

Agentes químicos que dañan al ADN: inducción de genotoxicidad en la vida diaria, riesgo y prevención

DNA-damaging chemical agents: genotoxicity induction in daily life, risk and prevention

Virginia Montero-Campos¹, Ying Yi Huang-
Qiu², Henry Rodríguez-Sevilla³

Montero-Campos, V; Huang-Qiu, Y.Y; Rodríguez-Sevilla, H.
Agentes químicos que dañan al ADN: inducción de geno-
toxicidad en la vida diaria, riesgo y prevención. *Tecnología
en Marcha*. Vol. 37, N° especial. 30 Aniversario del Centro
de Investigación en Biotecnología. Noviembre, 2024. Pág.
179-188.

 <https://doi.org/10.18845/tm.v37i9.7622>

1 Centro de Investigación en Biotecnología, Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.

 vmontero@itcr.ac.cr

 <https://orcid.org/0000-0002-2666-5030>

2 Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.

 yingyi2711@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0002-7588-7905>

3 Escuela de Biología, Instituto Tecnológico de Costa Rica. Costa Rica.

 johense902@gmail.com

 <https://orcid.org/0009-0001-0333-4175>



Palabras clave

Epigenética; expresión génica; mutágenos; cáncer.

Resumen

Los agentes genotóxicos son sustancias que tienen la capacidad de inducir daño en el ADN; este daño puede ser causado por agentes químicos, biológicos y físicos. Su capacidad de inducir daño está influida por la dosis recibida, el tiempo y la vía de exposición, y la constitución genética del individuo, y puede estar relacionada con hábitos de vida y el lugar de residencia. Relacionado directamente con la genotoxicidad está la epigenética; esta ciencia es el estudio de los cambios en la función de los genes que son hereditarias y que no se pueden atribuir a alteraciones de la secuencia de nucleótidos en el ADN. Estos procesos regulan la expresión de genes por medio de la modulación de la estructura de la cromatina. La interacción de factores genéticos y no genéticos involucrados en el control de patrones hereditarios puede degenerar en enfermedades o trastornos complejos como cáncer, infertilidad, procesos inflamatorios, enfermedades degenerativas y disrupción endocrina, padecimientos que pueden ser transmitidos a la descendencia. Varios estudios epidemiológicos han demostrado que los cambios en el estilo de vida y los hábitos alimentarios podrían prevenir o reducir la incidencia del cáncer, especialmente mediante el aumento del nivel de antioxidantes y disminuyendo la formación de radicales libres con efecto intracelular. En el Centro de Investigación en Biotecnología del Instituto Tecnológico de Costa Rica se investigan diversos agentes genotóxicos a los cuales está expuesta la población en Costa Rica, incluyendo bacterias como *Helicobacter pylori*, microplásticos en especies marinas de consumo humano, y metales pesados en aguas potables y en suelos. Estas investigaciones son relevantes para determinar la presencia de estos agentes genotóxicos en el país, evaluar el riesgo de exposición de la población, y así generar estrategias de prevención y mitigación del daño.

Keywords

Epigenetics; gene expression; mutagens; cancer.

Abstract

Genotoxic agents are substances that can induce DNA damage; this damage can be caused by chemical, biological, and physical agents. The dose, time and route of exposure, and the genetic constitution of the individual influence the capacity of these agents to induce damage and may also be related to lifestyle habits and place of residency. Directly associated with genotoxicity is epigenetics, which is the study of hereditary changes in the function of hereditary genes not attributed to alterations in the DNA sequence. These processes regulate the expression of genes through the modulation of chromatin structure. The interaction of genetic and non-genetic factors in the control of hereditary patterns of this expression may cause diseases or disorders such as cancer, infertility, inflammatory processes, degenerative diseases, and endocrine disruption that could be transmitted to the offspring. Several epidemiological studies have shown that changes in lifestyle and eating habits could prevent or reduce cancer incidence; particularly by increasing the level of antioxidants and reducing the formation of free radicals with intracellular effects. At the Biotechnology Research Center of the Technological Institute of Costa Rica, various genotoxic agents to which the population in Costa Rica is exposed are investigated, including bacteria such as *Helicobacter pylori*, micro plastics in marine species for human consumption, and heavy metals in drinking water and in soils. These investigations

are relevant to determine the presence of these genotoxic agents in the country, to evaluate the risk of exposure of the population, and thus generate strategies for prevention and mitigation of the damage.

Introducción

El ADN es la molécula en la cual se almacena la información genética de las células [1]. Los agentes capaces de ocasionar toxicidad genética son llamados genotóxicos; según la Agencia Internacional de Investigación en Cáncer (IARC por sus siglas en inglés), los genotóxicos que actúan como carcinógenos se clasifican en tres categorías de acuerdo con su origen: químicos (la gran mayoría), físicos (radiaciones en todo su espectro) y biológicos (principalmente algunas bacterias y virus) [2]. La acción o capacidad de inducir daño al ADN de estos agentes está influida por la dosis recibida, el tiempo y la vía de exposición, junto a la constitución genética del individuo. La genética toxicológica es una rama interdisciplinaria de la ciencia, que se encarga de evaluar el daño causado por los potenciales agentes genotóxicos a partir del monitoreo ambiental y humano por distintos tipos de exposición [3].

