

Efectos de Glifosato sobre la salud

Genotoxicidad de Glifosato y su principal metabolito AMPA. Cuantificado por los ensayos de aberraciones cromosómicas, micronúcleos y cometa

Por Fernando Mañas para Globalízate

Fernando Mañas es investigador de la Cátedra de Farmacología, Facultad de Agronomía y Veterinaria de la Universidad Nacional de Río Cuarto, y becario doctoral del CONICET. Argentina.

ASPECTOS GENERALES

El Glifosato es el principio activo de un herbicida de amplio espectro, no selectivo y de acción sistémica, utilizado en tratamientos post-emergencia para el control de malezas anuales y/o perennes en ambientes agrícolas, forestales y paisajísticos (Williams y col., 2000; Benedetti y col., 2004; Durán Merás, 2005).

Las propiedades de Glifosato fueron caracterizadas por científicos de la firma Monsanto en 1970 (Durán Merás, 2005). Roundup®, uno de los herbicidas que tiene Glifosato como principio activo, fue la primera aparición de Glifosato en el mercado, en 1974; pero no fue hasta el año 1980 que se dilucidó su mecanismo de acción. Este herbicida actúa inhibiendo la actividad de una enzima presente en las plantas, llamada EPSPS (5-enolpiruvilshikimato-3-fosfato-sintetasa), que participa en la síntesis de compuestos esenciales para la vida de las mismas, incluyendo los aminoácidos Fenilalanina, Triptófano y Tirosina. Esta vía metabólica es exclusiva de vegetales y bacterias e inexistente en animales (Isenring, 1996; Monroy y col., 2005), por lo que los mismos deben incorporar estos aminoácidos esenciales en la dieta. De aquí surge uno de los argumentos más empleados a la hora de preconizar la supuesta inocuidad del herbicida; puesto que, según se afirmó inicialmente, el mismo tendría una toxicidad con una selectividad casi exclusiva para las plantas. Sin embargo, esto es, por supuesto, un enfoque tan parcial de la realidad, que resulta imposible de sostener como argumento válido en la actualidad; puesto que como veremos, existe una gran cantidad de evidencia experimental que nos obliga a replantearnos los que hasta aquí se ha dicho sobre la seguridad del herbicida de mayor uso en el mundo.

La EPSPS, presente en una bacteria del suelo (*Agrobacterium*), tiene naturalmente alta tolerancia a la inhibición por Glifosato (Monsanto, 2005). Mediante técnicas de ingeniería genética, los genes de esta bacteria fueron transferidos a la semilla de soja

para obtener la soja transgénica resistente al Roundup® (soja RR). Esta nueva tecnología, o paquete tecnológico (soja RR-Glifosato-siembra directa) ha sido incorporada masivamente en la Argentina, que se ha convertido por tanto, en uno de los mayores consumidores de Glifosato a escala global.

Actualmente, se encuentran disponibles en el mercado unos 35 productos con Glifosato como principio activo (Burger y col., 2004), registrados en más de 100 países bajo una gran variedad de nombres comerciales.

Por supuesto, el Glifosato no es comercializado ni aplicado como tal. En las preparaciones comerciales, el Glifosato es combinado con isopropilamina, para dar lugar a la formación de una sal más soluble. Esta sal, disuelta en agua, se combina además con un surfactante que aumenta su eficiencia a campo. El surfactante más comúnmente empleado en todo el mundo, es la polioxietilamina (POEA), con una concentración que varía entre un 6 a un 18% según los diferentes productos comerciales. POEA es una sustancia que mejora aún más la solubilidad del ingrediente activo en agua y colabora en la difusión del mismo a través de la superficie de la planta.

La metabolización del Glifosato es producida principalmente por microorganismos del suelo, dando origen al menos a seis productos de degradación, de los cuales el de mayor importancia es el AMPA (Acido amino metil fosónico), el principal metabolito ambiental de Glifosato. El AMPA es detectable tanto en suelos como en tejidos vegetales.

Aspectos toxicológicos

En cuanto a la toxicidad del Glifosato, la mayoría de las Agencias Regulatorias lo considera relativamente irritante para las vías aéreas, piel y ojos. En seres humanos, los síntomas de toxicidad incluyen irritaciones dérmicas y oculares, náuseas y mareos, edema pulmonar, descenso de la presión sanguínea, reacciones alérgicas, dolor abdominal, pérdida masiva de líquido gastrointestinal, vómito, pérdida de conciencia, destrucción de glóbulos rojos, electrocardiogramas anormales y daño o falla renal. (Kaczewer, 2005). En poblaciones expuestas a fumigaciones aéreas en Ecuador, otros autores reportan síntomas como dolor abdominal y vómitos, diarrea, fiebre, palpitaciones, vértigo, dolor de cabeza, insomnio, malestar, irritación en piel y ojos, visión, borrosa y dificultad respiratoria (Paz-y-Miño y col., 2007).

Estos efectos observados en personas expuestas, se producen como el resultado del contacto directo con las formulaciones comerciales de Glifosato cuando este es aplicado en forma irresponsable directamente sobre poblaciones; algo que en la

Argentina sucede con mucha frecuencia cuando se fumigan campos de soja cercanos a viviendas, espacios públicos e incluso escuelas de zonas rurales. Probablemente uno de los aspectos de mayor importancia que determina el uso muchas veces negligente de este producto, es la sensación de seguridad generada por la gran cantidad de publicidad desde donde se emiten continuamente aseveraciones como que “Glifosato es menos tóxico que la sal de mesa, y mucho menos tóxico que la aspirina”; sumado al hecho de que en relación a otros agroquímicos como los insecticidas (organofosforados, organoclorados o piretroides por ejemplo) su toxicidad aguda es menor.

