

BIOMARCADORES DE DAÑO GENÉTICO EN POBLACIONES HUMANAS EXPUESTAS A PLAGUICIDAS

Biomarkers of Genetic Damage in Human Populations Exposed to Pesticides

DELIA AIASSA¹, Ph. D.; FERNANDO MAÑAS², Ph. D.; BEATRIZ BOSCH¹, Lic.; NATALIA GENTILE¹, Lic.; NATALÍ BERNARDI¹, Prof.; NORA GORLA^{2,3}, Ph. D.

¹ GeMA. Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina.

² Facultad de Agronomía y Veterinaria, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina.

³ CONICET. Argentina.

Correspondencia: Dra. Delia Aiassa. GeMA- Departamento de Ciencias Naturales, Facultad de Ciencias Exactas, Físico-Químicas y Naturales, Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina.
daiaassa@exa.unrc.edu.ar

Presentado el 14 de agosto de 2012, aceptado el 16 de septiembre de 2012, correcciones el 16 de octubre de 2012.

RESUMEN

El efecto de los plaguicidas sobre la salud humana, animal y ambiental es preocupación de la comunidad científica desde hace mucho tiempo. Numerosos estudios reportan que los plaguicidas no son inofensivos y que su uso puede conducir a efectos biológicos dañinos a mediano y a largo plazo, en los grupos humanos y animales expuestos, en el presente o en los descendientes. La importancia en la detección precoz del daño genético radica en que permite tomar las medidas necesarias para disminuir o suprimir la exposición al agente deletéreo cuando aún éste es reversible, y de ese modo prevenir y disminuir el riesgo de desarrollar neoplasias y otras alteraciones patológicas. En este trabajo se revisan los principales conceptos en la temática, la utilidad de los estudios de genotoxicidad y se hace referencia a los trabajos realizados en los últimos veinticinco años sobre monitoreo genético de personas expuestas laboralmente a plaguicidas. Los ensayos de genotoxicidad, que incluyen aberraciones cromosómicas, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y cometa, deberían ser considerados como herramientas indispensables en la implementación de una vigilancia médica completa en personas potencialmente expuestas a diversos contaminantes ambientales y en especial aquellas que habitan en el mismo lugar con personas que ya han desarrollado algún tipo de neoplasia en edades tempranas, con el fin de prevenir la ocurrencia de tumores de origen ambiental y especialmente laboral.

Palabras clave: biomonitoreo, biomarcadores, cáncer, plaguicidas, salud.

ABSTRACT

The effect of pesticides on human, animal and environmental health has been cause of concern in the scientific community for a long time. Numerous studies have reported that pesticides are not harmless and that their use can lead to harmful biological effects in the medium and long term, in exposed human and animals, and their offspring. The importance of early detection of genetic damage is that it allows us to take the necessary measures to reduce or eliminate the exposure to the deleterious agent when damage is still reversible, and thus to prevent and to diminish the risk of developing tumors or other alterations.

In this paper we reviewed the main concepts in the field, the usefulness of genotoxicity studies and we compiled studies performed during the last twenty years on genetic monitoring of people occupationally exposed to pesticides. We think that genotoxicity tests, including that include chromosomal aberrations, micronucleous, sister chromatid exchanges and comet assays, should be considered as essential tools in the implementation of complete medical supervision for people exposed to potential environmental pollutants, particularly for those living in the same place as others who where others have already developed some type of malignancy. This action is particularly important at early stages to prevent the occurrence of tumors, especially from environmental origins.

Keywords: Biomonitoring, cancer biomarkers, health, pesticides.

INTRODUCCIÓN

Existen razones sumamente importantes para justificar la preocupación por la exposición del hombre a los agentes genotóxicos. El uso del término genotóxico se refiere a aquellos agentes que tienen afinidad para interactuar con el ADN, produciendo alteraciones estructurales o funcionales tanto en células germinales como somáticas. El incremento de alteraciones en el material hereditario de las células germinales (óvulos, espermatozoides) y las células que las originan, puede provocar un aumento en la ocurrencia de enfermedades genéticas, monogénicas, cromosómicas y multifactoriales, en generaciones futuras. Además, existe una estrecha relación entre las alteraciones del ADN de células somáticas con el cáncer y las enfermedades degenerativas crónicas (Stoneham *et al.*, 2000; Mortelmans *et al.*, 2004).

En modelos experimentales (roedores) se ha demostrado que aquellos agentes que causan alteraciones en las células somáticas también causan cambios en sus gametos (Venitt y Phillips, 1995; Creus, 2001).

Existen suficientes evidencias experimentales y epidemiológicas que demuestran que el daño genético produce mutaciones y que el proceso cancerígeno se inicia y se favorece por la presencia de mutaciones en los oncogenes, en genes supresores de tumores y en los que codifican para los sistemas de reparación del ADN (Au *et al.*, 2001; Bonassi y Au, 2002). Los compuestos químicos empleados en la agricultura podrían ser los responsables de la elevada incidencia de cáncer de labio, estómago, cerebro, próstata, tejido conectivo, linfático y hematopoyético en trabajadores agrícolas (Khuder *et al.*, 1998; van Maele-Fabry y Willems, 2003; van Maele-Fabry y Willems, 2004; Alavanja *et al.*, 2005; Boers *et al.*,

2005). En los pocos estudios reportados de exposición a agroquímicos en mujeres, se ha encontrado relación del cáncer de ovario con el herbicida triazina, cáncer de mama con insecticidas, mieloma múltiple y linfoma no Hodgkin con varios compuestos químicos (Alavanja *et al.*, 1999; Alavanja *et al.*, 2004; Kohen y Nyska 2002).

Datos experimentales revelan que varios componentes de los agroquímicos, especialmente de los plaguicidas, producen genotoxicidad y provocan alteraciones en el material genético, (Dearfield *et al.*, 1999; IARC, 2002; Mañas, 2006; Mañas, 2009a; Mañas, 2009b). Se ha demostrado que la concentración de plaguicidas en el ambiente es mayor en comunidades agrícolas y cerca de los campos tratados (Whitmore *et al.*, 1994; Baker *et al.*, 1996; Woodrow *et al.*, 1997; Teske *et al.*, 2002; Weppner *et al.*, 2006). También las mediciones en polvo en el interior de los hogares demuestran que las concentraciones de residuos de plaguicidas son mayores en las residencias cerca de los cultivos (Simcox *et al.*, 1995; Lu *et al.*, 2000; Fenske *et al.*, 2002; Curwin *et al.*, 2005; Obendorf *et al.*, 2006; Ward *et al.*, 2006).

En relación a las poblaciones expuestas sin motivo laboral, los niños constituyen un grupo que tiene características particulares de exposición y especial vulnerabilidad a los tóxicos ambientales, y que requieren una estrategia para la evaluación del riesgo, que considere sus características particulares. Los pocos estudios que han evaluado la asociación entre el uso de plaguicidas agrícolas cerca de las viviendas y la leucemia infantil evidencia una relación etiológica (Reynolds *et al.*, 2002; Reynolds *et al.*, 2005a; Reynolds *et al.*, 2005b). Rull *et al.*, 2009, en California, examinaron si la proximidad residencial a las aplicaciones de plaguicidas en zonas agrícolas está asociado con el desarrollo de leucemia linfoblástica aguda, el subtipo más común de este cáncer infantil. Los resultados de ese trabajo sugieren la identificación de plaguicidas específicos que pueden desempeñar un papel en la etiología de la leucemia infantil.

El aumento en la prevalencia de cáncer que se observa en niños muy pequeños hace pensar que la exposición paterna o materna a cancerígenos podría ser, en estos casos, el factor que desencadena el desarrollo de enfermedad neoplásica (Fabia y Thuy, 1974; Holly *et al.*, 1992; Winn *et al.*, 1992; Sharpe *et al.*, 1995).

Por otro lado, estudios toxicológicos en animales proporcionan evidencias de que altas dosis de algunos plaguicidas pueden alterar la función reproductiva y producir defectos al nacer, pero son pocos los estudios epidemiológicos realizados de exposición a plaguicidas y toxicidad reproductiva en humanos (Calvert *et al.*, 2007).

Se ha observado que la descendencia de los agricultores tiene un mayor riesgo de anomalías congénitas. Mientras que las anomalías congénitas en la primera mitad de la década del 90 representaron alrededor del 20 % de las muertes fetales durante el primer año de vida en algunos países, en otros, el porcentaje fue de casi el 40 % (Regidor *et al.*, 2004). Por todo lo antes expuesto, los estudios citados indican que los plaguicidas no son inofensivos y que su uso puede conducir a efectos dañinos a mediano y a largo plazo, en los grupos humanos y animales expuestos, en el presente o en los descendientes.

Las lesiones en el material genético pueden aumentar el riesgo de padecer cáncer, problemas reproductivos o que se desarrollen malformaciones en la descendencia. Por este motivo, es que el uso de biomarcadores es útil para detectar el daño genético temprano donde ese nivel de daño es todavía reversible (Bonassi y Au, 2002; Ramírez y Cuenca, 2002; Castro *et al.*, 2004; Cuenca y Ramírez, 2004).

PREVENIR Y DISMINUIR EL RIESGO DE DESARROLLAR TUMORES Y OTRAS ALTERACIONES

Medir la frecuencia de daño genético en grupos humanos expuestos a agentes ambientales ha sido, en muchos países, una prioridad en estudios de salud pública por décadas, y el aumento del nivel de aberraciones cromosómicas (AC) es corrientemente interpretado como evidencia de exposición genotóxica y efecto biológico temprano sobre el ADN.

Dentro de los factores capaces de influir en la integridad del material genético se pueden mencionar el estilo de vida, exposición a rayos UV (debido al progresivo debilitamiento de la capa de ozono), los tratamientos médicos, algunos polimorfismos genéticos individuales, entre otros. Es importante, por todo ello, determinar qué se conoce como un nivel "aceptable" de daño genético en una población concreta, realizar ensayos de genotoxicidad de manera rutinaria y estudiar aquellos individuos que, por su ocupación laboral o estilo de vida, se encuentran más expuestos o con mayor riesgo de sufrir alteraciones capaces de modificar su estabilidad genética (Fenech *et al.*, 1993).

