

## Trabajo completo

# Marcadores tempranos de daño oxidativo y su relación con factores de riesgo en una localidad ambientalmente expuesta a agroquímicos

RECIBIDO: 25/07/2016

REVISION: 27/07//2016

ACEPTADO: 05/08/2016

Odetti, L. M.<sup>1</sup> • Dechiara, M. P.<sup>2</sup> • Marino, D.<sup>2</sup> • Simoniello, M. F.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Toxicología y Bioquímica Legal, Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral, Ciudad Universitaria, Paraje El Pozo C.C 242 (3000) Santa Fe, Argentina.

<sup>2</sup> Centro de Investigaciones del Medio Ambiente, Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, CONICET-ANPCYT, Calle 47 y 115, 1900 – La Plata, Argentina  
E-mail: luodetti@hotmail.com

**RESUMEN:** El objetivo del presente trabajo fue evaluar el daño oxidativo generado por la exposición ambiental a mezclas de agroquímicos en personas que residen en la localidad de Santo Domingo y se contrastaron dichos resultados con personas sanas de la ciudad de Santa Fe no expuestas a plaguicidas. Se analizaron los parámetros de Catalasa (CAT), Superóxido dismutasa (SOD) y Sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) y se integraron los resultados con las variables obtenidas en las entrevistas realizadas. En los resultados obtenidos se observó un incremento significativo para TBARS y SOD al comparar el grupo de personas expuestas ambientalmente a plaguicidas con el grupo control. Se encontró una regresión lineal significativa entre TBARS y CAT, y entre SOD y TBARS.

En cuanto a las muestras de agua de lluvia provenientes de Santo Domingo se encontró que contenían atrazina. Teniendo en cuenta el período de aplicación de plaguicidas, se hallaron diferencias significativas en los tres biomarcadores. Este trabajo, utilizando marcadores de estrés oxidativo ha sido pionero en la región Centro de Santa Fe y permitió vincular desbalances en el estado oxidativo con factores que podrían incidir en la salud.

**PALABRAS CLAVES:** agroquímicos, estrés oxidativo, ambiente

**SUMMARY:** *Biomarkers of oxidative damage and its relationship with risk factors in a locality environmentally exposed to agrochemicals.*

The aim of this study was to evaluate oxidative damage generated by environmental exposure to agrochemical mixtures in people living in Santo Domingo, Santa Fe, Argentina and to compare them with healthy non-exposed people from Santa Fe city. The activity of Catalase (CAT), Superoxide dismutase (SOD) and Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) were analyzed. In addition, the results were analyzed in relation to the variables obtained from interviews (confounding factors and health events). The results of oxidative biomarkers showed significant differences in TBARS and SOD between the group of people environmentally exposed to pesticides

and the control group. . A significant linear regression between TBARS with CAT and SOD was found. Taking into account the period of application of pesticides, significant differences were found in the three biomarkers. The environmental exposure to pesticides was confirmed by measurements of atrazine residues in rainwater samples from Santo Domingo. This is a pioneer study in Santa Fe province and allowed to link imbalances in oxidative state with factors that could affect health

**KEYWORDS:** agrochemicals, oxidative damage, environment

---

## Introducción

La Argentina desde el siglo XIX se ha dedicado a la exportación de productos agrícolas convirtiéndose en uno de los principales productores a nivel mundial. En este mercado, constantemente se registran nuevas tecnologías que surgen para mejorar la calidad y la cantidad de los alimentos (1). En este sentido, a mediados de la década de 1990, se introduce en Argentina la primer variedad de soja resistente al glifosato o soja RR (2). A raíz de esto, la superficie de este cultivo se potenció notablemente (3) y la superficie sembrada se incrementó de 6,6 millones de hectáreas, en el ciclo agrícola 1996/97, a 20,4 millones de hectáreas en el ciclo 2014/15 (4), con el consecuente aumento en el uso de agroquímicos de más del 800% (5).

La provincia de Santa Fe se encuentra en la región centro de la Argentina y ha sido históricamente uno de los principales centros agrícolas del país. Para la campaña 2013-2014, la producción de los principales cultivos (soja, girasol, maíz, trigo y sorgo) fue de 15.781.164 toneladas (3). En particular, el Departamento Las Colonias ha aumentado notablemente su superficie de sembrados en los últimos 15 años (3). En este departamento se localiza la comunidad de Santo Domingo (Figura 1), área rural en el que habitan 1742 personas (6). En la localidad de Santo Domingo se ha detectado en los últimos 20 años un incremento de la mortalidad por cáncer que podría estar relacionado, entre otros factores, al desarrollo productivo y a las aplicaciones de agroquímicos en la zona (7).



**Figura 1.** Imagen satelital de la localidad de Santo Domingo.

A raíz de estos datos, el Ministerio de Salud de la Provincia ha llevado a cabo en junio del 2014 una jornada de "Agroquímicos y Salud" en Santo Domingo. Entre las conclusiones que se obtuvieron del encuentro, se destacan la necesidad de realizar exámenes físicos anuales o bianuales a los aplicadores como medida de prevención en la salud, además de implementar otras medidas medioambientales saludables, como por ejemplo, cortinas arbóreas. En particular, en relación a los Equipos de Salud locales, se propone realizar investigaciones sobre posibles factores de riesgo, fortalecer los registros sanitarios vigentes y el ingreso de los datos en los sistemas informáticos provinciales.

