

Daño celular y genético como determinantes de la toxicidad de los plaguicidas

Cellular and genetic damage as determinants of pesticide toxicity

Duvan Sebastián Valbuena^{a*}
María Paula Meléndez-Flórez^{a*}
Victoria Eugenia Villegas^b
Magda Carolina Sánchez^c
Milena Rondón-Lagos^{d**}

Fecha de Recepción: 12.04.2020

Fecha de Aceptación: 05.05.2020

Doi: <https://doi.org/10.19053/01217488.v11.n2.2020.11245>

Resumen

El uso de plaguicidas en Colombia ha permitido el control efectivo de plagas, lo que se ha traducido en un aumento de la productividad agrícola, forestal y ganadera del país. A pesar de sus ventajas, la exposición ocupacional y ambiental a este tipo de compuestos tiene la capacidad de generar efectos nocivos sobre la salud humana, debido a que pueden inducir daño en el material genético y provocar enfermedades como el cáncer. Aunque los efectos nocivos de la exposición a los plaguicidas son ampliamente conocidos, la información sobre el daño genómico (génico y cromosómico) producido es escasa o ausente. Esta revisión tiene como objetivo describir los efectos celulares y genéticos inducidos por la exposición a plaguicidas, así como sus implicaciones sobre la etiología de ciertas enfermedades. Considerando el amplio uso de plaguicidas en el mundo y su impacto sobre la salud, aumentar el bagaje de conocimiento sobre sus efectos nocivos permitirá establecer posibilidades futuras de aplicación de pruebas para la detección temprana de enfermedades, así como desarrollar programas y/o acciones preventivas dirigidas a la protección de los individuos más vulnerables en entornos ocupacionales y ambientales.

Palabras Clave: Exposición ocupacional, Genotoxicidad, Inestabilidad cromosómica, Plaguicidas

Abstract

The use of pesticides in Colombia has allowed effective pest control, increasing agricultural, forestry and livestock productivity. However, both occupational and environmental exposure to pesticides can generate harmful effects on human health, since they can induce damage to genetic material, causing the development of diseases, including cancer. Although the harmful effects caused by exposure to pesticides are widely known, specific information about genomic damage (gene and chromosomal damage) generated by exposure to them is scarce or absent. This review aims to describe the cellular and genetic effects induced by exposure to pesticides, as well as their implications for disease development. Considering the wide use

^a Estudiantes de Biología. Grupo de Investigación en Ciencias Biomédicas-UPTC, Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia.

^b PhD. Grupo de Investigación en Moléculas Biológicas y Actividad Celular, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.

^c MSc. Grupo de Investigación en Moléculas Biológicas y Actividad Celular, Programa de Biología, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad del Rosario, Bogotá, Colombia.

^d PhD. Grupo de Investigación en Ciencias Biomédicas-UPTC, Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, Tunja, Colombia

* Aportaron igualmente al artículo

** Autor de correspondencia: sandra.rondon01@uptc.edu.co

of pesticides in the world, as well as their impacts on health, increasing our knowledge of their harmful effects will allow us to establish future possibilities for applying tests for the early detection of diseases, as well as developing programs and/or preventive actions aimed at protecting the most vulnerable individuals in occupational and environmental settings.

Key words: Chromosomal Instability, Genotoxicity, Occupational exposure, Pesticides.

1. INTRODUCCIÓN

Colombia es considerado un país con la facultad de duplicar su capacidad agrícola para el año 2050 [1], lo que pone de presente la relevancia de la industria agrícola para el futuro económico del país [2]. En la actualidad, hay cerca de 40 millones de hectáreas disponibles para la agricultura, aunque solo seis millones están aprovechadas con este fin [2,3], por lo que el futuro aprovechamiento de este terreno para la obtención de cultivos promisorios supondría un incremento en el uso de plaguicidas para el control de plagas y enfermedades que afecten a los cultivos [4].

Diversos estudios han puesto en evidencia el riesgo potencial de la exposición crónica a plaguicidas, teniendo en cuenta que pueden provocar alteraciones en el material genético, como mutaciones génicas y/o alteraciones cromosómicas y, por tanto, también enfermedades como el cáncer [5,6]. A pesar que el conocimiento sobre los efectos nocivos de los plaguicidas ha aumentado en los últimos años, es poco lo que se conoce acerca del daño celular y genómico inducido. Considerando lo anterior, en esta revisión, profundizamos sobre los efectos celulares y genéticos de la exposición

a plaguicidas y sus implicaciones en el desarrollo de enfermedades.

2. PLAGUICIDAS

Los plaguicidas son sustancias químicas de origen sintético o natural, destinadas al control de plagas o de vectores causantes de enfermedades humanas, animales y vegetales [4,7]. Estas sustancias están diseñadas para ser tóxicas con los enemigos del ambiente y la agricultura [8]. Se clasifican de acuerdo con el tipo de organismos que controlan, así como con su toxicidad y composición química. Numerosos plaguicidas han sido clasificados por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) en el grupo 2A, como probablemente cancerígenos para los seres humanos [9]. Según el Instituto Nacional de Salud en Colombia, para el año 2017 se reportaron 8.423 casos de intoxicación con plaguicidas [10] en los que las principales vías de ingreso al organismo fueron la dérmica, por contacto directo; la respiratoria, por inhalación o exposición ambiental y la oral, por ingesta de productos contaminados como alimentos o agua (Figura 1).

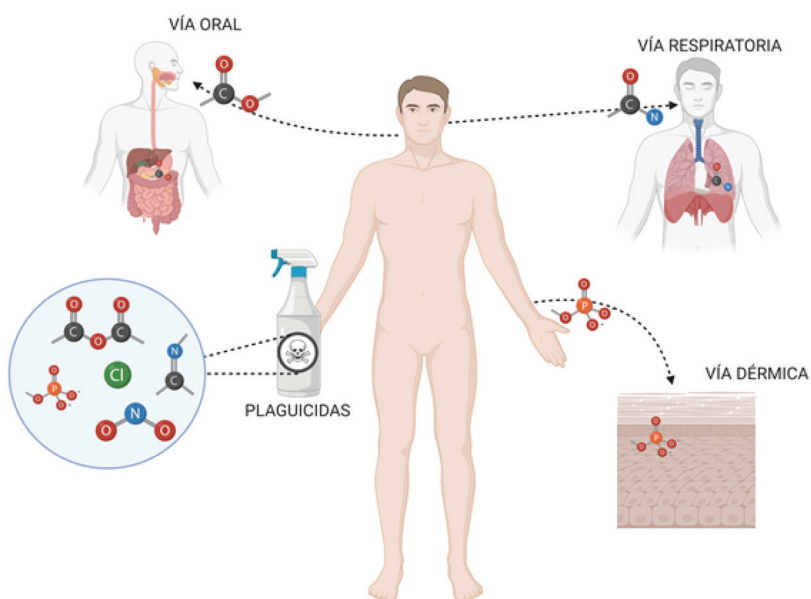


Figura 1. Principales vías de ingreso de plaguicidas al organismo. Los plaguicidas ingresan al organismo principalmente a través de la piel (vía dérmica), vías respiratorias y vías orales

2.1 Clasificación

2.1.1 Según los organismos que controlan

De acuerdo con su acción específica sobre la plaga o enfermedad que controlan, los plaguicidas se clasifican en insecticidas (contra insectos), acaricidas (contra garrapatas, ácaros y arañas), nematocidas (contra nemátodos), molusquicidas (contra moluscos), rodenticidas (contra roedores), avicidas (contra aves), bactericidas (contra bac-

terias), fungicidas (contra hongos) y herbicidas (contra plantas indeseadas) [7,11].

2.1.2 Según su composición química

Los plaguicidas también pueden ser clasificados de acuerdo con el grupo químico del principio activo, entre los principales se destacan los indicados en la tabla 1 [7,11,12].

Tabla 1. Clasificación de los principales plaguicidas de acuerdo con su composición química

Grupo químico del principio activo	Tipo de molécula	Modo de acción
Organofosforados	Ácido fosforico [13]	Actúan inhibiendo dos enzimas, la acetilcolinesterasa y butirilcolinesterasa [12].
Organoclorados	Moléculas orgánicas con sustituyentes cloro en varios lugares de su estructura, que poseen una configuración cíclica [14]	Actúan como antagonistas de los canales de cloro GABA-dependientes [7].
Carbamatos	Ácidos carbamáticos [15]	Actúan como inhibidores de las enzimas colinesterasas [11].
Bipiridilos (Diquat y paraquat)	Bipiridilos [12]	Son agentes corrosivos, que producen especies reactivas de oxígeno, lo que causa toxicidad sistémica [12].
Clorofenoxiácidos	Ácido fenoxiacético [11]	En las plantas actúan estimulando la hormona de crecimiento, mientras que en animales puede inducir daño mitocondrial [7,11].
Fosfometilglicina (Glifosato)	N- Fosfometil-glicina [16]	Estos compuestos pueden causar un desacoplamiento de la fosforilación oxidativa mitocondrial [7,11,12].
Ftalonitrilos	Ácido cloroisoftálico [11].	Actúan inhibiendo la respiración celular [11].