Los estudios que pueden realizarse a partir de sangre de personas expuestas a genotóxicos y que permiten detectar efectos tempranos pueden agruparse en estudios citogenéticos, moleculares y bioquímicos. Los estudios citogenéticos son 1) el ensayo de aberraciones cromosómicas (AC), 2) el ensayo de micronúcleos (MN), que también puede realizarse en células epiteliales obtenidas de las mucosas y 3) el ensayo de intercambio de cromátidas hermanas (ICH).

El ensayo de aberraciones cromosómicas permite detectar alteraciones numéricas (efecto aneugénico) o estructurales (efecto clastogénico) a nivel de los cromosomas. La importancia de este ensayo radica en que existen evidencias experimentales y epidemiológicas de que las aberraciones estructurales están involucradas en el proceso de carcinogénesis y por lo tanto un incremento en el número de aberraciones cromosómicas está asociado con un aumento de riesgo de padecer cáncer en el futuro (Hagmar *et al.*, 1994; Hagmar *et al.*, 1998; Bonassi *et al.*, 1995; Mitelman *et al.*, 1997; Albertini *et al.*, 2000).

El ensayo de micronúcleos detecta rupturas a nivel de los cromosomas y alteraciones a nivel del aparato mitótico, por lo que permite también identificar compuestos con efectos aneugénicos y clastogénicos. Su ventaja radica en que el análisis es más sencillo y debido a que se analizan al menos mil células, es más robusto desde el punto de vista estadístico.

Los resultados de un análisis prospectivo de una base de datos de 6700 sujetos de 20 laboratorios representando diez países diferentes han confirmado que una frecuencia elevada de micronúcleos es predictiva de un riesgo aumentado de cáncer (Bonassi *et al.*, 2007).

Otra técnica citogenética que puede ser empleada para evaluar alteraciones a nivel de los cromosomas es la de ICH. El intercambio entre cromátidas hermanas se produce justamente por el intercambio recíproco de ADN entre dos cromátidas hermanas de un cromosoma duplicado. La frecuencia de intercambio en células eucariotas se ve incrementada por la exposición a agentes genotóxicos que inducen daño al ADN interfiriendo con la replicación del mismo; y no por aquellos agentes que solo inducen rupturas en las cadenas del ADN (Albertini *et al.*, 2000). Sin embargo, los mecanismos de formación no están completamente dilucidados y por lo tanto su significado biológico es aún incierto (Albertini *et al.*, 2000).

En lo que respecta a estudios moleculares pueden citarse: 1) citogenética molecular para buscar inversiones, deleciones y translocaciones complejas no detectables en

citogenética clásica, o para identificar el origen cromosómico de los micronúcleos; 2) ensayo cometa en linfocitos.

El ensayo cometa es una técnica de electroforesis en microgeles de agarosa considerada de alta sensibilidad para detectar daño al ADN, a nivel de células individuales. Permite evidenciar rupturas de simple y doble cadena del ADN, sitios álcali lábiles, y entrecruzamientos ADN/ADN o ADN proteína asociados con sitios de reparación por escisión incompleta en células individuales. Cuando el núcleo es sometido a la electroforesis, los fragmentos rotos de ADN migran fuera del mismo, dándole la apariencia de cometa que dio lugar al nombre de la técnica (Rojas *et al.*, 1999).

En lo que respecta a estudios bioquímicos, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1987), sugiere medir la actividad de la enzima colinesterasa en el plasma como indicador biológico de la exposición a algunos plaguicidas (organofosforados y/o carbamatos) porque la toxicidad de algunas de estas sustancias recae principalmente sobre el sistema nervioso, inhibiendo la acetil colinesterasa neuronal, produciendo un incremento de la acetilcolina en las sinapsis y desencadenando un síndrome colinérgico agudo vía una neurotransmisión continua, que puede llevar a la muerte si no existe una apropiada y rápida intervención (Kushik y Chandrabhan, 2003). Un estudio efectuado en Honduras (1982) en una comunidad vecina a una zona arroceras donde se efectúan pulverizaciones aéreas constantes durante todo el año, se encontró que el 9,1 % de una muestra de personas de dicha población tenía una disminución del 25 % o más del nivel de colinesterasa en relación a los valores de referencia, indicando claramente una alta exposición a insecticidas organofosforados y/o carbamatos.

Con las metodologías citogenéticas, moleculares y bioquímicas que existen actualmente, es posible detectar cambios o alteraciones que actúan como señal de alarma y que permiten tomar las medidas oportunas para minimizar el riesgo para la salud (Bonassi y Au, 2002). Los estudios de biomonitorio en poblaciones agrícolas publicados desde la década de los años 70 han utilizado una amplia variedad de biomarcadores citogenéticos en poblaciones de diferentes características que dificultan su comparación. Asimismo es importante considerar que los estudios de exposición a plaguicidas y otros agentes genotóxicos deben tomar en cuenta la confiabilidad del daño en relación a la exposición, la solidez de los estudios, la similitud de los grupos de referencia (controles no expuestos) y los protocolos usados para determinar la genotoxicidad.

En la tabla 1 se muestran los biomarcadores de daño genético estudiados en grupos humanos con exposición principalmente laboral a plaguicidas, indicando si existen diferencias significativas o no entre grupos humanos expuestos y no expuestos. Los trabajos fueron tomados aleatoriamente de internet incluyendo publicaciones de los últimos 25 años. Estos cien trabajos reunidos han sido realizados en distintas partes del mundo, 21 investigaciones en América del Sur en los siguientes países: Argentina (6), Bolivia (2), Chile (3), Brasil (7), Colombia (2), Ecuador (1); 14 en América del Norte: México (7), Estados Unidos (6), Columbia Británica (1); cuatro (4) en América Central: Costa Rica (3), Cuba (1); 37 en Europa: Hungría (4), República Checa (1), Rusia (2), España (8), Grecia (5), Italia (8), Dinamarca (1), Portugal (1), ex-Yugoslavia (1), Finlandia (1), Croacia (3), Polonia (1), Países Europeos (1); dos en Oceanía: Australia (2), dos en África: Egipto (2); diez en Asia: Siria (1), Turquía (3), Pakistán (1), Taiwán (2), Israel (1), India (2).

490 Artículo de reflexión - Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. Aiassa, *et al.*

n.º de individuos y tipo de exposición	BM	País	S-NS	Referencia
80 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas carbámicos, ditiocarbámicos, organoclorados, piretroides, ácido fenoxiacético o etc. 24 controles.	AC	Hungría	S	Paldy <i>et al.</i> , 1987
38 trabajadores productores de plantas ornamentales en macetas en invernaderos de una asociación japonesa y 44 controles	AC	Argentina	NS	Dulout <i>et al.</i> , 1987
15 vitivinicultores expuestos a sulfato de cobre e insecticidas organoclorados y organofosforados y 10 controles.	AC	India	S	Rita <i>et al.</i> , 1987
55 trabajadores de invernadero expuestos a mezclas de insecticidas organofosforados y carbámicos, fungicidas y acaricidas piretroides y 60 controles.	AC	Hungría	S	Nehéz <i>et al.</i> , 1988
25 horticultores en contacto con insecticidas organoclorados, organofosforados y herbicidas ureicos y 30 controles	AC, ICH	India	S	Rupa <i>et al.</i> , 1988
50 trabajadores de campo abierto expuestos a carbamatos, organofosforados y piretroides y 47 del grupo control.	AC, ICH	India	S	Rupa <i>et al.</i> , 1989b
22 aplicadores de plaguicidas en campos de algodón y 25 controles	AC,	India	S	Rupa <i>et al.</i> , 1989 ^a
44 personas expuestas al fungicida mancozeb y 30 controles.	AC, ICH	República Checa	S	Jablónika <i>et al.</i> , 1989
40 trabajadores de invernaderos en contacto con mezclas complejas de plaguicidas	AC	Rusia	S	Sharinov <i>et al.</i> , 1989
27 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas y 28 controles.	ICH	España	NS	Carbonell <i>et al.</i> , 1990
189 varones y 16 mujeres trabajadores con plaguicidas	AC	Hungría	S	Desi <i>et al.</i> , 1990
28 trabajadores empaquetadores de plaguicidas y 20 controles oficinistas	AC	Egipto	S	El-Ghazali <i>et al.</i> , 1990
26 trabajadores expuestos a mezclas de organoclorados, organofosforados y piretroides y 26 controles.	AC	India	S	Rupa <i>et al.</i> , 1991 ^a
61 aplicadores de plaguicidas de campos de algodón y 45 controles	ICH	India	S	Rupa <i>et al.</i> , 1991b
32 floricultores expuestos a mezclas de organofosforados, organoclorados, piretroides y 31 controles.	AC, ICH	Italia	S	De Ferrari <i>et al.</i> , 1991
38 expuestos a mezclas de insecticidas organofosforados, organoclorados, carbámicos y piretroides y 32 controles.	ICH	Argentina	S	Dulout <i>et al.</i> , 1992
29 aplicadores de plaguicidas y 14 controles	AC	Grecia	S	Kourakis <i>et al.</i> , 1992
94 jornaleros expuestos a mezclas de plaguicidas organoclorados, carbámicos, organofosforados, triazinas y ureicos y 70 controles.	ICH	México	NS	Gómez-Arroyo <i>et al.</i> , 1992