Los genotóxicos pueden clasificarse de acuerdo a su modo de acción o efectos en las personas en: mutágenos, sustancias que alteran la secuencia del ADN y que pueden o no resultar en un proceso carcinogénico; carcinógenos, agentes capaces de inducir cáncer pudiendo o no ser revertidos en sus inicios por los mecanismos celulares de defensa; y teratógenos, los cuales son el producto del daño inducido sobre un organismo en desarrollo o en periodo de gestación, tiempo en el que los seres humanos son altamente vulnerables a los tóxicos externos [3].

La epigenética es una ciencia que hace referencia a todos los mecanismos que regulan la expresión genética sin alterar la secuencia de nucleótidos en el ADN (Figura 1). La metilación del ADN es una marca epigenética que juega un papel esencial en la regulación de la expresión genética [4]. Las islas CpG (regiones de pares de citosina – guanina enlazados por un fosfato) son regiones de metilación del ADN; en genes promotores, se sabe que regulan la expresión génica mediante el silenciamiento transcripcional del gen correspondiente. La metilación del ADN en estas regiones -islas CpG- es crucial para la expresión genética y los procesos tejido-específicos. Sin embargo, los niveles de expresión rara vez se ven afectados por la metilación del ADN en tejidos adultos normales [4]. La metilación alterada del ADN se puede dividir en dos tipos: hipermetilación e hipometilación [5]. La hipermetilación puede conducir a la inhibición de la expresión génica (silenciamiento genético) del gen correspondiente; mientras que se ha observado hipometilación en elementos repetitivos en todo el genoma [5].

La epigenética incluye procesos de interacción de factores genéticos y no genéticos involucrados en el control de patrones hereditarios de expresión génica [6]. El resultado es el control de la expresión de genes por medio de la modulación de la estructura de la cromatina (a nivel de histonas); organización cromosómica; regulación de la maquinaria transcripcional ADN-ARN; y la denominada impronta genómica [5]. Este último término se refiere a que, dado que los humanos heredamos dos copias de cada gen (una de cada progenitor), algunas veces una de esas copias es “apagada epigenéticamente” (a menudo mediante metilación) en etapas tempranas del desarrollo, lo cual puede desenmascarar efectos deletéreos, incluyendo una serie de enfermedades y trastornos con este tipo de impronta genómica, incluidos el síndrome de Angelman, el síndrome de Prader-Willi y el síndrome de Beckwith-Wiedemann [6].

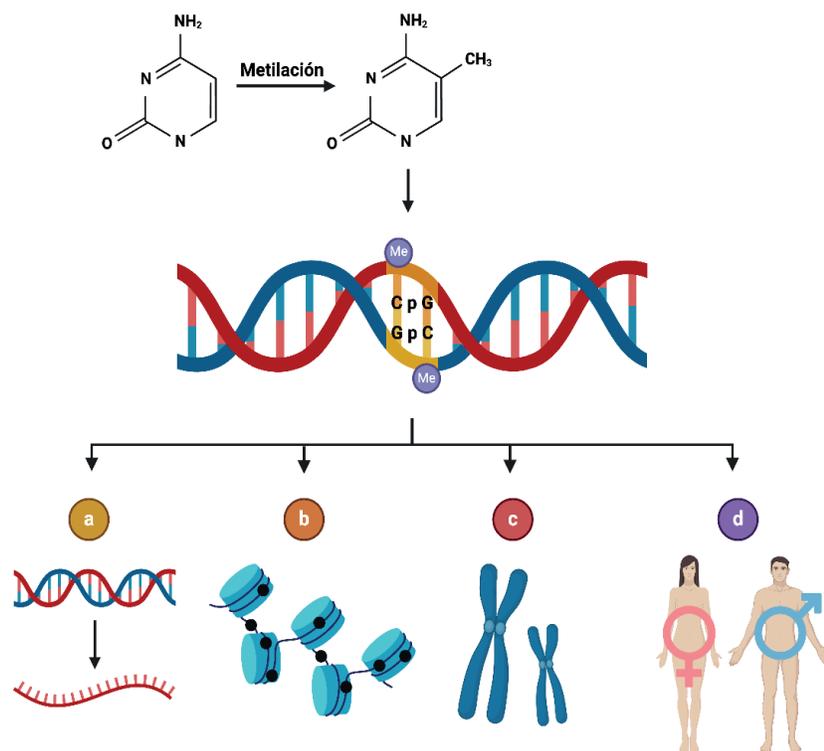


Figura 1. Algunas alteraciones epigenéticas: a) transcripción de ADN en ARN, b) estructura de la cromatina, c) integridad cromosómica, d) impronta genómica. (Elaborado con BioRender).

