

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

Trabajo de Fin de Master Titulado:

**“Estudio de los biomarcadores de genotoxicidad en los trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas:
una revisión sistemática”**

Realizado por:

DARIO ORLANDO SIZA SAQUINGA

Directoras del proyecto:

Dra. Marbel Torres, Ph.D.

Como requisito para la obtención del título de:

MAGISTER EN BIOMEDICINA

Quito, 13 de marzo de 2023

DECLARACION JURAMENTADA

Yo, DARIO ROLANDO SIZA SAQUINGA, con cédula de identidad # 1805240510, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado a calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento. A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual que correspondan relacionados a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



DR. DARIO SIZA
MÉDICO - CIRUJANO
CI. 1805240510
1805240510

FIRMA Y CÉDULA

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

“Estudio de los biomarcadores de genotoxicidad en los trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas”

Realizado por:

DARIO ORLANDO SIZA SAQUINGA

como Requisito para la Obtención del Título de: **MAGISTER EN BIOMEDICINA**

ha sido dirigido por

DRA. MARBEL TORRES, PH.D.

quienes consideran que constituye un trabajo original de su autor

FIRMA

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, fuente de toda sabiduría e inteligencia, a quien le debo todo. También lo dedico a mi familia, por su amor incondicional y apoyo constante en todo momento, y a la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Internacional SEK, por brindarme las herramientas y conocimientos necesarios para alcanzar mis metas académicas y profesionales. Además, quiero agradecer a aquellos que nunca se cansan de creer, por inspirarme a perseverar a pesar de las adversidades. Gracias por ser una fuente constante de motivación e inspiración.

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer a mis padres por su amor, apoyo incondicional y sacrificios que han hecho posible mi formación académica. También, un especial agradecimiento a Daya por compartir sus conocimientos y a todas las personas que de alguna forma u otra contribuyeron para hacer posible este logro. Pero sobre todo, quiero expresar mi agradecimiento más sincero a mi tutora, la Dra. Marbel Torres, quien ha tenido una paciencia inagotable, siempre estuvo presente para brindarme su sabiduría, enseñándome y motivándome a alcanzar la excelencia. Gracias por su dedicación y compromiso en guiarme en este camino hacia mi desarrollo profesional y personal.

ESTUDIO DE LOS BIOMARCADORES DE GENOTOXICIDAD EN LOS TRABAJADORES AGRÍCOLAS EXPUESTOS A PESTICIDAS.

Dario Siza ¹, Marbel Torres Arias^{1,2*}

¹ Maestría de Biomedicina, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad Internacional SEK.

² Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE", Departamento de Ciencias de la Vida y Agricultura, Laboratorio de Inmunología y Virología; Centro de Investigación de Nanociencia y Nanotecnología.

* Autor de Correspondencia: marbel.torres@uisek.edu.ec

Resumen: Se realizó una revisión sistemática para evaluar los biomarcadores de genotoxicidad en trabajadores agrícolas de Sur América expuestos a pesticidas. Encontramos que la exposición a estos químicos puede tener efectos adversos en la salud, incluyendo trastornos neurológicos, respiratorios, dermatológicos y endocrinos, así como un mayor riesgo de cáncer. Estos efectos pueden ser causados tanto por exposición aguda como crónica a los pesticidas y son el resultado de factores complejos, como el tipo y la dosis de pesticidas, la duración y frecuencia de la exposición, y las condiciones laborales y ambientales. Se identificaron 15 estudios publicados en revistas del cuartil 1 y 2 según Scimago, que utilizaron diferentes biomarcadores, entre los que se destacaron el ensayo cometa, el ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis y el ensayo de micronúcleos en citoma bucal. Además, se utilizaron biomarcadores específicos a nivel genético como la reacción en cadena de polimerasa, las aberraciones cromosómicas, la citometría de flujo y la hibridación in situ por fluorescencia. Aunque cada técnica presenta limitaciones específicas, se destaca la necesidad de utilizar múltiples biomarcadores para una evaluación más completa y precisa de la exposición a pesticidas y el daño genotóxico en los trabajadores agrícolas de Sur América. Se resalta la importancia de desarrollar políticas y programas que promuevan la prevención de la exposición a pesticidas en la industria agrícola, a fin de proteger la salud de los trabajadores agrícolas y de la población en general. En conclusión, este estudio ofrece una perspectiva valiosa para la identificación de biomarcadores útiles en la evaluación de la exposición a pesticidas y el daño genotóxico en trabajadores agrícolas de Sur América, así como para orientar futuras investigaciones en este campo.

Palabras clave: Pesticidas, genotoxicidad, biomarcadores, trabajadores agrícolas, exposición.

Abstract: A systematic review was conducted to evaluate genotoxicity biomarkers in South American agricultural workers exposed to pesticides. We found that exposure to these chemicals can have adverse health effects, including neurological, respiratory, dermatological, and endocrine disorders, as well as an increased risk of cancer. These effects can be caused by both acute and chronic exposure to pesticides and are the result of complex factors, such as the type and dose of pesticides, duration and frequency of exposure, and labor and environmental conditions. Fifteen studies published in Scimago quartile 1 and 2 journals were identified, which used different biomarkers, including the comet assay, cytokinesis block micronucleus assay, and micronucleus assay in buccal cytoma. Additionally, specific genetic biomarkers were used, such as polymerase chain reaction, chromosomal aberrations, flow cytometry, and fluorescence in situ hybridization. While each technique has specific limitations, the need to use multiple biomarkers for a more complete and accurate assessment of pesticide exposure and genotoxic damage in South American agricultural workers is emphasized. The importance of developing policies and programs that promote prevention of pesticide exposure in the agricultural industry to protect the health of workers and the general population is highlighted. In conclusion, this study offers valuable insight into the identification of useful biomarkers in the evaluation of pesticide exposure and genotoxic damage in South American agricultural workers, as well as guiding future research in this field.

Keywords: Pesticides, genotoxicity, biomarkers, agricultural workers, exposure

1. Introducción

La exposición de los agricultores a los pesticidas puede conllevar a problemas en su salud. Los biomarcadores de genotoxicidad son una herramienta eficaz para evaluar el impacto que los pesticidas tienen sobre el material genético.

Pesticidas

Los pesticidas son sustancia destinada a prevenir, destruir, atraer, repeler o combatir cualquier plaga, incluidas las especies indeseadas de plantas o animales, sin embargo su uso inadecuado ha generado un aumento de la contaminación del agua lo cual favorece su volatilidad y afectación de la biota normal de la naturaleza, por ende el ser humano se encuentra indirectamente expuesto a la misma en menor o mayor medida dependiendo su situación geográfica y ocupación (Coalova et al., 2017). Los pesticidas se pueden clasificar dependiendo su origen en inorgánico, orgánicos naturales o sintéticos, y biológicos, también acorde a lo propuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS) se lo clasifica según su grado de toxicidad (Tabla 1) (Who, 2019).

TABLA 1

Clasificación de los pesticidas de acuerdo a su origen

ORIGEN	COMPOSICIÓN	GRADO DE TOXICIDAD
INORGÁNICO	Elementos químicos: fosforo, mercurio, arsénico, cadmio, plomo, cobre y zinc Naturales:	Ia Sumamente peligroso Ib Muy peligroso
ORGÁNICO	<ul style="list-style-type: none"> • Botánicos • Microbianos • Minerales Sintéticos: <ul style="list-style-type: none"> • Organoclorados • Organofosforados • Carbamatos • Piretroides 	II Moderadamente peligroso III Poco peligroso
BIOLÓGICOS	Microbianos Botánicos Feromonas	III Poco peligroso IV Poco probable que presente un peligro agudo

Fuentes: (Coalova et al., 2017; Who, 2019)

Los pesticidas inorgánicos están compuestos principalmente por elementos químicos como nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre y algunos micronutrientes, que pueden provocar la acumulación de metales pesados en la tierra y, a largo plazo, reducir la fertilidad del suelo, la erosión y la contaminación del agua. Estos efectos negativos pueden afectar la productividad y aumentar la exposición a pesticidas (Alengebawy et al., 2021). Además, la exposición a metales pesados presentes en los pesticidas puede causar efectos nocivos en la salud de los agricultores y los consumidores.

Los pesticidas de origen orgánico más utilizados son los de origen sintético debido a su bajo costo y facilidad de producción, así como su efectividad contra plagas y enfermedades específicas. Aunque están diseñados para ser menos tóxicos para los humanos y el medio ambiente y tienen una vida útil más prolongada, todavía tienen potencial tóxico. Los organofosforados, carbamatos y piretroides son los pesticidas orgánicos sintéticos más utilizados y pueden ser absorbidos por la piel, inhalados o ingeridos, lo que puede causar efectos agudos y crónicos en la salud (Roman et al., 2019; Tsai & Lein, 2021). Estos

pesticidas inhiben la acción de la enzima colinesterasa, importante en la transmisión nerviosa, lo que puede provocar un aumento en los niveles de acetilcolina y una sobre-exitación del sistema nervioso central. La exposición crónica a estos pesticidas se ha asociado con diferentes tipos de neoplasias, como el linfoma no Hodgkin, el cáncer de próstata y el cáncer de pulmón.

En la actualidad, se ha desarrollado una nueva tendencia en el uso de pesticidas llamados "eco-friendly" o biopesticidas, que causan menos daño al medio ambiente y a las personas. Estos pesticidas biológicos utilizan organismos vivos o compuestos derivados de ellos para el control de plagas. En particular, los hongos son los microorganismos más utilizados en la industria de los biopesticidas debido a su capacidad específica para combatir patógenos seleccionados (Essiedu et al., 2020). Sin embargo, el costo elevado de producción y adquisición limita su uso entre la población, aunque su uso ha ido en aumento.