n.º de individuos y tipo de exposición	BM	País	S-NS	Referencia
71 floricultores de invernadero y campo abierto expuestos crónicamente a carbamatos, bencimidazoles, organoclorados, organofosforados ftalaminas y piretroides y 5 controles.	MN	Italia	S	Bolognesi <i>et al.</i> , 1993
70 floricultores y 69 controles	AC, ICH	España	SyNS	Carbonell <i>et al.</i> , 1993
31 aplicadores expuestos a organofosforados y 21 controles	MN	Australia	NS	Barbosa y Bonin, 1994
29 varones y 4 empleados de una compañía de control de plagas y 10 controles	ICH	Australia	NS	Edwards y Priestly, 1994
7 campesinos expuestos a mezclas de piretroides y 6 controles.	AC	Siria	S	Mohammad <i>et al.</i> , 1995
134 floricultores expuestos a mezclas de carbamatos, organofosforados, organoclorados y piretroides y 157 controles	ICH	Dinamarca	S	Lander y Ronne, 1995
29 floricultores/fruticultores en época de alta exposición y en época de baja exposición y 29 controles	AC	España	S**	Carbonell <i>et al.</i> , 1995a
27 floricultores y horticultores en contacto con mezclas de benomil, captan, insecticidas piretroides, carbámicos y paraquat y 28 controles	ICH	España	NS	Carbonell <i>et al.</i> , 1995b
30 trabajadores expuestos a mezclas de carbamatos, ditiocarbamatos y organofosforados y 30 controles	AC	Colombia	NS	Hoyos <i>et al.</i> , 1996
29 aplicadores de plaguicidas en invernaderos, 27 en campo abierto y 30 controles	AC	Grecia	S	Kourakis <i>et al.</i> , 1996
24 varones y 19 mujeres floricultores y 42 controles	AC	Italia	NS	Scarpato <i>et al.</i> , 1996a
48 trabajadores agrícolas expuestos a mezclas de carbaril, mancozeb y 50 controles.	ICH, MN	Italia	SyNS	Pasquini <i>et al.</i> , 1996
23 floricultores expuestos a mezclas de 100 formulaciones de plaguicidas y 22 controles	AC, ICH, MN	Italia	SyNS	Scarpato <i>et al.</i> , 1996b
27 trabajadores de viñedos expuestos a mezclas de plaguicidas principalmente 2, 4-D y 35 individuos controles	AC, ICH, MN	Ex Yugoslavia	SyNS	Joksic <i>et al.</i> , 1997
38 expuestos a malatión en un programa de erradicación de plagas y 16 controles	MN	Estados Unidos	NS	Titenko-Holland <i>et al.</i> , 1997
30 floricultores de invernaderos expuestos a plaguicidas y 32 controles	AC	Italia	NS	Scarpato <i>et al.</i> , 1997
49 aplicadores expuestos a EBDC; 14 levemente expuestos y 31 controles	AC	México	S	Steenland <i>et al.</i> , 1997
41 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas y 28 controles	MN	Brasil	S	Da Silva <i>et al.</i> , 1997
32 aplicadores principalmente expuestos a bromuro de metilo y 28 controles	MN	Estados Unidos	NS	Calvert <i>et al.</i> , 1998
18 trabajadoras en una granja y 21 controles	MN	Columbia Británica	NS	Davies <i>et al.</i> , 1998

492 Artículo de reflexión - Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. Aiassa, *et al.*

n.º de individuos y tipo de exposición	BM	País	S-NS	Referencia
61 agricultores y 60 controles en período de alta exposición. 29 agricultores y 24 controles en período de baja exposición	AC	España	S**	Carbonell <i>et al.</i> , 1998
22 aplicadores de mezclas de plaguicidas y 16 controles	MN	Chile	NS	Venegas <i>et al.</i> , 1998
24 trabajadores expuestos a plaguicidas y 10 controles	AC	Brasil	S	Brega <i>et al.</i> , 1998
19 trabajadores de una planta productora de herbicidas (dioxinas) (17 hombres y 2 mujeres) y 57 controles	AC	Rusia	S	Kaoumova y Khabutdinova, 1998.
22 expuestos a mezclas de plaguicidas como deltametrín, diclorvos, paratión y 16 controles	MN	Chile	NS	Venegas <i>et al.</i> , 1998
13 trabajadores agrícolas expuestos a malatión y 4 controles	MN	Estados Unidos	S	Windham <i>et al.</i> , 1998
34 trabajadores de invernaderos expuestos a mezclas de plaguicidas principalmente mancozeb, captán, endosulfán y 33 controles	MN	Finlandia	S	Falck <i>et al.</i> , 1999
20 agricultores expuestos a mezclas de plaguicidas y 20 controles	AC	Costa Rica	NS	Au <i>et al.</i> , 1999
300 aplicadores, 300 formuladores y controles	AC	Egipto	S	Arm, 1999
64 trabajadores agrícolas y 50 controles	MN	España	NS	Lucero <i>et al.</i> , 2000
23 agricultores expuestos a mezclas de carbamatos y organofosfatos y 23 controles	AC	Brasil	S	Antonucci y Colus de Syllos, 2000
10 individuos expuestos en una planta de plaguicidas a mezclas complejas (atrazina, alaclor, cianazina, 2,4-D, malatión y 10 controles	AC, ICH, MN, EC	Croacia	S	Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2000
30 floricultores de invernadero expuestos a mezclas de carbamatos, organoclorados y organofosforados y 30 controles	ICH, MN	México	S	Gómez-Arroyo <i>et al.</i> , 2000
20 personas expuestas a mezclas de organofosforados, carbámicos, triazinas y 16 controles	AC	Brasil	NS	D'Arce y Colus de Syllos, 2000
135 trabajadores de una industria de plaguicidas organofosforados y 111 controles	ICH	India	S	Padmavathi <i>et al.</i> , 2000
20 trabajadores de la producción de plaguicidas 2,4-D y malatión y 20 controles	AC, ICH, MN, EC	Croacia	S	Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2001
49 trabajadores expuestos a plaguicidas organofosforados, carbámicos, piretroides, dentro y fuera de invernadero, 50 controles.	MN	Polonia	NS	Pastor <i>et al.</i> , 2001 ^a
50 trabajadores expuestos a plaguicidas y 66 controles	MN	Grecia	NS	Pastor <i>et al.</i> , 2001 ^b
32 recolectoras de bananas expuestas a plaguicidas y 37 controles	MN	Costa Rica	NS	Ramírez y Cuenca, 2001

n.º de individuos y tipo de exposición	BM	País	S-NS	Referencia
104 floricultores y 44 controles	ICH	Israel	S	Shaham <i>et al.</i> , 2001
107 floricultores de invernadero y campo abierto expuestos a mezclas de organofosforados, piretroides, carbamatos, bencimidazoles, amidas y 61 controles	MN	Italia	S	Bolognesi <i>et al.</i> , 2002
10 trabajadores expuestos a mezclas de plaguicidas atrazina, alaclor, cianazina, ácido 2,4-diclorofenoxiacético y malatión en la industria de producción de estos y 20 personas del grupo control.	AC, MN, EC	Croacia	S	Garaj-Vrhovac y Zeljezic, 2002
12 aplicadores del herbicida 2,4-D y 12 individuos del grupo testigo.	MN	Estados Unidos	S	Holland <i>et al.</i> , 2002
33 trabajadores expuestos a plaguicidas y 33 controles	EC	Turquía	S	Ündeğer y Başaran, 2002
39 trabajadores de invernadero expuestos a mezclas principalmente de carbamatos, organofosforados y piretroides y 22 controles	MN	España	NS	Pastor <i>et al.</i> , 2002a
84 agricultores expuestos a mezclas de plaguicidas organofosforados, carbámicos, piretroides y triazinas y 65 controles	MN sangre y mb	Hungría	NS	Pastor <i>et al.</i> , 2002b
41 trabajadores expuestos a 27 plaguicidas diferentes y 41 controles	AC	Ecuador	S	Paz <i>et al.</i> , 2002
108 trabajadores (85 hombres y 23 mujeres) expuestos a mezclas de complejas de plaguicidas (insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides y 54 controles	EC	India	S	Grover <i>et al.</i> , 2003
34 varones expuestos a herbicidas particularmente a simadina a través del agua del grifo y 26 controles.	ICH, MN	España	NS	Suárez <i>et al.</i> , 2003
52 floricultores en invernaderos expuestos a mezclas de plaguicidas principalmente benzimidazol, endosulfán y paraquat y 24 personas del grupo control	MN	Italia	NS	Bolognesi <i>et al.</i> , 2004
44 mujeres expuestas laboralmente a plaguicidas y 40 controles	MN	Costa Rica	NS	Castro <i>et al.</i> , 2004
35 madres embarazadas de áreas urbanas; 16 de un área agrícola, 15 con embarazo de riesgo elevado	MN	México	S	Levario-Carrillo <i>et al.</i> , 2005
64 trabajadoras agrícolas expuestas a mezclas de plaguicidas durante el recorte en árboles frutales y 30 mujeres controles	MN	Chile	S	Márquez <i>et al.</i> , 2005
52 floricultores de invernadero expuestos a mezclas organofosforados, organoclorados, carbamatos y piretroides y 38 controles	EC	México	S	Castillo-Cadena <i>et al.</i> , 2006
Cultivadores de tabaco expuestos a una mezcla de metalaxyl e imidacloprid	MN	Grecia	S	Vlastos <i>et al.</i> , 2006
29 trabajadores de una planta productora de plaguicidas específicamente piretroides y organofosforados y 35 controles	ICH, MN	Pakistán	S	Bhalli <i>et al.</i> , 2006