Investigaciones recientes en animales proporcionan evidencia de las modificaciones epigenéticas involucradas en alteraciones fisicoquímicas, que en última instancia conducen a la etiología de trastornos complejos, como cáncer, infertilidad, procesos inflamatorios y disrupción endocrina [7]. Los mecanismos de modificación epigenética pueden ser también modulados por numerosos factores externos, incluyendo estímulos ambientales como la dieta extrema, el estrés, la actividad física, hábitos de trabajo, el fumado, y el consumo del alcohol [8]. El estudio continuo en epigenética ha demostrado su importancia en las enfermedades autoinmunes, enfermedades congénitas, impedimentos en el desarrollo cognitivo, y desórdenes neuropsiquiátricos, entre otros [9].

El medio ambiente como factor causal

Existen compuestos a los cuales estamos en contacto a diario, los cuales han demostrado poseer efectos genotóxicos según su concentración y exposición. Entre ellos, se encuentran partículas plásticas; algunos ingredientes en cosméticos; algunos aditivos para comida, tales como sulfito de sodio, ácido bórico, y ácido benzoico [10]; colorantes de comida como carmoisina, y amarillo metanilo [11]; el dióxido de titanio [12, 13]; el edulcorante acesulfamo de potasio [14, 15]; y de manera especial los metales pesados, como cadmio (Cd), plata (Ag), cobre (Cu), mercurio (Hg) y arsénico (As) [16, 17].

El potencial genotóxico de las partículas de plástico ha sido resaltado en los últimos años. Se ha demostrado que las nanopartículas de poliestireno, uno de los plásticos más usados actualmente, contiene actividad genotóxica en células humanas [18]. Esto mismo se ha

encontrado en estudios con nanopartículas de tereftalato de polietileno -PET, por sus siglas en inglés- [19, 20]. Por su parte, el bisfenol A (BPA), presenta potencial de inducir genotoxicidad aun a dosis bajas; lo anterior es importante pues es uno de los componentes más usados a nivel industrial para la fabricación de plásticos y resinas epóxicas como plastificante, utilizado en la manufactura de materiales de contenedores y empaques de comidas y bebidas, revestimiento de latas, biberones, juguetes, diversos productos de consumo de papel, entre otros; además del potencial de inducir genotoxicidad, estos plásticos pueden causar diferentes alteraciones al sistema reproductivo, al metabolismo, al desarrollo puberal, al desarrollo en infantes y al desarrollo neurológico [21, 22, 23].

Asimismo, los metales pesados son de gran interés en el estudio de la genotoxicidad. Las nanopartículas de óxido de zinc, las cuales son utilizadas ampliamente en productos de cuidado personal, bloqueadores solares, ungüentos, pigmentos, revestimientos (protección contra la luz ultravioleta y fungicidas en pinturas), aditivos alimentarios, catalizadores, cemento, caucho, y plástico [24], han demostrado ser potencialmente genotóxicas [25].

Por otra parte, los metales pesados tales como As, Cd y Hg tienen efectos nocivos para la salud humana, y la exposición a estos se ha incrementado por actividades no solo antropogénicas, sino también geogénicas; estos metales son contaminantes ambientales de origen natural, especialmente de suelos volcánicos, los cuales pueden ser especialmente peligrosos cuando son endémicos en el lugar de residencia y, por ende, la exposición de las personas a estas partículas es casi inevitable [26]. Lo anterior es preocupante dado que se ha observado que algunos metales como el arsénico, cadmio y cromo pueden alterar la síntesis y reparación del ADN, además de ser carcinogénicos [27].

Mecanismos de acción

Los compuestos genotóxicos y epigenotóxicos pueden causar diferentes daños en el ADN y alteraciones en el patrón de transcripción dependiendo de su naturaleza (Figura 2). Los agentes 'reactivos al ADN' causan principalmente daño directo por formación de aductos de ADN covalente y mediante entrecruzamiento (es decir, enlaces cruzados de ADN intracadena, enlaces cruzados de ADN entre cadenas, y enlaces cruzados ADN-proteína). Por el contrario, los agentes 'no reactivos al ADN' dan lugar a daños a través de mecanismos indirectos, por ejemplo, mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS), o interfiriendo con componentes celulares implicados en el mantenimiento de la estabilidad genómica [28].

En el caso de los metales pesados, estos pueden causar daños genéticos por medio de múltiples vías; entre ellas se encuentran la creación de micronúcleos, aberraciones cromosómicas y daño del ADN a nivel molecular [28]. También el daño depende de su identidad química [17]; por ejemplo, el arsénico inorgánico tiene la capacidad de causar estrés oxidativo a través de ROS, los cuales pueden evitar la reparación del ADN mediante la inactivación de enzimas vitales para este proceso, a la vez que rompen las hebras de ADN y generan mutaciones que incrementan el riesgo de cáncer. Además, el arsénico puede causar modificaciones epigenéticas a través de alteraciones en la metilación del ADN y la producción de microARN [29]. Resultados similares se han reportado en estudios con otros metales como plomo, mercurio, cromo y cadmio [27, 36, 37].