Las personas pueden estar expuestas a pesticidas de diversas formas, ya sea directa o indirectamente, a través de sus actividades laborales, agrícolas o domésticas, debido a la contaminación ambiental. Las vías principales de exposición son la dérmica, oral y respiratoria. Los agricultores tienen un mayor riesgo de exposición dérmica debido a que están expuestos a salpicaduras, derrames o dispersión de pesticidas durante sus actividades laborales (Tudi et al., 2022). Además, la exposición oral y la inhalación también son formas comunes de exposición, y pueden ser peligrosas para la salud, especialmente para los agricultores, debido a que los pesticidas pueden encontrarse en alimentos contaminados o inhalarse durante la aplicación de los mismos.

Se sabe que los pesticidas pueden tener efectos tóxicos, mutagénicos y carcinogénicos que desencadenan enfermedades (**tabla 2**). La exposición prolongada a los pesticidas se ha asociado con alteraciones hormonales que pueden causar anomalías reproductivas, así como enfermedades neurodegenerativas y neoplasias en humanos. Varios estudios epidemiológicos han informado sobre la relación entre la exposición laboral a pesticidas y diferentes tipos de cáncer, como el cáncer de pulmón, colon, recto, páncreas, vejiga y estómago. Un estudio reciente realizado en Brasil encontró que la exposición a pesticidas estaba relacionada con efectos en el sistema nervioso central, cáncer, intoxicaciones, malformaciones y cambios endocrinos. Estos riesgos están presentes principalmente en las poblaciones de áreas rurales donde la agricultura es la principal fuente de ingresos económicos (Panis et al., 2021).

Mecanismos de activación de biomarcadores de genotoxicidad por efecto de los pesticidas

Existen muchos factores que pueden ser químicos, físicos o biológicos capaces de generar lisis celular, sin embargo muchos de estos factores no necesariamente pueden llevar a la célula a su muerte pero si dañar el material genético de la misma, a estos se los llama genotoxinas. Aunque existen varios mecanismos de reparación del ácido desoxirribonucleico (ADN) muchos de estos no son capaces de repararlo completamente lo que da lugar a que las siguientes generaciones de células posean un material genético alterado (Sommer et al., 2020a). Los pesticidas pueden causar daño en el ADN ya que son genotóxicos y puede provocar alteraciones cromosómicas, genéticas y epigenéticas (**figura 1**).

El daño cromosómico causado por genotóxicos se debe principalmente a dos mecanismos: daño directo al ADN y acumulación de radicales libres. El primer mecanismo se produce cuando los pesticidas se unen directamente al ADN, provocando rupturas en la estructura de la doble hélice y generando daño en la cromatina. Esto altera la estructura tridimensional del ADN, que regula la función celular y aumenta el riesgo de mutaciones. Los pesticidas también pueden provocar modificaciones en las bases nitrogenadas y los aductos covalentes del ADN, dando lugar a la formación de mutaciones. Existen muchos genes implicados en estos procesos, pero algunos de los más relevantes son los relacionados con la acetilcolinesterasa, la butirilcolinesterasa y la dopamina-beta-hidroxilasa (Ataei & Abdollahi, 2022; Sánchez-Alarcón et al., 2021). El segundo mecanismo se produce por la acumulación de radicales libres, que son moléculas altamente reactivas generadas por factores internos y externos como la exposición a pesticidas y otros químicos tóxicos. Los pesticidas pueden provocar una acumulación de radicales libres al interferir con las enzimas antioxidantes y la función mitocondrial lo que provoca un aumento en las especies reactivas de oxígeno (ROS) y de radicales libres. La activación de ciertas proteínas como NF- κ B, BCL2 y ATM puede desencadenar la generación de radicales libres durante la reparación del ADN y la apoptosis. La acumulación de radicales libres se asocia con diferentes enfermedades y procesos patológicos (Lee et al., 2017; Sule et al., 2022).

TABLA 2*Tabla comparativa de pesticidas y sus efectos en la salud*

Tipo de Pesticida	Compuesto Químico	Mecanismo de acción	Efectos en la salud	Referencias
INORGÁNICO	Nitrógeno	Genera ROS Roturas en la cadena de ADN y daños en el ADN Alteraciones en el ciclo celular	Metahemoglobinemia, neoplasias, dermatitis de contacto, pérdidas de la memoria, Enfermedad de Parkinson, asma, neumonitis por hipersensibilidad, bronquitis crónicas, trastornos de la conducción cardiaca y del ritmo, hipertensión arterial, Injurias renales agudas o enfermedades renales crónicas	(Alengebawy et al., 2021; C. Yang et al., 2020; Duarte et al., 2022)
	Fósforo			
	Potasio			
	Calcio			
	Azufre			
ORGÁNICOS	Organofosforados	Inhibe a la colinesterasa	Convulsiones, ansiedad, depresión, enfermedad de Parkinson, Alzheimer, asma, bronquitis crónicas. Hipertensión arterial y enfermedades coronarias. Nefrotoxicidad. Neoplasias principalmente de pulmón, colon y recto, disfunción inmunológica	(Roman et al., 2019; Tsai & Lein, 2021; Salvador & Salvador, 2021)
	Carbamatos			
	Piretroides			
BIOPLAGUICIDAS	Bacillus thuringiensis	Toxina Cry: epiteliales del intestino	Dermatitis de contacto y eritema ocular	(Valtierra-De-luis et al., 2020)
	Hongos entomopatógenos (Metarhizium anisopliae, Beauveria bassiana)	Mediante esporas que penetran en el		(Gupta & Dikshit, 2010)
	Trichoderma harzianum	Antibiosis		(Hermosa et al., 2011)

ROS: especies reactivas de oxígeno, ADN: ácido desoxirribonucleico

Los daños genéticos están determinados por la modulación de los mecanismos de reparación del ADN. El uso de pesticidas puede generar efectos adversos en los mecanismos de reparación del ADN, ya que puede causar una inhibición enzimática de polimerasas y exonucleasas, lo que afecta a proteínas importantes como RAD51 y BRCA1, la enzima polimerasa beta y la exonucleasa Trex1 que son esenciales para la reparación del ADN. También puede formarse aductos de ADN, que impiden la replicación y reparación del material genético. Como resultado, esto aumenta la probabilidad de que se produzca un daño genético persistente y acumulativo, lo que puede activar biomarcadores de genotoxicidad, como la presencia de mutaciones y roturas cromosómicas, que se relacionan con un mayor riesgo de padecer enfermedades crónicas en el futuro. (Constanza et al., 2019; Sandoval-Herrera et al., 2023).

Los pesticidas pueden provocar daños a nivel epigenético por dos mecanismos principales. El primer mecanismo es el estrés oxidativo, el cual produce un aumento en la producción de ROS en las células, lo que disminuye su capacidad de neutralizarlos y promueve el daño a lípidos, ácidos nucleicos y proteínas celulares. Los pesticidas pueden activar la vía de señalización del factor nuclear kappa B (NF- κ B) y la vía Nrf2-Keap1, lo que afecta la expresión génica de proteínas antioxidantes y aumenta el riesgo de mutaciones. También pueden provocar alteraciones en el sistema citocromo P450 (CYP), lo que aumenta la producción de ROS. El estrés oxidativo también puede dañar las proteínas de reparación del ADN, como la proteína ATM, lo que reduce su capacidad para detectar anomalías y aumenta la susceptibilidad a los pesticidas (Lee et al., 2017; Sánchez-Alarcón et al., 2021; Sule et al., 2022). El segundo mecanismo es la activación de vías de señalización celular, que puede provocar cambios en la regulación de la apoptosis, la reparación del ADN y la respuesta inflamatoria. Los pesticidas pueden activar la vía de señalización de P53 y las caspasas, lo que puede llevar a efectos tóxicos en las células y los tejidos y aumentar el riesgo de enfermedades como el cáncer. También pueden afectar la MAP quinasa, lo que provoca la fragmentación del ADN y la activación de biomarcadores de genotoxicidad y acumulación de radicales libres (Ganie et al., 2022). La vía de señalización de la proteína BCL2 y de la Proteína NF- κ B también pueden sufrir mutaciones, lo que disminuye la supervivencia celular y provoca la activación de la apoptosis. En general, los pesticidas pueden inducir daños epigenéticos que aumentan el riesgo de padecer enfermedades crónicas no transmisibles como Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), hepatitis crónica, cirrosis, enfermedad coronaria y la insuficiencia cardíaca.

Es importante tener en cuenta que ciertos mecanismos pueden tener efectos combinados sobre diferentes tipos de daño. Por ejemplo, el estrés oxidativo puede causar tanto daño genético como epigenético, y la modulación de los mecanismos de reparación del ADN puede afectar tanto al daño genético como al cromosómico.

