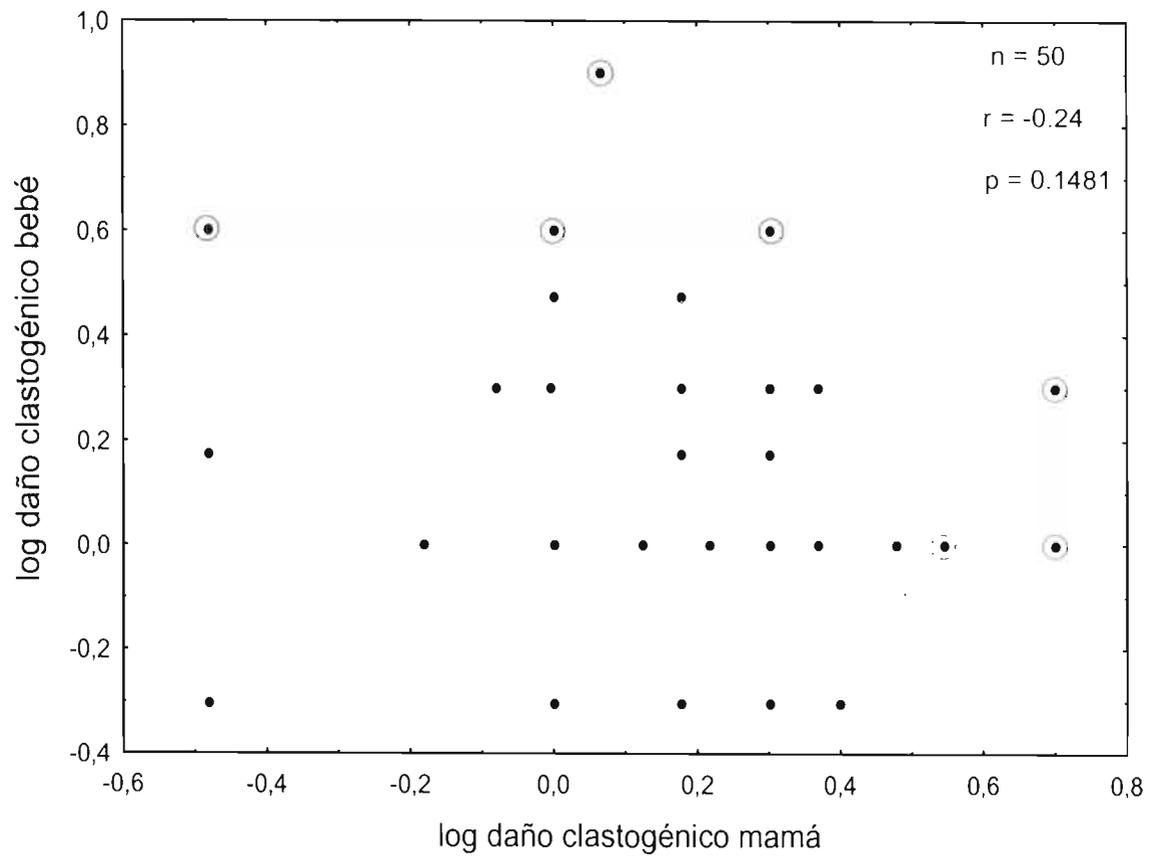


Figura 4.