Daños similares a estos se han descrito producidos por los microplásticos [23, 30, 31], nanopartículas de dióxido de titanio [32, 33], y nanopartículas de óxido de zinc [34, 35]. Otros compuestos genotóxicos no metálicos como el bisfenol A pueden alterar la metilación del ADN, así como generar modificaciones en las histonas, los cuales pueden desembocar en cáncer y alteraciones neurológicas [22], además de poder inducir la ruptura del ADN [38, 39].

Se han desarrollado diversos ensayos de laboratorio que permiten evidenciar estos procesos, tales como: mutaciones de genes mediante el Test De Ames, daños en el ADN por medio del Ensayo Cometa, y daños cromosómicos mediante Ensayo de Micronúcleos [5].

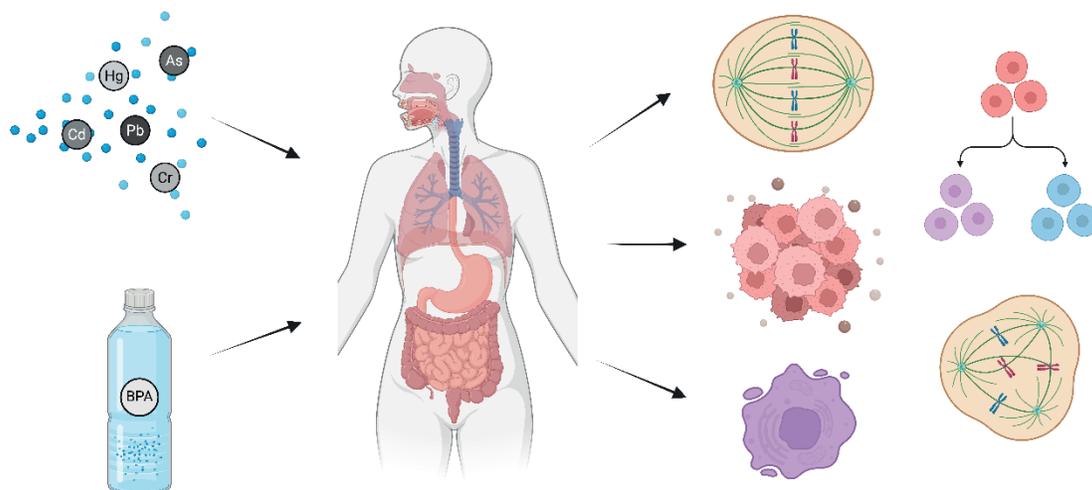


Figura 2. Procesos celulares alterados por el contacto crónico con metales pesados y plásticos como el bisfenol A (BPA) (Elaborado con BioRender).

Análisis de riesgo a la salud humana por exposición a sustancias genotóxicas

Los datos de genotoxicidad se interpretan principalmente de forma cualitativa, lo que normalmente da como resultado una clasificación binaria de entidades químicas (tiene capacidad de provocar genotoxicidad una sustancia, sí o no). Actualmente, se discuten las oportunidades en la determinación de un punto de referencia (por ejemplo, una dosis de referencia) a partir de datos genéticos de dosis-respuesta de toxicidad, seguidos del cálculo de un margen de exposición (MOE, por sus siglas en inglés, *margin of exposure*) o la derivación de una guía basada en valores de salud (HBGV, por sus siglas en inglés, *health-based guidance value*). Además, con respecto a los mutágenos reactivos al ADN, surge la pregunta de si el supuesto ampliamente aceptado de una relación dosis-respuesta sin umbral, es compatible con la derivación de un HBGV. Por lo tanto, en la actualidad, cualquier enfoque de evaluación cuantitativa de la genotoxicidad aún está por resolverse y es evaluado caso por caso [28].

La interpretación cuantitativa de los datos de genotoxicidad *in vivo* con fines de priorización, por ejemplo, en conexión con el enfoque del MOE, podría verse como una oportunidad prometedora para su aplicación rutinaria. Para seguir avanzando en la evaluación cuantitativa de la genotoxicidad, se debe dar prioridad al desarrollo de nuevos métodos experimentales para proporcionar una comprensión mecanicista más profunda y una base más completa para el análisis de la relación dosis-respuesta. Los resultados de las pruebas de genotoxicidad desempeñan un papel especial en la evaluación y gestión de riesgos químicos para los consumidores. Este se debe principalmente al carácter irreversible y a la particular gravedad de los efectos adversos para la salud que pueden derivarse de eventos genotóxicos [28].