2.1.3 Según su toxicidad

La Organización Mundial de la Salud (OMS) (2009) [17] clasificó a los plaguicidas con base en la dosis letal 50 (DL50) (estimado estadístico que corresponde a la cantidad necesaria de tóxico por kilogramo de peso, capaz de matar al 50% de los individuos de una gran población de prueba) en extremadamente peligros por vía oral (≤ 5 mg/Kg sólidos y ≤ 20 mg/Kg líquidos) y por vía dérmica (≤ 10 mg/Kg sólido y ≤ 40 mg/Kg líquido); altamente peligroso por vía oral (5-50

mg/Kg sólido y 20-200 mg/Kg líquido) y por vía dérmica (10-100 mg/Kg sólido y 40-400 mg/Kg líquido); moderadamente peligroso por vía oral (50-500 sólidos y 200-2000 líquidos) y por vía dérmica (100-1000 mg/Kg sólido y 400-4000 mg/Kg líquido) y ligeramente peligroso por vía oral (≤ 500 mg/Kg sólidos y ≤ 2000 mg/Kg líquidos) y vía dérmica (≤ 1000 mg/Kg sólido y ≤ 4000 mg/Kg líquido) [7]. La clasificación otorgada por la OMS según su categoría toxicológica es indicada en la tabla 2 [11].

Tabla 2. Clasificación toxicológica de las plaguicidas (OMS)

Clase	Definición	DL ₅₀ en ratas por mg/kg de peso			
		Vía Oral		Vía Dérmica	
		Sólidos	Líquido	Sólido	Líquido
Ia	Extremadamente peligroso	≤5	≤20	≤10	≤40
Ib	Altamente peligroso	5-50	20-200	10-100	40-400
II	Moderadamente peligroso	50-500	200-2000	100-1000	400-4000
III	Ligeramente peligroso	≥500	≥2000	≥1000	≥4000

2.2 Mecanismo de acción de los plaguicidas

El mecanismo de acción de los plaguicidas a nivel celular depende de las variaciones individuales en la absorción y distribución tisular específica de los plaguicidas. Aunque existe una amplia información sobre los procesos biológicos desencadenados, es limitado el acervo de conocimiento disponible sobre la toxicidad y la genotoxicidad asociada [18].

Estudios recientes han demostrado que los plaguicidas inducen estrés oxidativo [18] y alteran los mecanismos de desintoxicación y eliminación de enzimas de la célula, lo que deteriora la función celular y enzimática, mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) [19]. Tanto el aumento de la producción de estas especies como la disminución de la capacidad de defensa antioxidante pueden alterar el equilibrio oxidativo y dañar a todos los componentes de la célula, incluidos los lípidos, las proteínas y los ácidos nucleicos. Esto explica que el estrés oxidativo sea uno de los principales mecanismos implicados en la génesis de diversas enfermedades [20]. A este respecto, ha sido reportado que ROS pueden afectar la expresión de genes que participan en procesos de inflamación, transformación celular, muerte o supervivencia de células tumorales, proliferación celular, invasión, angiogénesis y metástasis [21].

La exposición a plaguicidas puede además modular la funcionalidad de las células del sistema inmune, como los macrófagos y los linfocitos, lo que permite la aparición de un microambiente proinflamatorio responsable de la acumulación de daño genético [21,22]. De hecho, las alteraciones de los macrófagos y, en particular, la secreción

anormal de varias proteínas incluyendo el factor de necrosis tumoral (TNF), interleucina (IL)-1b y óxido nítrico (NO), desempeñan un papel clave en la tumorigénesis y en las enfermedades autoinmunes, al interferir con las vías de señalización celular, lo que podría provocar cambios en la producción de citocinas, la expresión de marcadores de superficie y la activación de la proliferación celular [22,23]. La exposición a plaguicidas ha sido también asociada con una disminución en la actividad de la enzima colinesterasa [24], tanto la plasmática como la eritrocitaria [19], así como con alteraciones en la proliferación celular de los linfocitos. La Colinesterasa, es una enzima esencial para el funcionamiento normal del sistema nervioso del cuerpo humano, por lo que su disminución podría conducir a neurotoxicidad en el sistema nervioso central y/o periférico [25].

Es importante resaltar que los mecanismos de acción de los plaguicidas en los seres humanos varían de acuerdo con su principio activo y con su especificidad tisular [26]. Por ejemplo, los plaguicidas de tipo organofosforado, organoclorado o carbamato, son considerados como disruptores endocrinos [17,27,28], cuya función ha sido asociada con la síntesis y el transporte hormonal. Al imitar las acciones hormonales, los plaguicidas exhiben actividad estrogénica y antiandrogénica, modificando de esta manera algunas vías de señalización celular [28,29], incluyendo la vía de señalización fosfatidilinositol 3 quinasa (PI3K)/serina treonina quinasa (AKT)/blanco de la rapamicina en mamíferos (mammalian target of rapamycin) (mTOR) (Figura 2). De hecho, ha sido indicado que estos plaguicidas producen hiperactivación de esta vía de señalización (PI3K/AKT/mTOR), considerada fundamental para

procesos celulares esenciales como proliferación, migración, supervivencia, metabolismo y apoptosis [30], lo que hace que su desregulación o bien, la pérdida de función de las proteínas PTEN, P53

y BAD, conduzcan a una proliferación celular descontrolada y a la supervivencia de las células tumorales (Figura 2) [30,31].

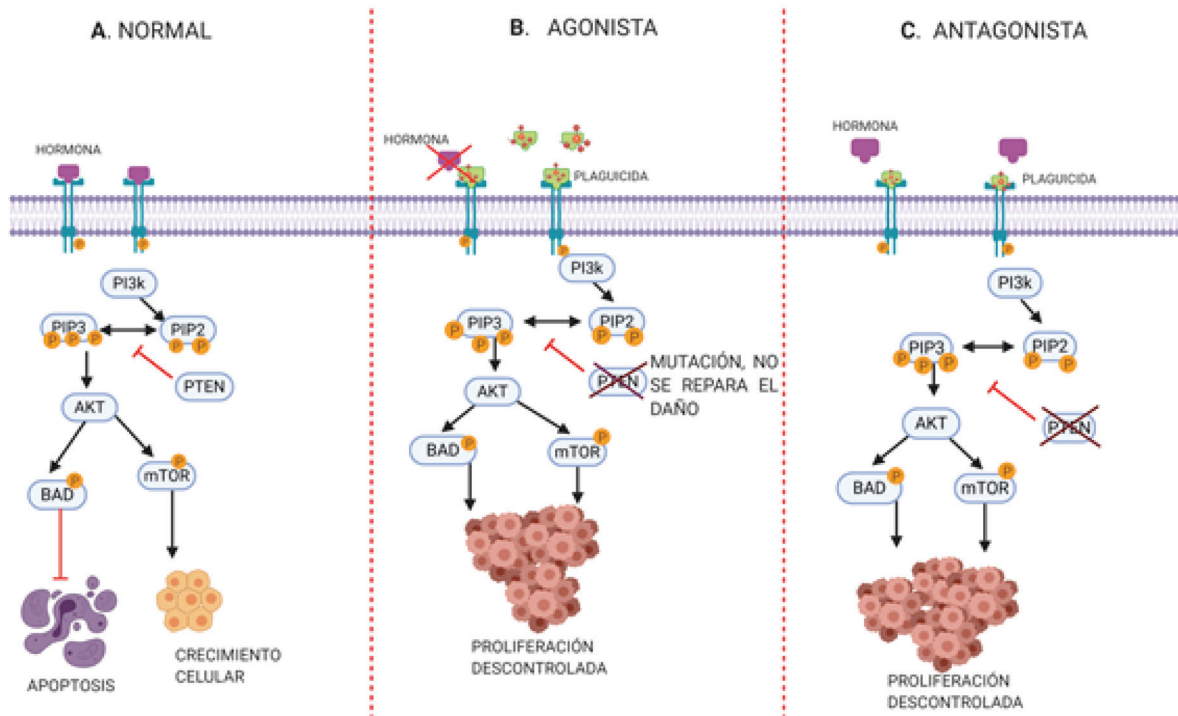


Figura 2. Mecanismo de acción de los plaguicidas organoclorados, organofosforados y carbamatos, a través de la vía de señalización PI3K/AKT/mTOR. A) La ruta PI3K/AKT/mTOR activada se inicia con el reclutamiento de PI3K en la membrana plasmática y la posterior fosforilación del fosfatidil inositol, 4,5-bisfosfato (PIP₂) y del fosfatidil inositol-3,4,5-trisfosfato (PIP₃). PIP₃ funciona como ligando para reclutar y activar a AKT. A su vez, la activación de AKT controla la supervivencia celular a través de la fosforilación de mTOR y de la proteína antiapoptótica BAD, inhibiendo la apoptosis y promoviendo la proliferación celular. PTEN, por su parte, desfosforila a PIP₃, suprimiendo el crecimiento celular tumoral y regulando la invasión de las células tumorales. B) En su condición de disruptores endocrinos, los plaguicidas actúan como agonistas imitando a la hormona, o como C) antagonistas, bloqueando al receptor, modificando y desregulando en ambos casos la vía de señalización celular PI3K/AKT/mTOR. La desregulación de esta vía, así como la pérdida de función de las proteínas PTEN y P53, conducen a un incremento en la proliferación celular e inhibición de la apoptosis, procesos relacionados con el desarrollo de múltiples tipos de cáncer.

En adición, otro tipo de plaguicidas como los clorofenoxiácidos utilizados como herbicidas, también se caracterizan por imitar la función de ciertas hormonas, alterando así el metabolismo y crecimiento celular [14,32].

2.3 Genotoxicidad asociada con los plaguicidas

Si bien los mecanismos genotóxicos inducidos por los plaguicidas están fundamentalmente relacionados con su potencial para afectar el material genético en forma directa o indirecta [33], también

pueden estar afectados por una serie de factores complejos que incluyen edad, sexo, susceptibilidad individual, cantidad y duración de la exposición, así como por el contacto simultáneo con otros químicos causantes de genotoxicidad.