Diversos estudios han demostrado que en zonas agrícolas es mayor la concentración de plaguicidas en el ambiente (8, 9) respecto a áreas urbanas, incluso se encontraron residuos de plaguicidas en el polvo del interior de los hogares cercanos a las áreas de cultivo (10, 11, 12). Debido al alto impacto socio-ambiental que produce la actividad agrícola en nuestro país, también se llevaron a cabo diversas investigaciones con el objetivo de conocer los nive-

les de plaguicidas en las diferentes matrices ambientales. Miglioranza et al. (13), cuantificaron plaguicidas organoclorados en suelos y sedimentos; Marino y Ronco, (14) informaron niveles de cipermetrina y clorpirifos en aguas superficiales en La Pampa Ondulada; Aparicio et al., (15) detectaron glifosato en agua superficiales, sedimentos y suelos en el sudeste de la región pampeana; Marino et al., (16), realizaron un monitoreo en los principales afluentes de la cuenca Paraguay-Paraná.

Estos compuestos químicos se han asociado a efectos crónicos en la salud, incluyendo problemas reproductivos (17,18), cáncer (19), enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Parkinson (20,21) o la enfermedad de Alzheimer (22,23), e incluso, enfermedades autoinmunes como el Lupus Eritematoso Sistémico (24).

Estas patologías se encuentran estrechamente ligadas al estrés oxidativo. Éste, es causado por un desequilibrio entre especies reactivas de oxígeno (EROs) y los mecanismos antioxidantes, llevando a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos que causan deterioro o muerte celular (25). De este modo, factores endógenos o exóge-

nos como diferentes estilos de vida, factores relacionados con el medio ambiente y con la salud pueden desencadenar estrés oxidativo (26). En relación a esto, se ha demostrado que la exposición a plaguicidas produce modificación en el estado oxidativo y alteraciones enzimáticas en los trabajadores agrícolas de la región (27).

En el presente estudio se planteó como objetivo, evaluar el daño oxidativo generado por la exposición ambiental a mezclas de agroquímicos en personas que residen en la localidad rural de Santo Domingo, ampliamente pulverizada con plaguicidas y contrastar dichos resultados con personas sanas de la localidad de Santa Fe no expuestas ambientalmente a plaguicidas. Para ello, se consideró para la selección de biomarcadores tempranos de daño oxidativo a dos de las enzimas que cumplen con la función antioxidante Superóxido dismutasa (SOD) que convierte el anión superóxido en peróxido de hidrógeno y Catalasa (CAT) que neutraliza el peróxido de hidrógeno y lo convierte en agua. Por otra parte, la peroxidación lipídica (POL) es probablemente el proceso inducido por EROs más investigado, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, en consecuencia se altera la permeabilidad de la membrana celular, produciéndose edema y muerte celular. Además, se propuso integrar los resultados con las variables obtenidas de las entrevistas a fin de evaluar los factores de confusión y los eventos en la salud que registra esta población.

## **Materiales y métodos**

### *Población en estudio*

En el estudio participaron 72 de personas. De los cuales 44 pertenecen a la localidad de Santo Domingo, situada en el Departamento Las Colonias (Provincia

de Santa Fe), considerada como de zona rural y 28 donantes sanos pertenecientes a la ciudad de Santa Fe (zona urbana), sin exposición a plaguicidas por lo que actuaron como población control. Las muestras se tomaron en dos momentos diferentes, uno en el mes de septiembre (baja pulverización de plaguicidas) y otro en el mes de marzo (posterior al período de alta pulverización). A todas las personas incluidas en el estudio se les explicó los objetivos del trabajo, se obtuvo el consentimiento informado según las normas del Comité Asesor de Ética y Seguridad de la Investigación de la Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas, Universidad Nacional del Litoral (FBCB-UNL) y se les realizó una encuesta para obtener información sobre las características demográficas (edad, sexo), estilo de vida (tabaquismo, consumo de alcohol), datos ocupacionales, distancia de su residencia al área de sembrado, entre otras. La encuesta fue validada en trabajos previos (27).

### *Obtención de muestras*

Se obtuvieron muestras de sangre por punción venosa que fueron remitidas al laboratorio de la Cátedra de Toxicología, Farmacología y Bioquímica Legal de la FBCB-UNL, en tubos con código alfa numérico. Dentro de las 3 hs. se separaron y lavaron los glóbulos rojos con solución salina (NaCl 8,9 g l<sup>-1</sup>) y se conservaron a -80° C, por un tiempo no superior a 8 semanas, para la determinación del estado oxidativo.

La extracción de sangre periférica fue llevada a cabo por profesionales acreditados para dicho proceso, que pertenecen al Servicio de Atención Médica para la Comunidad (SAMCo) de la localidad de Santo Domingo o a la Cátedra de Toxicología, Farmacología y Bioquímica Legal .

*Determinación de hemoglobina (Hb)*

Los resultados de los biomarcadores tempranos de daño oxidativo realizados en eritrocitos fueron referenciados al contenido de Hb de cada muestra. Para su determinación se utilizó un kit comercial (BIOPUR®).