Reversión de daño oxidativo y quimio prevención

La quimio prevención se define como el uso de agentes químicos naturales o sintéticos para revertir, suprimir o prevenir la progresión cancerígena [40]. Muchos agentes quimiopreventivos son fitoquímicos, es decir, sustancias químicas vegetales no nutritivas que tienen propiedades protectoras o preventivas de enfermedades. Además, los compuestos naturales ejercen quimio prevención mediante la modulación del estado oxidación-reducción (redox) de las células. En varios casos, estos cambios en el entorno redox celular pueden conducir a otros resultados; por ejemplo, algunos fitoquímicos pueden actuar como antioxidantes y proteger del daño al ADN inducido por ROS, previniendo así la mutagénesis y el inicio de la carcinogénesis [40].

Los agentes y suplementos dietéticos son fuentes importantes de antioxidantes y están destinados únicamente a proteger los organismos aeróbicos de los efectos tóxicos de los radicales libres y los oxidantes [41]. Los antioxidantes neutralizan el estrés oxidativo, ya sea enzimáticamente (superóxido dismutasa [SOD], catalasa [CAT] o glutatión peroxidasa) o no enzimáticamente (vitaminas C, E o β -caroteno) para proteger las organelas. Varios estudios epidemiológicos han demostrado que los cambios en el estilo de vida y los hábitos alimentarios podrían prevenir o reducir la incidencia del cáncer (Figura 3), donde lo más importante es aumentar el nivel de antioxidantes y disminuir la formación de radicales libres con efecto intracelular [41].

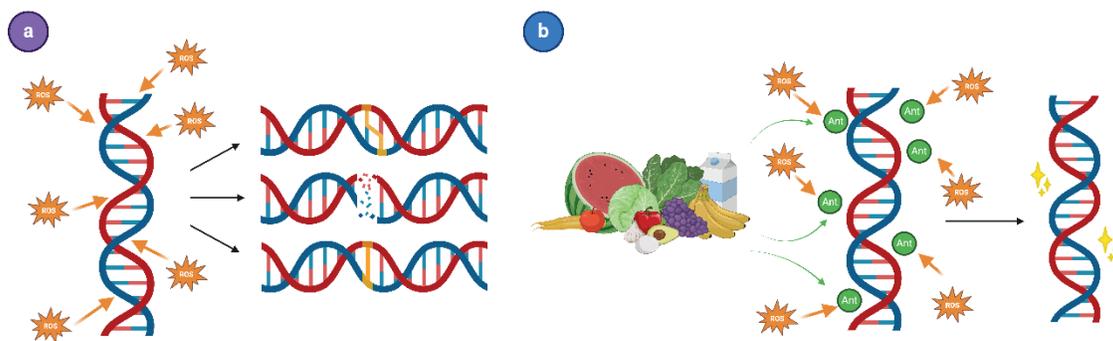


Figura 3. a) Especies reactivas de oxígeno (ROS) interactuando con ADN. b) Antioxidantes provenientes de los alimentos pueden neutralizar los efectos nocivos de los ROS. (Elaborado con BioRender).

Investigaciones en genotoxicidad en el Centro de Investigación en Biotecnología

En las áreas de investigación del Centro de Investigación en Biotecnología (CIB) del Instituto Tecnológico de Costa Rica se incluye el área de "Toxicidad", liderada por la Dra. Virginia Montero Campos. Su grupo de investigación se ha dedicado al estudio de diversos agentes genotóxicos, incluyendo bacterias, microplásticos y metales pesados. En el caso de *Helicobacter pylori* [42], se confirmó que en cantones de alta incidencia de cáncer gástrico existía un 39% de prevalencia de esta bacteria en muestras de agua de la zona, mientras que en áreas de baja incidencia la bacteria se encontró solamente en 7.5% de las muestras. Los estudios en arsénico [43] han demostrado la presencia de este metal pesado en agua potable. Actualmente se investigan las causas de la Enfermedad Renal Crónica de causas Desconocidas en Costa Rica en poblaciones de la provincia de Guanacaste, y específicamente se está explorando la relación de genotoxicidad inducida en la población afectada por la presencia de metales pesados en polvo respirable en las zonas de estudio [44]. También se está investigando el

riesgo de los microplásticos, particularmente en especies marinas de consumo humano, donde se confirmó la presencia de BPA y otros agentes genotóxicos en hasta 34% de las muestras [45].

Conclusiones

El estudio de la posible genotoxicidad inducida por compuestos ampliamente distribuidos en la naturaleza, es motivo de gran preocupación por los científicos actualmente, ya que esto es un problema de salud transferible a las generaciones futuras. Debido a la dificultad y el costo económico del efecto particular de muchos compuestos genotóxicos en la salud humana y particularmente en muchas enfermedades de reciente reconocimiento, es relevante la investigación de la presencia de estas sustancias en Costa Rica, y la evaluación del riesgo de la exposición humana a los mismos, así como el desarrollo de estrategias de prevención y mitigación del daño.