Sin embargo, los aspectos más controversiales de la toxicidad de Glifosato, están relacionados a su potencial capacidad de producir toxicidad crónica. La toxicidad crónica hace referencia a aquellos efectos que se producen por la exposición prolongada a bajas cantidades o concentraciones de una sustancia química; y que pueden ser acumulativos, produciendo enfermedades que se manifiestan en el mediano o largo plazo; y que pueden estar relacionadas por ejemplo, al desarrollo de neoplasias (cáncer) entre otros.

El peligro de este tipo de toxicidad es justamente, que sus efectos no se observan inmediatamente, lo que contribuye a esa sensación de seguridad que a su vez potencia el uso irresponsable; creando un círculo vicioso y silencioso que incrementa paulatinamente el riesgo de exposición humana, a través del agua y los alimentos contaminados con mayores cantidades de Glifosato.

Residuos de Glifosato

A nivel mundial, el uso de cultivos transgénicos resistentes al Glifosato ha sufrido un incremento espectacular, pasando de menos de 200.000 hectáreas cultivadas en el año 1995 a unas 52,6 millones de hectáreas en el 2001. Para el año 2003, el 46% de la cosecha de soja provenía de semillas genéticamente modificadas (OPS, 2003). Estados Unidos es el mayor productor de productos agrícolas genéticamente modificados, con el 68% de la cosecha transgénica mundial. Le sigue en segundo lugar la Argentina, con un considerable 22%, y luego Canadá (6%) y China (3%); sumando sólo estos cuatro países el 99% del cultivo total de especies transgénicas. En Argentina, el Glifosato está aprobado para ser usado en soja, algodón y maíz (Monsanto, 2005; SAGPyA, 2005).

Hasta la aparición en el mercado de los cultivos genéticamente modificados para ser tolerantes al Glifosato, el límite máximo de residuos (LMR); es decir la máxima cantidad permitida de Glifosato en soja, establecido en EEUU y Europa era de 0,1

miligramos por kilogramo. Sin embargo, a partir de 1996 este límite sufrió un incremento de 200 veces, alcanzando un valor de 20 mg/kg. Resulta sugestivo que este fantástico incremento en las cantidades permitidas de Glifosato como contaminante de la soja en particular, y por lo tanto de muchos alimentos que contienen soja en cantidades variables, coincida con el incremento exponencial que hemos podido observar en el uso de Glifosato a nivel mundial. La Argentina es un excelente ejemplo de este incremento; considerando que se consumieron 13.900.000 litros en el año 1996, y según estimaciones, se emplearán más de 200 millones de litros antes de que finalice el año 2009.

TOXICIDAD GENÉTICA

La toxicidad genética o genotoxicidad es el proceso por el cual un agente produce un efecto deletéreo sobre el ADN y otros blancos celulares que controlan la integridad del material genético (Gollapudi y col., 2000). Se denominan genotóxicos a aquellos agentes que producen alteraciones estructurales en el material hereditario, causando cambios o rearrreglos en el mismo, e induciendo por tanto mutaciones. Una vez producidas, las mutaciones son permanentes y por lo tanto heredables a otras células, o incluso de padres a hijos cuando las mutaciones se producen sobre células germinales como óvulos o espermatozoides. La acumulación de estas mutaciones en las células de mamíferos tiene una comprobada relación con la aparición de procesos neoplásicos (Sarasin, 2003). Además, si estas mutaciones se producen durante el embarazo en las células del concepto en desarrollo, pueden llevar a la inducción de malformaciones o incluso abortos. Si las mutaciones se producen sobre óvulos o espermatozoides pueden llevar a alteraciones reproductivas como infertilidad o una mayor incidencia de enfermedades hereditarias.

Ensayos de corto plazo (ECP) para la detección de mutágenos y carcinógenos

El estudio de la mutagénesis ha sido de gran importancia para la identificación de agentes potencialmente genotóxicos en una gran cantidad y variedad de áreas, incluyendo el monitoreo medioambiental, salud ocupacional, evaluación de riesgos, seguridad productiva y el entendimiento de la participación de componentes genéticos en la salud humana (Young, 2002).

Por definición, los ECP para genotoxicidad, detectan puntualmente agentes genotóxicos. **Se considera que los compuestos químicos que resultan positivos**

al ser evaluados por estos tests tienen la capacidad de ser mutagénicos, y por lo tanto de inducir el desarrollo neoplásico y/o defectos heredables en seres humanos entre otros posibles efectos adversos en la salud. Cada uno de estos ensayos proporciona cierta información, que puede resultar limitada e insuficiente cuando es analizada en forma aislada, pero que por lo general resulta concluyente cuando es analizada de forma integrada como parte de una batería de ensayos.

Un ensayo de gran importancia, que es ampliamente usado por haber demostrado ser útil y sensible en la detección de compuestos genotóxicos es el de **aberraciones cromosómicas** (AC) en células de mamíferos. Este ensayo brinda información relacionada a las alteraciones producidas a nivel de los **cromosomas**, tanto en estructura (daño en cromosomas o cromátidas) como en número (aneuploidías). En la Figura 1 puede observarse una ruptura de cromátida.