494 Artículo de reflexión - Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. Aiassa, *et al.*

n.º de individuos y tipo de exposición	BM	País	S-NS	Referencia
237 hombres y 106 mujeres ocupacionalmente expuestas a plaguicidas y disolventes orgánicos y 301 individuos no ocupacionalmente expuestos	MN	Países Europeos	S	Kirsch-Volders <i>et al.</i> , 2006
54 personas ocupacionalmente expuestas en la fabricación de organofosforados, carbamatos y piretroides especialmente y 54 controles	AC, MN	India	S	Sallaja <i>et al.</i> , 2006
91 cultivadores frutales y 106 controles expuestos a plaguicidas	EC	Taiwan	S	Liu <i>et al.</i> , 2006
51 responsables de manejo de plaguicidas y 77 controles	AC, ICH, MN, EC	Bolivia	S	Ascarrunz <i>et al.</i> , 2006
15 granjeros expuestos a mezclas de plaguicidas y 10 controles	MN	Estados Unidos	S	Tope <i>et al.</i> , 2006
33 jornaleros expuestos a mezclas principalmente de insecticidas organofosforados, carbamatos y piretroides, herbicidas ureicos y triazínicos y 33 controles	AC, ICH, MN	Portugal	S	Costa <i>et al.</i> , 2007
29 desinfectadores que manipulan diferentes plaguicidas para el control de vectores y 20 controles	MN	Brasil	S	Kehdy <i>et al.</i> , 2007
32 individuos expuestos a plaguicidas organoclorados, organofosforados, carbamatos, piretroides, ureas y 32 controles	AC, ICH, MN	Turquía	S	Ergene <i>et al.</i> , 2007
135 cultivadores de frutas expuestos a 40 plaguicidas diferentes y 106 individuos controles	EC	Taiwán	S	Wong <i>et al.</i> , 2008
12 aplicadores de organofosforados y 10 trabajadores agrícolas y 9 controles	EC	Estados Unidos	S	Muniz <i>et al.</i> , 2008
14 aplicadores de cipermetrina, glifosato, atrazina y 12 controles	AC	Argentina	S	Mañas <i>et al.</i> , 2009
29 trabajadores expuestos a insecticidas (cipermetrina, clorpirifós, endosulfán, imidacloprid) herbicidas (glifosato y atrazina) y 37 controles.	MN mb	Brasil	S	Bortoli <i>et al.</i> , 2009
37 aplicadores de mezclas de fungicidas, herbicidas e insecticidas y 20 oficinistas controles	MN, EC	Brasil	S	Pétille Remor <i>et al.</i> , 2009
137 mujeres y sus esposos fumigadores de glifosato y otros plaguicidas pre y posexposición	MN	Colombia	S	Bolognesi <i>et al.</i> , 2009
62 trabajadores agrícolas expuestos a mezclas de plaguicidas (piretroides, carbamatos y organofosforados) y 50 controles	MN, EC	México	S	Vargas Torres, 2009
70 trabajadores agrícolas (25 mujeres y 45 varones) y 70 controles	ICH, MN	México	S	Martínez Valenzuela, 2009
118 agricultores y 80 controles organofosforados y piretroides	MN mb EC	Bolivia	S	Larrea Poma <i>et al.</i> , 2010

n.º de individuos y tipo de exposición	BM	País	S-NS	Referencia
45 trabajadores frutícolas expuestos a plaguicidas directamente, 50 a exposición indirecta y 50 controles	EC	Argentina	S	Simoniello <i>et al.</i> , 2010
46 agricultores aplicadores de mezclas de plaguicidas y 48 no expuestos	MN	Turquía	S	Coskun <i>et al.</i> , 2011
17 aplicadores, 15 personas ambientalmente expuestas a mezclas de plaguicidas y 12 controles	AC, MN, EC	Argentina	S	Peralta <i>et al.</i> , 2011
8 expuestos a organofosforados, piretroides y carbamatos y 15 controles	AC, MN mb, EC	Cuba	NS	Lamadrid Boada <i>et al.</i> , 2011
210 aplicadores expuestos a piretroides, carbamatos y organofosforados y 50 controles	EC	India	S	Raminderjeet <i>et al.</i> , 2011
70 aplicadores de diferentes organofosforados y 70 controles	EC	India	S	Singh <i>et al.</i> , 2011
19 aplicadores varones expuestos a micobutanilo, propargite, cipermetrina, y deltametrina antes y después del período de aplicación	EC	Grecia	S	Kasiotis <i>et al.</i> , 2012
20 aplicadores de mezclas de plaguicidas (glifosato, cipermetrina, clorpirifós, atrazina, endosulfán) y 20 controles	MN	Argentina	S	Gentile <i>et al.</i> , 2012
134 aplicadores de organofosforados y 134 controles	EC	India	S	Singh <i>et al.</i> , 2012

Tabla 1: Estudios de daño genético en grupos humanos expuestos a plaguicidas. Trabajos tomados de internet de los últimos 25 años

**En el período de alta exposición, S-NS significativa o no significativa la diferencia entre controles y expuestos, mb: mucosa bucal, BM: biomarcador utilizado,

EC: ensayo cometa, AC: ensayo de aberraciones cromosómicas, MN: ensayo de micronúcleos, ICH: ensayo de intercambio de cromátidas hermanas

En 73 trabajos se informa un incremento en la frecuencia de aberraciones cromosómicas, micronúcleos, daño al ADN (cuantificado por el ensayo cometa) y/o ICH en linfocitos de sangre periférica o células de la mucosa bucal de los individuos expuestos laboral o no laboral a plaguicidas.

Como puede observarse en la tabla 1, en la mayoría (73 %) de los trabajos publicados, la evaluación de daño genético se realiza mediante la implementación de un ensayo de genotoxicidad. Sin embargo, es conveniente utilizar al menos dos técnicas en los estudios de biomonitorio porque existen diferencias entre las técnicas, en cuanto a la capacidad de cuantificar el daño genético en estructuras o moléculas con distintos niveles de organización y actividad biológica, y en la sensibilidad de cada una de ellas. Esto hace que el análisis de un conjunto de técnicas permitan obtener resultados concluyentes. De las técnicas empleadas en las investigaciones analizadas, la de mayor sensibilidad es el ensayo cometa, lo que explicaría que con excepción de una sola publicación, el resto de los reportes incluidos en la tabla 1 para esta técnica, evidencien diferencias estadísticamente significativas entre los grupos expuestos y de referencia.

Si bien el ensayo cometa es evidentemente una técnica sumamente sensible, es conveniente que la evaluación del material genético incluya otras técnicas que permitan evaluar la integridad y el funcionamiento de estructuras más complejas, como los cromosomas para el caso del ensayo de aberraciones cromosómicas, e incluso el “aparato mitótico” para el caso del ensayo de micronúcleos. Hay que resaltar el significado biológico que representa el daño cromosómico, y las evidencias que soportan la tesis de que un incremento de daño cromosómico sería un elemento predictivo de mayor riesgo de padecer cáncer en el futuro. En este sentido, una gran cantidad de las investigaciones analizadas que evalúan daño genético mediante el ensayo de aberraciones cromosómicas en poblaciones en contacto con plaguicidas, arrojan resultados que podrían sugerir que las mismas tendrían un riesgo incrementado de desarrollar procesos neoplásicos. Esto podría relacionarse con numerosos reportes de carcinogénesis vinculada a exposición a diversos plaguicidas en todo el mundo.

Según se desprende del análisis de estas cien publicaciones, el 90 % de los trabajadores expuestos laboralmente a plaguicidas están en contacto con mezclas de compuestos, lo que dificulta establecer una correlación entre tipo de plaguicida y tipo de daño observado. Esto conlleva a otro problema, la evaluación de riesgo por mezclas de plaguicidas. La acción combinada de mezclas puede resultar en una no interacción o en interacción. Si la acción toxicológica de los componentes de la mezcla es diferente, la interacción puede resultar en una potenciación, cuando el efecto combinado es mayor que un efecto aditivo y antagónica cuando el efecto combinado es menor que el aditivo. Escasos estudios relacionados al problema de mezclas de plaguicidas han sido realizados.

En Argentina, el problema derivado del uso de plaguicidas tiene poca atención en el sistema de salud. Esta situación se relaciona con un subregistro de las intoxicaciones (Souza, 2007). Un alto porcentaje de la población argentina se dedica a la agricultura y vive en sectores rurales donde se emplean grandes cantidades de sustancias para el control de plagas en actividades agrícolas. Igualmente se conoce que una alta proporción de la población está real y potencialmente expuesta a estos plaguicidas no solo por participar directamente en actividades laborales, sino también por las diversas pulverizaciones que se realizan y que llegan involuntariamente a las viviendas, provocando un

aumento de las posibilidades de que se presenten efectos nocivos en la salud de estos pobladores. En relación a los estudios de genotoxicidad, Larripa *et al.*, (1983); Dulout *et al.*, (1985); Dulout *et al.*, (1987) y Dulout *et al.*, (1992), analizan grupos expuestos a plaguicidas de la provincia de Buenos Aires, a través de los ensayos de intercambio de cromátidas hermanas y aberraciones cromosómicas. Simoniello *et al.*, (2010), en la provincia de Santa Fe, realizan estudios de poblaciones expuestas a diferentes mezclas de plaguicidas con el ensayo cometa. Para Córdoba los primeros reportes de estudios genéticos en personas y animales expuestos a plaguicidas son los realizados por Mañas *et al.*, (2009a); Mañas *et al.*, (2009b); Mañas *et al.*, (2010); Aiassa *et al.*, (2010); Peralta *et al.*, (2011); Bosch *et al.*, (2011); Gentile *et al.*, (2012), utilizando los ensayos de AC, MN y cometa.

CONCLUSIONES

Los ensayos de genotoxicidad a corto plazo: aberraciones cromosómicas, micronúcleos, intercambio de cromátidas hermanas y cometa, permiten de forma rápida y versátil la detección de alteraciones en el material genético durante el biomonitorio de poblaciones humanas potencialmente afectadas por plaguicidas. Esto admite la evaluación de daños en el material genético en poblaciones expuestas a un agente tóxico y es una herramienta valiosa porque brinda información antes de que ocurran situaciones irreversibles.

Desde finales de la década de los 80, los ensayos de genotoxicidad se utilizan en gran cantidad de estudios de biomonitorio como marcadores de efecto en exposiciones medioambientales y ocupacionales, utilizando diferentes tipos celulares.

El daño en el material genético puede ocurrir debido a la exposición a agentes cancerígenos, defectos en la mitosis o en la reparación del ADN. Si el daño se produce en la línea somática puede derivar en cáncer, contribuir al envejecimiento prematuro, producir enfermedades vasculares, entre otras. Si el daño se induce en células germinales puede tener efectos sobre la fertilidad de las personas expuestas a estos agentes, como así también sobre su descendencia. Las técnicas citadas pueden ser aplicadas tanto en células sanguíneas como en células epiteliales del tracto respiratorio, urinario, reproductor y digestivo, siendo esta última alternativa menos invasiva que los métodos tradicionales en sangre periférica.