Referencias

- [1] B. Kopp, L. Khoury, and M. Audebert, "Validation of the γ H2AX biomarker for genotoxicity assessment: a review," *Archives of Toxicology*, vol. 93, no. 8, pp. 2103–2114, Jul. 2019, doi: 10.1007/s00204-019-02511-9.
- [2] International Agency for Research on Cancer, "Agents Classified by the IARC Monographs, Volumes 1–128 – IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans," *monographs.iarc.who.int*, Dec. 01, 2023. <https://monographs.iarc.who.int/agents-classified-by-the-iarc/>
- [3] D. H. Phillips and V. M. Arlt, "Genotoxicity: damage to DNA and its consequences," *EXS*, vol. 99, pp. 87–110, 2009, doi: 10.1007/978-3-7643-8336-7_4.
- [4] W.-J. Lim, K. H. Kim, J.-Y. Kim, S. Jeong, and N. Kim, "Identification of DNA-Methylated CpG Islands Associated with Gene Silencing in the Adult Body Tissues of the Ogye Chicken Using RNA-Seq and Reduced Representation Bisulfite Sequencing," *Frontiers in Genetics*, vol. 10, pp. 1-15, Apr. 2019, doi: 10.3389/fgene.2019.00346.
- [5] N. Ren, M. Atyah, W.-Y. Chen, and C.-H. Zhou, "The various aspects of genetic and epigenetic toxicology: testing methods and clinical applications," *Journal of Translational Medicine*, vol. 15, no. 1, pp. 7-10, May 2017, doi: 10.1186/s12967-017-1218-4.
- [6] I. Lacal and R. Ventura, "Epigenetic Inheritance: Concepts, Mechanisms and Perspectives," *Frontiers in Molecular Neuroscience*, vol. 11, no. 292, pp. 2-11, Sep. 2018, doi: 10.3389/fnmol.2018.00292.
- [7] Y. Zhou, J. Liu, and L. Qian, "Epigenomic Reprogramming in Cardiovascular Disease," *Elsevier eBooks*, pp. 149–163, Jan. 2019, doi: 10.1016/b978-0-12-814513-5.00010-6.
- [8] C. Pagiatakis, E. Musolino, R. Gornati, G. Bernardini, and R. Papait, "Epigenetics of aging and disease: a brief overview," *Aging Clinical and Experimental Research*, vol. 33, pp. 737-745, Dec. 2019, doi: 10.1007/s40520-019-01430-0.
- [9] L. Zhang, Q. Lu, and C. Chang, "Epigenetics in Health and Disease," *Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol. 1253, pp. 3–55, 2020, doi: 10.1007/978-981-15-3449-2_1.
- [10] I. El-Hefny, "Evaluation of Genotoxicity of Three Food Preservatives in *Drosophila Melanogaster* Using Smart and Comet Assays", *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, vol. 10, no. 1, pp. 38–41, Aug. 2020, doi: 10.15414/jmbfs.2020.10.1.38-41.
- [11] I. S. Khan, Md. N. Ali, R. Hamid, and S. A. Ganie, "Genotoxic effect of two commonly used food dyes metanil yellow and carmoisine using *Allium cepa* L. as indicator," *Toxicology Reports*, vol. 7, pp. 370–375, 2020, doi: 10.1016/j.toxrep.2020.02.009.
- [12] M. Gea, S. Bonetta, L. Iannarelli, A. M. Giovannozzi, V. Maurino, S. Bonetta, V. D. Hodoroaba, C. Armato, A. M. Rossi and T. Schilirò, "Shape-engineered titanium dioxide nanoparticles (TiO₂-NPs): cytotoxicity and genotoxicity in bronchial epithelial cells," vol. 127, pp. 89–100, May 2019, doi: 10.1016/j.fct.2019.02.043.
- [13] L. Bellani, S. Muccifora, F. Barbieri, E. Tassi, M. Ruffini Castiglione, and L. Giorgetti, "Genotoxicity of the food additive E171, titanium dioxide, in the plants *Lens culinaris* L. and *Allium cepa* L.," *Mutation Research/ Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, vol. 849, p. 503142, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.mrgen-tox.2020.503142.