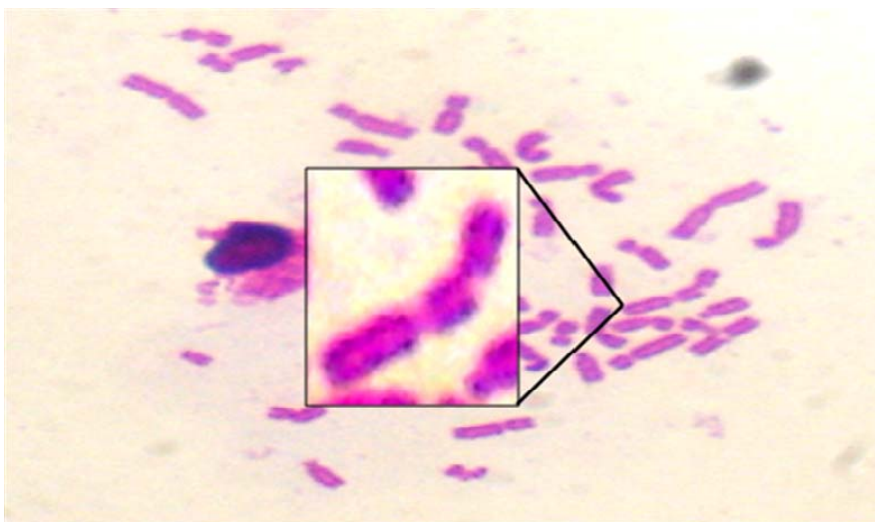


Figura1. Ruptura de cromátida en linfocito de sangre periférica humana.

Otro ensayo frecuentemente incluido en las evaluaciones de genotoxicidad es el de Micronúcleos en médula ósea de ratón. Este ensayo, como cualquier otro realizado en animales (*in vivo*), tiene en cuenta factores como la absorción, distribución, metabolismo y excreción (cinética) del compuesto analizado y/o sus metabolitos y la posible reparación de las lesiones. El ensayo de Micronúcleos es empleado para detectar daño a nivel de los **cromosomas** o del **aparato mitótico** en células inmaduras provenientes de la médula ósea. En la Figura 2 pueden observarse micronúcleos en eritrocitos de ratones.

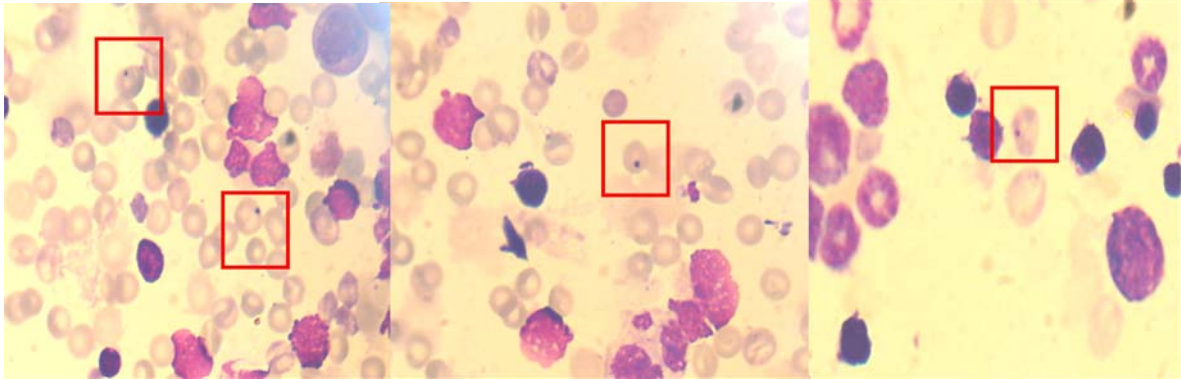


Figura 2. Micronúcleos en eritrocitos inmaduros de ratones.

Otro ensayo que ha demostrado ser una herramienta alternativa y útil para la identificación de químicos genotóxicos es el Ensayo de Cometa o electroforesis en gel de células individuales. El ensayo de Cometa detecta rupturas en las **cadena de ADN**. Es uno de los ensayos de mayor sensibilidad, y tiene la ventaja de que puede ser virtualmente realizado en cualquier tipo de célula eucariota sin la necesidad de realizar cultivos. Cuando el núcleo es sometido a electroforesis, los fragmentos rotos de ADN migran fuera del mismo, dándole la apariencia de cometa que da origen al nombre de la técnica. En la Figura 3 pueden observarse distintos niveles de daño al ADN en células de sangre periférica de ratones.

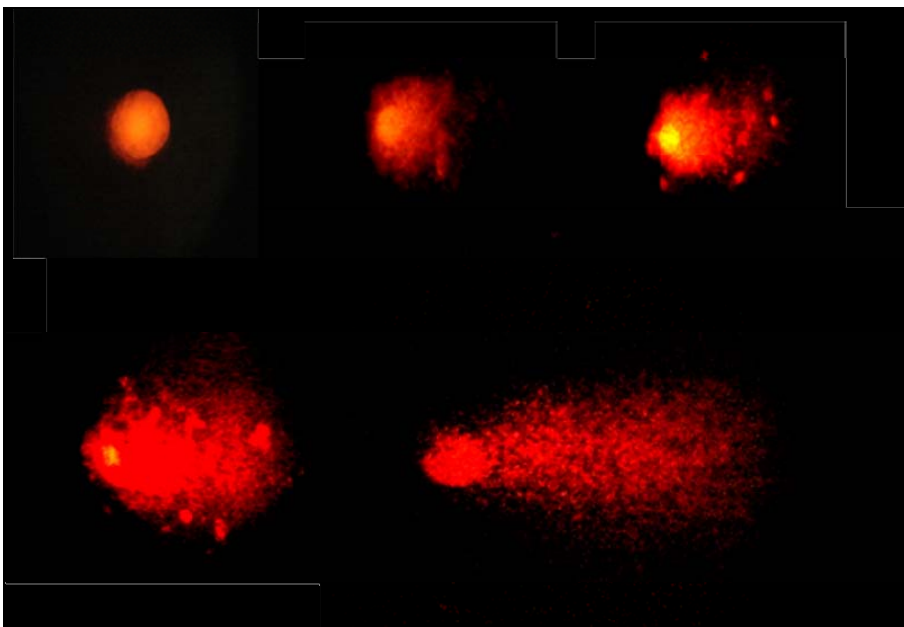


Figura 3. Distintos niveles de daño al ADN en células de sangre periférica de ratones.