Estos métodos son cada vez más utilizados en estudios epidemiológicos moleculares para investigar el impacto de la nutrición, el estilo de vida, la exposición a agentes genotóxicos y las diferencias de susceptibilidades individuales frente a dicha exposición.

Debido justamente a que los resultados de los ensayos de genotoxicidad pueden variar por factores tales como la alimentación (por ejemplo, mayor o menor consumo de antioxidantes en la dieta), estilo de vida (por ejemplo, consumo de tabaco, alcohol, etc.) y la exposición a otros agentes potencialmente genotóxicos (por ejemplo radiación solar, rayos X, algunos medicamentos, etc.), entre otros, es que resulta imprescindible identificar en las poblaciones estudiadas estos “factores de confusión” a los fines de evitar posibles interferencias con los resultados obtenidos.

Como se dijo previamente, en las publicaciones analizadas hay una gran variabilidad en cuanto a los datos relacionados a los posibles factores de confusión, por lo que no es posible obtener conclusiones en este sentido.

La evaluación de los niveles de daño genético en poblaciones expuestas a plaguicidas, debería acompañarse en todos los casos de un cuestionario individual que permita identificar si el participante está o no expuesto a plaguicidas, de qué modo, con qué frecuencia, y si es posible identificar a cuáles y detallar la cantidad de años totales de exposición. También es necesario recopilar información relacionada al estado de salud del participante y sus familiares directos, incluyendo datos sobre la presencia de estados patológicos previos o actuales, relacionados o no a la exposición a plaguicidas. En este sentido, es necesario resaltar que no solo la presencia de determinadas enfermedades puede afectar los resultados de los ensayos de genotoxicidad, sino que el consumo de los medicamentos vinculados a la misma también puede restarle confiabilidad a los resultados obtenidos.

Cuando se trabaja con poblaciones expuestas en forma laboral existen variables que deben ser incluidas en el análisis, dentro de las cuáles resulta de particular importancia la utilización del equipo de protección personal correspondiente. Por este motivo, en el cuestionario debería también indagarse sobre el uso de guantes, máscaras, botas y otros elementos que tiendan a disminuir la exposición laboral a plaguicidas y que determinen una elevada variabilidad de exposición en la población estudiada. En la mayoría de los artículos analizados no se precisa los elementos de protección personal utilizados durante las pulverizaciones o el manejo de los plaguicidas en general. Sin embargo, existen publicaciones en las que se evidencian diferencias estadísticamente significativas en cuanto a los niveles de daño genético entre las personas que utilizan medidas de protección y las que no las emplean.

La importancia en la detección precoz del daño genético radica en que permite tomar las medidas necesarias para disminuir o suprimir la exposición al agente deletéreo cuando aún éste es reversible, disminuyendo por tanto el riesgo de desarrollar enfermedades. Por ese motivo, los ensayos de genotoxicidad deberían ser considerados como herramientas indispensables en la implementación de una completa vigilancia médica en personas potencialmente expuestas a diversos contaminantes ambientales y en especial aquellas que habitan en el mismo lugar con personas que ya han desarrollado algún tipo de neoplasia en edades tempranas con el fin de prevenir la ocurrencia de tumores de origen ambiental y especialmente laboral. Por otro lado, la aplicación de estos ensayos es útil para detectar posibles efectos a largo plazo de sustancias que se introducen al mercado sin conocer con exactitud su capacidad de afectar la salud humana y ambiental.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó en el marco de proyectos de investigación subsidiados por la Secretaría de Ciencia y Técnica de la Universidad Nacional de Río Cuarto y el Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET).

BIBLIOGRAFÍA

AIASSA D, MAÑAS F, BOSCH B, PERALTA L, GENTILE N, BEVILACQUA S, *et al.* Los plaguicidas. Su relación con la salud humana y ambiental en la Provincia de Córdoba. *Exp Méd.* 2010;28(1):39-44.

ALAVANJA MC, SANDLER DP, MCDONNELL C, LYNCH C, PENNYBACKER M, ZAHM S, *et al.* Characteristics of pesticide use in a pesticide applicator cohort: the agricultural health study. *Environ Res.* 1999;80(Suppl 1):172-179.

ALAVANJA MC, HOPPIN JA, KAMEL F. Health effects of chronic pesticide exposure: cancer and neurotoxicity. *Annu Rev Public Health.* 2004;25:155-197

ALAVANJA MC, SANDLER DP, LYNCH CF, KNOTT C, LUBIN JH, TARONE R. Cancer incidence in the agricultural health study. *Scand J Work Environ Health.* 2005;31(S1):39-45.

ALBERTINI RJ, ANDERSON D, DOUGLAS GR, HAGMAR L, HEMMINKI K, MERLO F, *et al.* IPCS Guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. *Mutat Res.* 2000;463(2):111-172.

ANTONUCCI G, COLUS I. Chromosomal aberrations analysis in a brazilian population exposed to pesticides. *Teratogen Carcin Mutagen.* 2000;20(5):265-272.

ARM MM. Pesticide Monitoring and its health problems in Egypt, a third world country. *Toxicol. Lett.* 1999;107(1-3):1-13.

ASCARRUNZ ME, TIRADO N, GONZÁLES AR, CUTI M, CERVANTES R, HUICI O, *et al.* Evaluación de riesgo genotóxico: biomonitorización de trabajadores agrícolas de Caranavi, Guanay, Palca y Mecapaca, expuestos a plaguicidas. *Cuad Hospital Clín.* 2006;51(1):7-18.

AU WW, SIERRA-TORRES CH, CAJAS-SALAZAR N, SHIPP BK, LEGATOR MS. Cytogenetic effects from exposure to mixed pesticides and the influence from genetic susceptibility. *Environ Health Perspect.* 1999;107(6):501-505.

AU WW, BADARY OA, HEO MY. Cytogenetic assays for monitoring populations exposed to environmental mutagens. *Occup Med.* 2001;16(2):345-357.

BAKER SC, ROGERS RD, OWEN AM, FRITH CD, DOLAN RJ, FRACKOWIAK RSJ, *et al.* Neural systems engaged by planning: a pet study of the tower of London task. *Neuropsychol.* 1996;34(6):515-526.

BARBOSA A, BONIN M. Evaluation of phosphine genotoxicity at occupational levels of exposure in new south wales, Australia. *Occup Environ Med.* 1994;51(10):700-705.

BHALLI JA, KHAN QM, HAQ MA, KHALID AM, NASIM A. Cytogenetic analysis of Pakistani individuals occupationally exposed to pesticides in a pesticide production industry. *Mutagenesis.* 2006;21(2):143-148.

BOERS D, ZEEGERS MPA, SWAEN GM, KANT I, VAN DEN BRANDT PA. The influence of occupational exposure to pesticides, polycyclic aromatic hydrocarbons, diesel exhaust, metal dust, metal fumes, and mineral oil on prostate cancer: a prospective cohort study. *Occup Environ Med.* 2005;62(8):531-537.

BOLOGNESI C, CARRASQUILLA G, VOLPI S, SOLOMON KR, MARSHALL EJ. Biomonitoring of genotoxic risk in agricultural workers from five colombian regions: association to occupational exposure to glyphosate. *J Toxicol Environ Health A.* 2009;72(15-16):986-997.

BOLOGNESI C, LANDINI E, PERRONE E, ROGGIERI P. Cytogenetic biomonitoring of a floriculturist population in Italy: micronucleus analysis by fluorescence in situ hybridization (FISH) with an all-chromosome centromeric probe. *Mutat Res.* 2004;557(2):109-117.

BOLOGNESI C, PARRINI M, MERLO F, BONASSI S. Frequency of micronuclei in lymphocytes from a group of floriculturists exposed to pesticides. *J Toxicol Environ Health*. 1993;40(2-3):405-411.

BOLOGNESI C, PERRONE E, LANDINI E. Micronucleus monitoring of a floriculturist population from western Liguria, Italy. *Mutag*. 2002;17(5):391-397.

BONASSI C, ABBONDANDOLO A, CAMURRI L, DAL PRA L, DE FERRARI M, DEGRASSI F. Are chromosome aberrations in circulating lymphocytes predictive of a future cancer onset in humans preliminary results of an Italian cohort study. *Cancer Genet Cytogenet*. 1995;79(2):133-135.

BONASSI S, AU WW. Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat Res*. 2002;511(1):73-86.

BONASSI S, ZNAOR A, CEPPI M, LANDO C, CHANG WP, HOLLAND N, *et al.* An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinog*. 2007;28(3):625-631.

BORTOLI GM, AZEVEDO MB, SILVA LB. Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutat Res*. 2009;675(1-2):1-4.

BOSCH B, MAÑAS F, GORLA N, AIASSA D. Micronucleus test in post metamorphic *Odontophrynus cordobae* and *Rhinella arenarum* (Amphibia:Anura) for environmental monitoring. *J Toxicol Environ Health Sci*. 2011;3(6):154-163.

BREGA SM, VASSILIEFF I, ALMEIDA A, MERCADANTE A, BISSACOT D, CURY PR, *et al.* Clinical, cytogenetic and toxicological studies in rural workers exposed to pesticides in Botucatu, Sao Paulo, Brazil. *Cad Saude Pub*. 1998;14(3):109-115.

CALVERT GM, TALASKA G, MUELLER CA, AMMENHEUSER MM, AU WW, FAJEM JM, *et al.* Genotoxicity in workers exposed to methyl bromide. *Mutat Res*. 1998;417(2-3):115-128.

CALVERT GM, ALARCON WA, CHELMINSKI A, CROWLEY MS, BARRETT R, CORREA A, *et al.* Case report: three farmworkers who gave birth to infants with birth defects closely grouped in time and place-Florida and North Carolina, 2004-2005. *Environ Health Perspect*. 2007;115(5):787-791.