El daño directo al material genético puede ser de tipo estructural o funcional y se produce en los cromosomas, el ADN y las proteínas histonas, conduciendo eventualmente a la inhibición de los procesos de replicación y transcripción [34]. En caso de que estas lesiones no se reparen o se reparen en forma incorrecta, se generan alteraciones genéticas y cromosómicas [21,35,36] las cuales

podrían conducir al desarrollo de enfermedades (Figura 3). En adición, se ha demostrado que la susceptibilidad a los plaguicidas está relacionada con una amplia gama de polimorfismos en genes claves que participan en la regulación del ciclo celular, el estado redox y el metabolismo de los fármacos [37].

El daño indirecto modula la expresión génica a nivel de ARNs no codificantes, histona desacetila-

sas y patrones de metilación del ADN (alteraciones epigenéticas) (Figura 3), lo que produce modificaciones en la expresión de genes implicados en el mantenimiento de la homeostasis celular [21, 35, 38–40]. De hecho, han sido reportadas asociaciones entre exposición a plaguicidas y la presencia de mutaciones en genes responsables del desarrollo y la progresión tumoral [19,41,42].

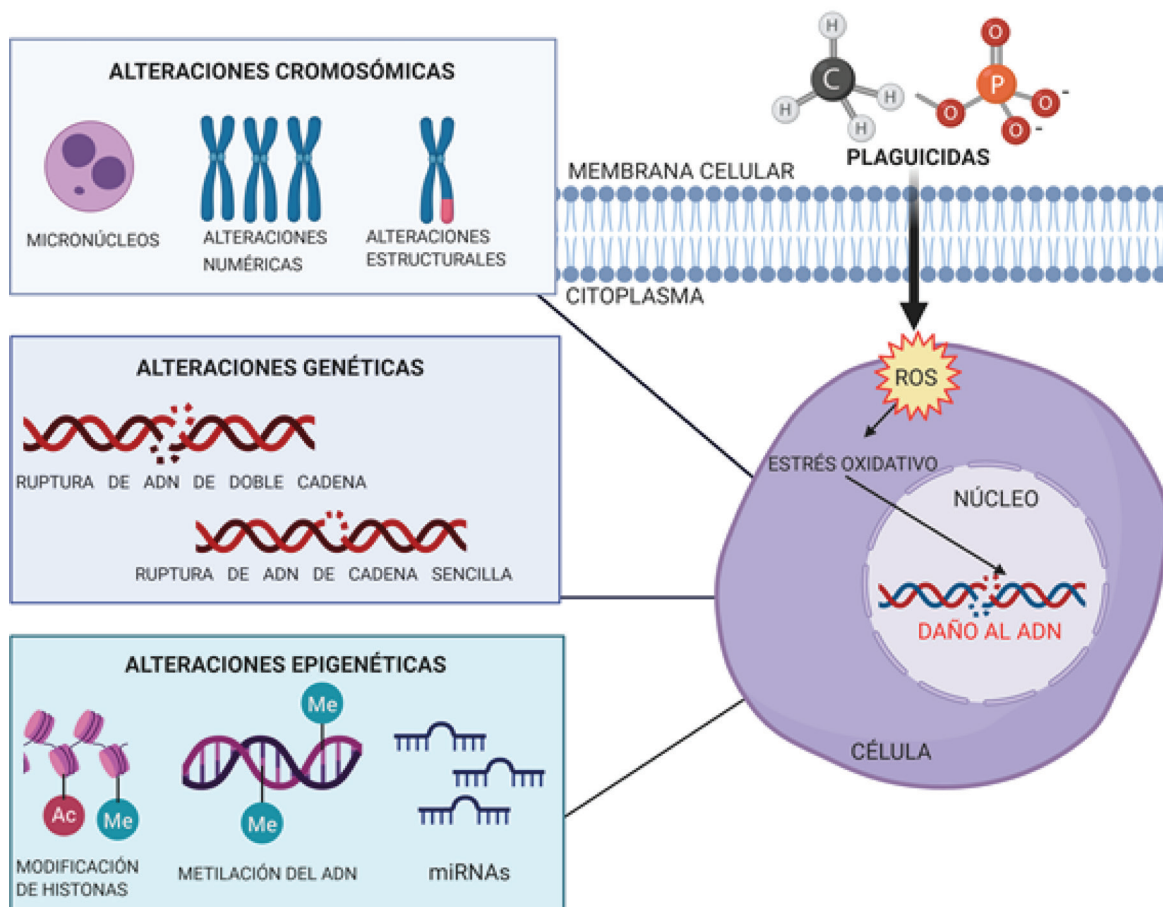


Figura 3. Daño genético directo e indirecto inducido por exposición a plaguicidas. Los plaguicidas inducen daño oxidativo al ADN causando alteraciones cromosómicas numéricas y estructurales, rupturas de ADN de cadena sencilla y de cadena doble y alteraciones epigenéticas. Tales alteraciones conducen a modificaciones en la expresión de genes implicados en el mantenimiento de la homeostasis celular y en el desarrollo de enfermedades.

2.3.1 Alteraciones genéticas

Los plaguicidas inducen daño oxidativo en el ADN, generando aductos de ADN (segmentos de ADN unidos a una sustancia química) y rupturas de ADN de cadena sencilla o doble [43]. Algunos estudios realizados hasta la fecha han demostrado un aumento significativo en la inestabilidad del material genético en poblaciones expuestas

ocupacionalmente a plaguicidas [44–47]. Así, a nivel nacional, en los departamentos de Tolima [48], Putumayo, Nariño, Valle del Cauca [49], Cauca [50] y Bogotá [50], se ha reportado que las mezclas de organofosforados u organoclorados tienden a aumentar el daño genético evaluado mediante el ensayo cometa [48]. Sin embargo, a pesar de que parece clara la asociación entre la exposición a plaguicidas y el daño genético

[19, 41], otros grupos de investigadores no han observado asociación alguna [25,51]. Es el caso de Bolognesi y col. [49], quienes sugirieron que el efecto genotóxico del glifosato, un herbicida ampliamente usado en nuestro país, es bajo y transitorio. Tampoco Hoyos y col., [52] ni Varona y col., [50] encontraron suficiente evidencia sobre la inducción de daño genético debida a la exposición a los plaguicidas, resultados que podrían ser explicados con base en posibles deficiencias en el diseño metodológico [51, 53, 54], o bien, en variaciones en el tipo de exposición o en el uso de plaguicidas diferentes [51]. Por estas razones, algunos autores han sugerido el uso de técnicas que permitan determinar con mayor grado de sensibilidad el daño genotóxico causado por los plaguicidas, como la hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH) [50, 52].

2.3.2 Alteraciones Cromosómicas

Las alteraciones cromosómicas en individuos expuestos a plaguicidas han sido frecuentemente evaluadas mediante el ensayo de micronúcleos, así como con análisis citogenéticos como el cariotipo (Tabla 3 y Figura 3) [55]. El micronúcleo es un tercer núcleo que se forma durante la transición

metafase/anafase de la mitosis, el cual contiene una porción de un cromosoma excéntrico o un cromosoma completo que no se integra en los polos opuestos durante la anafase, lo que resulta en la formación de células hijas que carecen de una parte o de la totalidad de un cromosoma. Este tipo de alteración ha sido reportada en estudios con agricultores y trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas, en quienes se ha hallado un número significativamente mayor de rupturas del ADN y de micronúcleos que en personas no expuestas [18, 56–61]. Vale la pena resaltar que en estos estudios se observó un aumento en la frecuencia de micronúcleos, tanto a mayor tiempo de exposición como en ausencia de medidas de protección. Otros trabajos relacionados no han encontrado evidencia de asociación entre el hábito de fumar o el consumo de alcohol [19] o el género [23, 25, 62] y la presencia de daño. En cuanto a la edad, mientras algunos estudios han informado de su asociación con la frecuencia de micronúcleos [19, 63], para otros no existe asociación alguna. Los hallazgos reportados hasta la fecha relacionados con la alta frecuencia de micronúcleos en poblaciones expuestas a plaguicidas demuestra que estos compuestos químicos inducen un aumento en la inestabilidad genómica [18, 64] (Tabla 3).

Tabla 3. Estudios sobre genotoxicidad por exposición a plaguicidas a nivel mundial

Clase química de los plaguicidas	Técnica usada	Conclusiones
Organofosforados, Carbamatos y Piretroides	Ensayo de micronúcleos (células epiteliales) Ensayo de alteraciones cromosómicas (linfocitos)	Los individuos expuestos presentaron un aumento estadísticamente significativo en el número de aberraciones cromosómicas ($p < 0.05$) y de micronúcleos ($p < 0.05$) [40]
Organofosforados y otros	Ensayo de micronúcleos (células epiteliales)	Para este estudio, el ensayo de micronúcleos mostró un aumento significativo de células micronucleadas en el grupo ocupacionalmente expuesto ($p < 0.01$) [65]
Mezcla de varios plaguicidas	Ensayo de micronúcleos (linfocitos) Ensayo Cometa (linfocitos)	El ensayo cometa realizado en las personas expuestas mostró un índice de daño al ADN significativamente mayor en comparación con el grupo control ($p < 0.0001$). Así mismo el ensayo de micronúcleos indicó un aumento significativo de los mismos para el grupo de estudio ($p < 0.001$) [15]
Mezcla de varios plaguicidas	Ensayo Cometa (linfocitos)	No hubo diferencias estadísticas significativas en el daño al ADN en trabajadores expuestos con relación al grupo control [50]
Organofosforados, carbamatos, piretroides y otros	Ensayo de micronúcleos (linfocitos, células epiteliales bucales)	No se encontraron diferencias significativas de daño cromosómico en las cuatro poblaciones de trabajadores ocupacionalmente expuestos analizadas [21]