Importancia de los ensayos de corto plazo en la detección de potenciales carcinógenos

El monitoreo de las potenciales propiedades genotóxicas de un compuesto, así como el biomonitoreo de poblaciones animales o humanas expuestas a sus posibles efectos es una herramienta útil para estimar el riesgo de genotoxicidad derivado de la exposición a un químico o complejo de químicos determinado. La validación de estos estudios ha sido reforzada por hallazgos recientes en estudios de cohorte en Europa, los cuales han validado el test de aberraciones cromosómicas como predictor del riesgo de cáncer y fundamentado su empleo en poblaciones expuestas a agentes genotóxicos (Neri y col., 2003).

GLIFOSATO Y GENOTOXICIDAD

Los trabajos que han evaluado la toxicidad y genotoxicidad del Glifosato, llevados a cabo hace más de diez años, han clasificado a este herbicida como de bajo riesgo para la salud humana y animal (EPA, 1993; WHO 1994). Williams y col. (2000) concluyen su revisión afirmando que bajo las condiciones de uso presente y esperado, no existe posibilidad de que este herbicida represente un riesgo a la salud humana. Esta revisión dedica un gran número de sus páginas a desestimar datos sobre genotoxicidad y otros aspectos toxicológicos de Glifosato generados por investigadores independientes; llegando a conclusiones que son posteriormente retomadas por la empresa y publicadas en forma de resumen en su página web (http://www.monsanto.com/monsanto/content/products/productivity/roundup/gly_human_risk.pdf); donde se afirma que el trabajo de Williams y col. fue realizado tras dos años de revisión de investigaciones llevadas a cabo por la propia empresa e “investigadores independientes”. De un total de 188 investigaciones “revisadas”, 25 de ellas (un 13,29%) corresponden a **reportes no publicados (unpublished report)** de investigaciones llevadas a cabo por Monsanto. Sin embargo, y pese a que en otras circunstancias, la comunidad científica no recibe con beneplácito los reportes de laboratorio que no han sido publicados y por tanto sometidos a la evaluación de pares (referato), esta revisión de Williams se convirtió en uno de los documentos sobre Glifosato más citados por la propia comunidad científica en todo el mundo.

En nuestro laboratorio hemos llevado a cabo una serie de ensayos con el fin de determinar el potencial genotóxico de Glifosato y su principal producto de degradación ambiental, AMPA. Mediante el ensayo de aberraciones cromosómicas en células de sangre periférica humana, hallamos un incremento estadísticamente significativo en los niveles de aberraciones cromosómicas con una concentración de 200 µg/ml de

AMPA (Mañas y col., 2009). En la literatura disponible se pueden encontrar sólo dos reportes previos de aberraciones cromosómicas en sangre periférica humana expuesta a Glifosato. Van de Waart (1995) evaluó cultivos de células presente en la sangre humana (concretamente linfocitos) expuestos a 0,33-0,56 mg/ml de Glifosato y obtuvo resultados negativos. Sin embargo, esta investigación no fue publicada, sino que es citada por una revisión solicitada por la empresa Monsanto y realizada por Williams y col. en el año 2000. El segundo trabajo pertenece a Lioi y col. (1998a), quienes trabajaron con una dosis mucho menor (0,0014 mg/ml), obteniendo resultados positivos. Estos mismos autores llevaron a cabo el mismo ensayo, pero en sangre periférica de bovino, obteniendo también resultados positivos con una dosis de 0,0029 mg/ml. Del mismo modo, Šiviková y Dianovský (2005) trabajaron también en sangre periférica bovina, pero obtuvieron resultados negativos con una concentración de 0,024 µg/ml.

Otro ensayo de genotoxicidad realizado en nuestro laboratorio empleando el Ensayo Cometa para evaluar daño al ADN sobre una línea celular humana, evidenció un incremento estadísticamente significativo de daño al ADN para todas las concentraciones ensayadas de Glifosato y de AMPA (Mañas y col., 2009). Previamente, Monroy y col. (2005) llevaron a cabo una experiencia similar con Glifosato, empleando el Ensayo Cometa para evaluar daño al ADN en otras líneas celulares, con resultados similares a los que obtuvimos posteriormente en nuestro laboratorio.

También mediante el Ensayo Cometa, pero con un diseño *in vivo*, es decir sobre ratones de experimentación, Bolognesi y col. (2003) reportan evidencias de daño al ADN en hígado y riñón de ratones expuestos a 300 mg/kg intraperitoneal. Resultados similares obtuvimos también en ratones Balb C expuestos a 400 mg/kg de Glifosato por vía intraperitoneal (Mañas y col., 2006), en los que encontramos un aumento estadísticamente significativo en los valores de daño al ADN.

También en ratones se observó una elevación en el número de células micronucleadas para los animales tratados con ambos compuestos, Glifosato y AMPA (Mañas y col., 2006, 2009).