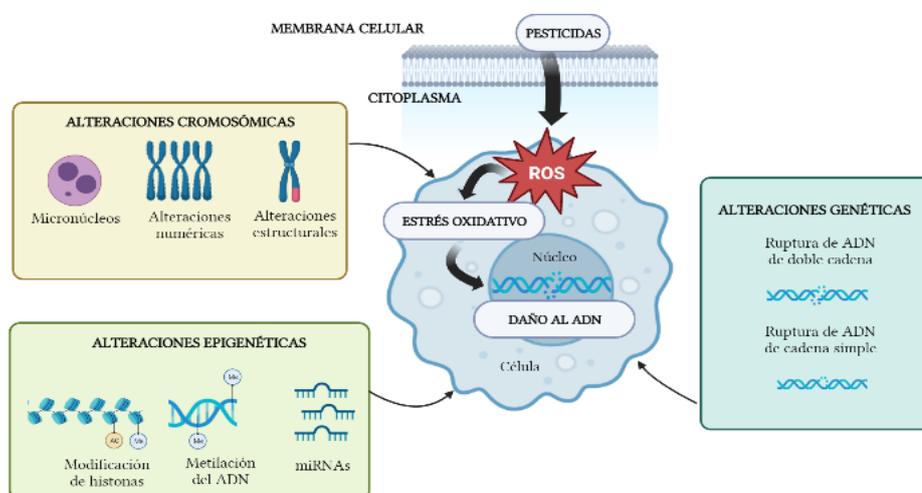


Figura 1: Daño genético directo e indirecto inducido por exposición a plaguicida. Tomado de BioRender.

Biomarcadores de genotoxicidad

Los biomarcadores de genotoxicidad se basan en la evaluación de diferentes parámetros biológicos que permiten determinar la presencia de daño en el ADN de las células expuestas a los pesticidas, los más utilizados son:

Los micronúcleos (MN) son pequeñas estructuras esféricas que contienen cromatina visible en el citoplasma celular y aparecen cerca del núcleo principal durante la división celular (Sommer et al., 2020). Sin embargo, ciertos factores como errores de replicación del ADN, radiación y sustancias genotóxicas, pueden causar pérdida cromosómica, lo que resulta en fragmentos de cromosomas acéntricos que no se incluyen en el núcleo de la célula hija y forman MN. Además, la inestabilidad genómica y la agregación de minutos dobles también pueden conducir a la formación de MN. La presencia de MN se asocia a daños en el ADN o inestabilidad genómica (Terradas et al., 2016). Se utilizan diferentes tipos de ensayos de micronúcleos, incluyendo el ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis (CBMN), el ensayo de micronúcleos de eritrocitos (MNE) y el ensayo de micronúcleos en células del estroma bucal. Estos ensayos se utilizan principalmente en estudios *in vivo* o *in vitro* de genética molecular para investigar los mecanismos subyacentes al daño genotóxico y evaluar la respuesta celular al daño del ADN, biomonitoreo, evaluación de efectos de medicamentos y terapias, así como en pruebas predictivas de neoplasias.

El ensayo cometa o electroforesis unicelular en gel es una técnica muy sensible y específica que permite detectar el daño en el ADN de cadena simple y doble en células. Para realizar este ensayo, se utiliza agarosa para incrustar las células, seguido de una lisis alcalina para liberar el ADN y una electroforesis que produce una "cola de cometa". El grado de migración es proporcional al daño del ADN, con roturas de cadena simple resultando en una cola de cometa corta y ancha, mientras que roturas de cadena doble resultan en una cola larga y delgada. La intensidad de fluorescencia y longitud de la cola de cometa se utilizan para evaluar el daño del ADN, siendo las células con ADN dañado las que presentan manchas difusas o colas de cometa largas y mayor fluorescencia. Este ensayo puede ser una herramienta útil para evaluar la genotoxicidad de los pesticidas en trabajadores agrícolas expuestos. (Camacho Marco, 2018; Cayir et al., 2019)

El ensayo de citogenética en líneas celulares es una técnica de biomarcador de genotoxicidad que examina los cromosomas de las células tratadas con sustancias genotóxicas como los pesticidas para detectar anomalías cromosómicas, como roturas, deleciones, duplicaciones, inversiones y translocaciones (Ramírez et al., 2022). Se puede realizar mediante diferentes técnicas, como el análisis de metafases o el análisis de aberraciones cromosómicas. Los linfocitos de sangre periférica son las células más usadas para realizar el ensayo de citogenética en trabajadores agrícolas expuestos. Este ensayo proporciona información valiosa sobre el daño genético a nivel celular y es relativamente fácil de realizar. Además, se han encontrado resultados significativos en estudios realizados en trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas.

El ensayo de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) es una técnica que se utiliza para detectar anomalías cromosómicas en las células tratadas con pesticidas. Esta técnica se basa en la hibridación de una sonda de ADN fluorescente específica con una secuencia de ADN particular en los cromosomas de las células en metafase. La FISH permite la detección de anomalías cromosómicas en células individuales, lo que proporciona información valiosa sobre la heterogeneidad celular y la variabilidad intra-individual en la respuesta genotóxica a los pesticidas. Los estudios llevados a cabo en Colombia han demostrado que la utilización de esta técnica puede ayudar a identificar células con anomalías cromosómicas específicas y a comprender los mecanismos moleculares que causan los efectos genotóxicos de los pesticidas (Cepeda et al., 2020)

La PCR (reacción en cadena de polimerasa) se ha utilizado para evaluar la genotoxicidad de los pesticidas en trabajadores agrícolas debido a su alta sensibilidad y especificidad para detectar cambios en la expresión génica en respuesta a la exposición a pesticidas (Anjitha et al., 2020). Esta técnica se basa en la amplificación de una región específica del ADN y la cuantificación de la cantidad de producto amplificado en cada ciclo de amplificación. La expresión de genes relacionados con la genotoxicidad, como los involucrados en la reparación del ADN, se puede medir en muestras de sangre o tejido.

La citometría de flujo permite medir las propiedades de las células individuales, como el tamaño, la complejidad celular, la viabilidad y la presencia de moléculas específicas en la superficie celular o en

el núcleo (Mesnage et al., 2021). Para el análisis, las células se tratan con un agente fluorescente que se une a las roturas del ADN y luego se analizan de forma individual mediante un instrumento de citometría de flujo, que mide la intensidad de la fluorescencia emitida por los fluoróforos presentes en las células. Las células con roturas del ADN presentan una mayor fluorescencia que las células sin daño. La citometría de flujo es una técnica muy sensible y específica para detectar roturas de cadena simple o doble en el ADN, lo que la hace una herramienta útil para evaluar la genotoxicidad de los pesticidas en trabajadores agrícolas expuestos. Los estudios que utilizan la citometría de flujo han encontrado un aumento en la frecuencia de células con daño en el ADN en trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas en comparación con los controles no expuestos.

Genotoxicidad y carcinogénesis

Los pesticidas pueden causar carcinogénesis en las células a través de diferentes mecanismos de acción, como daño directo en el ADN, actuar como agentes promotores o cocarcinógenos, interferir con la reparación del ADN, inducir estrés oxidativo, alterar los procesos de señalización celular, disfunción mitocondrial y contribuir a la inflamación crónica y la formación de lesiones preneoplásicas (K. J. Yang et al., 2020). Al provocar mutaciones y alteraciones en los genes reguladores del ciclo celular, los pesticidas pueden desencadenar procesos anómalos de crecimiento y proliferación celular que pueden conducir a la formación de tumores. La exposición a pesticidas y otros contaminantes ambientales es un factor importante en la carcinogénesis y aunque se están estudiando los mecanismos específicos de acción de los pesticidas en las células, este proceso es multifactorial y complejo.

2. Metodología:

La presente investigación es una revisión sistemática, utilizando el método PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic reviews and Meta-Analyses). La pregunta de investigación planteada es: ¿Cuáles son los principales biomarcadores de genotoxicidad utilizados en la evaluación de la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de Sur América, y cuáles son las limitaciones y desafíos en su utilización?

Los criterios de inclusión planteados fueron los siguientes:

- Estudios publicados en inglés o español.
- Estudios que hayan evaluado los biomarcadores de genotoxicidad en trabajadores agrícolas de Sudamérica expuestos a pesticidas.
- Estudios que presenten datos relevantes y completos sobre los biomarcadores de genotoxicidad utilizados y sus limitaciones y desafíos en la evaluación de la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de Sudamérica.
- Estudios que se hayan llevado a cabo en humanos.
- Estudios publicados en los últimos 5 años.

Los criterios de exclusión fueron los siguientes:

- Estudios que no hayan evaluado los biomarcadores de genotoxicidad en trabajadores agrícolas de Sudamérica expuestos a pesticidas.
- Estudios que presenten datos incompletos o poco relevantes sobre los biomarcadores de genotoxicidad utilizados y sus limitaciones y desafíos en la evaluación de la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de Sudamérica.
- Estudios que se hayan llevado a cabo en animales o *in vitro*.
- Estudios que sean revisiones sistemáticas, metaanálisis o comentarios.
- Estudios publicados antes de los últimos 5 años.

La búsqueda de los estudios se los realizó en 2 bases de datos electrónicas relevantes, PubMed y Science Direct. Se utilizaron palabras claves para la búsqueda como: "Genotoxic biomarkers" or "Genotoxicity biomarkers", "Pesticides", "Agricultural workers", "Exposure" y "South America". Durante la búsqueda, se utilizaron algoritmos para identificar los estudios que contenían los términos de interés en su título, palabras clave y/o resumen.

Los algoritmos utilizados para PubMed fueron: ("biomarkers of genotoxicity" OR "genotoxic biomarkers" OR "DNA damage biomarkers" OR "genetic damage biomarkers" OR "genotoxicity

markers") AND ("pesticides" OR "agrochemicals" OR "agricultural chemicals" OR "pesticide exposure") AND ("farm workers" OR "agricultural workers" OR "rural workers") AND ("South America" OR "Latin America" OR "Andean Region" OR "Amazon Region" OR "Southern Cone" OR "Caribbean")) AND ("humans"[MeSH Terms] AND English[lang] AND "last 5 years"[dp]).