*Actividad de Catalasa (CAT)*

Se utilizó el método de Aebi (28). A 3 ml de  $H_2O_2$  54 mM en 50 mM de buffer de fosfatos, pH 7, se adicionaron 10  $\mu$ l de hemolizado (Glóbulos rojos lavados al 1 %). La disminución de  $H_2O_2$  se registró a 240 nm a 25 °C durante 60 segundos. La actividad de CAT se calculó por diferencia de absorbancia a 240 nm en espectrofotómetro Genwey Geneva UV-Visible y los resultados se expresan como  $kU g^{-1}Hb$ .

*Determinación de Sustancias Reactivas con el Ácido Tiobarbitúrico (TBARS)*

Para el análisis de la POL se utilizó la técnica de Buege y Aust (29) modificada por Simonello et al. (30). Los eritrocitos se lisaron con agua desmineralizada (Milli Q, dilución 1:4) y se mezclaron con cuatro volúmenes de la solución de reacción (15% de ácido tricloroacético; 0,375% de ácido tiobarbitúrico y 0,25 mol  $l^{-1}$  de ácido clorhídrico) y además se agregó 4% de Butilhidroxitolueno. La mezcla se calentó a 92 °C durante 45 min. Después de enfriar, el precipitado se separó por centrifugación a 10000 g durante 10 min a 4 °C. Se determinó la absorbancia de la muestra a 535 nm y la concentración de TBARS se calculó utilizando el coeficiente de extinción  $1,56 \times 10^5 M^{-1} cm^{-1}$ . Los resultados se expresan como  $nmol g^{-1}Hb$ .

*Porcentaje de Inhibición de la enzima Superóxido Dismutasa (SOD)*

Se utilizó el kit de reactivos Sigma 19160.

Las lecturas se realizaron con un lector de placa Rayto a 440 nm.

*Muestreo ambiental*

Se recolectaron desde el comienzo de cada evento de lluvia y hasta su finalización, 17 muestras de agua de lluvia en recipientes estériles de plástico de 100 ml de capacidad. La recolección fue realizada por los mismos pobladores de Santo Domingo previa capacitación. La entrega del material a cada familia se acompañó con una planilla donde se volcaron los datos del rótulo, más un apartado para observaciones, relacionadas a la actividad agrícola: presencia previa a la lluvia de olores fuertes, paso de pulverizadoras terrestres o de maquinarias agrícolas, entre otras.

*Análisis químico de las muestras ambientales*

Para poder evaluar la presencia de atrazina primero se filtró el agua de lluvia por membranas de nylon de 0,45  $\mu$ m. Luego del filtrado, la fracción soluble se extrajo en fase sólida con C18 (SPE-C8) según la metodología propuesta por Elorriaga et al. (31), y los extractos se analizaron por HPLC usando como detección espectrometría de masas para el análisis de herbicidas.

*Análisis estadístico*

El análisis estadístico se realizó con el programa SPSS, versión 17.0. Las muestras fueron codificadas en el momento de la extracción y decodificados antes del análisis estadístico para la comparación. Las variables categóricas se resumieron mediante porcentajes, mientras que las continuas fueron presentadas como la media y el desvío estándar. Las comparaciones univariadas entre grupos se realiza-

ron mediante la prueba T-Student o Mann-Whitney, según la distribución de los datos. El análisis de correlaciones bivariadas se realizó mediante las pruebas de Pearson. Se compararon los resultados de los biomarcadores considerando los factores de confusión (sexo, hábito de fumar, consumo de alcohol y consumo de medicamentos). Los factores de confusión continuos (edad, tiempo residencia) se dicotomizaron calculando la mediana y comparando los grupos generados con los valores superiores e inferiores a ésta. Un valor de  $p < 0,05$  se consideró estadísticamente significativo.

## Resultados

### *Población en estudio*

La población de Santo Domingo entrevistada es adulta, cuyas edades van desde los

26 a los 75 años de edad. El 50% es femenino y el 60 % reside hace más de 10 años en esta localidad. Con respecto a la realización y finalización de estudios, el 55% terminó sólo la escuela primaria, el 25% hizo la secundaria y el 20% llevó a cabo estudios terciarios o universitarios. En relación a los hábitos, sólo el 18% son fumadores y el 9% declara consumir frecuentemente alcohol. Las personas provenientes de entornos urbanos (controles) tienen un rango de edad de 20 a 70 años, con un promedio de años de residencia de 12,4 años, el 47 % son mujeres. Respecto a los hábitos, el 23 % son fumadores y el 17 % consumen frecuentemente alcohol. Cuando se analizaron las variables demográficas y los hábitos entre ambos grupos, no se hallaron diferencias significativas ( $p > 0,05$  en todos los casos; Tabla 1).

**Tabla 1.** Características demográficas de los participantes en el estudio categorizados por residencia rural (Santo Domingo) expuesta ambientalmente a plaguicidas y urbana (control)

Parámetros	Control (n=30)	Santo Domingo (n=44)
	Media ± Error Estándar	Media ± Error Estándar
EDAD (Media ± EE)	37,7 ± 14,07	47,8 ± 14,8
SEXO (n y %)		
Femenino	14 (47)	22 (50)
Masculino	16 (53)	22 (50)
FUMA (n y %)		
SI	7 (23)	8 (18)
NO	23 (77)	36 (82)
ALCOHOL(n y %)		
SI	5 (17)	4 (9)
NO	25 (83)	40 (91)

La población rural manifestó, en el 53 % de los casos, tener algún tipo de enfermedad o síntomas inespecíficos. Los más frecuentes: alergias, dolor de cabeza, gastritis, hipertensión arterial.