Los efectos genotóxicos de Glifosato en ratones, se presentan tanto en la forma de daño al ADN, como en estructuras más complejas como los cromosomas o el aparato mitótico, y tanto en médula ósea como en sangre periférica. Rank y col. (1993) publicaron resultados negativos en el ensayo de Micronúcleos de ratones a la dosis de

200 mg/kg, coincidente con nuestros datos (Mañas y col., 2009); y Bolognesi y col. (1997) reportaron genotoxicidad en el mismo ensayo con una dosis de 300 mg/kg.

La evaluación de la genotoxicidad de Glifosato en sistemas *in vivo* a través del Ensayo de Cometa y de la prueba de Micronúcleos a una dosis de 400 mg/kg por vía intraperitoneal, permite estimar que Glifosato, en las condiciones experimentales empleadas, es capaz de producir daño al ADN en ratones de experimentación.

Pese a lo que algunas interpretaciones sugieran, las dosis y concentraciones empleadas en cada caso responden a las recomendaciones internacionales (OECD, ICH), las cuales sugieren dosis de hasta 2000 mg/kg si los animales lo toleran. Las dosis empleadas en estos ensayos de corto plazo no **necesariamente deben ser semejantes a las que se pueden obtener por exposición ambiental**, puesto que el fin de los ensayos de genotoxicidad es determinar si un compuesto tiene o no la capacidad de inducir alteraciones en el material hereditario. Considerando que estos ensayos se llevan a cabo generalmente tras una sola administración, o por exposiciones de muy corto tiempo, las dosis elevadas buscan poner en evidencia el potencial genotóxico de un compuesto al que los seres humanos podemos vernos expuestos por períodos prolongados.

Los resultados obtenidos hasta el momento en los ensayos de genotoxicidad han demostrado que Glifosato no es un herbicida exento de riesgo de toxicidad genética para la población expuesta. **Se ha evidenciado la capacidad de Glifosato de producir alteraciones genéticas a través de una variedad de ensayos en los que se han hallado resultados positivos.** Aunque Glifosato no arrojó resultados positivos mediante el test de aberraciones cromosómicas, sí produjo un incremento en el daño al ADN medido en ratones y en células humanas mediante el Ensayo Cometa, e indujo también un incremento de micronúcleos en médula ósea de ratones tratados.

Como se expuso previamente, los efectos tóxicos sobre el material genético observados en distintos sistemas biológicos, son indicativos de que Glifosato es una molécula que podría producir diversas alteraciones en la salud humana. Uno de los efectos que podría derivar de la exposición a Glifosato, aún a bajas dosis, es lo que se conoce como teratogénesis; es decir, la capacidad de inducir malformaciones tras la exposición durante el período embrionario en el útero materno.

En este sentido, existe evidencia experimental, obtenida por distintos investigadores, que demuestran estos efectos. Se han reportado efectos sobre el desarrollo del esqueleto en fetos de ratas preñadas expuestas a distintas dosis de Round up® por

vía oral (Dallegrave y col., 2003); alteraciones en el desarrollo embrionario de erizos de mar (Marc y col, 2005) y alteraciones en cultivos de células embrionarias humanas (Benachour y col., 2006) entre otros. Asimismo, las investigaciones realizadas por el Dr. Carrasco en embriones de anfibios de la especie *Xenopus laevis* son un claro indicio de la capacidad, tanto de Glifosato, como de una de sus formulaciones comerciales (Round up®) de inducir alteraciones en el desarrollo embrionario. Todos estos modelos de experimentación son ampliamente aceptados y empleados por la comunidad científica internacional, con el fin de lograr detectar y comprender los mecanismos por los cuales un compuesto químico puede afectar el desarrollo embrionario humano. Esta es la razón por la que resulta peligrosa la tesis que se sostiene en determinados sectores, cuando se afirma que el hecho de que Glifosato resulte teratógeno en anfibios es irrelevante puesto que el producto no ha sido diseñado ni es comercializado para ser empleado en embriones de anfibios. Este fundamento no sólo es inaceptable desde el punto de vista científico, sino que además contribuye a mantener esa sensación de seguridad por la que incluso se elabora y controla la legislación actual en materia de salud pública.

Las diferencias en los resultados hallados hasta el momento en los ensayos de genotoxicidad pueden deberse a la diferencia de sensibilidad de las técnicas empleadas, así como al tiempo de exposición y tal vez a la participación del metabolismo animal en los ensayos en ratones (*in vivo*). Muchos compuestos pueden producir resultados positivos *in vivo* y negativos *in vitro* (en tubos de ensayo) debido a su mecanismo de acción indirecta y consecuente necesidad de activación metabólica (Losi-Guembarovski y col. 2004). Esto concuerda además con lo que hemos podido observar para las distintas evaluaciones de genotoxicidad realizadas en el principal metabolito de Glifosato, AMPA.

Mladinic y col. (2009) reportan un incremento en el número de eritrocitos micronucleados, cuerpos nucleares y puentes nucleoplásmicos en linfocitos humanos expuestos a 5 concentraciones de Glifosato. En todos los casos, estas alteraciones se incrementaron con la presencia de la fracción microsomal S9, que tiene como fin mimetizar los efectos del metabolismo hepático *in vitro* con el objeto de determinar si algún metabolito puede producir alguna diferencia en los efectos genotóxicos observados con la molécula parental, en este caso Glifosato. Estos autores comprobaron que ante la presencia de una fuente metabólica (S9) en los cultivos de linfocitos, se encontró un mayor número de alteraciones citogenéticas; lo que podría indicar que al sufrir metabolización, Glifosato produce moléculas con mayor efecto genotóxico que la que tiene *per se*.