Mientras que los algoritmos de búsqueda utilizados en Science Direct: "genotoxic biomarkers" OR "biomarkers of genotoxicity" OR "DNA damage biomarkers" OR "genetic damage biomarkers" OR "genotoxicity markers" AND "pesticide exposure" OR "pesticides" OR "agrochemicals" AND "farm workers" OR "agricultural workers" OR "rural workers" AND "South America" OR "Latin America" OR "Andean Region" OR "Amazon Region" OR "Southern Cone" OR "Caribbean"

Debido a la posible variabilidad metodológica entre los estudios seleccionados, incluyendo el diseño del estudio, la exposición y los métodos de evaluación de los resultados, se decidió no realizar un metanálisis para combinar los resultados. En su lugar, se llevó a cabo una síntesis narrativa para analizar las fortalezas y limitaciones de la evidencia actual en relación con los biomarcadores de genotoxicidad utilizados en la evaluación de la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de Sur América. El objetivo de esta síntesis narrativa es extraer conclusiones sobre el estado actual de la investigación en este campo, incluyendo los desafíos clave para avanzar en la identificación de los efectos de la exposición a pesticidas en las poblaciones de trabajadores agrícolas de la region.

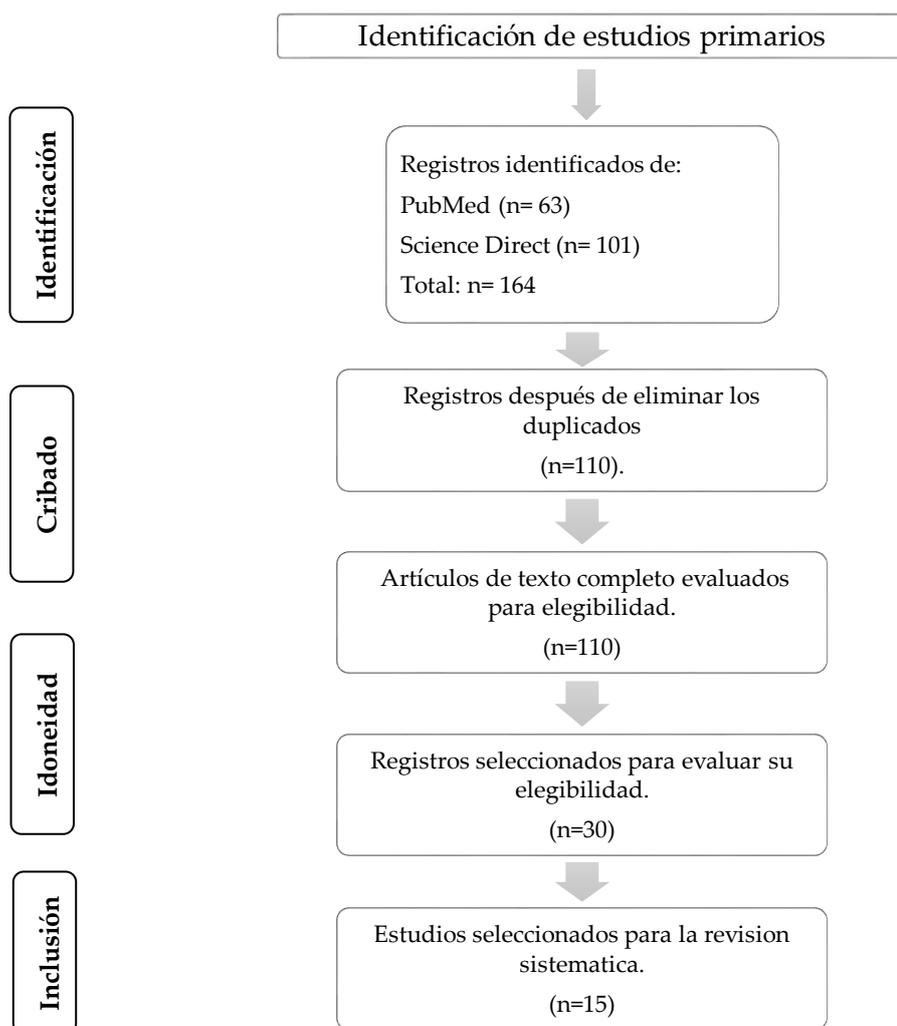


Diagrama de flujo PRISMA para la identificación y selección de estudios primarios relacionados con la problemática de investigación.

3. Resultados:

Los resultados de la búsqueda concluyeron en 15 estudios que cumplen con los criterios de inclusión y que se encuentran publicados en revistas del cuartil 1 y 2 según Scimago. Los estudios tomados fueron realizados en diferentes países de América del Sur sin embargo no se obtuvieron datos de todos los países de que lo conforman. El país que más publicaciones posee es Brasil con el 53.3% de artículos publicados, seguido de Argentina y Colombia con el 13.3% respectivamente, para continuar en menor medida por Ecuador, Paraguay y Bolivia con el 6.6%.

En la presente revisión sistemática, se encontró que la mayoría de los estudios revisados utilizaron diferentes biomarcadores de genotoxicidad para evaluar la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas. El ensayo cometa, el ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis y el ensayo de micronúcleos en citoma bucal fueron los biomarcadores más comúnmente utilizados. También, algunos estudios utilizaron la reacción en cadena de polimerasa, las aberraciones cromosómicas, la citometría de flujo y la hibridación in situ por fluorescencia. De estos biomarcadores, se encontró que el ensayo cometa fue uno de los biomarcadores más sensibles para detectar el daño genético en trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas en Sur América.

Por otro lado, el ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis se utilizó ampliamente y es un método útil para detectar la rotura cromosómica y la pérdida de material cromosómico. El ensayo de micronúcleos en citoma bucal, por su parte, es no invasivo y, por lo tanto, menos traumático para los participantes, y se utilizó para evaluar el daño en el ADN en las células de la mucosa oral (de Oliveira et al., 2019; Fernandes et al., 2017).

Además de los biomarcadores de genotoxicidad previamente mencionados, algunos estudios también utilizaron biomarcadores específicos para evaluar la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de Sur América a nivel genético. La reacción en cadena de polimerasa (PCR) se utilizó para detectar mutaciones genéticas específicas en genes relacionados con el metabolismo de pesticidas y la reparación del ADN. En este sentido, se estudiaron genes como MTHFR C677T, TERT GT/TT, PON1 y SOD2, también se estudiaron polimorfismos de nucleótido único en genes relacionados con la respuesta inmune como XRCC1, IL6, IL6R, TNF- α y MIR137. Por su parte, las aberraciones cromosómicas también se utilizaron como biomarcador para evaluar el daño en el ADN y la rotura cromosómica. La citometría de flujo se utilizó para evaluar la proporción de linfocitos T (CD3+CD4+ y CD3+CD4+CD25+FOXP3+) y marcadores de activación (Jacobsen-Pereira et al., 2020; Ramos et al., 2021). Por último, la hibridación in situ por fluorescencia se utilizó para detectar y evaluar la inestabilidad cromosómica y la heterogeneidad clonal debido a la exposición química de los pesticidas (Meléndez-Flórez et al., 2022). Los resultados de estos estudios se resumen en la **Tabla 3**.

Además, es posible observar una clara relación entre la exposición laboral a plaguicidas y la aparición de diversas enfermedades potencialmente severas. En particular, se ha demostrado que la exposición a plaguicidas puede aumentar el riesgo de desarrollar cáncer, trastornos neurológicos, trastornos reproductivos, trastornos endocrinos, trastornos de comportamiento, trastornos autoinmunes y enfermedades cardiovasculares (Fernandes et al., 2017). En cuanto al cáncer, los estudios han demostrado que la exposición a plaguicidas puede aumentar el riesgo de desarrollar cáncer de mama, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas y linfomas. Además, se ha demostrado que la exposición a plaguicidas aumenta el riesgo de desarrollar síndrome mielodisplásico, leucemia mieloide aguda y mieloma múltiple. Con respecto a los trastornos neurológicos, se ha demostrado que la exposición a plaguicidas aumenta el riesgo de desarrollar enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer y trastornos de comportamiento. En cuanto a los trastornos reproductivos, se ha demostrado que la exposición a plaguicidas aumenta el riesgo de desarrollar infertilidad, trastornos endocrinos y enfermedades autoinmunes. También se ha demostrado que la exposición a plaguicidas aumenta el riesgo de desarrollar enfermedades cardiovasculares como hipertensión arterial y coronariopatías. Además, los estudios sugieren que la exposición a múltiples plaguicidas puede aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades en comparación con la exposición a un solo plaguicida.

Los biomarcadores analizados sugieren una asociación entre la exposición a plaguicidas y la aparición de enfermedad, es importante reconocer que ninguno de ellos proporciona una evaluación completa de la exposición a pesticidas y sus efectos en la salud. Por lo tanto, es necesario utilizar múltiples biomarcadores para obtener una imagen más precisa y completa de la exposición a plaguicidas y el daño genotóxico en los trabajadores agrícolas de Sur América (Dalberto et al., 2022).