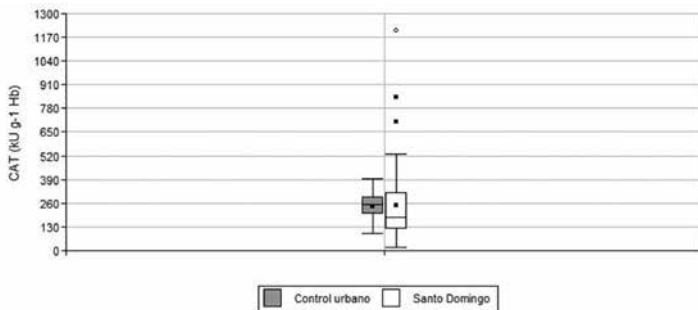
Como medida de la exposición ambiental a los plaguicidas, se consultó la distancia de las viviendas a los campos sembrados. El 91% de los participantes vive a menos de 500 metros de los campos cultivados. En relación

a los cultivos que se producen en la zona, se ha observado que el 92,5 % señala al cultivo de soja como el más cercano a su domicilio y el 61% de los entrevistados comenta la presencia de rotación en los cultivos (Soja-Maíz-Girasol-Trigo-Sorgo) que condice con los datos estadísticos de la SIA para la campaña 2013-2014 (3). El 68% declaró no saber cuáles son los agroquímicos que se utilizan en los campos vecinos a su residencia y el 31% respondió que se pulveriza principalmente con glifosato, Round up® y cipermetrina. En cuanto a la aplicación de agroquímicos, la mayoría expresó que se utilizan equipos de pulverización terrestre (mosquito). El 54% no

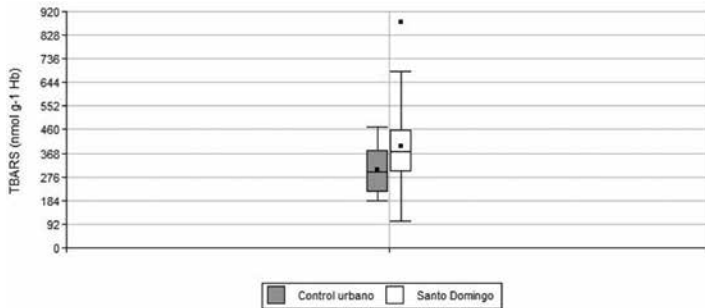
conoce ningún problema de salud relacionado con los agroquímicos. Se pudo observar además que, el 34% de las personas de Santo Domingo, incluidas en el estudio, tienen una relación laboral directa con actividades agrícolas.

*Marcadores de estado oxidativo*

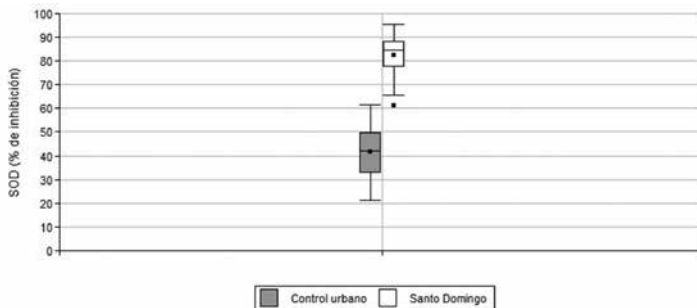
Al comparar el grupo de personas expuestas ambientalmente a plaguicidas con el grupo control, no se encontraron diferencias significativas ( $p=0,8870$ ) para CAT (Figura 2), pero si se observó un incremento significativo ( $p=0,0009$ ) para TBARS (Figura 3) y para SOD ( $p<0,0001$ , Figura 4) (Tabla 2).



**Figuras 2.** Box-Plots de los resultados de actividad enzimática de CAT (kU g-1 Hb) de Santo Domingo y control.



**Figuras 3.** Box-Plots de los resultados de TBARS (nmol g-1 Hb) de Santo Domingo y control.



**Figuras 4.** Box-Plots de los resultados de SOD (% de inhibición) de Santo Domingo y control.

**Tabla 2.** Marcadores de estado oxidativo en el control y la localidad de Santo Domingo expuesta ambientalmente a plaguicidas. Los valores se presentan como media y error estándar

Biomarcadores	Control (n=30)	Santo Domingo (n=44)
	Media ± Error Estándar	Media ± Error Estándar
CAT (kU g <sup>-1</sup> Hb)	243,56 ± 12,93	485,17 ± 36,23
TBARS (nmol g <sup>-1</sup> Hb)	303,44 ± 15,75	393,96 ± 20, 93*
SOD(% de inhibición)	41,53 ± 2,19	82,31 ± 1,21*

\*P < 0,05

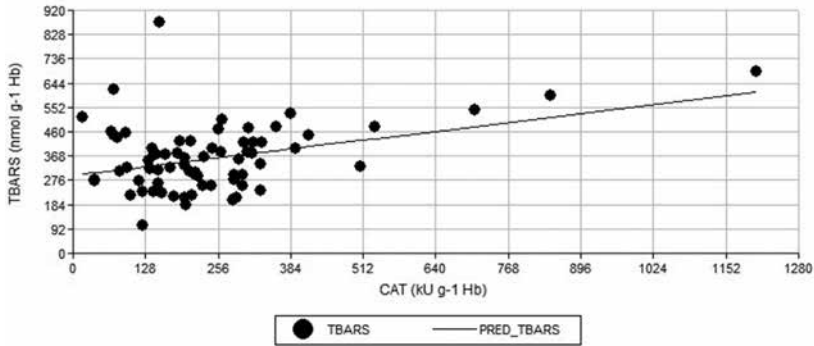
Se compararon los resultados considerando como factor de análisis la edad, genero, el tiempo de residencia, el hábito de fumar, el consumo de alcohol y el de medicamentos, no observándose diferencias significativas ( $p > 0,05$  en todos los casos) en los marcadores evaluados (Tabla 3).