Con el fin de determinar cómo se comporta un compuesto químico determinado cuando ingresa al organismo, se llevan a cabo estudios de *toxicocinética*. Estos estudios permiten determinar por ejemplo, qué sucede con el compuesto cuando ingresa a nuestro organismo por vía oral; si se absorbe o no, como se distribuye a través de la sangre por el organismo, si se metaboliza o no, si se acumula en algún tejido y porque vías se elimina (orina o bilis) entre otros datos de suma importancia.

Uno de los pocos estudios de toxicocinética que existe sobre Glifosato y AMPA, realizado en ratas a las que se les administró Glifosato a la misma dosis empleada en la mayoría de los ensayos que hemos realizado (400 mg/kg) por vía oral, concluye que tras la absorción de Glifosato, es posible detectar en sangre un pico máximo de AMPA a 2.42 hs de la administración (Anadón y col., 2009). Esto indica, que Glifosato, si bien en cantidades bajas, podría ingresar a nuestro organismo a través del agua o los alimentos contaminados; y que además este puede transformarse en nuestro organismo en AMPA, que también circulará por sangre hasta ser finalmente eliminado.

En su completa revisión sobre la evaluación de riesgo de Glifosato, Williams y col. afirman que considerando la información disponible sobre AMPA, no hay ninguna evidencia que indique la posibilidad de que AMPA sea genotóxico o mutágeno.

Sin embargo, para este metabolito, hemos observado hasta el momento, resultados positivos en todos los ensayos de genotoxicidad empleados (aberraciones cromosómicas, Ensayo Cometa en ratones, Ensayo Cometa en células humanas y ensayo de Micronúcleos en ratones). Algunas agencias regulatorias han determinado que AMPA carece de interés toxicológico, y por lo tanto, no es incluido en las evaluaciones de riesgo (EPA, 1993). Sin embargo, poco se conoce sobre su actividad biológica y como hemos visto, los ensayos de genotoxicidad, indican que AMPA no es un metabolito carente de riesgo desde el punto de vista toxicológico. Lamentablemente poco puede discutirse sobre el potencial genotóxico de AMPA debido a la falta de información sobre este compuesto (Mañas y col., 2009).

Para el caso de Glifosato, la biodisponibilidad por vía oral, según distintos autores varía entre un 19%, hasta un 36% (Anadón y col., 2009), con un alto volumen de distribución (2,32 l/kg) que indica que Glifosato alcanza fácilmente el líquido extracelular en todos los tejidos. De estos datos, se puede inferir que si bien Glifosato no tiene una gran absorción por vía oral, una vez ingresado al organismo tiene la capacidad de llegar a la mayoría (si es que no a todos) los tejidos. La vida media de eliminación ($t_{1/2}$) indica también que tanto Glifosato como AMPA tienen una lenta

eliminación del organismo, lo que les permite entrar en contacto por suficiente tiempo con los tejidos como para producir efectos sistémicos (Anadón y col., 2009).

Debemos tener en cuenta además, que otra de las posibles vías de ingreso es la vía respiratoria en aquellas personas y/o animales expuestos a Glifosato a partir de las fumigaciones. Al igual que por la vía intraperitoneal, esta permite una mayor y más rápida absorción, por lo que la biodisponibilidad también es más elevada y por lo tanto mayores son los riesgos de que aparezcan sus efectos adversos.

Sin embargo, el mayor riesgo en la población general está vinculado a la exposición a Glifosato y/o AMPA por vía oral, a través del consumo de alimentos y/o agua contaminados con sus residuos. En Argentina, Peruzzo y col. (2008), llevaron a cabo una investigación sobre niveles de Glifosato en suelo y aguas de la región de Pergamino, al Norte de la provincia de Buenos Aires, considerando períodos de aplicación y lluvias. Estos autores observaron que los niveles de Glifosato en agua variaron entre 0,1 y 0,7 mg/ml. Incrementos significativos en los niveles encontrados se observaron después de registrarse lluvias en la zona de muestreo. Estos aumentos, según los autores, se producen por simple dilución de Glifosato en el agua (es altamente hidrosoluble), o por el movimiento de las partículas en las capas superiores del suelo hacia las corrientes de agua cercanas (Peruzzo y col., 2008). En suelo, estos autores encontraron un nivel superior a los 4 mg/kg luego de la primera aplicación, que desciende luego de las lluvias, concordando con el aumento que observaron después de la lluvia en las corrientes de agua cercanas e indicando que finalmente Glifosato escurre hacia las mismas, generando contaminación en lugares distantes a los sitios de aplicación. Sin embargo, en este trabajo, no se considera la metabolización de Glifosato, y su posterior transformación en AMPA, por lo que es posible que exista una subestimación del riesgo al que están expuestas aquellas poblaciones en contacto con el agua contaminada, ya que es probable que la misma esté también contaminada con AMPA.

Kolpin y col. (2006) detectaron tanto Glifosato (17,5% de 40 muestras) como AMPA (67,5% de 40 muestras) en cursos de agua y en plantas de tratamiento de aguas residuales en los EE.UU. Así, AMPA fue detectado con mucha mayor frecuencia en cursos de agua y en plantas de tratamiento de aguas residuales en los EE.UU. (Battaglin y col., 2005, Kolpin y col., 2006). Además, este metabolito tiene una mayor persistencia ambiental (vida media en el suelo) que el propio Glifosato; siendo de 76 a 240 días para el primero, y de 2 a 197 días para el último (Battaglin y col. 2005); y

existe además, evidencia de que AMPA representa un importante riesgo de contaminación de aguas subterráneas (Landry y col., 2005).