TABLA 3*Estudios desarrollados en Sur América sobre biomarcadores de genotoxicidad en poblaciones expuestas a plaguicidas*

País/Autores	Revista/Ranking	Criterio de valoración genotóxico/bioensayo	No. Expuesto/N o. Controles	Correlación de biomarcadores y exposición	Genes o moléculas estudiadas
Brasil (Fernandes et al., 2017)	Int J Occup Environ Health. Q2. SJR 0.81	EC/ SP CBMN/ SP PCR/SP	110/0	Positivo $p < 0,01$ Positivo $p < 0,01$ Positivo $p < 0,006$	<i>MTHFR C677T</i>
Brasil (Ramos et al., 2021)	Science of the Total Environment. Q1. SJR 1.81	EC/SP CF/SP PCR/SP	180/180	Positivo $p < 0,0001$ Positivo $p < 0,0001$ Positivo $p < 0,002$	TCD4 + <i>PON1, XRCC1, IL6, IL6R, TNF-α y MIR137</i>
Brasil (Jacobsen-Pereira et al., 2020)	Ecotoxicology and Environmental Safety Q1. SJR 1.24	CF	43/30	Positivo $p < 0,001$	CD57, HLA-DR, CD25 y CD28
Brasil (de Oliveira et al., 2019)	Ecotoxicology and Environmental Safety Q1. SJR 1.24	BMCA	76/72	Positivo $p < 0,001$	
Brasil (Kahl, Dhillon, et al., 2018)	Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Q1. SJR 1.23	CBMN/SP PCR/SP	40/40	Positivo $p < 0,001$ Positivo $p < 0,006$	<i>MTHFR CT/TT</i> <i>TERT GT/TT</i>
Brasil (Dalberto et al., 2022)	Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis Q2. SJR 0.65	EC/ SP BMCA	241/0	Positivo $p < 0,001$ Positivo $p < 0,001$	
Brasil (Kahl, da Silva, et al., 2018)	Ecotoxicology and Environmental Safety Q1. SJR 1.24	EC/ SP BMCA PCR/SP	121/121	Positivo $p < 0,001$ Positivo $p < 0,001$ Positivo $p < 0,001$	<i>PON1 y SOD2</i>
Brasil (Kahl, Simon, et al., 2018)	Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis Q2. SJR 0.65	CBMN/SP CF	129/91	Positivo $p < 0,001$ Positivo $p < 0,001$	<i>OGG1, XRCC1</i> <i>Y PON1</i>

Argentina (Filippi et al., 2021)	Heliyon. Q1. SJR 0.55	CBMN/SP	47/53	Positivo $p < 0,0001$	
Argentina (Aiassa et al., 2019)	Environmental Science and Pollution Research. Q1. SJR 0.83	EC/ SP CBMN/ SP AC/SP	52/0	Positivo $p < 0,05$ Positivo $p < 0,05$ Positivo $p < 0,005$	
Paraguay (Leite et al., 2019)	Indian Journal of Medical Research. Q1. SJR 0.91	CBMN EC	43/41	Positivo $p < 0,001$ Positivo $p < 0,001$	
Ecuador (Hutter et al., 2020)	International Journal of Environmental Research and Public Health. Q1. SJR 0.81	BMCA	71/0	Positivo $p < 0,001$	
Bolivia (Barrón Cuenca et al., 2019)	Science of The Total Environment Q1, SJR 1.81	EC/ SP CBMN/ SP PCR/SP	279/0	Positivo $p < 0,001$ Positivo $p < 0,05$ Positivo $p < 0,01$	<i>GSTM1</i> <i>GSTT1</i>
Colombia (Cepeda et al., 2020)	Risk Management and Healthcare Policy Q2. SJR 0.52	FISH/SP	5/5	Positivo $p < 0,001$	cromosomas 2, 3, 8, 11, 15 y 17
Colombia (Meléndez-Flórez et al., 2022)	Frontiers in Genetics. Q1. SJR 1.1	FISH/SP	34/34	Positivo $p < 0,001$	cromosomas 2, 3, 8, 11, 15 y 17

EC (ensayo cometa), CBMN (ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis), BMCA (ensayo de micronucleos en citoma bucal), PCR (reacción en cadena de polimerasa), AC (aberraciones cromosómicas), CF (citometría de flujo), FISH (hibridación in situ por fluorescencia), SP (sangre periférica)

4. Discusión

En la presente discusión, se destaca que los 7 estudios incluidos utilizaron ensayo cometa (EC) para evaluar el daño genético en trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas en Sur América. Si bien se han utilizado protocolos establecidos, se han identificado algunas limitaciones y desafíos de esta técnica. En primer lugar, el ensayo cometa mide el daño al ADN en células individuales, por lo que los efectos a corto plazo de los pesticidas, que pueden ser transitorios y no causar un daño significativo al ADN, pueden no ser detectados por esta técnica. En segundo lugar, el ensayo cometa no es específico para los pesticidas y es sensible a otros factores ambientales, lo que puede dificultar la interpretación de los resultados (Fernandes et al., 2017; Ramos et al., 2021). Además, el ensayo cometa es una técnica costosa y laboriosa que requiere personal capacitado, lo que limita su uso en la práctica clínica (Dalberto et al., 2022; Kahl, Simon, et al., 2018).

Otro desafío del ensayo cometa es la interpretación de los resultados, ya que la variación inter-observador e intra-observador puede afectar la precisión de los resultados, también el bajo número de células examinadas y el tiempo requerido para completar el ensayo también pueden limitar su eficacia (Aiassa et al., 2019; Barrón Cuenca et al., 2019). Aunque el ensayo cometa es una técnica útil para evaluar el daño genético en trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas, su uso debe complementarse con otras técnicas para una evaluación completa de los efectos adversos de los pesticidas en la salud de los trabajadores agrícolas, sin embargo es una técnica útil para evaluar el daño genético en trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas.

El CBMN (ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis), también se utilizó en 7 estudios para evaluar el daño genético ya que es útil para evaluarlo, sin embargo presenta varias limitaciones y desafíos que deben abordarse. Las limitaciones comunes del ensayo CBMN incluyen la necesidad de contar con muestras de sangre adecuadas para la evaluación, la necesidad de un alto nivel de habilidad para identificar micronúcleos y otros cambios genéticos en las células, y el alto costo y tiempo requeridos para el análisis (Filippi et al., 2021; Kahl, Simon, et al., 2018). Además, el CBMN presenta la limitación de no poder detectar el daño genético antes de la formación de los micronúcleos. Los desafíos del ensayo CBMN incluyen la necesidad de tener en cuenta factores como la variación inter-observador e intra-observador, la necesidad de contar cada célula específica, la influencia de factores como la edad y el estrés, y la dificultad para evaluar los efectos agudos de la exposición a los pesticidas (Barrón Cuenca et al., 2019; Leite et al., 2019). Además, algunos estudios identificaron limitaciones metodológicas en la identificación y cuantificación de los micronúcleos, lo que podría afectar la precisión de los resultados. En 4 estudios se utilizó BMCA (ensayo de micronúcleos en mucosa bucal), la técnica utilizada implica la evaluación al microscopio para contar la frecuencia de micronúcleos y otras anomalías, utilizando una técnica estándar (Dalberto et al., 2022; de Oliveira et al., 2019). Sin embargo, todos los estudios presentaron dificultades para recolectar muestras adecuadas debido a la presencia de capas múltiples de células epiteliales en la boca y la variación individual en la frecuencia de micronúcleos, la edad, la salud del sujeto, el uso de medicamentos y la exposición a agentes ambientales que pueden afectar los resultados del ensayo, a esto se suma el tiempo de recolección y manipulación de muestras, el grado de preparación de muestras y el tiempo de almacenamiento de muestras que nos indican los desafíos de este ensayo, además de la interpretación subjetiva de investigador (Hutter et al., 2020).

En 5 estudios analizados utilizaron la técnica de PCR (reacción en cadena de polimerasa) para evaluar el daño genotóxico en los participantes del estudio. En particular, se utilizaron diferentes variantes de la técnica de PCR, incluyendo PCR en tiempo real y ensayos de genotipado SNP TaqMan®, para analizar diferentes polimorfismos genéticos en los genes MTHFR, TERT, PON1, XRCC1, IL6, IL6R, TNF- α , MIR137, GSTT1 y GSTM1. En cuanto a la relación de estos genes con la genotoxicidad, se ha demostrado que algunos polimorfismos genéticos están asociados con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades relacionadas con la genotoxicidad, como el cáncer. Por ejemplo, el polimorfismo MTHFR C677T está asociado con un mayor riesgo de cáncer de colon, mientras que los polimorfismos en los genes XRCC1, OGXG1 y GSP1 están relacionados con el daño al ADN relacionado con la exposición a pesticidas (Fernandes et al., 2017; Kahl, da Silva, et al., 2018). Sin embargo, es importante tener en cuenta que la relación entre los polimorfismos genéticos y la genotoxicidad es compleja y multifactorial, y los estudios analizados presentan diferentes resultados y enfoques en cuanto a los genes analizados. En cuanto a la técnica de PCR utilizada, se han utilizado

diferentes variantes de la técnica, incluyendo PCR en tiempo real y ensayos de genotipado SNP TaqMan®. Cada técnica tiene sus propias ventajas y desventajas, pero todas ellas son capaces de detectar y cuantificar material genético en una muestra de tejido (Barrón Cuenca et al., 2019). Sin embargo, las limitaciones y desafíos de la PCR incluyen la necesidad de contar con una fuente de ácido nucleico de alta calidad, la dificultad para detectar cambios sutiles en la expresión génica, la posibilidad de producir resultados falsos positivos y la sensibilidad limitada para detectar diferencias de pequeñas cantidades de ADN y el riesgo de contaminación cruzada (Kahl, da Silva, et al., 2018).