**Tabla 3.** Valores de la media y error estándar de los marcadores de estado oxidativo por factor de confusión en la localidad de Santo Domingo.

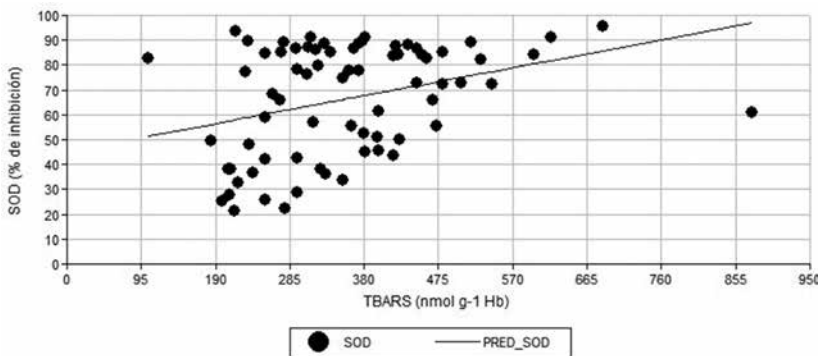
Parámetros	SOD(% de inhibición)	TBARS(nmol g <sup>-1</sup> Hb)	CAT (kU g <sup>-1</sup> Hb)
	Media ± Error Estándar	Media ± Error Estándar	Media ± Error Estándar
EDAD			
≥47	81,76 ± 7,64	373,16 ± 91,53	217,36 ± 157,30
<47	82,87 ± 8,79	407,76 ± 176,13	255,12 ± 259,66
SEXO			
Femenino	82,23 ± 8,74	430,13 ± 163,82	266,22 ± 248,11
Masculino	82,40 ± 7,45	357,79 ± 99,39	231,23 ± 206,43
TIEMPO DE RESIDENCIA			
≥28	81,15 ± 8,18	360,22 ± 117,12	240,88 ± 151,93
<28	82,08 ± 9,58	418,30 ± 170,81	283,48 ± 280,98
FUMA			
SI	83,81 ± 7,37	326,01 ± 93,76	206,41 ± 154,80
NO	81,93 ± 8,34	403,70 ± 142,01	241,44 ± 221,29
ALCOHOL			
SI	79,77 ± 9,78	328,13 ± 49,50	183,90 ± 88,06
NO	82,53 ± 8,03	395,52 ± 141,67	240,16 ± 218
CONSUMO DE MEDICAMENTOS			
SI	82,57 ± 9,61	387,20 ± 177,11	215,83 ± 247,56
NO	82,02 ± 6,77	391,03 ± 93,02	251,53 ± 173,55



Se analizaron las correlaciones entre los biomarcadores propuestos, encontrando una regresión lineal significativa ( $p=0,0030$ ) entre TBARS y CAT (Figura 5), y entre SOD y TBARS ( $p=0,0035$ , Figura 6) en la población de Santo Domingo.



**Figura 5.** Regresión lineal de TBARS (nmol g-1 Hb) y CAT (kU g-1 Hb) en el grupo de Santo Domingo.



**Figura 6.** Regresión lineal en SOD (% de inhibición) y TBARS (nmol g-1 Hb) en el grupo de Santo Domingo.

Los resultados obtenidos de las variables de estrés oxidativo se compararon, además, considerando la actividad laboral agrícola como factor. Se observaron diferencias significativas para SOD ( $p=0,0309$ ) pero no hubo diferencias significativas ni para CAT ( $p=0,5484$ ) ni para TBARS ( $p=0,4945$ ).

Por otra parte, los resultados de laboratorio se contrastaron considerando el período de aplicación de plaguicidas, hallándose incrementos significativos para CAT

( $p=0,0283$ ), SOD ( $p=0,0175$ ) y TBARS ( $p=0,0012$ ) en el mes de marzo. Con la distancia de las viviendas a los campos cultivados como factor, también se observaron diferencias significativas ( $p=0,08$ ) para TBARS.

*Muestreo ambiental*

Del total de las muestras de agua de lluvia, 7 contenían atrazina observándose un valor medio de 449 ng l<sup>-1</sup> (rango entre 65 y 906).

## Discusión

En este estudio se trabajó con dos poblaciones, una expuesta ambientalmente a plaguicidas residentes de la localidad de Santo Domingo (n=44) y la otra perteneciente a la ciudad de Santa Fe (n=28), que actuó como grupo control.