CARBONELL E, LÓPEZ F, VALBUENA A, XAMENA N, CREUS A, MARCOS R. Evaluación del daño genético, inducido por plaguicidas en un grupo de agricultores. En: Morell J, Candela L, editores. *Plaguicidas. Aspectos ambientales, analíticos y toxicológicos*. Publicaciones de Universidad Jaume I (Castelló de la Plana) España; 1998. p. 315-328.

CARBONELL E, PUIG M, XAMENA N, CREUS A, MARCOS R. Cytogenetic biomonitoring in a Spanish group of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutag*. 1993;8(6):511-516.

CARBONELL E, PUIG M, XAMENA N, CREUS A, MARCOS R. Sister chromatid exchange in lymphocytes of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutag*. 1990;5(4):403-405.

CARBONELL E, VALBUENA A, XAMENA N, CREUS A, MARCOS R. Temporary variations in chromosomal aberrations in a group of agriculture workers exposed to pesticides. *Mutat Res*. 1995a;344(3-4):127-134.

CARBONELL E, XAMENA N, CREUS A, MARCOS R. Chromosomal aberrations

and sister-chromatid exchanges as biomarkers of exposure to pesticides. *Clin Chem.* 1995b;41(12):1917-1919.

CASTILLO CADENA J, TENORIO VIEYRA LE, QUINTANA CARABIA AI, GARCÍA FABILA MM, RAMÍREZ SAN JUAN E, MADRIGAL BUJIDAR E. Determination of DNA damage in floriculturists exposed to mixtures of pesticides. *J Biomed Biotechnol.* 2006;2006:1-12.

CASTRO R, RAMÍREZ V, CUENCA P. Micronúcleos y otras anormalidades nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Rev Biol Trop.* 2004;52(3):611-621.

COSKUN M, COSKUN M, CAYIR A, OZDEMIR O. Frequencies of micronuclei (MN), nucleoplasmic bridges (NPBS), and nuclear buds (NBUDS) in farmers exposed to pesticides in Çanakkale, Turkey. *Environ Int.* 2011;37(1):93-96.

COSTA C, SILVA S, COELHO P, ROMA-TORRES J, TEIXEIRA JP, MAYAN O. Micronucleus analysis in a portuguese population exposed to pesticides: preliminary survey. *Int J Hyg Environ Health.* 2007;210(3-4):415-418.

CREUS A. Genotoxicidad, mutagénesis y carcinogénesis. En: Paz y Miño C, Creus A, Cabré O, Leone P, editores. *Genética toxicológica y carcinogénesis*. Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana. Quito. Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2001. p. 17-162.

CUENCA P, RAMÍREZ V. Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas a plaguicidas. *Rev Biol Trop.* 2004;52(3):623-628.

CURWIN BD, HEIN MJ, SANDERSON WT, NISHIOKA MG, REYNOLDS SJ, WARD EM, *et al.* Pesticide contamination inside farm and nonfarm homes. *J Occup Environ Hyg.* 2005;2(7):357-367.

DA SILVA AUGUSTO LG, ROCHA LIEBER S, RUIZ M A, DE SOUZA CA. Micro-nucleus monitoring to assess human occupational exposure to organochlorides. *Environ Molec Mutag.* 1997;29(1):46-52.

D'ARCE LPG, DE SYLLOS COLUS IM. Cytogenetic and molecular biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in Brazil. *Teratogen Carcin Mut.* 2000;20(6):161-170.

DAVIES H W, KENNEDY SM, TESCHKE K, JENNY P, QUINTANA JE. Cytogenetic analysis of south asian berry pickers in British Columbia using the micronucleus assays in peripheral lymphocytes. *Mutat Res.* 1998;416(1-2):101-113.

DE FERRARI M, ARTUSO M, BONASSI S, CAVALIERI Z, PESCATORE D, MARCHINI E, *et al.* Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and sister chromatid exchange analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutat Res.* 1991;260(1):105-113.

DEARFIELD KL, MCCARROLL NE, PROTZEL A, STACK HF, JACKSON MA, WATERS MD. A survey of EPA/OPP and open literature on selected pesticide chemicals II. Mutagenicity and carcinogenicity of selected chloroacetanilides and related compounds. *Mutat Res.* 1999;443(1-2):183-221.

DESI I, NEHEZ M, PALOTAS M, TEMPFLI M, HOGYE A, VETRO G. Experience of health status surveillance of pesticide workers in Hungary. *Med Lav.* 1990;81(6):517-523.

DULOUT FN, PASTORI MC, OLIVERO OA, GONZALES CID M, LORIA D,

MATOS E, *et al.* Sister-Chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides. *Mutat Res.* 1985;143(4):237-244.

DULOUT FN, PASTORI MC, GONZÁLEZ CID M, MATOS E, VON GURADZE HN, MADERNA CR, *et al.* Cytogenetic analysis in plant breeders. *Mutat Res.* 1987;189(4):381-386.

DULOUT FN, LÓPEZ CAMELO JS, GURADZE HN. Analysis of sister chromatid exchanges (SCE) in human populations studies. *Rev Brazil Genet.* 1992;15(1):169-182.

EDWARDS JW, PRIESTLY BG. Effect of occupational exposure to aldrin on urinary d-glucaric acid, plasma dieldrin, and lymphocyte sister chromatid exchange. *Int Arch Occup Environ Health.* 1994;66(4):229-234.

EL-GHAZALI S, AU WW, ANWAR W, LEGATOR M, MASSOUD A. Cytogenetic study among workers packing pesticides. *Environ Mol Mutag.* 1990;15(1-2):abstract 18.

ERGENE S, ÇELİK A, ÇAVAŞ T, KAYA F. Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ Int.* 2007;33(7):877-885.

FABIA J, THUY T. Occupation of father at time of birth of children dying of malignant diseases. *Br J Prev Soc Med.* 1974;28:98-100.

FALCK GC, HIRVONEN A, SCARPATO R, SAARIKOSKI ST, MIGLIORE L, NORPPA H. Micronuclei in blood lymphocytes and genetic polymorphism for GSTM1, GSTT1 And NAT2 in pesticide-exposed greenhouse workers. *Mutat Res.* 1999;441(2):225-237.

FENECH M. The cytokinesis-block micronucleus technique: a detailed description of the method and its application to genotoxicity studies in human populations. *Environ Health Perspect.* 1993;101(Suppl 3):101-107.

FENSKE RA, LU C, BARR D, NEEDHAM L. Children's exposure to chlorpyrifos and parathion in an agricultural community in central washington state. *Environ Health Perspect.* 2002;110(5):549-553.

GARAJ-VRHOVAC V, ZELJEZIC D. Assessment of genomedamage in a population of croatian workers employed in pesticide production by chromosomal aberration analysis, micronucleus assay and comet assay. *J Appl Toxicol.* 2002;22(4):249-255.

GARAJ-VRHOVAC V, ZELJEZIC D. Cytogenetic monitoring of croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicol.* 2001;165(2):153-162.

GARAJ-VRHOVAC V, ZELJEZIC D. Evaluation of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticides using single-cell gel electrophoresis (SCGE) assay. Pesticide genotoxicity revealed by comet assay. *Mutat Res.* 2000;469(2):279-285.

GENTILE N, MAÑAS F, BOSCH B, PERALTA L, GORLA N, AIASSA D. Micronucleus assay as a biomarker of genotoxicity in the occupational exposure to agrochemicals in rural workers. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2012;88(6):1-7.

GÓMEZ-ARROYO S, DIAZ-SANCHEZ Y, MENESES-PEREZ MA, VILLALOBOS-PIETRINI R, DELEON-RODRIGUEZ JD. Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutat Res.* 2000;466(1):117-124.

GÓMEZ-ARROYO S, NORIEGA-ALDANA N, OSORIO A, GALICIA F, LING S, VILLALOBOS-PIETRINI R. Sister-Chromatid exchange analysis in a rural population of Mexico exposed to pesticides. *Mutat Res.* 1992;281(3):173-179.

GROVER P, DANADEVI K, MAHBOOB M, ROZATI R, SALEHA B, RAHMAN MF. Evaluation of genetic damage in workers employed in pesticide production utilizing comet assay. *Mutag*. 2003;18(2):201-205.

HAGMAR L, BROGGER A, HANSTEEN IL, HEIM S, HOGSTEDT B, KNUDSEN L, *et al*. Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Res*. 1994;54(11):2919-2922.

HAGMAR L, BONASSI S, STROMBERG U, BROGGER A, KNUDSEN LE, NORPPA H, *et al*. The European study group on cytogenetic biomarkers and health. Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: A report from the European study group on cytogenetic biomarkers and health (ESCH). *Cancer Res*. 1998;58(18):4117-4121.

HOLLAND N, DURAMAD P, ROTHMAN N, FIGGS L, BLAIR A, HUBBARD A, *et al*. Micronucleus frequency and proliferation in human lymphocytes after exposure to herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in vitro and in vivo. *Mutat Res*. 2002;521(1-2):165-178.

HOLLY A, ASTON D, KHRISTIANSEN AD. Ewing'S bone sarcoma, paternal occupational exposure and other factors. *Am J Epidemiol*. 1992;135(2):122-129.

HONDURAS. Contaminación del medio ambiental. En XXVII Reunión de Ministros de Salud Pública y XI de Directores Generales de Salud de Centroamérica y Panamá. San José. Costa Rica. 1982.

HOYOS L, CARVAJAL S, SOLANO L, RODRÍGUEZ J, OROZCO L, LÓPEZ V. Cytogenetic monitoring of farmers exposed to pesticides in Colombia. *Environ Health Perspect*. 1996;104(3):535-538.

IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. Lyon, France; 2002. p. 82.

JABLONIKA A, POLAKOVA H, KARELOVA J, VARGOVA M. Analysis of chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of workers with occupational exposure to the mancozeb containing fungicide novozir Mn80. *Mutat Res*. 1989;224(2):143-146.

JOKSIC G, VIDA KOVIC A, SPASOJEVIC-TISMA V. Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers. *Environ Res*. 1997;75(2):113-118.

KAIOUMOVA D, KHABUTDINOVA L. Cytogenetic characteristics of herbicide production workers in Ufa. *Chemosphere*. 1998;37(9-12):1755-1759.