Los tres estudios utilizan citometría de flujo (CM) para identificar y cuantificar células con daños en el ADN, mutaciones y otros parámetros relacionados con la genotoxicidad, evaluando subgrupos de linfocitos T, B y otros tipos de células sanguíneas para determinar la asociación de los pesticidas con el sistema inmunológico. La técnica es útil pero requiere preparación y calibración adecuadas del instrumento para obtener resultados precisos y confiables. El procesar una muestra a la vez, la selección, rendimiento de los reactivos y la optimización de los parámetros de flujo son desafíos importantes (Jacobsen-Pereira et al., 2020; Kahl, Simon, et al., 2018).

La técnica de Fluorescence In Situ Hybridization (FISH) es altamente específica y sensible para detectar alteraciones cromosómicas, los 2 estudios analizados muestran un aumento significativo en las anomalías cromosómicas en los individuos expuestos a los pesticidas. Sin embargo, la sensibilidad limitada para detectar pequeñas variaciones cromosómicas puede llevar a resultados falsos negativos, además requiere una cantidad significativa de material celular para analizarlo, depende de marcadores específicos para localizar regiones cromosómicas particulares y reactivos costosos. (Cepeda et al., 2020; Meléndez-Flórez et al., 2021).

La técnica de aberración cromosómica (AC) en el artículo revisado es útil para evaluar la genotoxicidad de agentes químicos tóxicos, radiación y otros. Sin embargo se requiere muestras de sangre apropiadas, controlar los parámetros de cultivo y detectar cambios mínimos en la estructura cromosómica, por lo que puede ser costosa y complicada de llevar a cabo, por lo que se requiere personal altamente capacitado para llevarlo a cabo a esto se suma la estandarización entre laboratorios puede afectar la confiabilidad de los resultados (Aiassa et al., 2019). La síntesis de la discusión sobre los principales hallazgos se presenta en la Tabla 4.

Los resultados de varios estudios llevados a cabo en Sur América sugiere que la exposición a pesticidas está relacionada con la aparición de diversas enfermedades graves, como cáncer, trastornos neurológicos, trastornos reproductivos, trastornos endocrinos, trastornos de comportamiento, trastornos autoinmunes y enfermedades cardiovasculares (de Oliveira et al., 2019; Fernandes et al., 2017). Además, se ha demostrado que la exposición a múltiples plaguicidas puede aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades en comparación con la exposición a un solo plaguicida. La presencia de alteraciones cromosómicas y genotoxicidad en los trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas es un hallazgo común en los estudios revisados en esta síntesis narrativa. Estos biomarcadores pueden ser útiles para evaluar el daño genético en los trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas, aunque ninguno de ellos proporciona una imagen completa de la exposición a pesticidas y sus efectos en la salud. Por lo tanto, es importante utilizar múltiples biomarcadores que permitan una evaluación más completa y precisa de la exposición a pesticidas y el daño genotóxico en los trabajadores agrícolas de Sur América.

Es importante destacar que la exposición a pesticidas es un problema de salud pública en Sur América y en todo el mundo. Se ha demostrado que la exposición a pesticidas está relacionada con la aparición de diversas enfermedades graves, como cáncer, trastornos neurológicos, trastornos reproductivos, trastornos endocrinos, trastornos de comportamiento, trastornos autoinmunes y enfermedades cardiovasculares. Además, se ha demostrado que la exposición a múltiples plaguicidas puede aumentar el riesgo de desarrollar enfermedades en comparación con la exposición a un solo plaguicida (Hutter et al., 2020). La presencia de alteraciones cromosómicas y genotoxicidad en los trabajadores agrícolas expuestos a plaguicidas es un hallazgo común en los estudios revisados en esta síntesis narrativa. Por lo tanto, es importante tomar medidas para proteger la salud de los trabajadores agrícolas, incluyendo la implementación de medidas de seguridad en el lugar de trabajo y la promoción de prácticas agrícolas sostenibles y ecológicas. Además, se deben realizar más investigaciones para evaluar la exposición a pesticidas y sus efectos en la salud en diferentes poblaciones y en diferentes regiones de Sur América.

TABLA 4				
<i>Biomarcadores de genotoxicidad y su contribución al objetivo del estudio en la evaluación de la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de Sur América</i>				
Biomarcador de genotoxicidad	Limitaciones	Desafíos	Contribución al objetivo de estudio	Referencias
EC	<ul style="list-style-type: none"> Limitada sensibilidad para detectar efectos a corto plazo de los pesticidas Limitada especificidad para los pesticidas y susceptibilidad a otros factores ambientales Ensayo de laboratorio caro y laborioso que requiere de personal calificado 	<ul style="list-style-type: none"> Interpretación de resultados debido a la variación inter-observador e intra-observador Bajo número de células examinadas Tiempo requerido para completar el ensayo 	<p>Detectar daño en el ADN inducido por pesticidas en trabajadores agrícolas de Sur América.</p>	<p>(Aiassa et al., 2019; Barrón Cuenca et al., 2019; Cepeda et al., 2020; Dalberto et al., 2022; de Oliveira et al., 2019; Fernandes et al., 2017; Filippi et al., 2021; Hutter et al., 2020; Jacobsen-Pereira et al., 2020; Kahl, da Silva, et al., 2018; Kahl, Dhillon, et al., 2018; Kahl, Simon, et al., 2019; Meléndez-Flórez et al., 2022; Ramos et al., 2021)</p>
CBMN	<ul style="list-style-type: none"> Necesidad de personal altamente capacitado para llevar a cabo el análisis Limitaciones en la identificación y cuantificación de los micronúcleos Pérdida y bajo número de muestras y células examinadas 	<ul style="list-style-type: none"> Influencia de factores externos en los resultados. Necesidad de un alto nivel de habilidad para identificar los cambios genéticos en las células. Tiempo y costo consumidos por el proceso de recolección de datos. 	<p>Identificar daño en el material genético y cromosómico en células de trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas.</p>	
BMCA	<ul style="list-style-type: none"> Variabilidad individual en los resultados Dificultad para obtener muestras adecuada Falta de sensibilidad para detectar pequeñas diferencias en los niveles de exposición 	<ul style="list-style-type: none"> Dificultad para identificar células defectuosas; Resultados afectados por la edad, salud, medicamentos y exposición a agentes ambientales Estándares de interpretación de resultados 	<p>Evaluar la genotoxicidad en células de la mucosa oral de trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas.</p>	
PCR	<ul style="list-style-type: none"> La calidad y cantidad del ácido nucleico utilizado en la PCR puede afectar los resultados 	<ul style="list-style-type: none"> Sensibilidad, especificidad y reproducibilidad, 	<p>Detectar la expresión génica y cambios en la regulación de genes relacionados con la</p>	

	<ul style="list-style-type: none"> Riesgos de contaminación cruzada en el trabajo con muestras clínicas. Detección de cambios sutiles en la expresión génica 	<ul style="list-style-type: none"> Costosa y requiere equipos especializados. Optimización de temperatura y químicos. 	<p>exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas.</p>	
CF	<ul style="list-style-type: none"> Buena preparación y calibración del instrumento para resultados precisos Número de muestras procesables a la vez limitado por el panel monoclonal y la capacidad del citómetro 	<ul style="list-style-type: none"> Elección adecuada de estudios y optimización de los parámetros de flujo para los marcadores Rendimiento adecuado de los reactivos 	<p>Evaluar el daño genotóxico y alteraciones cromosómicas en células de trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas, así como la cantidad y viabilidad celular.</p>	
FISH	<ul style="list-style-type: none"> Complejidad en la preparación de las muestras. Tamaño limitado de las muestras de tejido. Sensibilidad limitada para detectar algunas alteraciones cromosómicas. Dependencia de marcadores específicos para localizar regiones cromosómicas particulares. Bajo rendimiento de la técnica. 	<ul style="list-style-type: none"> Alto costo de los equipos y reactivos. Tiempo requerido para obtener resultados confiables. Limitación en el número de cromosomas que se pueden analizar. Dificultad en llevar a cabo la técnica en individuos expuestos a pesticidas. 	<p>Identificar anomalías cromosómicas específicas en células de trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas y su relación con el riesgo de desarrollar enfermedades.</p>	
AC	<ul style="list-style-type: none"> Obtener muestras de sangre apropiadas Bajo número de células evaluadas Necesidad de estandarización entre laboratorios Dificultad de interpretar los resultados Costosa y complicada de llevar a cabo 	<ul style="list-style-type: none"> Controlar los parámetros de cultivo Detectar cambios mínimos en la estructura cromosómica Requiere de técnicas especializadas y experimentadas Selección de los parámetros adecuados para el análisis 	<p>Evaluar las alteraciones cromosómicas que se producen en los trabajadores agrícolas expuestos a pesticidas y su relación con el desarrollo de enfermedades.</p>	
<p><i>EC (ensayo cometa), CBMN (ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis), BMCA (ensayo de micronucleos en citoma bucal), PCR (reacción en cadena de polimerasa), AC (aberraciones cromosómicas), CF (citometría de flujo), FISH (hibridación in situ por fluorescencia), SP (sangre periférica)</i></p>				