Del análisis de las encuestas surge que todos los participantes tuvieron acceso a la Educación Básica y que los casos con Educación Superior coinciden con personas de menor edad o menos años de residencia. Cuando se analizaron las encuestas respecto a los hábitos de fumar y de consumir frecuentemente alcohol, se observó un bajo porcentaje en ambos casos. La edad de las personas incluidas coincide con la pirámide poblacional para el Departamento (6). Con respecto a las preguntas relacionadas con salud, los entrevistados detallaron síntomas inespecíficos que podrían vincularse con la exposición a plaguicidas, ya que coinciden con los que propone registrar el Ministerio de Salud de la Provincia de Santa Fe para evaluar las exposiciones crónicas de origen ambiental (Sistema de Información para Centros de Atención Primaria – SICAP – y Diagnóstico; Gobierno de la Provincia, 6).

La cantidad de personas que viven linderos a los cultivos de soja o maíz se condice con los datos estadísticos de la SIA para la campaña 2013-2014 (3) para el Departamento Las Colonias. Además, la exposición ambiental a plaguicidas fue demostrada a través de las mediciones de residuos del herbicida atrazina en las muestras de aguas de lluvia, que fueron tomadas en distintos puntos de la localidad. La atrazina es utilizada principalmente en la producción de maíz y previamente ha sido vinculada a efectos adversos en la salud en aplicadores de plaguicidas (32). La población incluida

en el estudio vive, en su mayoría, a menos de 500 metros de los cultivos, a pesar de ser una comunidad estrechamente vinculada con las actividades agrícolas, manifiestan poco conocimiento respecto a que plaguicidas se aplican en los campos cercanos a su domicilio de residencia, cuales son las medidas de protección que deben usar los trabajadores y el tipo de enfermedades que pueden desencadenar los plaguicidas en una exposición a largo plazo. Debido a esto, sería necesario capacitar a las personas que intervienen en actividades agrícolas, a fin de informarlos de los riesgos relacionados con la salud y el ambiente, lo que traería como consecuencia, mejorar la aplicación de las buenas prácticas en la utilización de los plaguicidas (33).

Las modificaciones en el estado oxidativo han sido reconocidas como un mecanismo importante del daño de los plaguicidas (34, 35). El propósito principal de utilizar biomarcadores de efecto es la vigilancia, que es la identificación de individuos o de una población en riesgo de padecer efectos adversos a la salud, por lo que su detección precoz permitirá tomar medidas preventivas (39). En este grupo de participantes, se observaron modificaciones en las defensas antioxidantes y la POL, resultados similares fueron hallados en trabajadores rurales de la misma región previamente (27,35, 36). El índice más ampliamente utilizado para medir POL es la formación de malondialdeído (MDA) que frecuentemente se estima con el ensayo de TBARS. Varios autores reportaron un incremento de MDA en humanos expuestos a distintos pesticidas (40,41, 42).

El análisis de correlación entre SOD y TBARS y entre CAT y TBARS demuestran la relación entre las defensas antioxidantes

y el consecuente daño en las membranas lipídicas medido a través de POL. Los productos de la POL, como es el MDA puede reaccionar con las bases guanina (G), adenina (A) y citocina (C) del ADN y formar los aductos M1G, M1A y M1C, respectivamente. En humanos, los incrementos de MDA han sido vinculados con cáncer, aterosclerosis, enfermedad de Alzheimer y diabetes mellitus (Valko, 2007).

Teniendo en cuenta los factores de confusión se observó que no se encontraron diferencias significativas entre el consumo de tabaco, alcohol, medicamentos y el tiempo de residencia sobre los marcadores de estado oxidativo (30).

### Conclusión

Este trabajo, utilizando marcadores de estrés oxidativo teniendo en cuenta poblaciones expuesta ambientalmente a plaguicidas, ha sido pionero en la región Centro de la Provincia de Santa Fe. Permitió vincular desbalances en el estado oxidativo con factores que podrían incidir en la salud. Por consiguiente, sería importante continuar incrementando el número muestral, en ésta y en otras localidades de la región, con similares características, como así también, abordar una perspectiva de la educación ambiental que actualmente no se ha efectivizado en la población.

Si bien el tamaño de la muestra es limitado, el mismo es representativo y ha permitido observar diferencias significativas en los marcadores de estado oxidativo cuando se evaluó la actividad agrícola, la distancia de las viviendas de los cultivos e incluso antes o después del período de intensa aplicación del plaguicida. Se demostró la necesidad de continuar los monitoreos en esta población, con el fin de evitar efectos

adversos en la salud derivados de la toxicidad crónica de mezclas de plaguicidas.

En cuanto a las perspectivas futuras de este trabajo se espera contrastar los resultados obtenidos hasta ahora con los daño oxidativo al ADN de los donantes a través de la utilización del ensayo cometa modificado por el agregado de enzimas de reparación específicas y además, relacionar los resultados de residuos de plaguicidas en el medio físico (agua y suelo) con los obtenidos en las muestras de sangre de los donantes.

### Agradecimientos

Los autores agradecen a las personas que aceptaron participar en este trabajo y especialmente al Dr. Arturo Serrano, a la Bioq. Mariela Rudolf, a las enfermeras María Cuffia y Natali Schreier. M.F. Simoniello a CAI+D UNL n° 50120110100196.