Organofosforados, carbamatos y piretroides	Ensayo cometa (linfocitos)	El daño al ADN, determinado por la longitud media de la cola en el ensayo cometa, fue significativamente mayor ($p < 0.001$) en el grupo de mujeres expuestas a plaguicidas en relación con aquellas que nunca estuvieron expuestas [19]
Organofosforados, carbamatos, piretroides y organoclorados	Ensayo Cometa (linfocitos) Ensayo de micronúcleos (células epiteliales)	En comparación con el grupo control, las personas expuestas a plaguicidas tenían un aumento significativo en la frecuencia de micronúcleos ($p < 0.001$), así mismo, presentaban una diferencia significativa en el daño ADN, evaluado en el ensayo cometa ($p < 0.001$) [14]
Mezcla de plaguicidas	Ensayo de micronúcleos (células epiteliales)	Los resultados mostraron una diferencia significativa entre los grupos expuestos a plaguicidas, donde la frecuencia de mutaciones cromosómicas fue mayor que en el grupo control ($p < 0.001$) [62]
Organofosforados	Ensayo Cometa (células epiteliales) Ensayo de micronúcleos (células epiteliales)	Los niños que vivían a menos de 2 km de las zonas de cultivo donde trabajaban sus padres, presentaban una cantidad significativamente mayor de micronúcleos ($p < 0.05$) y un aumento significativo en la longitud media de la cola de ADN en el ensayo cometa ($p < 0.05$), en comparación con niños que vivían más alejados de los cultivos [66]
Mezcla de plaguicidas	Ensayo Cometa (células epiteliales) Ensayo de micronúcleos (células epiteliales)	Aumento significativo en el número de micronúcleos ($p < 0.0001$) y longitud media de la cola en el ensayo cometa ($p < 0.001$) en las personas expuestas a plaguicidas [58]
Mezcla de plaguicidas	Ensayo Cometa (linfocitos)	En periodos de alta exposición, los agricultores mostraron un aumento significativo de daño genotóxico en comparación con periodos de baja exposición ($p = 0.002$), así mismo, el daño genético fue significativamente mayor en los dos periodos, al comparársele con un grupo control ($p < 0.001$) [67]
Mezcla de plaguicidas	Ensayo de micronúcleos (células epiteliales bucales)	Los agricultores expuestos ocupacionalmente a plaguicidas presentaron tasas significativamente más altas de anomalías nucleares que el grupo de no expuestos ($p < 0.005$) [68]

Aunque el ensayo de micronúcleos ha sido ampliamente utilizado para monitorear el daño cromosómico inducido por la exposición a plaguicidas, presenta la desventaja de no brindar información acerca del tipo y frecuencia de las alteraciones cromosómicas que origina [69]. En este orden de ideas, otros estudios citogenéticos como el cariotipo constituyen una excelente herramienta, tanto para la identificación de alteraciones cromosómicas, como para la determinación de los niveles de inestabilidad genómica y cromosómica [70]. Esta inestabilidad se produce cuando la integridad del genoma no es protegida a cabalidad por el sistema de mantenimiento encargado, ya sea por problemas hereditarios o por exposición a agentes ambientales. En efecto, ha sido establecido que los plaguicidas pueden provocarla e interferir con los mecanismos de reparación del daño del ADN [56]. A pesar de la importancia del cariotipo en la identificación de alteraciones cromosómicas inducidas por la exposición ocupacional a plaguicidas,

son escasos los estudios que han utilizado esta metodología, lo que explica que la información acerca del tipo y frecuencia de dichas alteraciones sea limitada. Sin embargo, en algunos estudios se ha informado acerca de alteraciones numéricas y estructurales, las que han sido asociadas con condiciones como infertilidad, abortos espontáneos, enfermedades cardíacas y cáncer [5, 71]. Entre las alteraciones estructurales que han sido reportadas en mayor frecuencia se encuentran translocaciones, cromosomas dicéntricos y rupturas cromosómicas. De hecho, la translocación cromosómica t(14;18) ha sido observada en alta frecuencia en trabajadores expuestos a plaguicidas y ha sido asociada con un mayor riesgo de desarrollar linfoma no Hodgkin (LNH) [72]. Estudios adicionales en poblaciones ocupacionalmente expuestas a plaguicidas han evidenciado una elevada frecuencia de cromosomas dicéntricos [70] y de rupturas cromosómicas, localizadas en las regiones 1p13, 2p23, 14q32 y 21q12 [73].

Respecto a las alteraciones cromosómicas numéricas, estudios citogenéticos realizados en el esperma de individuos expuestos a plaguicidas, identificaron una alta frecuencia de disomía cromosómica sexual (XX, YY, XY) [74]. Adicionalmente, la exposición a insecticidas organofosforados en altas dosis ha sido asociada con un aumento incrementado de anormalidades en el esperma y disminución de la fertilidad en hombres, y en mujeres con abortos espontáneos, defectos congénitos o retardo del crecimiento fetal [72, 75].

Recientemente, Cepeda y col. [76], mediante el uso de citogenética de bandas (Bandeo GTG) y citogenética molecular (FISH), observaron un aumento significativo en la frecuencia de alteraciones cromosómicas clonales y no clonales en individuos expuestos a plaguicidas en la población de Simijaca, Colombia. Las alteraciones cromosómicas identificadas incluyeron monosomía de los cromosomas X, 10 y 20, cromosomas dicéntricos, deleciones, translocaciones, inversiones, cromosomas derivados y cromosomas en anillo, así como una alta frecuencia de fragilidades (fra(9)(q12)). Tales hallazgos evidencian el efecto nocivo de los plaguicidas en los cromosomas, así como su asociación con un aumento significativo en la inestabilidad cromosómica [77].

2.3.3 Alteraciones epigenéticas

La epigenética corresponde a los cambios en los patrones de metilación del ADN, así como a modificaciones en las histonas y en la expresión diferencial de ARN no codificantes, lo que causa variaciones en la expresión génica, sin que medie ninguna alteración en la secuencia de ADN [21]. La inducción de cambios epigenéticos por exposición ambiental ha sido reseñada en varios estudios, que indican que dichos cambios, además de ser heredables, facilitan el desarrollo de enfermedades como cáncer [78]. Por este motivo, los plaguicidas han sido postulados como sustancias carcinogénicas que pueden actuar a través de mecanismos epigenéticos o no genotóxicos [39]. En 1981, fueron Maslansky y col. quienes primero describieron la inducción de hepatocarcinogénesis debida a mecanismos epigenéticos en individuos expuestos a plaguicidas organoclorados [79]. Estudios posteriores reportaron asociaciones entre la transformación tumoral y los efectos epigenéticos del vinclozolin, fungicida conocido por actuar como disruptor endocrino ambiental [80]. La hi-

pometilación global del ADN, otra modificación epigenética, ha sido observada en personas con un nivel elevado de plaguicidas en la sangre y contaminantes orgánicos persistentes [81]. Además del cáncer, alteraciones epigenéticas han sido también detectadas en enfermedades neurodegenerativas, como Parkinson [82], Alzheimer [33] y esclerosis múltiple [83]. En este tipo de trastornos, se ha observado que los insecticidas neurotóxicos son capaces de promover apoptosis en neuronas dopaminérgicas a través de la hiperacetilación de las histonas centrales H3 y H4 [84].

La epigenética ha abierto un nuevo campo para estudiar la influencia de la exposición ambiental en la regulación transcripcional de genes asociados con enfermedades humanas [85]. Un ejemplo característico de la importancia de la epigenética en el biomonitoreo de poblaciones expuestas a plaguicidas es el estudio de Weldon y col., [86], quienes en 2016, mediante el uso de microARNs (miARN) como marcadores de exposición a plaguicidas, mostraron que seis miARN (miR-223, -518d-3p, -597, -517b, -133b y -28-5p) tenían una expresión relativamente más alta en los trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas en comparación con los trabajadores no agrícolas no expuestos, demostrando que los miARNs pueden ser usados como biomarcadores de exposición a estos químicos [86]. Si bien se han efectuado importantes hallazgos sobre los cambios en el patrón de expresión genética asociado con la exposición a plaguicidas, se requieren investigaciones adicionales con un mayor número de individuos que permitan confirmar tal asociación.

2.4 Enfermedades asociadas con la exposición a plaguicidas

Los efectos nocivos de los plaguicidas son ampliamente conocidos, los cuales incluyen su capacidad de desencadenar enfermedades genéticas heredables, así como disfunción reproductiva y defectos de nacimiento, entre otros [87]. Varios estudios han mostrado la relación entre la exposición a los plaguicidas y el aumento en la tasa de enfermedades crónicas, como cáncer, diabetes, trastornos neurodegenerativos como Parkinson, Alzheimer y esclerosis lateral amiotrófica (ELA), defectos congénitos y trastornos reproductivos. La asociación entre la exposición a plaguicidas y su repercusión en diferentes tipos de enfermedades crónicas humanas es indicada en la tabla 4.