- [14] S. Mamur, D. Yüzbaşıoğlu, S. N. Bülbül, and F. Ünal, "Investigation of cyto-genotoxic effects of a food sweetener Acesulfame potassium," *Food and Health*, vol. 8, no. 4, pp. 273–283, 2022, doi: 10.3153/fh22025.
- [15] F. F. Mohammed, E. G. Abdelrazik, A. Anwar, and S. S. Abdelgayed, "Hepatic P53 upregulation and the genotoxic potential of acesulfame-K treatment in rats with a special emphasis on in vitro lymphocyte and macrophage activity testing," *Human & experimental toxicology*, vol. 43, pp. 1-9, Jan. 2024, doi: <https://doi.org/10.1177/09603271241236900>.
- [16] E. Demir and Fatma Turna Demir, "Genotoxicity responses of single and mixed exposure to heavy metals (cadmium, silver, and copper) as environmental pollutants in *Drosophila melanogaster*," *Environmental toxicology and pharmacology*, vol. 106, pp. 104390–104390, Mar. 2024, doi:10.1016/j.etap.2024.104390.
- [17] K. Kocadal, F. Alkas, D. Battal, and S. Saygi, "Cellular pathologies and genotoxic effects arising secondary to heavy metal exposure: A review," *Human & Experimental Toxicology*, vol. 39, no. 1, pp. 3–13, Sep. 2019, doi: 10.1177/0960327119874439
- [18] A. Poma, G. Vecchiotti, S. Colafarina, O. Zarivi, M. Aloisi, L. Arrizza, G. Chichiriccò, and P. D. Carlo, "In Vitro Genotoxicity of Polystyrene Nanoparticles on the Human Fibroblast Hs27 Cell Line," *Nanomaterials*, vol. 9, no. 9, p. 1299, Sep. 2019, doi: 10.3390/nano9091299.
- [19] M. Roursgaard, M. Hezareh Rothmann, J. Schulte, I. Karadimou, E. Marinelli, and P. Møller, "Genotoxicity of Particles from Grinded Plastic Items in Caco-2 and HepG2 Cells," *Frontiers in Public Health*, vol. 10, pp. 1-15, Jul. 2022, doi: 10.3389/fpubh.2022.906430.
- [20] M. Alzaben, R. Burve, K. Loeschner, P. Møller, and M. Roursgaard, "Nanoplastics from ground polyethylene terephthalate food containers: Genotoxicity in human lung epithelial A549 cells," *Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis*, vol. 892, pp. 503705–503705, Nov. 2023, doi: 10.1016/j.mrgentox.2023.503705.
- [21] A. Anet, S. Olakkaran, A. Kizhakke Purayil, and G. Hunasanahally Puttaswamygowda, "Bisphenol A induced oxidative stress mediated genotoxicity in *Drosophila melanogaster*," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 370, pp. 42–53, May 2019, doi: 10.1016/j.jhazmat.2018.07.050.
- [22] T. Qin, X. Zhang, T. Guo, T. Yang, Y. Gao, W. Hao, and X. F. Xiao, "Epigenetic Alteration Shaped by the Environmental Chemical Bisphenol A" *Frontiers in Genetics*, vol. 11, pp. 1-7, Jan. 2021, doi: 10.3389/fgene.2020.618966.
- [23] V. Montero-Campos, Lucía Noboa-Jiménez, and L. Gómez-Vargas, "Toxicología de micro y nanoplásticos: riesgo de tóxicos a dosis baja y cambios epigenéticos," *Tecnología en marcha*, vol.36, no. 4, pp. 1-12 Oct. 2023, doi:10.18845/tm.v36i4.6417.
- [24] S. Singh, "Zinc oxide nanoparticles impacts: cytotoxicity, genotoxicity, developmental toxicity, and neurotoxicity," *Toxicology Mechanisms and Methods*, vol. 29, no. 4, pp. 300–311, Jan. 2019, doi: 10.1080/15376516.2018.1553221.
- [25] T. R. Cardozo, R. F. De Carli, A. Seeber, W. H. Flores, J. A. N. da Rosa, Q. S. G. Kotzal, M. Lehmann, F. R. da Silva, and R. R. Dihl, "Genotoxicity of zinc oxide nanoparticles: an in vivo and in silico study," *Toxicology Research*, vol. 8, no. 2, pp. 277–286, 2019, doi: 10.1039/c8tx00255j.
- [26] J. Bundschuh, J. P. Maity, S. Mushtaq, M. Vithanage, S. Seneweera, J. Schneider, P. Bhattacharya, N. I. Khan, I. Hamawand, L. R. G. Guilherme, K. Reardon-Smith, F. Parvez, N. Morales-Simfors, S. Ghaze, C. Pudmenzky, L. Kouadio, and C. Y. Chen, "Medical geology in the framework of the sustainable development goals," *Science of The Total Environment*, vol. 581–582, pp. 87–104, Mar. 2017, doi: 10.1016/j.scitotenv.2016.11.208.
- [27] M. Balali-Mood, K. Naseri, Z. Tahergorabi, M. R. Khazdair, and M. Sadeghi, "Toxic Mechanisms of Five Heavy Metals: Mercury, Lead, Chromium, Cadmium, and Arsenic," *Frontiers in Pharmacology*, vol. 12, no. 643972, pp. 1-19 Apr. 2021, doi: 10.3389/fphar.2021.643972.
- [28] J. Menz, M. E. Götz, U. Gündel, R. Gürtler, K. Herrmann, S. Hessel-Pras, C. Kneuer, F. Kolrep, D. Nitzsche, U. Pabel, B. Sachse, S. Schmeisser, D. M. Schumacher, T. Schwerdtle, T. Tralau, S. Zellmer, and B. Schäfer, "Genotoxicity assessment: opportunities, challenges and perspectives for quantitative evaluations of dose-response data," *Archives of Toxicology*, vol. 97, no. 9, pp. 2303–2328, Jul. 2023, doi: 10.1007/s00204-023-03553-w.
- [29] M. Ozturk, M. Metin, V. Altay, R. A. Bhat, M. Ejaz, A. Gul, B. T. Unal, M. Hasanuzzaman, L. Nibir, K. Nahar, A. Bukhari, M. A. Dervash, and T. Kawano, "Arsenic and Human Health: Genotoxicity, Epigenomic Effects, and Cancer Signaling," *Biological Trace Element Research*, vol. 200, no. 3, pp. 988–1001, Apr. 2021, doi: 10.1007/s12011-021-02719-w.
- [30] C. G. Alimba, C. Faggio, S. Sivanesan, A. L. Ogunkanmi, and K. Krishnamurthi, "Micro(nano)-plastics in the environment and risk of carcinogenesis: Insight into possible mechanisms," *Journal of Hazardous Materials*, vol. 416, p. 126143, Aug. 2021, doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.126143.