5. Conclusiones:

En conclusión, la presente revisión sistemática destaca la necesidad de utilizar múltiples biomarcadores para evaluar la exposición a pesticidas y el daño genotóxico en los trabajadores agrícolas de Sur América. Aunque los estudios revisados utilizaron diferentes biomarcadores de genotoxicidad, cada técnica tiene sus limitaciones y desafíos que deben abordarse para mejorar su eficacia y aplicabilidad en la práctica clínica. Entre las técnicas más utilizadas se encuentran el ensayo cometa, el ensayo de micronúcleos de bloqueo de citocinesis y el ensayo de micronúcleos en citoma bucal, las cuales son útiles para evaluar el daño genotóxico. Sin embargo, cada técnica presenta limitaciones específicas, como la falta de sensibilidad para detectar efectos a corto plazo de los pesticidas, la necesidad de personal altamente capacitado, la interpretación subjetiva de los resultados, la variación inter-observador e intra-observador, la dificultad para recolectar muestras adecuadas, la necesidad de contar con una fuente de ácido nucleico de alta calidad y la sensibilidad limitada para detectar diferencias de pequeñas cantidades de ADN. Basado en los estudios revisados, se encontró que la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de América del Sur se asocia con un mayor riesgo de desarrollar diversas enfermedades, como cáncer, daño hepático, enfermedades respiratorias, trastornos neurológicos y alteraciones del sistema reproductivo. Además, se encontró que la exposición a pesticidas puede causar daño genotóxico, como se evidencia en el aumento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas y de micronúcleos en las células de los trabajadores agrícolas expuestos. Basado en los estudios revisados, la exposición a pesticidas en trabajadores agrícolas de América del Sur se asocia con un mayor riesgo de desarrollar diversas enfermedades, como cáncer, daño hepático, enfermedades respiratorias, trastornos neurológicos, alteraciones del sistema reproductivo y enfermedades cardiovasculares. Se encontró que la exposición a pesticidas puede causar daño genotóxico, como se evidencia en el aumento de la frecuencia de aberraciones cromosómicas y de micronúcleos en las células de los trabajadores agrícolas expuestos. Además, se debe destacar que la exposición a pesticidas no solo afecta la salud de los trabajadores agrícolas, sino que también tiene un impacto en la salud pública en general, ya que los pesticidas pueden contaminar el agua, los alimentos y el medio ambiente. Es necesario implementar medidas preventivas y estrategias de control de la exposición a pesticidas para proteger la salud de los trabajadores agrícolas y la población en general.

Conflictos de Interés: Los autores declaran no tener conflicto de interés

Referencias citadas:

1. Aiassa, D. E., Mañas, F. J., Gentile, N. E., Bosch, B., Salinero, M. C., & Gorla, N. B. M. (2019). Evaluation of genetic damage in pesticides applicators from the province of Córdoba, Argentina. *Environmental Science and Pollution Research International*, 26(20), 20981–20988. <https://doi.org/10.1007/S11356-019-05344-2>
2. Alengebawy, A., Abdelkhalek, S. T., Qureshi, S. R., & Wang, M. Q. (2021). Heavy Metals and Pesticides Toxicity in Agricultural Soil and Plants: Ecological Risks and Human Health Implications. *Toxics* 2021, Vol. 9, Page 42, 9(3), 42. <https://doi.org/10.3390/TOXICS9030042>
3. Anjitha, R., Antony, A., Shilpa, O., Anupama, K. P., Mallikarjunaiah, S., & Gurushankara, H. P. (2020). Malathion induced cancer-linked gene expression in human lymphocytes. *Environmental Research*, 182, 109131. <https://doi.org/10.1016/J.ENVRES.2020.109131>
4. Ataei, M., & Abdollahi, M. (2022). A systematic review of mechanistic studies on the relationship between pesticide exposure and cancer induction. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 456, 116280. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2022.116280>
5. Barrón Cuenca, J., Tirado, N., Barral, J., Ali, I., Levi, M., Stenius, U., Berglund, M., & Dreij, K. (2019). Increased levels of genotoxic damage in a Bolivian agricultural population exposed to mixtures of

- pesticides. *Science of The Total Environment*, 695, 133942. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.133942>
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/17594/1/T-UCE-0014-CME-064.pdf>
6. Cavallo, D., Ursini, C. L., Rondinone, B., & Iavicoli, S. (2009). Evaluation of a suitable DNA damage biomarker for human biomonitoring of exposed workers. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 50(9), 781–790. <https://doi.org/10.1002/EM.20501>
 7. Cayir, A., Coskun, M., Coskun, M., & Cobanoglu, H. (2019). Comet assay for assessment of DNA damage in greenhouse workers exposed to pesticides. *Biomarkers : Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 24(6), 592–599. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2019.1610498>
 8. Cepeda, S., Forero-Castro, M., Cárdenas-Nieto, D., Martínez-Agüero, M., & Rondón-Lagos, M. (2020). Chromosomal Instability in Farmers Exposed to Pesticides: High Prevalence of Clonal and Non-Clonal Chromosomal Alterations. *Risk Management and Healthcare Policy*, 13, 97. <https://doi.org/10.2147/RMHP.S230953>
 9. Coalova, I., Mencacci, S., Santiago, F., Fassiano, S., & Anabella V. (n.d.). *Genotoxicidad de mezclas de pesticidas: ¿algo más que la suma de las partes? Pesticide mixtures genotoxicity: More than the sum of its parts?*
 10. Constanza, L., María, M., & Ariza, M. (n.d.). *Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno.*
 11. Dalberto, D., Alves, J., Garcia, A. L. H., de Souza, M. R., Abella, A. P., Thiesen, F. V., Salvador, M., Santos Branco, C. dos, Marroni, N., Bona, S., Schemitt, E., Da Silva, F. R., & Da Silva, J. (2022). Exposure in the tobacco fields: Genetic damage and oxidative stress in tobacco farmers occupationally exposed during harvest and grading seasons. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 878, 503485. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2022.503485>
 12. de Oliveira, A. F. B., de Souza, M. R., Benedetti, D., Scotti, A. S., Piazza, L. S., Garcia, A. L. H., Dias, J. F., Niekraszewicz, L. A. B., Duarte, A., Bauer, D., Amaral, L., Bassi Branco, C. L., de Melo Reis, É., da Silva, F. R., & da Silva, J. (2019). Investigation of pesticide exposure by genotoxicological, biochemical, genetic polymorphic and in silico analysis. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 179, 135–142. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2019.04.023>
 13. Duarte, L. E., Delgado, F., di Leo, N. C., Bertone, C. L., Alvarez, M. F., Montico, S., & Oliva, A. (2022). Mortalidad por cáncer, arsénico y nitratos en aguas de consumo y superficies sembradas en Argentina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 46. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2022.129>
 14. Essiedu, J. A., Adepoju, F. O., & Ivantsova, M. N. (2020). Benefits and limitations in using biopesticides: A review. *AIP Conference Proceedings*, 2313(1), 080002. <https://doi.org/10.1063/5.0032223>
 15. Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surrallés, J., Crott, J. W., Parry, J., Norppa, H., Eastmond, D. A., Tucker, J. D., & Thomas, P. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125–132. <https://doi.org/10.1093/MUTAGE/GEQ052>
 16. Fernandes, S. P., Kvitko, K., da Silva, J., Rohr, P., Bandinelli, E., Kahl, V. F., Mai, C., Brenner, N., & da Silva, F. R. (2017). Influence of vitamin intake and MTHFR polymorphism on the levels of DNA damage in tobacco farmers. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 23(4), 311. <https://doi.org/10.1080/10773525.2018.1500796>
 17. Filippi, I., Lucero, P., Bonansea, R. I., Lerda, D., Butinof, M., Fernandez, R. A., Wunderlin, D. A., Ame, M. V., & Munoz, S. E. (2021). Validation of exposure indexes to pesticides through the analysis of exposure