Tabla 4. Enfermedades asociadas con la exposición a plaguicidas

ENFERMEDAD	REFERENCIAS
Cáncer de próstata y leucemia	[88–90]
Cánceres linfohematopoyéticos	
Cáncer de pulmón	[81, 91, 92]
Cáncer colorrectal	
Defectos de nacimiento y toxicidad del desarrollo	[93, 94]
Desórdenes reproductivos	[85, 95, 96]
Parkinson	[82, 97–99]
Alzheimer	[100, 101]
Esclerosis lateral amiotrófica (ELA)	[83, 102–104]
Diabetes	[105]
Enfermedades cardiovasculares	[106]
Enfermedad respiratoria crónica	[107, 108]
Enfermedades autoinmunes: Lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide	[75, 109, 110]

2.5 Técnicas para la evaluación de daño genético

En la actualidad, se dispone de diferentes técnicas que no solo permiten evaluar la genotoxicidad generada por la exposición a diversos agentes químicos como los plaguicidas [111], sino también

efectuar el biomonitoreo y el seguimiento a las poblaciones ocupacionalmente expuestas. Entre estas técnicas se encuentran el ensayo cometa y el de micronúcleos, el cariotipo, el intercambio de cromátides hermanas, la hibridación genómica comparativa (CGH) y FISH (Figura 4).

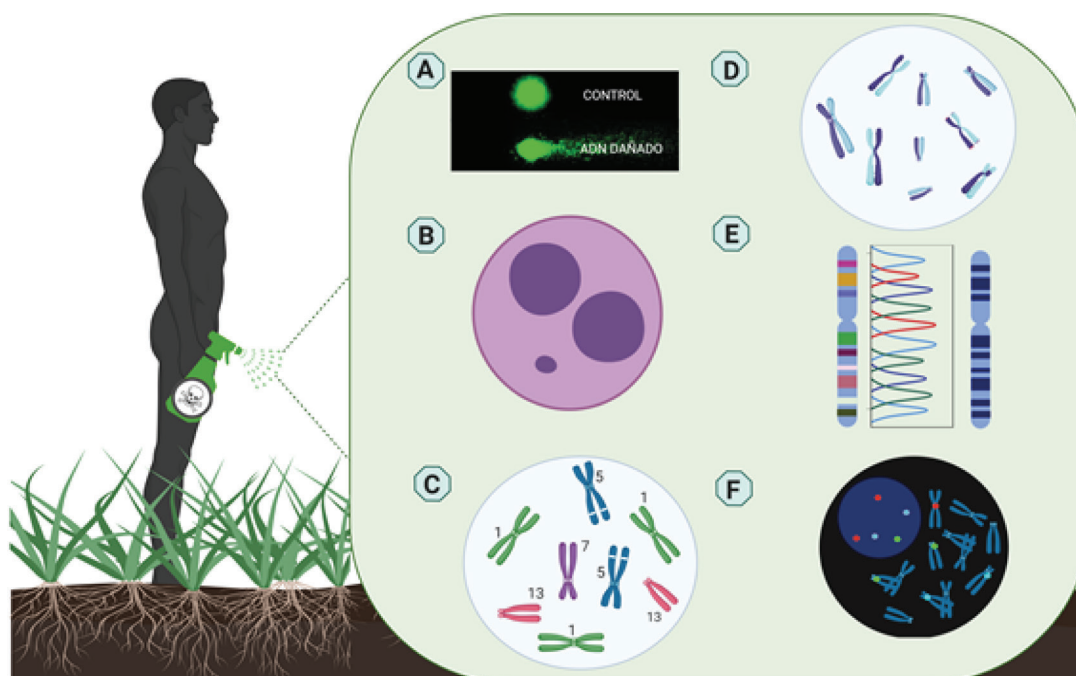


Figura 4. Técnicas para la evaluación de daño genético. A) Ensayo cometa. B) Micronúcleos C) Cariotipo. D) Intercambio de cromátides hermanas. E) Hibridación genómica comparativa. F) Hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH)

2.5.1 Ensayo cometa

Toma su nombre del patrón de migración del ADN en las células dañadas. Es una técnica de alta sensibilidad, que hace posible medir los niveles de ruptura del ADN de cadena sencilla y/o doble. El principio básico del ensayo alcalino es la migración del ADN en una matriz de agarosa bajo condiciones de electroforesis de bajo voltaje. Cuando se observa una célula dañada al microscopio, esta presenta la apariencia de un cometa, con una cabeza o región nuclear y una cola formada por los fragmentos nucleares que han emigrado en dirección al ánodo (Figura 4A) [18, 44, 45, 56, 112].

2.5.2 Micronúcleos

Permite detectar el daño en el material genético, mediante la identificación de pequeños cuerpos esféricos formados por cromosomas enteros o por fragmentos cromosómicos que han quedado excluidos de los núcleos de las nuevas células formadas. Las alteraciones son visibles al microscopio (Figura 4B) [77].

2.5.3 Cariotipo

Es una técnica muy sensible diseñada para evaluar cambios en los cromosomas metafásicos [113] e identificar pequeñas alteraciones estructurales y numéricas (Figura 4C) [114], así como también el tipo de alteración y el porcentaje de inestabilidad cromosómica (IC) [114, 115].

2.5.4 Intercambio de cromátidas hermanas

Esta prueba consiste en la obtención de cromosomas con cromátidas químicamente diferentes, por medio de la incorporación *in vitro* de una base análoga a la timidina, la bromodoxina-uridina (BrdU) la que, unida a algún fluorocromo o colorante, puede ser detectada mediante el uso de microscopía. Permite evaluar la inestabilidad cromosómica, aunque sin establecer su porcentaje (Figura 4D) [111, 116].

2.5.5 Hibridación genómica comparativa (CGH)

Técnica basada en la hibridación de una gran cantidad de sondas de ADN para la detección de pérdidas o ganancias en el material genético [117]. Sin embargo, esta técnica permite detec-

tar solamente alteraciones desbalanceadas [118, 119], ya que las alteraciones balanceadas al estar relacionadas con reacomodación del material genético, no involucran ganancia ni pérdida del mismo (Figura 4E).

2.5.6 Hibridación *in situ* por fluorescencia (FISH)

Esta técnica de citogenética molecular utiliza sondas marcadas con fluorocromos de colores específicos, las cuales, al hibridarse por complementariedad con secuencias conocidas de ADN dejan en evidencia las posibles alteraciones numéricas, estructurales y microdeleciones presentes [120]. Además, permite establecer el tipo de alteración y el porcentaje de inestabilidad cromosómica, cuando se analizan como mínimo 100 núcleos interfásicos (Figura 4E) [121].

CONCLUSIONES

Las investigaciones realizadas hasta la fecha han demostrado los efectos nocivos de los plaguicidas en la salud humana, razón por la cual es necesario considerar la exposición como un factor de riesgo potencial para el desarrollo de enfermedades crónicas como cáncer, diabetes, trastornos neurodegenerativos, defectos congénitos y trastornos reproductivos. Los hallazgos aquí reportados evidencian la necesidad de diseñar e implementar estrategias de intervención que fomenten el uso de equipos de protección cuando se manejan plaguicidas y favorezcan la implementación de programas de seguimiento de poblaciones ocupacionalmente expuestas, para la detección temprana de enfermedades.

REFERENCIAS

- [1] FinAgro, “El momento del Agro | Finagro”, 2020. <https://www.finagro.com.co/noticias/el-momento-del-agro> (accedido may 08, 2020).
- [2] C. Moncayo, “DANE presenta las cifras reales del campo colombiano”, Instituto Nacional de Contadores Públicos de Colombia, dic. 02, 2016. <https://www.incp.org.co/dane-presenta-las-cifras-reales-del-campo-colombiano/> (accedido may 08, 2020).
- [3] Dinero, “El agro, uno de los posibles ganadores tras la crisis”, ¿Por qué el agro se podría