KASIOTIS KM, KYRIAKOPOULOU K, EMMANOUIL C, TSANTILA N, LIESIVUORI J, SOUKI H, *et al*. Monitoring of systemic exposure to plant protection products and DNA damage in orchard workers. *Toxicol Lett*. 2012;210(2):182-188.

KEHDY FSG, CERQUEIRA EMM, BONJARDIM MB, CAMELO RM, CASTRO MCL. Study of the cytogenetic effects of occupational exposure to pesticides on sanitation workers in Belo Horizonte, Brazil. *Genet Mol Res*. 2007;6(3):581-593.

KHUDER SA, SCHAUB EA, KELLER-BYRNE JE. Meta-Analyses of non- Hodgkin's lymphoma and farming. *Scand J Work Environ Health*. 1998;24(4):255-261

KIRSCH-VOLDERS MR, ROELANTS M, TREMP A, ZEIGER E, BONASSI S, *et al*. The effects of GSTM1 and GSTT1 polymorphisms on micronucleus frequencies in human lymphocytes in vivo. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15(5):1038-1042.

KOHEN R, NYSKA A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol.* 2002;30(6):620-650.

KOURAKIS A, MOURATIDOU M, BARBOUTI A, DIMIKIOTOU M. Cytogenetic effects of occupational exposure in the peripheral blood lymphocytes of pesticide sprayers. *Carcinog.* 1996;17(1):99-101.

KOURAKIS A, MOURATIDOU M, KOKKINOS G, BARBOUTI A, KOTSIS A, MORELATOS D. Chromosomal aberrations in pesticide sprayers working in plastic green houses. *Mutat Res.* 1992;279(2):145-148.

KUSHIK J, CHANDRABHAN D. Sources of exposure to and public health implications of organophosphate pesticide. *Pan Am J Public Health.* 2003;14(3):171-185.

LAMADRID BOADA AI, ROMERO AGUILERA I, GONZÁLEZ MESA JE, MANDINA CARDOSO T. Biomonitorio de trabajadores expuestos a plaguicidas. *Rev Cubana Invest Biomed.* 2011;30(2):235-244.

LANDER F, RONNE M. Frequency of sister chromatid exchange and hematological effects in pesticide-exposed greenhouse sprayers. *Scand J Work Environ Health.* 1995;21(4):283-288.

LARREA POMA M, TIRADO BUSTILLOS N, ASCARRUNZ G. Daño genotóxico por exposición a plaguicidas en agricultores del municipio de Luribay. *Biofarbo.* 2010;18(2):31-43.

LARRIPA I, MATOS E, LABAL DE VINUESA M, BRIEUX DE SALUM S. Sister chromatid exchanges in a human population accidentally exposed to an organophosphorus pesticide. *Rev Brasil Genet.* 1983;6(4):719-727.

LEVARIO-CARILLO M, SORDO M, ROCHA F, GONZÁLEZ-HORTA C, AMATO D, OSTROSKY-WEGMAN P. Micronucleus frequency in human umbilical cord lymphocytes. *Mutat Res.* 2005;586(1):68-75.

LIU YJ, HUANG PL, CHANG YF, CHEN YH, CHIOU YH, XU ZL, KIRSCH-VOLDERS M, *et al.* GSTP1 Genetic polymorphism is associated with a higher risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Cancer Epidemiol Biom Prev.* 2006;15(4):659-666.

LU C, FENSKE RA, SIMCOX NJ, KALMAN D. Pesticide exposure of children in an agricultural community: evidence of household proximity to farmland and take home exposure pathways. *Environ Res.* 2000;84:290-302.

LUCERO L, PASTOR S, SUÁREZ S, DURBAN R, GÓMEZ C, PARRON T, CREUS A, MARCOS R. Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutat Res.* 2000;464(2):255-262.

MAÑAS F, GONZALEZ CID M, WEYERS A, UGNIA L, GARCÍA OVANDO H, LARRIPA I, *et al.* Evaluación de genotoxicidad in vivo mediante el ensayo cometa y de micronúcleos en ratones tratados con glifosato. *Theoria.* 2007;15,53-60.

MAÑAS F, PERALTA L, GORLA N, BOSCH B, AIASSA D. Aberraciones cromosómicas en trabajadores rurales de la provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas. *J Basic Appl Genet.* 2009;20(1):9-13.

MAÑAS F, PERALTA L, RAVIOLO J, GARCÍA OVANDO H, WEYERS A, UGNIA L, *et al.* Genotoxicity of Ampa, environmental metabolite of glyphosate, assessed by the comet assay and cytogenetic tests. *Ecotoxicol Environ Safety.* 2009a;72(3):834-837.

MAÑAS F, PERALTA L, RAVIOLO J, GARCÍA OVANDO H, WEYERS A, UGNIA L, *et al.* Genotoxicity and oxidative stress of glyphosate: in vivo and in vitro testing. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2009b;28(1):37-41.

MÁRQUEZ C, VILLALOBOS C, POBLETE S, VILLALOBOS E, GARCIA M, DUK S. Cytogenetic damage in female chilean agricultural workers exposed to mixtures of pesticides. *Environ Mol Mutagen.* 2005;45(1):1-7.

MARTÍNEZ C, GÓMEZ S, VILLALOBOS R, WALISZEWSKI S, CALDERÓN ME, FÉLIX R, *et al.* Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the North of Sinaloa State, Mexico. *Environ Int.* 2009;35(7):1155-1159.

MITELMAN F, MERTENS F, JOHANSSON FA. Breakpoint map of recurrent chromosomal rearrangements in human neoplasia. *Nature Genet.* 1997;15:417-474.

MOHAMMAD O, WALID AA, GHADA K. Chromosomal aberrations in human lymphocytes from two groups of workers occupationally exposed to pesticides in Syria. *Environ Res.* 1995;70(1):24-29.

MORTELMANS K, RUPA DS. Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists. *Adv Appl Microbiol.* 2004;56:379-401.

MUNIZ JF, MC CAULEY L, SCHERER J, LASAREV M, KOSHY M, KOW YW, *et al.* Biomarkers of oxidative stress and DNA damage in agricultural workers: a pilot study. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;227(1):97-107.

NEHÉZ M, BOROS P, FERKE A, MOHOS J, PALOTAS M, VETRO G, *et al.* Cytogenetic examination of people working with agrochemicals in the southern region of Hungary. *Regul Toxicol Pharm.* 1988;8(1):37-44.

OBENDORF SK, LEMLEY AT, HEDGE A, KLINE AA, TAN K, DOKUCHAYEVA T. Distribution of pesticide residues within homes in central New York State. *Arch Environ Contam Toxicol.* 2006;50(1):31-44.

OMS. Detección precoz de enfermedades profesionales. Ginebra. España. 1987.

PADMAVATHI P, PRABHAVATHI AP, REDDY PP. Frequencies of sces in peripheral blood lymphocytes of pesticides workers. *Bull Environ Contam Toxicol.* 2000;64(2):155-160.

PALDY A, PUSKÁS N, VINCZE N, HADHÁZI M. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutat Res.* 1987;187(3):127-132.

PASQUINI R, SCASELLATI-SFORZOLINI G, ANGELI G, FATIGONI C, MONARCA S, BENEVENTI L, *et al.* Cytogenetic biomonitoring of pesticide-exposed farmers in central Italy. *J Environ Pathol Toxicol Oncol.* 1996;15(1):29-39.

PASTOR S, GUTIÉRREZ S, CREUS A, CEBULSKA-WASILEWSKA A, MARCOS R. Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutat Res.* 2001a;495(1-2):147-156.

PASTOR S, GUTIÉRREZ S, CREUS A, XAMENA N, PIPERAKIS S, MARCOS R. Cytogenetic analysis of greek farmers by using the micronucleus assay in peripheral lymphocytes and in buccal cells. *Mutag.* 2001b;16(6):539-545.

PASTOR S, LUCERO L, GUTIÉRREZ S, DURBÁN R, GÓMEZ C, PARRÓN T, *et al.* A follow-up study on micronucleus frequency in spanish agricultural workers exposed to pesticides. *Mutag.* 2002a;17(1):79-82.

PASTOR S, CREUS A, XAMENA N, SIFFEL C, MARCOS R. Occupational exposure to pesticides and cytogenetic damage: results of a Hungarian population study

using the micronucleus assay in lymphocytes and buccal cells. *Environ Mol Mutag.* 2002b;40(2):101-109.

PAZ Y, MIÑO C, BUSTAMANTE G, SÁNCHEZ ME, LEONE PE. Cytogenetic Monitoring In A Population occupationally exposed to pesticides in Ecuador. *Environ Health Perspect.* 2002;110(11):1077-1080.

PERALTA P, MAÑAS F, GENTILE N, BOSCH B, MÉNDEZ A, AIASSA D. Evaluación del daño genético en pobladores de Marcos Juárez expuestos a plaguicidas: estudio de un caso en Córdoba, Argentina. *Revista Diálogos.* 2011;2(1):7-26.

PÉRTILE REMOR A, APRINI TOTTI C, ALVES MOREIRA D, PIMENTEL DUTRA G, AHLSTRÖM HEUSER VD, MARLEI BOEIRA J. Occupational exposure of farm workers to pesticides: biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ Int.* 2009;35 (2):273-278.

RAMINDERJEET K, SATBIR K, MUKESH L. Evaluation of DNA damage in agricultural workers exposed to pesticides using single cell gel electrophoresis (comet) assay. *Indian J Hum Genet.* 2011;17(3):179-187.

RAMÍREZ V, CUENCA P. Micronuclei frequency in lymphocytes of individuals occupationally exposed to pesticides. *Rev Biol Trop.* 2001;49(1):1-8.

RAMÍREZ V, CUENCA P. Daño del ADN en trabajadoras bananeras expuestas a plaguicidas en Limón, Costa Rica. *Rev Biol Trop.* 2002;50(2):507-518.