- and effect biomarkers in ground pesticide applicators from Argentina. *Heliyon*, 7(9), e07921. <https://doi.org/10.1016/J.HELIYON.2021.E07921>
18. Ganie, S. Y., Javaid, D., Hajam, Y. A., & Reshi, M. S. (2022). Mechanisms and treatment strategies of organophosphate pesticide induced neurotoxicity in humans: A critical appraisal. *Toxicology*, 472, 153181. <https://doi.org/10.1016/J.TOX.2022.153181>
 19. Gupta, S., & Dikshit, A. K. (2010). Biopesticides: An ecofriendly approach for pest control. *Journal of Biopesticides*, 3(1), 186–188. <http://coe.mse.ac.in/taxproj.asp>
 20. Hermosa, R., Botella, L., Montero-Barrientos, M., Alonso-Ramírez, A., Arbona, V., Gómez-Cadenas, A., Monte, E., & Nicolás, C. (2011). Biotechnological applications of the gene transfer from the beneficial fungus *Trichoderma harzianum* to plants. *Plant Signaling and Behavior*, 6(8), 1235–1236. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2011>
 21. Hutter, H. P., Poteser, M., Lemmerer, K., Wallner, P., Sanavi, S. S., Kundi, M., Moshhammer, H., & Weitensfelder, L. (2020). Indicators of Genotoxicity in Farmers and Laborers of Ecological and Conventional Banana Plantations in Ecuador. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(4). <https://doi.org/10.3390/IJERPH17041435>
 22. Jacobsen-Pereira, C. H., Cardoso, C. C., Gehlen, T. C., Regina dos Santos, C., & Santos-Silva, M. C. (2020). Immune response of Brazilian farmers exposed to multiple pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 202, 110912. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2020.110912>
 23. Kahl, V. F. S., da Silva, F. R., Alves, J. da S., da Silva, G. F., Picinini, J., Dhillon, V. S., Fenech, M., de Souza, M. R., Dias, J. F., de Souza, C. T., Salvador, M., Branco, C. dos S., Thiesen, F. V., Simon, D., & da Silva, J. (2018). Role of PON1, SOD2, OGG1, XRCC1, and XRCC4 polymorphisms on modulation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 159, 164–171. <https://doi.org/10.1016/J.ECOENV.2018.04.052>
 24. Kahl, V. F. S., Dhillon, V., Fenech, M., De Souza, M. R., Da Silva, F. N., Marroni, N. A. P., Nunes, E. A., Cerchiaro, G., Pedron, T., Batista, B. L., Cappetta, M., Martínez-López, W., Simon, D., & Da Silva, J. (2018). Occupational Exposure to Pesticides in Tobacco Fields: The Integrated Evaluation of Nutritional Intake and Susceptibility on Genomic and Epigenetic Instability. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/7017423>
 25. Kahl, V. F. S., Simon, D., de Souza, M. R., da Rosa, V. H., Nicolau, C., Da Silva, F. R., Kvitko, K., Peres, A., Dorneles, G. P., de Souza, C. T., Dias, J. F., & Da Silva, J. (2018). Base excision repair (OGG1 and XRCC1) and metabolism (PON1) gene polymorphisms act on modulation of DNA damage and immune parameters in tobacco farmers. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 836, 9–18. <https://doi.org/10.1016/J.MRGENTOX.2018.04.001>
 26. Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Knasmueller, S., Holland, N., Bolognesi, C., & Fenech, M. F. (2014). Commentary: critical questions, misconceptions and a road map for improving the use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay for in vivo biomonitoring of human exposure to genotoxic chemicals—a HUMN project perspective. *Mutation Research. Reviews in Mutation Research*, 759(1), 49–58. <https://doi.org/10.1016/J.MRREV.2013.12.001>
 27. Lee, K. M., Park, S. Y., Lee, K., Oh, S. S., & Ko, S. B. (2017). Pesticide metabolite and oxidative stress in male farmers exposed to pesticide. *Annals of Occupational and Environmental Medicine*, 29(1), 1–7. <https://doi.org/10.1186/S40557-017-0162-3/TABLES/4>

28. Leite, S., Franco De Diana, D., Segovia Abreu, J., Avalos, D., Denis, M., Ovelar, C., Samaniego Royg, M., Thielmann Arbo, B., & Corvalan, R. (2019). DNA damage induced by exposure to pesticides in children of rural areas in Paraguay. *The Indian Journal of Medical Research*, 150(3), 290.
https://doi.org/10.4103/IJMR.IJMR_1497_17
29. Meléndez-Flórez, M. P., Valbuena, D. S., Cepeda, S., Rangel, N., Forero-Castro, M., Martínez-Agüero, M., & Rondón-Lagos, M. (2022). Profile of Chromosomal Alterations, Chromosomal Instability and Clonal Heterogeneity in Colombian Farmers Exposed to Pesticides. *Frontiers in Genetics*, 13.
<https://doi.org/10.3389/FGENE.2022.820209/FULL>
30. Mesnage, R., Brandsma, I., Moelijker, N., Zhang, G., & Antoniou, M. N. (2021). Genotoxicity evaluation of 2,4-D, dicamba and glyphosate alone or in combination with cell reporter assays for DNA damage, oxidative stress and unfolded protein response. *Food and Chemical Toxicology*, 157, 112601.
<https://doi.org/10.1016/J.FCT.2021.112601>
31. Panis, C., Kawassaki, A. C. B., Crestani, A. P. J., Pascotto, C. R., Bortoloti, D. S., Vicentini, G. E., Lucio, L. C., Ferreira, M. O., Prates, R. T. C., Vieira, V. K., Gaboardi, S. C., & Candioto, L. Z. P. (2021). Evidence on Human Exposure to Pesticides and the Occurrence of Health Hazards in the Brazilian Population: A Systematic Review. *Frontiers in Public Health*, 9, 787438. <https://doi.org/10.3389/FPUBH.2021.787438>
32. Perumalla Venkata, R., Rahman, M. F., Mahboob, M., Indu Kumari, S., Chinde, S., Bhanuramya, M., Dumala, N., & Grover, P. (2017). Assessment of genotoxicity in female agricultural workers exposed to pesticides. *Biomarkers : Biochemical Indicators of Exposure, Response, and Susceptibility to Chemicals*, 22(5), 446–454. <https://doi.org/10.1080/1354750X.2016.1252954>
33. Ramírez, C., Lezama, P., Simon, B., Garcia, L., Lee, S.-E., Moon, J.-K., Rivera, A., Cedillo Ramírez, L., Parraguirre Lezama, C., Baez Simon, A., Laug Garcia, B., & Romero-Arenas, O. (2022). Evaluation of Cytotoxic and Genotoxic Risk Derived from Exposure to Pesticides in Corn Producers in Tlaxcala, Mexico. *Applied Sciences* 2022, Vol. 12, Page 9050, 12(18), 9050. <https://doi.org/10.3390/APP12189050>
34. Ramos, J. S. A., Pedroso, T. M. A., Godoy, F. R., Batista, R. E., de Almeida, F. B., Francelin, C., Ribeiro, F. L., Parise, M. R., & de Melo e Silva, D. (2021). Multi-biomarker responses to pesticides in an agricultural population from Central Brazil. *The Science of the Total Environment*, 754, 141893.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2020.141893>
35. Roman, P., Cardona, D., Sempere, L., & Carvajal, F. (2019). Microbiota and organophosphates. *NeuroToxicology*, 75, 200–208. <https://doi.org/10.1016/J.NEURO.2019.09.013>
36. Salvador, S., & Salvador, E. (n.d.). *Guía clínica para la atención de personas con intoxicaciones*. Retrieved February 27, 2023, from <http://www.salud.gob.sv>
37. Sánchez-Alarcón, J., Milić, M., Kašuba, V., Tenorio-Arvide, M. G., Montiel-González, J. M. R., Bonassi, S., & Valencia-Quintana, R. (2021). A Systematic Review of Studies on Genotoxicity and Related Biomarkers in Populations Exposed to Pesticides in Mexico. *Toxics* 2021, Vol. 9, Page 272, 9(11), 272.
<https://doi.org/10.3390/TOXICS9110272>
38. Saxena, K. (1989). Clinical Features and Management of Poisoning Due to Potassium Chloride. *Medical Toxicology and Adverse Drug Experience*, 4(6), 429–443. <https://doi.org/10.1007/BF03259924/METRICS>
39. Sommer, S., Buraczewska, I., & Kruszewski, M. (2020). Micronucleus Assay: The State of Art, and Future Directions. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4). <https://doi.org/10.3390/IJMS21041534>

40. Sule, R. O., Condon, L., & Gomes, A. v. (2022). A Common Feature of Pesticides: Oxidative Stress—The Role of Oxidative Stress in Pesticide-Induced Toxicity. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5563759>
41. Terradas, M., Martín, M., & Genescà, A. (2016). Impaired nuclear functions in micronuclei results in genome instability and chromothripsis. *Archives of Toxicology*, 90(11), 2657–2667. <https://doi.org/10.1007/S00204-016-1818-4>
42. Tsai, Y. H., & Lein, P. J. (2021). Mechanisms of organophosphate neurotoxicity. *Current Opinion in Toxicology*, 26, 49–60. <https://doi.org/10.1016/J.COTOX.2021.04.002>
43. Tudi, M., Li, H., Li, H., Wang, L., Lyu, J., Yang, L., Tong, S., Yu, Q. J., Ruan, H. D., Atabila, A., Phung, D. T., Sadler, R., & Connell, D. (2022a). Exposure Routes and Health Risks Associated with Pesticide Application. *Toxics*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/TOXICS10060335>
44. Tudi, M., Li, H., Li, H., Wang, L., Lyu, J., Yang, L., Tong, S., Yu, Q. J., Ruan, H. D., Atabila, A., Phung, D. T., Sadler, R., & Connell, D. (2022b). Exposure Routes and Health Risks Associated with Pesticide Application. *Toxics*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/TOXICS10060335>
45. Ulibarry, P. G. (n.d.). *Efecto de los plaguicidas sobre la salud humana Exposición e impactos Autor*.
46. Valtierra-De-luis, D., Villanueva, M., Berry, C., & Caballero, P. (2020). Potential for *Bacillus thuringiensis* and Other Bacterial Toxins as Biological Control Agents to Combat Dipteran Pests of Medical and Agronomic Importance. *Toxins*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/TOXINS12120773>
47. Who. (2019). *Clasificación recomendada por la OMS de los plaguicidas por el peligro que presentan y directrices para la clasificación 2019*. <http://apps.who.int/bookorders>.
48. Yang, C., Shi, X., Xia, H., Yang, X., Liu, H., Pan, D., & Sun, G. (2020). The Evidence and Controversy Between Dietary Calcium Intake and Calcium Supplementation and the Risk of Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis of Cohort Studies and Randomized Controlled Trials. *Journal of the American College of Nutrition*, 39(4), 352–370. https://doi.org/10.1080/07315724.2019.1649219/SUPPL_FILE/UACN_A_1649219_SM9688.PPTX
49. Yang, K. J., Lee, J., & Park, H. L. (2020). Organophosphate Pesticide Exposure and Breast Cancer Risk: A Rapid Review of Human, Animal, and Cell-Based Studies. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 2020, Vol. 17, Page 5030, 17(14), 5030. <https://doi.org/10.3390/IJERPH17145030>