- impulsar tras la crisis?, 2020. <http://www.dinero.com/pais/articulo/por-que-el-agro-se-podria-impulsar-tras-la-crisis/284301> (accedido may 08, 2020).
- [4] E. Z. Violante, E. A. García, L. C. Ojinaga, y W. D. Heusser, “Daño genético y exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas del Valle de San Quintín, Baja California, México”, p. 9.
- [5] A. Arafá, M. Afify, y N. Samy, “Evaluation of Adverse Health Effects of Pesticides Exposure [Biochemical & Hormonal] among Egyptian Farmers”, *J. Appl. Sci. Res.*, vol. 9, n.o 7, pp. 4404-4409, 2013.
- [6] S. M. Bréga et al., “Clinical, cytogenetic and toxicological studies in rural workers exposed to pesticides in Botucatu, São Paulo, Brazil”, *Cad. Saúde Pública*, vol. 14, n.o suppl 3, pp. S117-S123, 1998, doi: 10.1590/S0102-311X1998000700011.
- [7] M. L. Castrejón Godínez, E. Sanchez Salinas, y L. Ortíz, “PLAGUICIDAS: GENERALIDADES, USOS E IMPACTOS SOBRE EL AMBIENTE Y LA SALUD”, *Prim. Ed.*, vol. 1, p. 30, 2014.
- [8] R. Valencia Quintana et al., “GENOTOXICIDAD DE PLAGUICIDAS EN SISTEMAS VEGETALES”, p. 26.
- [9] K.Z. Guyton et al., “Carcinogenicity of tetrachlorvinphos, parathion, malathion, diazinon, and glyphosate”, vol. 16. *Lancet Oncol*, pp. 490-491, 2015, [En línea]. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(15\)70134-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(15)70134-8).
- [10] A. del P. Díaz Gómez, “Informe De Evento Intoxicaciones Por Sustancias Químicas, Colombia”, Instituto Nacional de Salud, 2017.
- [11] J. Graziano de Silva, Código Internacional de Conducta para la Gestión de Plaguicidas, vol. 1. Roma: Food & Agriculture Org, 2015.
- [12] Instituto Colombiano Agropecuario, “Plaguicidas Químicos”, ICA, 2020. <https://www.ica.gov.co/areas/agricola/servicios/regulacion-y-control-de-plaguicidas-quimicos.aspx> (accedido may 08, 2020).
- [13] E. Carod Benedico, “Insecticidas organofosforados. “De la guerra química al riesgo”, *Medifam*, vol. 12, n.o 5, pp. 51-62, 2002.
- [14] A. Ferrer, “Intoxicación por plaguicidas”, *An. Sist. Sanit. Navar.*, vol. 26, n.o 1, pp. 155-171, 2003, doi: 10.4321/S1137-66272003000200009.
- [15] M. H. Badii y J. Landeros, “Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad”, *CULCyT*, vol. 19, n.o 4, pp. 21-34, 2007.
- [16] G. Solís González, A. A. Cortés Téllez, Z. I. Téllez Pérez, y C. Bartolomé Camacho, “Toxicidad aguda del herbicida N-(fosfometil) glicina sobre representantes planctónicos *Artemia franciscana* y *Microcystis aeruginosa*”, *Rev.Esp.Cienc.Quim.Biol*, vol. 22, pp. 1-8, 2019, doi: DOI: 10.22201/fesz.23958723e.2019.0.192.
- [17] R. S. Benítez Leite, “Plaguicidas y efectos sobre la salud humana: Un Estado del Arte”. 2012, [En línea]. Disponible en: <http://www.serpajpy.org.py/wp-content/uploads/2014/03/Plaguicidas-y-efectos-sobre-la-salud-humana1.pdf>.
- [18] D. Benedetti et al., “Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays”, *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.*, vol. 752, n.o 1-2, pp. 28-33, abr. 2013, doi: 10.1016/j.mrgentox.2013.01.001.
- [19] H. Jacobsen-Pereira et al., “Markers of genotoxicity and oxidative stress in farmers exposed to pesticides”, *Ecotoxicol. Environ. Saf.*, vol. 148, pp. 177-183, feb. 2018, doi: 10.1016/j.ecoenv.2017.10.004.
- [20] A. Sabarwal, R. Agarwal, y R. P. Singh, “Fisetin inhibits cellular proliferation and induces mitochondria-dependent apoptosis in human gastric cancer cells”, *Mol. Carcinog.*, vol. 56, pp. 499–514., 2017.
- [21] A. Sabarwal, K. Kumara, y R. P. Singha, “Hazardous effects of chemical pesticides on human health—Cancer and other associated disorders”, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 63, pp. 103-114, 2018.
- [22] I. Helali, S. Ferchichi, H. Harizi, M. Aouni, y A. Maaouia, “Modulation of macrophage functionality induced in vitro by chlorpyrifos and carbendazim pesticides”, *J. Immunotoxicol.*, vol. 5, pp. 745–750, 2016, doi: <https://doi.org/10.1080/1547691X.2016.1181124>.

- [23] T. Ali, M. Ismail, F. Asad, A. Ashraf, U. Waheed, y Q. M. Khan, "Pesticide genotoxicity in cotton picking women in Pakistan evaluated using comet assay", *Drug Chem. Toxicol.*, vol. 41, n.o 2, pp. 213-220, abr. 2018, doi: 10.1080/01480545.2017.1343342.
- [24] M. Boussabbeh, I. Ben Salem, M. Hamdi, S. Ben Fradj, S. Abid-Essefi, y H. Bacha, "Diazinon, an organophosphate pesticide, induces oxidative stress and genotoxicity in cells deriving from large intestine", *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 23, n.o 3, pp. 2882-2889, feb. 2016, doi: 10.1007/s11356-015-5519-y.
- [25] S. Pastor, Csaba Siffel, M. Ricard, y P. Stylianou, "Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers", *Mutagenesis*, vol. 18, n.o 3, pp. 249-258, 2003.
- [26] G. Martínez Luna, J. Castillo Cadena, J. H. Serment Guerrero, y P. R. Valencia Quintana, "Efecto de la exposición laboral a plaguicidas sobre la calidad espermática, daño al ADN y su asociación con los polimorfismos de GST", Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, 2014.
- [27] D. Alissa, F. Mañas, B. Bosch, N. Gentile, N. Bernardi, y N. Gorla, "Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas", *Acta Biol. Colomb.*, vol. 17, pp. 485-510, 2012.
- [28] C. Martínez-Valenzuela, "Riesgo Genotóxico Por Exposición A Plaguicidas En Trabajadores Agrícolas", *Rev. Int. Contam. Ambient.*, vol. 23, pp. 185-200, 2007.
- [29] L. Díaz González y C. Alonso González, "Consecuencias de la exposición materno-infantil a disruptores endocrinos: Impacto en el ámbito de los trastornos reproductivos", Universidad de Cantabria, Santander, 2018.
- [30] I. R. González Espinoza, C. Garza Villarreal, O. A. Juárez León, y E. Téllez Bernal, "Cáncer de mama con receptores hormonales positivos: tratamiento adyuvante, primera línea en cáncer metastásico y nuevas estrategias (inhibición de mTOR)", *Gaceta Mexicana de Oncología*, vol. 14, dic. 2015, doi: 10.1016/j.gamo.2015.11.001.
- [31] M. Lema, "RUTA PI3K / PTEN / AKT" . 2012, Accedido: may 18, 2020. [En línea]. Disponible en: http://mauriciolema.webhost4life.com/Moloncol2012/files/MolOncol04_PI3K_PTEN_AKT.pdf.
- [32] M. Fernandez, D. Martín, y F. Rubiños, "Clorofenoxiácidos", *Plaguicidas*, jun. 10, 2010. <https://tplaguicidas.wordpress.com/clorofenoxiacidos/> (accedido may 11, 2020).
- [33] K. Kvitko et al., "Susceptibility to DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides, to tannery chemicals and to coal dust during mining", *Genet. Mol. Biol.*, vol. 35, n.o 4 suppl 1, pp. 1060-1068, 2012, doi: 10.1590/S1415-47572012000600022.
- [34] V. F. S. Kahl et al., "Chronic occupational exposure endured by tobacco farmers from Brazil and association with DNA damage", *Mutagenesis*, vol. 33, n.o 2, pp. 119-128, abr. 2018, doi: 10.1093/mutage/gex045.
- [35] S. Gangemi et al., "Occupational exposure to pesticides as a possible risk factor for the development of chronic diseases in humans", *Mol. Med. Rep.*, vol. 14, pp. 4475-4488, 2016, doi: <https://doi.org/10.3892/mmr.2016.5817>.
- [36] A. F. Muñoz Aristizábal, "Evaluación del daño en el ADN en dos poblaciones colombianas de agricultores y floricultores", *Rev. UDCA Actual. Divulg. Científica*, vol. 12, n.o 1, pp. 7-16, feb. 2009, doi: 10.31910/rudca.v12.n1.2009.637.
- [37] S. Koutros et al., "Xenobiotic-metabolizing gene variants, pesticide use, and the risk of prostate cancer", *Pharmacogenet. Genomics*, vol. 21, pp. 615-623, 2011, doi: <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283493a57>.
- [38] L. Hou, X. Zhang, D. Wang, y A. Bacca-relli, "Environmental chemical exposures and human epigenetics", *Int. J. Epidemiol.*, vol. 41, pp. 79-105, 2012, doi: <https://doi.org/10.1093/ije/dyr154>.
- [39] V. N. Rakitsky, V. A. Koblyakov, y V. S. Turusov, "Nongenotoxic (epigenetic) carcinogens: pesticides as an example. A critical review. *Teratog. Carcinog. Mutagen*", vol. 20, pp. 229-240, 2000.
- [40] J. George y Y. Shukla, "Pesticides and cancer: insights into toxicoproteomic-based findings", *J Proteomics*, vol. 74, pp. 2713-2722, 2011.