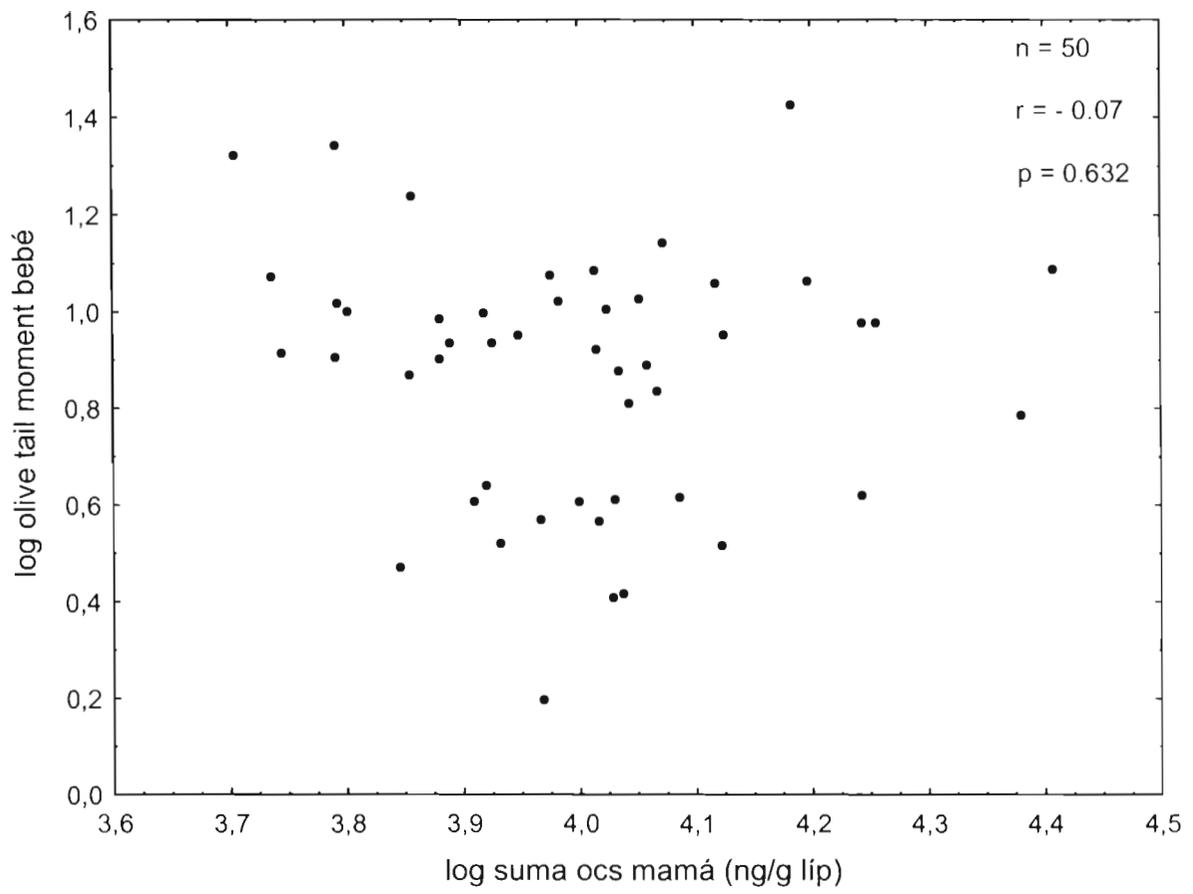


Figura 5.

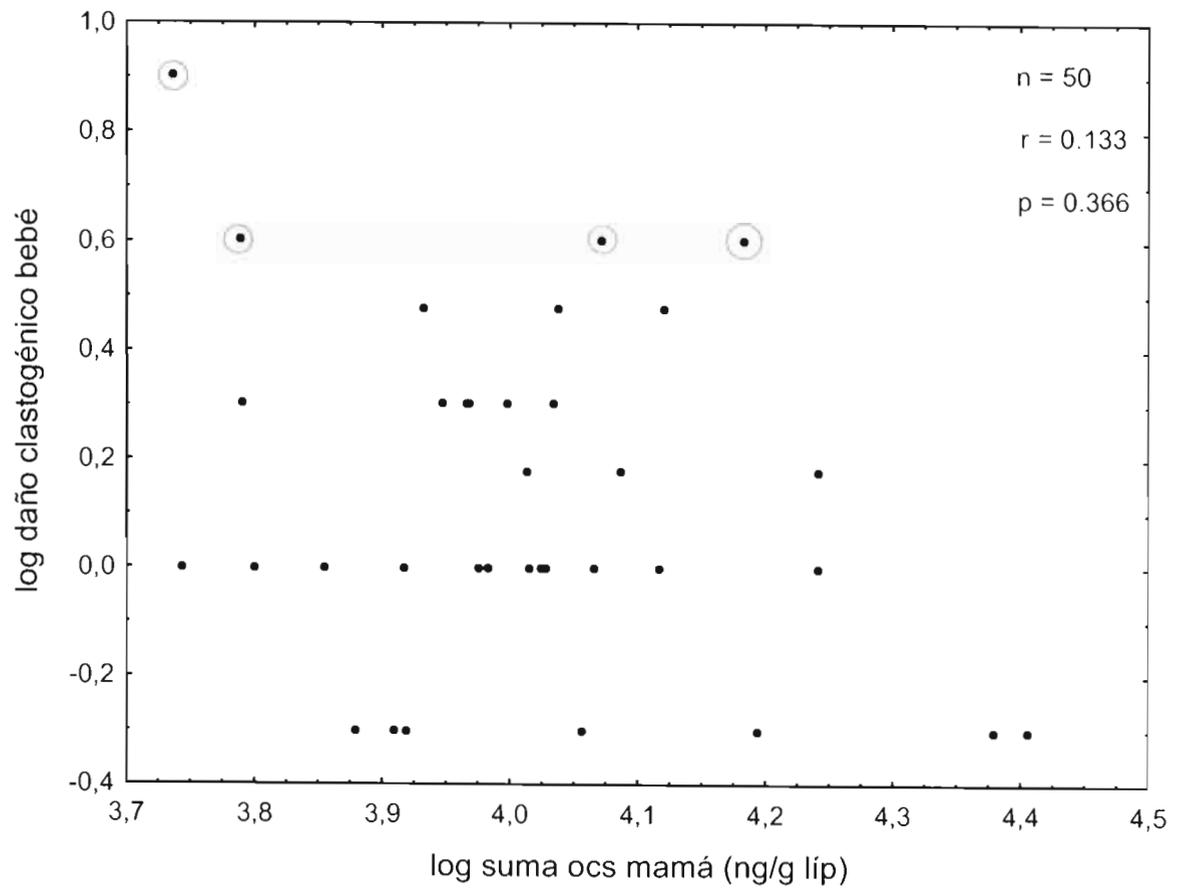


Figura 6.