REGIDOR E, RONDA E, GARCÍA AM, DOMÍNGUEZ V. Paternal exposure to agricultural pesticides and cause specific fetal death. *Occup Environ Med.* 2004;61(4):334-339.

REYNOLDS P, VON BEHREN J, GUNIER R, GOLDBERG DE, HERTZ A. Agricultural pesticides and lymphoproliferative childhood cancer in California. *Scand J Work Environ Health.* 2005a;31(Suppl 1):46-54.

REYNOLDS P, VON BEHREN J, GUNIER RB, GOLDBERG DE, HARNLY M, HERTZ A. Agricultural pesticide use and childhood cancer in California. *Epidemiol.* 2005b;16(1):93-100.

REYNOLDS P, VON BEHREN J, GUNIER RB, GOLDBERG DE, HERTZ A, HARNLY ME. Childhood cancer and agricultural pesticide use: an ecologic study in California. *Environ Health Perspect.* 2002;110(3):319-324.

RITA P, REDDY PP, REDDY SV. Monitoring of workers occupationally exposed to pesticides in grape gardens of Andhra Pradesh. *Environ Res.* 1987;44(1):1-5.

ROJAS E, LOPEZ M, VALVERDE M. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications J. *Chrom B.* 1999;722(1-2):225-254.

RULL R, GUNIER R, VON BEHREN J, HERTZ A, CROUSE V, BUFFLER PA, REYNOLDS P. Residential proximity to agricultural pesticide applications and childhood acute lymphoblastic leukemia. *Environ Res.* 2009;109(7):891-899.

RUPA DS, RITA P, REDDY PP, REDDI OS. Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers. *Hum Exp Toxicol.* 1988;7(4):333-336.

RUPA DS, REDDY PP, REDDI OS. Chromosomal aberrations in peripheral lymphocytes of cotton field workers exposed to pesticides. *Environ Res.* 1989a;49(1):1-6.

RUPA S, REDDY PP, REDDI OS. Analysis of sister-chromatid exchanges, cell

kinetics and mitotic index in lymphocytes of smoking pesticide sprayers. *Mutat Res.* 1989b;223(2):253-258.

RUPA DS, REDDY PP, REDDI OS. Clastogenic effect of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton-field workers. *Mutat Res.* 1991a;261(3):177-180.

RUPA DS, REDDY PP, SREEMANNARAYANA K, REDDI OS. Frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of male pesticide applicators. *Environ Mol Mutag.* 1991b;18(2):136-138.

SAILAJA N, CHANDRASEKHAR M, REKHADEVI PV, MAHBOOB M, RAHMAN NF, SALEHA B, *et al.* Genotoxic evaluation of workers employed in pesticide production. *Mutat Res.* 2006;609(1):74-80.

SCARPATO R, MIGLIORE L, ANGOTZI G, FEDI L, MILIGLI L, LOPRIENO N. Cytogenetic monitoring of a group of Italian floriculturists: no evidence of DNA damage related to pesticide exposure. *Mutat Res.* 1996a;367(2):73-82.

SCARPATO R, MIGLIORE L, HIRVONEN A, FALCK G, NORPPA H. Cytogenetic monitoring of occupational exposure to pesticides: characterization of GSTM1, GSTT1, and NAT2 genotypes. *Environ Mol Mutagen.* 1996b;27(4):263-269.

SCARPATO R, HIRVONEN A, MIGLIORE L, FALCK G, NORPPA H. Influence of GSTM1 and GSTT1 polymorphism on the frequency of chromosome aberrations in lymphocytes of smokers and pesticide-exposed greenhouse workers. *Mutat Res.* 1997;389(2):227-235.

SHARINOV IK, VISHNEVSKAIA SS, MERGEMBAEVA KHS. Chromosome aberrations in hothouse workers coming in contact with pesticides. *Tsitol Genet.* 1989;23(5):60-63.

SHARPE CR, FRANCO EL, DE CAMARGO B, LOPES LF, BARRETO JH, JOHNSON RR, MAUAD MA. Parental exposures to pesticides and risk of Wilms' tumor in Brazil. *Am J Epidemiol.* 1995;141(3):210-217.

SIMCOX NJ, FENSKE RA, WOLZ SA, LEE IC, KALMAN DA. Pesticides in household dust and soil: exposure pathways for children of agricultural families. *Environ Health Perspect.* 1995;103(12):1126-1134.

SIMONIELLO MF, KLEINSORGE EC, CARBALLO MA. Evaluación bioquímica de trabajadores rurales expuestos a pesticidas. *Medicina (Buenos Aires).* 2010;70(6):489-498.

SINGH S, KUMAR V, SINGH P, BANERJEE BD, RAUTELA RS, GROVER SS, *et al.* Influence of CYP2C9, GSTM1, GSTT1 and NAT2 genetic polymorphisms on DNA damage in workers occupationally exposed to organophosphate pesticides. *Mutat Res.* 2012;741(1-2):101-108.

SINGH S, VIVEK K, SACHIN T, BASU DEV, BANERJEE B, SUDHIR CHANDNAC, SINGH R, *et al.* DNA Damage and cholinesterase activity in occupational workers exposed to pesticides. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2011;31(2):278-285.

SOUZA CASADINHO J. La problemática del uso de los agroquímicos y sus envases, su incidencia en la salud de los trabajadores, la población expuesta y sus envases. Argentina: estudio colaborativo multicéntrico. Ministerio de Salud de la Nación. 1.ª ed, Buenos Aires, 2007. Disponible en URL <http://www.ambiente.gov.ar/archivos/web/UniDA/File/LIBRO%20Agroquimicos.pdf> 2007.

STEENLAND K, CEDILLO L, TUCKER J, HINES C, SORENSEN K, DEDDENS J, *et al.* Thyroid hormones and cytogenetic outcomes in backpack sprayers using ethy-

lenebis (dithiocarbamate) (EBDC) fungicides in Mexico. *Environ Health Perspect.* 1997;105(10):1126-1130.

STONEHAM M, GOLDACRE M, SEAGROATT V, GILL L. Olive Oil, diet and colorectal cancer: an ecological study and a hypothesis. *J Epidemiol Comm Health.* 2000;54:756-760.

SUÁREZ S, RUBIO A, SUEIRO R, GARRIDO J. Sister chromatid exchanges and micronuclei analysis in lymphocytes of men exposed to simazine through drinking water. *Mutat Res.* 2003;537(2):141-149.

TESKE ME, BIRD SL, ESTERLY DM, CURBISHLEY TB, RAY SL, PERRY SG. adrift: a model for estimating near-field spray drift from aerial applications. *Environ Toxicol Chem* 2002;21:659-671.

TITENKO-HOLLAND N, WINDHAM G, KOLACHANA P, REINISCH F, PARVATHAM S, OSORIO AM, *et al.* Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: a study of malathion-exposed workers. *Mutat Res.* 1997;388(1):85-95.

TOPE A, BEBE FN, PANEMANGALORE M. Micronuclei frequency in lymphocytes and antioxidants in the blood of traditional limited-resource farm workers exposed to pesticides. *J Environ Sci Health B.* 2006;41(6):843-853.

ÜNDEĞER Ü, BAŞARAN N. Assessment of DNA damage in workers occupationally exposed to pesticide mixtures by the alkaline comet assay. *Arch Toxicol.* 2002;76(7):430-436.

VAN MAELE-FABRY G, WILLEMS JL. Occupation related pesticide exposure and cancer of the prostate: a meta-analysis. *Occup Environ Med.* 2003;60:634-642.

VAN MAELE-FABRY G, WILLEMS JL. Prostate cancer among pesticide applicators: a meta-analysis. *Int Arch Occup Environ Health.* 2004;77(8):559-570.

VARGAS TORRES ML. Biomonitoring citogenético de plaguicidas en trabajadores agrícolas crónicamente expuestos. [tesis de grado]. México: Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma de México. 2009.

VENEGAS W, ZAPATA I, CARBONELL E, MARCOS R. Micronuclei analysis in lymphocytes of pesticide sprayers from Concepcion, Chile. *Teratogen Carcin Mutagen.* 1998;18(3):123-129.

VENITT A, PHILLIPS D. The importance of environmental mutagens in human carcinogenesis and germ-line mutation. In: Phillips DH, Venitt S, editors. *Environmental mutagenesis*. Bios Scientific, London; 1995. p. 1-17.

WARD MH, LUBIN J, GIGLIERANO J, COLT JS, WOLTER C, BEKIROGLU N, *et al.* Proximity to crops and residential exposure to agricultural herbicides in Iowa. *Environ Health Perspect.* 2006;114(6):893-897.

WEPPNER S, ELGETHUN K, LU C, HEBERT V, YOST MG, FENSKE RA. The Washington aerial spray drift study: children's exposure to methamidophos in an agricultural community following fixed-wing aircraft applications. *J Exp Sci Environ Epidemiol.* 2006;16(5):387-396.

WHITMORE RW, IMMERMANN FW, CAMANN DE, BOND AE, LEWIS RG, SCHAUM JL. Non-occupational exposures to pesticides for residents of two U.S. cities. *Arch Environ Contam Toxicol.* 1994;26:47-59.

WINDHAM GC, TITENKO-HOLLAND N, OSORIO AM, GETTNER S, REINISCH

F, HAAS R, *et al.* Genetic monitoring of malathion-exposed agricultural workers. *Am J Ind Med.* 1998;33(2):164-174.

WINN D, ROBINSON L, MULVIHILL J, DAIGLE A, FRAUMENI J. A Case-control study of the aetiology of Ewing's sarcoma. *Cancer Epidemiol Biom Prev.* 1992;1:525-532.

WONG RH, CHANG S, HO S, HUANG P, LIU Y, CHEN Y, *et al.* Polymorphisms in metabolic GSTP1 and DNA-Repair XRCC1 genes with an increased risk of DNA damage in pesticide-exposed fruit growers. *Mutat Res.* 2008;654(2):168-175.

WOODROW JE, SEIBER JN, BAKER LW. Correlation techniques for estimating pesticide volatilization flux and downwind concentrations. *Environ Sci Technol.* 1997;31(2):523-529.