- [41] N. Sailaja et al., “Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production”, *Mutat. Res. Toxicol. Environ. Mutagen.*, vol. 609, n.o 1, pp. 74-80, oct. 2006, doi: 10.1016/j.mrgentox.2006.06.022.
- [42] E. Vakonaki, D.A. Spandidos, A.M. Tsatsakis, V.P. Androutopoulos, y J. Liesivuori, “Pesticides and oncogenic modulation”, *Toxicology*, vol. 307, pp. 42–45, 2013, doi: <https://doi.org/10.1016/j.tox.2013.01.008>.
- [43] K. Kaur y R. Kaur, “Occupational Pesticide Exposure, Impaired DNA Repair, and Diseases. *Indian J Occup Environ*”, *Indian J Occup Environ Med.*, vol. 22, pp. 74–81, may 2018, doi: 10.4103/ijocem.IJOEM_45_18: 10.4103/ijocem.IJOEM_45_18 PMID: 30319227.
- [44] J. S. Alves, F. R. da Silva, G. F. da Silva, y et al, “Investigation of potential biomarkers for the early diagnosis of cellular stability after the exposure of agricultural workers to pesticides”, *An. Acad. Bras. Cienc.*, vol. 88, pp. 349-360, 2016.
- [45] C. M. Wilhelm, A. K. Calsing, y L. B. da Silva, “Assessment of DNA damage in floriculturists in southern Brazil”, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, vol. 22, pp. 8182–8189., 2015.
- [46] J. Castillo Cadena, L. E. Tenorio Vieyra, A. I. Quintana Carabia, M. M. CastiGarcía Fabila, E. Madrigal Bujaidar, y S. J. Ramirez, “Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides”, *J. Biomed. Biotechnol.*, 2006.
- [47] P. Grover., K. Danadevi, M. Mahboob, R. Rozati, B. Banu, y M. F. Rahman, “Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing the Comet assay”, *Mutagenesis*, vol. 18, pp. 201-205, 2003.
- [48] M. E. Varona-Urbe et al., “Exposure to pesticide mixtures and DNA damage among rice field workers”, *Arch. Environ. Occup. Health*, vol. 71, n.o 1, pp. 3-9, ene. 2016, doi: 10.1080/19338244.2014.910489.
- [49] C. Bolognesi, G. Carrasquilla, S. Volpi, K. R. Solomon, y E. J. P. Marshall, “Biomonitoring of Genotoxic Risk in Agricultural Workers from Five Colombian Regions: Association to Occupational Exposure to Glyphosate”, *J. Toxicol. Environ. Health A*, vol. 72, n.o 15-16, pp. 986-997, ago. 2009, doi: 10.1080/15287390902929741.
- [50] M. Varona, O. Cárdenas, C. Crane, S. Rocha, G. Cuervo, y J. Vargas, “Alteraciones citogenéticas en trabajadoras con riesgo ocupacional de exposición a plaguicidas en cultivos de flores en Bogotá”, *biomedica*, vol. 23, pp. 41-52, 2003.
- [51] S. M. Piperakis, K. Kontogianni, C. Siffel, y M.M. Piperakis, “Measuring the Effects of Pesticides on Occupationally Exposed Humans with the Comet Assay”, *Environmental Toxicology*. pp. 355-359, 2006.
- [52] L. S. Hoyos, S. Carvajal, L. Solano, L. Orozco, y W. W. Au, “Cytogenetic Monitoring of Farmers exposed to pesticides in Colombia”, *Environ. Health Perspect.*, vol. 104, p. 4, 1996.
- [53] H Cakir Karabas, I Ozcan, L Turker Sener, S Dolek Guler, I Albeniz, y TL Erdem}, “Evaluation of Cell and DNA Damage Induced by Panoramic Radiography”, vol. 22, pp. 1-8, 2019.
- [54] S. Weidner Maluf, D. Ferreira Passos, A. Baccelar, G. Speit, y B. Erdtmann, “Assessment of DNA Damage in Lymphocytes of Workers Exposed to X-radiation Using the Micronucleus Test and the Comet Assay”, *Environ. Mol. Mutagen.*, vol. 38, pp. 311-315, 2001.
- [55] D. Benedetti et al., “DNA damage and epigenetic alteration in soybean farmers exposed to complex mixture of pesticides”, *Mutagenesis*, vol. 33, pp. 87-95, 2018.
- [56] C. Bolognesi, A. Creus., P. Ostrosky Wegman, y R. Marcos, “Micronuclei and pesticide exposure”, *Mutagenesis*, vol. 26, pp. 19–26, 2011.
- [57] N. D. Ghisi, E. C. De Oliveira, y A. J. Prioli, “Does exposure to glyphosate lead to an increase in the micronuclei frequency A systematic and meta-analytic review”, *Chemosphere*, vol. 145, pp. 42–54., 2016.
- [58] Y. Carbajal López, S. Gómez Arroyo, R. Villalobos Pietrini, M. E. Calderón Segura, y A. Martínez Arroyo, “Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide

- mixtures in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronucleus test”, *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, vol. 23, n.o 2513–2520., 2015.
- [59] V. Garaj-Vrhovac y D. Zeljezic, “Assessment of genome damage in a population of Croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and Comet assay”, *J Appl Toxicol*, vol. 22, pp. 249-255, 2002.
- [60] S. Ergene, A. Celik, T. Cavas, y F. Kaya, “Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Goksu Delta: micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges”, *Environ Int*, vol. 33, pp. 877-885, 2007.
- [61] C. Costa et al., “Micronucleus frequencies in lymphocytes and reticulocytes in a pesticide-exposed population in Portugal”, *J Toxicol Environ Health A*, n.o 74, pp. 960-970, 2011.
- [62] L. M. de M. Adad, H. H. R. de Andrade, K. Kvitko, M. Lehmann, A. A. de C. M. Cavalcante, y R. R. Dihl, “Occupational exposure of workers to pesticides: Toxicogenetics and susceptibility gene polymorphisms”, *Genet. Mol. Biol.*, vol. 38, n.o 3, pp. 308-315, sep. 2015, doi: 10.1590/S1415-475738320140336.
- [63] A. Tayyaba, I. Muhummad, A. Farkhanda, A. Ashraf, U. Waheed, y Q. M. Khan, “Pesticide genotoxicity in cotton picking women in Pakistan evaluated using comet assay”, *Drug Chem. Toxicol.*, pp. 1-9, 2017.
- [64] F. R. Da Silva, K. Kvitko, P. Rohr, M. B. Abreu, F. V. Thiesen, y J. Da Silva, “Genotoxic assessment in tobacco farmers at different crop times.”, *Sci. Total Environ.*, vol. 490, pp. 334–341. 2014.
- [65] A. S. Gaikwad, P. Karunamoorthy, S. J. Kondhalkar, M. Ambikapathy, y R. Beerappa, “Assessment of hematological, biochemical effects and genotoxicity among pesticide sprayers in grape garden”, *J. Occup. Med. Toxicol.*, vol. 10, n.o 1, p. 11, dic. 2015, doi: 10.1186/s12995-015-0049-6.
- [66] V. How, Z. Hashim, P. Ismail, S. Md Said, D. Omar, y S. Bahri Mohd Tamrin, “Exploring Cancer Development in Adulthood: Cholinesterase Depression and Genotoxic Effect From Chronic Exposure to Organophosphate Pesticides Among Rural Farm Children”, *J. Agromedicine*, vol. 19, n.o 1, pp. 35-43, ene. 2014, doi: 10.1080/1059924X.2013.866917.
- [67] T. Bernieri, M. F. Moraes, P. G. Ardenghi, y L. Basso da Silva, “Assessment of DNA damage and cholinesterase activity in soybean farmers in southern Brazil: High versus low pesticide exposure”, *J. Environ. Sci. Health Part B*, vol. 55, n.o 4, pp. 355-360, 2019, doi: 10.1080/03601234.2019.1704608.
- [68] H.-P. Hutter et al., “Indicators of Genotoxicity in Farmers and Laborers of Ecological and Conventional Banana Plantations in Ecuador”, *Int. J. Environ. Res. Public. Health*, vol. 17, n.o 4, p. 1435, feb. 2020, doi: 10.3390/ijerph17041435.
- [69] V. Garaj Vrhovac y D. Zzeljezic, “Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay Pesticide genotoxicity revealed by comet assay”, *Mutation Research. Elsevier Science*, pp. 279-285, 2000.
- [70] M. R. Chowdhury y S. Dubey, “Role of Cytogenetics and Molecular Genetics in Human Health and Medicine”, en *Animal Biotechnology*, Elsevier, 2014, pp. 451-472.
- [71] G. E. Bianco, E. Suarez, L. Cazon, T. B. de la Puente, M. R. B. Ahrendts, y J. C. De Luca, “Prevalence of chromosomal aberrations in Argentinean agricultural workers”, *Environ. Sci. Pollut. Res.*, vol. 24, n.o 26, pp. 21146-21152, sep. 2017, doi: 10.1007/s11356-017-9664-3.
- [72] B.M. Qaqish, O. Al-Dalahmah, Y. Al-Motassem, A. Battah, y S.S. Ismail, “Occupational exposure to pesticides and occurrence of the chromosomal translocation t(14;18) among farmers in Jordan”, *Toxicol. Rep.*, vol. 3, pp. 225–229, 2015, doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2016.01.002>.
- [73] V. F. Garry et al., “Chromosome rearrangements in fumigant applicators: possible relationship to non-Hodgkin’s lymphoma risk”, *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, vol. 1, pp. 287–291, 1992.
- [74] Z. Figueroa y et al, “Dialkyl Phosphate Urinary Metabolites and Chromosomal