### Referencias bibliográficas

1. Schaaf, A. A., 2013. Uso de pesticidas y toxicidad: relevamiento en la zona agrícola de San Vicente, Santa Fe, Argentina. *Rev.Mex.de Ciencias Agrícolas*. **4**, 2:323-331.
2. Arregui, M.; Scotta, R. y Sánchez, D., 2006. Improved weed control with broad-leaved herbicides in glyphosate-tolerant soybean (*Glycine max*). *Crop Prot.* **25**: 653–656.
3. SIIA., 2015. Estimaciones agrícolas: Soja. Sistema integrado de información agrícola. MAGyP. [http://www.sii.gov.ar/\\_apps/sii/estimaciones/estima2.php](http://www.sii.gov.ar/_apps/sii/estimaciones/estima2.php). Acceso: lunes 3 de mayo de 2015.
4. Bolsa de cereales., 2015. Panorama Agrícola Semanal, estimaciones Agrícolas. [www.bolsadecereales.com.ar/descargar-documento1-0/pass-descargar](http://www.bolsadecereales.com.ar/descargar-documento1-0/pass-descargar). Acceso: lunes 4 de mayo de 2015.
5. Casafe., 2012. Cámara de sanidad agropecuaria y fertilizantes. En línea: <http://www.casafe.org/pdf/estadisticas/Informe%20Mercado%20Fitosa->

- nitario%202012.pdf. Acceso: 18 de septiembre de 2014.
6. Gobierno de la provincia de santa fe., 2015. Regiones, Municipios y comunas. <http://www.santafegov.ar/>. Acceso: lunes 4 de mayo de 2015.
  7. Serrano, A., 2013. Incremento de la mortalidad por cáncer en una población rural. *Actasmédicassantafesinas*. Año III. **3**: 24- 33.
  8. Teske, M.E.; Bird, S.L.; Esterly, D.M.; Curbishley, T.B.; Ray, S.L. y Perry, S.G., 2002. Adrift: a model for estimating near-field spray drift from aerial applications. *Environ Toxicol Chem*. **21**:659-671.
  9. Weppner, S.; Elgethun, K.; Lu, C.; Hebert, V.; Yost, M.G. y Fenske, R.A., 2006. The Washington aerial spray drift study: children's exposure to methamidophos in an agricultural community following fixed-wing aircraft applications. *J. Exp. Sci. Environ Epidemiol*. **16**, 5:387-396.
  10. Curwin, B.D.; Hein, M.; Sanderson, W.T.; Nishioka, M.G.; Reynolds, S. J.; Ward, E.M. y Alavanja, M.C., 2005. Pesticide contamination inside farm and nonfarm homes. *J. Occup. Environ Hyg*. **2**, 7:357-367.
  11. Obendorf, S.K.; Lemley, A.T.; Hedge, A.; Kline, A.A.; Tan, K. y Dokuchayeva, T., 2006. Distribution of pesticide residues within homes in central New York State. *Arch Environ Contam Toxicol*. **50**, 1:31-44.
  12. Ward, M.H.; Lubin, J.; Giglierano, J.; Colt, J.S.; Wolter, C.; Bekiroglu, N.; Camann, D.; Hartge, P. y Nuckols, J.R., 2006. Proximity to crops and residential exposure to agricultural herbicides in Iowa. *Environ Health Persp*. **114**, 6:893-897.
  13. Miglioranza, K.; De Moreno, J. y Moreno, V., 2003. Trends in soil science organochlorine pesticides in argentineansoils. *J. Soils Sediment*. **3**, 4: 264-265.
  14. Marino, D. y Ronco, A.E., 2005. Cypermethrin and chlorpirifos concentration levels in Surface wáter bodies of the Pampa Ondulate, Argentina. *Bull Environ Contam Toxicol*. **75**, 4: 820-826.
  15. Aparicio, V. C.; De Gerónimo, E.; Marino, D.; Primost, J.; Carriquiriborde, P. y Costa, J. L., 2013. The Environmental Fate of Glyphosate in the Southeast of the Province of Buenos Aires, Argentina. Aceptado – *Chemosphere* in press CASAFE. <http://www.casafe.org/biblioteca/estadisticas>.
  16. Marino, D.J.; Apartin, C.D.; Almada, P.; Santillán, J.; Bernasconi, C.; Etchegoyen, A.; Abelando, M. y Elorriaga, Y. y Ronco, A.E., 2012. Monitoreo de plaguicidas en principales afluentes de la cuenca Paraguay-Paraná. IV Congreso SETAC. Buenos Aires, Argentina.
  17. Hanke, W. y Jurewicz, J., 2004. The risk of adverse reproductive and developmental disorders due to occupational pesticide exposure: an overview of current epidemiological evidence. *Int. J. Occup. Med. Environ. Health*. **17**: 223-243.
  18. Lauria, L.; Settini, L.; Spinelli, A. y Figa`-Talamanca, L., 2006. Exposure to pesticides and time to pregnancy among female greenhouse workers. *Reprod. Toxicol*. **22**: 425-430.
  19. Blair, A. y Freeman, L. B., 2009. Epidemiologic studies of cancer in agricultural populations: observations and future directions. *J. Agromedicine*, **14**:125-131.
  20. Dhillon, A. S.; Tarbuton, G. L.; Levin, J. L.; Plotkin, G. M.; Lowry, L. K.; Nalbone, J. T. y Shepherd, S., 2008. Pesticide/environmental exposures and Parkinson's disease in East Texas. *J. Agromedicine*. **13**: 37-48.
  21. Costello, S.; Cockburn, M.; Bronstein, J.; Zhang, X. y Ritz, B., 2009. Parkinson's disease and residential exposure to maneb and paraquat from agricultural applications in the central valley of California. *Am. J. Epidemiol*. **169**: 919-926.
  22. Dosunmu, R.; Wu, J.; Basha, M. R. y Zawia, N. H., 2007. Environmental and dietary risk factors in Alzheimer's disease. *Expert Rev. Neurother*. **7**:887-900.
  23. Santibañez, M.; Bolumar, F. y Garcia, A. M., 2007. Occupational risk factors in Alzheimer's dis-