Desde el año 2003, en la ciudad de París y periferia, se han detectado incrementos en los niveles de Glifosato y AMPA en aguas superficiales, que frecuentemente exceden los límites fijados por el estándar europeo de calidad de agua para consumo humano (0,1 µg/ml para plaguicidas en general). Esto constituye un serio problema considerando que el 60% del agua que consumen en el área urbana de París procede justamente de estas aguas superficiales (Botta y col., 2009). Por otro lado, en dos muestras de soja genéticamente modificada provenientes de la Argentina se hallaron residuos tanto de Glifosato, como de AMPA (2,5 y 2,8 mg/kg para el primero y 1,0 y 2,5 mg/kg para el segundo) a través de un método cromatográfico. En contraste, no se hallaron residuos en otras muestras de soja no modificada genéticamente provenientes de China (Li y col., 2007).

La presencia de residuos de Glifosato y su metabolito AMPA en agua y alimentos para consumo humano es un fuerte indicativo de que existe un riesgo importante de exposición para poblaciones humanas y animales a estos xenobióticos. Lamentablemente, hasta el momento es escasa la información relacionada a la contaminación ambiental y la presencia de sus residuos; y si bien los niveles en los que podemos encontrar estos contaminantes no alcanzan las concentraciones con las que hemos trabajado; debemos tener en cuenta que la exposición prolongada (crónica) a estas bajas concentraciones puede producir efectos tóxicos de gran importancia, tanto en el medio ambiente, como en la salud de las personas.

Con los datos obtenidos hasta el momento en nuestro laboratorio, podemos concluir que Glifosato no es un herbicida carente de riesgos para el medio ambiente o la salud humana. Más aún, **el principal producto de su degradación ambiental, el ácido amino-metil fosfónico (AMPA) tiene tanto o mayor potencial toxicogénico que la molécula parental.**

La importancia de esta información radica fundamentalmente en que existe evidencia de que con el uso presente y posiblemente futuro de Glifosato, tanto éste como AMPA seguirán apareciendo como contaminantes e ingresando a nuestro organismo por diferentes vías, poniendo en riesgo nuestra salud y la de futuras generaciones. La falta de regulaciones y las deficientes políticas en Salud Pública son algunos de los aspectos a los que se debe apuntar con el fin de disminuir los riesgos derivados de la exposición a niveles elevados de Glifosato y AMPA.

Bibliografía

1. **Anadón, A.**; Martínez-Larrañaga, M.; Martínez, M.; Castellano, V.; Martínez, M.; Martín M.; Nozal, M.; Bernal, L. 2009. Toxicokinetics of glyphosate and its metabolite aminomethyl phosphonic acid in rats. *Toxicol. Let.* [En línea].2009. En prensa.
2. **Battaglin, W.**; **Kolpin, D.**; **Scribner, E.**; **Kuivila, K.**; **Sandstrom, M.** 2005. Glyphosate, Other Herbicides, and Transformation Products in Midwestern Streams. *J Am Water Resour Assoc.* [En línea]. 2005. vol. 41: 323-332.
3. **Benachour, N.**; **Sipahutar, H.**; **Moslemi, S.**; **Gasnier, C.**; **Trsvert, C.**; **Séralini, G.** 2006. Time-and dose- effects of Roundup on human embryonic and placental cells. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* [En línea]. 2006. Vol. 53: 126-133.
4. **Benedetti, A.**; **Vituri, C.**; **Trentin, A.**; **Domingues, A.**; **Silva, M.** 2004. The effects of subchronic exposure of Wistar rats to the herbicide Glyphosate-Biocarb. *Tox. Let.* 153: 227-232.
5. **Bolognesi, C.** 2003. Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mut Res* [En línea]. 2003. vol. 543: 251-272.
6. **Bolognesi, C.**; **Bonatti, S.**; **Gallerani, E.**; **Peluso, M.**; **Rabboni, R.**; **Roggieri, P.**; **Abbondandolo, A.** 1997. Genotoxic Activity of Glyphosate and Its Technical Formulation Roundup *J.Agr. Food Chem.* [En línea] 1997. Vol. 45: 1957-1962.
7. **Botta, F.**; Lavisson, G.; Couturier, G.; Alliot, F.; Moreau-Guigon, E.; Fauchon, N.; Guery, B.; Chevreuil, M.; Blanchoud, H. 2009. Transfer of Glyphosate and its degradate AMPA to surface waters through urban sewerage systems. *Chemosphere.* [En línea]. En prensa. [fecha de consulta: 10 de Mayo de 2009]. Disponible en:<<http://www.sciencedirect.com>>
8. **Burger, M.**; **Fernández, S.** 2004. Exposición al herbicida glifosato: aspectos clínicos toxicológicos. *Rev Med Uruguay.* [En línea]. 2004. vol. 20: 202-207.
9. **Dallegrave, E.**; **DiGiorgio Mantese, F.**; **Soares Coelho R.**; **Drawans Pereira, J.**; **Dalsenter, P.**; **Langeloh, A.** 2002. The teratogenic potential of the herbicide glyphosate-Roundup in Wistar rats. *Tox. Let.* [En línea] Diciembre, 2002. vol. 142: 45-52.
10. **Durán Merás, I.**; **Galeano Díaz, T.**; **Alexandre Franco, M.** 2005. Simultaneous fluorimetric determination of glyphosate and its metabolite, aminomethylphosphonic acid, in water, previous derivatization with NBD-Cl and by partial least squares calibration (PLS). *Talanta.* [En línea] 2005. vol. 65: 7–14.