- Abnormalities in Human Sperm”, *Environ Res*, vol. 143, pp. 256–265., nov. 2015, doi: doi:10.1016/j.envres.2015.10.021.
- [75] L. S. Gold, M. Ward, M. Dosemeci, y A. J. De Roos, “Systemic autoimmune disease mortality and occupational exposures”, *Arthritis Rheum.*, vol. 56, pp. 3189-3201, 2007.
- [76] S. Cepeda, M. Forero-Castro, D. Cárdenas-Nieto, M. Martínez-Agüero, y M. Rondón-Lagos, “Chromosomal Instability in Farmers Exposed to Pesticides: High Prevalence of Clonal and Non-Clonal Chromosomal Alterations”, *Risk Manag. Healthc. Policy*, vol. Volume 13, pp. 97-110, feb. 2020, doi: 10.2147/RMHP.S230953.
- [77] M. Zalacain, L. Sierrasesúmaga, y A. Patiño, “El ensayo de micronúcleos como medida de inestabilidad genética inducida por agentes genotóxicos”, *An. Sist. Sanit. Navar.*, vol. 28, n.o 2, ago. 2005, doi: 10.4321/S1137-66272005000300007.
- [78] B. Weinhold, “Epigenetics: the science of change”, *Environ. Health. Perspect*, vol. 114, pp. A160-167, 2006.
- [79] C. J. Maslansky y G. M. Williams, “Evidence for an epigenetic mode of action in organochlorine pesticide hepatocarcinogenicity: a lack of genotoxicity in rat, mouse, and hamster hepatocytes”, *J. Toxicol. Environ. Health*, vol. 8, pp. 121-130, 1981.
- [80] M. N. Skinner y M. D. Anway, “Epigenetic transgenerational actions of vinclozolin on the development of disease and cancer”, *Crit. Rev. Oncog*, vol. 13, pp. 75-82, 2007.
- [81] J. W. Lee et al., “Cancer incidence among pesticide applicators exposed to chlorpyrifos in the Agricultural Health Study”, *J Natl Cancer Inst*, vol. 96, pp. 1781-1789, 2004b.
- [82] C. Freire y S. Koifman, “Pesticide exposure and Parkinson’s disease: Epidemiological evidence of association”, *Neurotoxicology*, 2012.
- [83] H. Doi et al., “Motor neuron disorder simulating ALS induced by chronic inhalation of pyrethroid insecticides”, *Neurology*, vol. 67, pp. 1894-1895, 2006.
- [84] S. Xinqiang, Z. Yu, Y. Ningning, D. Erqin, W. Lei, y D. Hongtao, “Molecular mechanism of celastrol in the treatment of systemic lupus erythematosus based on network pharmacology and molecular docking technology”, *Life Sci.*, vol. 240, p. 117063, ene. 2020, doi: 10.1016/j.lfs.2019.117063.
- [85] H. Shojaei SaadI y M. Abdollahi, “Is there a link between human infertilities and exposure to pesticides?”, *Int J Pharmacol*, vol. 8, pp. 708-710, 2012.
- [86] B. A. Weldon et al., “Urinary microRNAs as potential biomarkers of pesticide exposure”, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, pp. 19-25, 2016.
- [87] A. S. Hick, M. G. Paczkowski, A. B. Gadaño, y M. A. Carballo, “Biomarcadores de Genotoxicidad en Individuos Expuestos al Arsénico”, *Lat. Am. J. Pharm.*, p. 9, 2007.
- [88] G. V. Maele Fabry, V. Libotte, J. Willems, y D. Lison, “Review and meta-analysis of risk estimates for prostate cancer in pesticide manufacturing workers”, *Cancer Causes Control*, vol. 17, pp. 353-373, 2006.
- [89] G. V. Maele Fabry, S. Duhayon, y D. Lison, “A systematic review of myeloid leukemias and occupational pesticide exposure”, *Cancer Causes Control*, vol. 18, pp. 457-478., 2007.
- [90] G. V. Maele Fabry, S. Duhayon, C. Mertens, y D. Lison, “Risk of leukaemia among pesticide manufacturing workers: a review and meta-analysis of cohort”, *Environ Res*, vol. 106, pp. 121-137, 2008.
- [91] W. J. Lee, D. P. Sandler, A. Blair, C. Samanic, A. J. Cross, y M. C. Alavanja, “Pesticide use and colorectal cancer risk in the Agricultural Health Study”, *Int J Cancer*, vol. 121, pp. 339-346., 2007.
- [92] W. J. Lee et al., “Cancer incidence among pesticide applicators exposed to alachlor in the Agricultural Health Study”, *Am J Epidemiol*, vol. 159, pp. 373-380., 2004a.
- [93] M. Weselak, T. E. Arbuckle, y W. Foster, “Pesticide exposures and developmental outcomes: the epidemiological evidence”, *J. Toxicol. Environ. Health. B. Crit. Rev*, vol. 10, pp. 41-80., 2007.
- [94] C. M. Rocheleau, P. A. Romitti, y L. K. Dennis, “Pesticides and hypospadias: a meta- analysis” *J Pediatr Urol*, 2009.

- [95] S. Kumar, "Occupational exposure associated with reproductive dysfunction", *J. Occup. Health.*, vol. 46, pp. 1-19, 2004.
- [96] L. M. Frazier, "Reproductive Disorders Associated with Pesticide Exposure", *J. Agromedicine*, vol. 12, pp. 27-37, 2007.
- [97] L. Bonetta, "Pesticide-Parkinson link explored", *Nat. Med.*, vol. 8, p. 1050, 2002.
- [98] V. Maele Fabry, P. Hoet, F. Vilain, y D. Lison, "Occupational exposure to pesticides and Parkinson's disease: A systematic review and meta-analysis of cohort studies", *Environ. Int.*, vol. 46, pp. 30-43, 2012.
- [99] J. R. Richardson et al., "Elevated serum pesticide levels and risk of Parkinson disease", *Arch. Neurol.*, vol. 66, pp. 870-875, 2009.
- [100] K. M. Hayden et al., "Occupational exposure to pesticides increases the risk of incident AD: the Cache County study", *1524-1530.*, vol. 74, pp. 1524-1530., 2010.
- [101] T. Parron, M. Requena, A. F. Hernandez, y R. Alarcon, "Association between environmental exposure to pesticides and neurodegenerative diseases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 256(3), 379-385", *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, vol. 256, pp. 379-385, 2011.
- [102] V. McGuire et al., "Occupational exposures and amyotrophic lateral sclerosis. A population-based case-control study", *Am. J. Epidemiol.*, vol. 145, pp. 1076-1088, 1997.
- [103] M. Freedman, "Amyotrophic lateral sclerosis and occupational exposure to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. *Occup.*", *Environ. Med.*, vol. 58, pp. 609-610., 2001.
- [104] F. Bonvicini, N. Marcello, J. Mandrioli, V. Pietrini, y M. Vinceti, "Exposure to pesticides and risk of amyotrophic lateral sclerosis: a population-based case-control study", *Ann. Ist. Super. Sanita.*, vol. 46, pp. 284-287, 2010.
- [105] K. A. Thayer, J. J. Heindel, J. R. Bucher, y M. A. Gallo, "Role of Environmental Chemicals in Diabetes and Obesity: A National Toxicology Program Workshop Report", *Environ. Health. Perspect.*, vol. 120, pp. 779-789, 2012.
- [106] A. N. Zamzila, I. Aminu, S. Niza, M. R. Razman, y M. A. Hadi, "Chronic Organophosphate Pesticide Exposure and Coronary Artery disease: finding a bridge", *IIUM Research, Invention and Innovation Exhibition (IRIIE)*, 2011.
- [107] A. F. Hernandez, T. Parron, y R. Alarcon, "Pesticides and asthma. *Curr. Opin. Allergy*", *Clin. Immunol.*, vol. 11, pp. 90-96, 2011.
- [108] J. A. Hoppin et al., "Pesticide use and chronic bronchitis among farmers in the Agricultural Health Study", *Am. J. Ind. Med.*, vol. 50, pp. 969-979, 2007.
- [109] G. S. Cooper, E. L. Treadwell, E. W. St Clair, G. S. Gilkeson, y M. A. Dooley, "Occupational risk factors for the development of systemic lupus erythematosus", *J. Rheumatol.*, vol. 31, pp. 1928-1933, 2004.
- [110] C. G. Parks et al., "Insecticide use and risk of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in the Women's Health Initiative Observational Study", *Arthritis Care Res. (Hoboken)*, vol. 63, pp. 184-194, 2011.
- [111] C. V. Álvarez Gongalvez, F. E. Arellano, y A. L. Pérez Carrera, "Técnicas de estudio para la evaluación del daño al ADN y su aplicación en la producción animal", *SNS*, vol. 7, pp. 1-17, 2015.
- [112] F. Faust, F. Kassie, S. S. Knasmuller, R. H. Boedecker, M. Mann, y S. Mersch, "The use of the alkaline comet assay with lymphocytes in human biomonitoring studies", *Mutat. Res.*, pp. 209-229.
- [113] UTI, "Genotoxicidad – UTI – Unidad de Toxicidad In Vitro", 2016. <https://sitios.ces.edu.co/uti/genotoxicidad/> (accedido may 07, 2020).
- [114] "Citogenética: Cariotipo de Alta Resolución", *Cibic Laboratorios*, sep. 20, 2017. <http://www.cibic.com.ar/laboratorios-bioquimicos/citogenetica-cariotipo-de-alta-resolucion/> (accedido feb. 07, 2020).
- [115] Laboratorio de estudios Genéticos y Reproducción, "Cariotipo – BioCegy", 2015. <http://www.biocegyr.com.ar/cariotipo/> (accedido may 07, 2020).
- [116] N. Pérez-Herrera, J. M. Ceballos-Quintal, y D. Pinto-Escalante, "Prevalencia de intercambio de cromátidas hermanas en una población libre de exposición a agentes

- clastogénicos”, *Rev. Bioméd.*, vol. 10, n.o 2, pp. 71-76, 1999.
- [117] “Hibridación Genómica Comparada (HGC)”, Laboratorio Médico Echavarría, dic. 14, 2017. <https://www.labechavarría.com/hibridacion-genomica-comparada-hgc> (accedido may 07, 2020).
- [118] Genética Molecular de Colombia, “Hibridación Genómica Comparativa”, 2020. <https://www.geneticamolecular.com.co/2014-12-19-23-25-42/2015-01-15-03-29-42/hibridacion-genomica-comparativa.html> (accedido may 07, 2020).
- [119] C. Tejada, A. Herrera, and E. Ruiz, “Utilización de biosorbentes para la remoción de níquel y plomo en sistemas binarios”, *Ciencia En Desarrollo*, vol. 7, no. 1, pp. 31–36, 2016.
- [120] J. M. Hernández Rivas, N. C. Gutiérrez Gutiérrez, M. B. González Sánchez, y J. L. García Hernández, “Técnicas de estudio cromosómico. Citogenética convencional, hibridación in situ fluorescente y sus variedades. Aplicaciones clínicas”, *Med. - Programa Form. Médica Contin. Acreditado*, vol. 8, n.o 82, pp. 4392-4397, ene. 2002, doi: 10.1016/S0304-5412(02)70820-2.
- [121] E. D. Green, “Hibridación fluorescente in situ (FISH) | NHGRI”, *Genome.gov*. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/Hibridacion-fluorescente-in-situ> (accedido may 07, 2020).