- ease: a review assessing the quality of published epidemiological studies. *Occup. Environ. Med.* **64**: 723-732.
- 24.** Balluz, L.; Philen, R.; Ortega, L.; Rosales, C.; Brock, J.; Barr, D. y Kieszak, S., 2001. Investigation of systemic lupus erythematosus in Nogales, Arizona. *Am.J.epidemiol.* **154**,11:1029-1036.
- 25.** Díaz, L., 2001. Radicales Libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cubana Milit.* **30**, 1: 36-44.
- 26.** Mena, S.; Ortega, A. y Estrela., J., 2009. Oxidative stress in environmental – induced carcinogenesis. *Mutat Res.* **36**-44.
- 27.** Simoniello, M. F.; Kleinsorge, E. y Carballo, M., 2010. Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a pesticidas. *Medicina (Buenos Aires).* **70**, 6: 489-498.
- 28.** Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. *MethodEnzymol.* **105**: 121-126.
- 29.** Buege, J. A. y Aust S. D., 1978. Microsomal lipid peroxidation. *Method Enzymol.* **52**: 302-310.
- 30.** Simoniello, M. F.; Kleinsorge, E. C.; Scagnetti, J. A.; Mastandrea, C.; Grigolato, R. A.; Paonessa, A. M. y Carballo, M. A., 2010. Biomarkers of cellular reaction to pesticide exposure in a rural population. *Biomarkers*, **15**, 1: 52-60.
- 31.** Elorriaga, Y.; Marino, D.; Carriquiriborde, P. y Ronco, A. E., 2013. Screening of pharmaceutical in municipal effluents from urbanized areas of Argentina. *Bull EnvironContamToxicol.* **90**:387-400.
- 32.** Rusiecki, J. A.; De Roos, A.; Lee, W. J.; Dosemeci, M.; Lubin, J. H.; Hoppin, J. A. y Alavanja, M. C., 2004. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to atrazine in the Agricultural Health Study. *JNatlCancer I.* **96**,18: 1375-1382.
- 33.** Casafe., 2015. Cámara de Seguridad agropecuaria y fertilizantes- República Argentina, Buenos Aires. Manual de uso responsables <http://www.casafe.org/pdf/Manual-Uso-Responsable.pdf>. Acceso: lunes 4 de mayo de 2015.
- 34.** Banerjee, B. D.; Seth, V.; Bhattacharya, A.; Pasha, S. T. y Chakraborty, A. K., 1999. Biochemical effects of some pesticides on lipid peroxidation and free-radical scavengers. *Toxicol Lett.* **107**, 1: 33-47.
- 35.** Halliwell, B., 2002. Effect of diet on cancer development: is oxidative DNA damage a biomarker?. *Free Radic Bio Med.* **32**, 10: 968-974.
- 36.** Porcel De Peralta, M.; Scagnetti, J.A.; Grigolato, R.; Sylvestre, J.A.; Kleinsorge, E.C. y Simoniello, M.F., 2011. Evaluación de daño oxidativo al ADN y efecto de la susceptibilidad genética en una población laboral y ambientalmente expuesta a mezclas de plaguicidas. *Rev. FABICIB.* **15**: 119-129.
- 37.** Carballo, M.A. y Simoniello, M.F., 2012. Impacto de los agroquímicos en trabajadores expuestos: biomonitorio de estrés oxidativo y genotoxicidad. *Rev. Ciencia e Investigación Divulgación.* **62**, 3: 39-57.
- 38.** Poletta, G. L.; Simoniello, M. F.; Porcel De Peralta, M.; Kleinsorge, E.; Siroski, P. y Mudry M. D. en Abrego Gomez, A. J. y Lugo de Ortega, E. M. (Eds.), 2012. "In Pesticides: Characteristics, Uses and Health Implication". Nova Science Publishers, New York, USA. ISBN 978-1-62081-630-1.
- 39.** De Zwart, L.; Meerman, J.H.N.; Commandeur J.N.M. y Vermeulen N.P.E., 1999. Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. *Free Radic Biol Med.* **26**: 202-26.
- 40.** Catalgol, B.; Ozden, S. y Alpertunga, B., 2007. Effects of trichlorfon on malondialdehyde and antioxidant system in human erythrocytes. *Toxicol in vitro.* **21**,8: 1538-1544.
- 41.** Prakasam, A.; Sethupathy, S. y Lalitha S., 2001. Plasma and RBCs antioxidant status in occupational male pesticide sprayers. *Clinica Chimica Acta.* **310**, 2: 107-112.
- 42.** Kisby, G. E.; Muniz, J. F.; Scherer, J.; Lasarev, M. R.; Koshy, M.; Kow Y. W. y McCauley L., 2009. Oxidative stress and DNA damage in agricultural workers. *J. Agromedicine.* **14**, 2: 206-214.