11. **Gollapudi, B.; Krishna, G.** 2000. Practical aspects of mutagenicity testing strategy: an industrial perspective. *Mut Res* [En línea]. 2000, vol. 455: 21-28.
12. **Kolpin, D.; Thurman, M.; Lee, E.; Meyer, M.; Furlong, E.; Glassmeyer, S.** 2006. Urban contributions of glyphosate and its degradate AMPA to streams in the United States. *Sci Total Environ.* [En línea]. 2006. vol. 354: 191–197.
13. **Landry, D.; Dousset, S.; Fournier, J.; Andreux, F.** 2005. Leaching of glyphosate and AMPA under two soil management practices in Burgundy vineyards (Vosne-Romanée, 21-France). *Environ Poll.* [En línea].
14. **Li, B.; Deng, X.; Guo, D.; Jin, S.** 2007. Determination of Glyphosate and Aminomethylphosphonic acid residues in foods using high performance liquid chromatography-mass spectrometry/mass spectrometry. *Chin J. Chromatogr.* 2007. [En línea]. Vol. 25(4): 486-490.
15. **Lioi, M.; Scarfi, M.; Santoro, A.; Barbieri, R.; Zeni, O.; Salvemini, F.; Di Berardino, D.; Ursini, M.** 1998. Cytogenetic damage and induction of pro-oxidant state in human lymphocytes exposed in vitro to glyphosate, vinclozolin, atrazine, and DPX-E9636. *Environ Mol Mut.* [En línea]. 1998. [vol. 32](#): 39 – 46.
16. **Losi-Guembarovski, R.; Santos, F.; Dias, F.; Frederico, R.; Colus, I.** 2004. Assessment of the ability of Imazaquin herbicide to induce chromosomal aberrations in vitro in cultured Chinese hamster ovary cells and micronuclei in vivo in mice. *Food Chem Toxicol.* [En línea]. 2004. vol. 42: 1245-1249.
17. **Mañas Torres F., González Cid Urroz, M.; García Ovando, H.; Weyers Anchordoqui, I.; Ugnia Vera, L.; Larripa Hand, I.; Gorla Abrate, N.** La genotoxicidad del herbicida glifosato evaluada por el ensayo cometa y por la formación de micronúcleos en ratones tratados. *Theoria*, Vol. 15 (2): 53-60, 2006.
18. **Mañas F.; Ovando H.; Peralta L.; Larripa I.; Gonzalez Cid M.; Ugnia L.; Weyers A.; Raviolo J.; Gorla N.** GENOTOXICITY OF AMPA, ENVIRONMENTAL METABOLITE OF GLYPHOSATE, ASSESSED BY THE COMET ASSAY AND CYTOGENETIC TESTS. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 72 (2009): 834-837.
19. **Mañas F.; Peralta L.; García Ovando H.; Weyers A.; Ugnia L.; Larripa I.; Gonzalez Cid M.; Gorla N.** GENOTOXICITY OF GLYPHOSATE ASSESSED BY THE COMET ASSAY AND CYTOGENETIC TESTS. *Environmental Toxicology and Pharmacology* 28 (2009): 37-41.
20. **Mladinic, M.; Perkovic, P.; Zeljezic, D.** 2009. Characterization of chromatin instabilities induced by Glyphosate, Terbutylazine and Carbofuran using cytome FISH assay. *Toxicol. let.* [En línea]. 2009. vol. 189: 130-137.

21. **Monroy, C.; Cortés, A.; Sicard, D.; Groot de Restrepo, H.** 2005. Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas in vitro a glifosato. *Biom* [En línea]. 2005. vol. 25: 335-345.
22. **Monroy, C.; Cortés, A.; Sicard, D.; Groot de Restrepo, H.** 2005. Citotoxicidad y genotoxicidad en células humanas expuestas in vitro a glifosato. *Biom* [En línea]. 2005. vol. 25: 335-345.
23. **Neri, M.; Fucic, A.; Knudsen, L.; Lando, C.; Merlo, F.; Bonsái, S.** 2003. Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. *Mut Res* [En línea]. 2003. vol. 544: 243-254. .
24. **Paz-y-Miño, C.; Sánchez, M.; Arévalo, M.; Muñoz, M.; Witte, T.; Oleas De-la-Carrera, G.; Leone, P.** 2007. Evaluation of DNA damage in an Ecuadorian population exposed to glyphosate. *Gen Mol Biol.* [En línea]. 2007. vol. 30: 456-460.
25. **Peruzzo, P.; Porta, A.; Ronco, A .** 2008. Levels of Glyphosate in surface waters, sediments and soils associated with direct sowing soybean cultivation in north pampasic region of Argentina. *Environ. Poll.* 156: 61-66.
26. **Rank, J.; Jensen, A. ; Skov, B. ; Pedersen, L.; Jensen, K.** 1993. Genotoxicity testing of the herbicide Roundup and its active ingredient glyphosate isopropylamine using the mouse bone marrow micronucleus test, Salmonella mutagenicity test, and Allium anaphase-telophase test. *Mut Res.* [En línea]. Vol. 300: 29-36.
27. **Williams, G.; Kroes,R.; Munro, I.** 2000. Safety Evaluation and Risk Assessment of the Herbicide Roundup and Its Active Ingredient, Glyphosate, for Humans. *Reg Tox Pharm* [En línea]. 2000. vol. 31: 117-165.