- [31] A. T. Batista Guimarães, F. Neves Estrela, P. S. Pereira, J. E. de Andrade Vieira, A. S. de Lima Rodrigues, F. Guimarães Silva, and G. Malafaia, "Toxicity of polystyrene nanoplastics in *Ctenopharyngodon idella* juveniles: A genotoxic, mutagenic and cytotoxic perspective," *Science of The Total Environment*, vol. 752, pp. 141937–141937, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.141937.
- [32] K. A. Delmond, T. Vicari, I. C. Guiloski, A. C. Dagostim, C. L. Voigt, H. C. Silva de Assis, W. A. Ramsdorf, and M. M. Cestari, "Antioxidant imbalance and genotoxicity detected in fish induced by titanium dioxide nanoparticles (NpTiO₂) and inorganic lead (PbII)," *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 67, pp. 42–52, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.etap.2019.01.009.
- [33] K. Shahzad, M. N. Khan, F. Jabeen, A. S. Chaudhry, M. K. Ahmad Khan, C. Ara, and M. S. Khan, "Study of Some Toxicological Aspects of Titanium Dioxide Nanoparticles Through Oxidative Stress, Genotoxicity, and Histopathology in Tilapia, *Oreochromis mossambicus*," *BioNanoScience*, vol. 12, pp. 1116–1124, Aug. 2022, doi: 10.1007/s12668-022-01024-7.
- [34] K. Shahzad, M. Naeem Khan, F. Jabeen, N. Kosour, A. Shakoor Chaudhry, M. Sohail, and N. Ahmad, "Toxicity of zinc oxide nanoparticles (ZnO-NPs) in tilapia (*Oreochromis mossambicus*): tissue accumulation, oxidative stress, histopathology and genotoxicity," *International Journal of Environmental Science and Technology*, vol. 16, no. 4, pp. 1973–1984, May 2018, doi: 10.1007/s13762-018-1807-7.
- [35] R. Belal and A. Gad, "Zinc oxide nanoparticles induce oxidative stress, genotoxicity, and apoptosis in the hemocytes of *Bombyx mori* larvae," *Scientific Reports*, vol. 13, no. 1, p. 3520, Mar. 2023, doi: 10.1038/s41598-023-30444-y.
- [36] L. Neeratanaphan, C. Kamoller, P. Suwannathada, P. Suwannathada, and B. Tengjaroenkul, "Genotoxicity and Oxidative Stress in Experimental Hybrid Catfish Exposed to Heavy Metals in a Municipal Landfill Reservoir," *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, no. 6, p. 1980, Mar. 2020, doi: 10.3390/ijerph17061980.
- [37] S. Hemmaphan and N. K. Bordeerat, "Genotoxic Effects of Lead and Their Impact on the Expression of DNA Repair Genes," vol. 19, no. 7, pp. 4307–4307, Apr. 2022, doi: 10.3390/ijerph19074307.
- [38] K. Hercog, S. Maisanaba, M. Filipič, M. Sollner-Dolenc, L. Kač, and B. Žegura, "Genotoxic activity of bisphenol A and its analogues bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF and their mixtures in human hepatocellular carcinoma (HepG2) cells," *Science of The Total Environment*, vol. 687, pp. 267–276, Oct. 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.05.486.
- [39] M. Sendra, M. Štampar, K. Fras, B. Novoa, A. Figueras, and B. Žegura, "Adverse (geno)toxic effects of bisphenol A and its analogues in hepatic 3D cell model," *Environment International*, vol. 171, p. 107721, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.envint.2022.107721.
- [40] H. J. Forman and H. Zhang, "Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy," *Nature Reviews Drug Discovery*, vol. 20, no. 9, pp. 689–709, Jun. 2021, doi: 10.1038/s41573-021-00233-1.
- [41] John, M. K. Ankem, and Chendil Damodaran, "Oxidative Stress: a Promising Target for Chemoprevention," *Current Pharmacology Reports*, vol. 2, no. 2, pp. 73–81, Feb. 2016, doi: 10.1007/s40495-016-0052-3.
- [42] V. Montero, A. Hernández, and J. C. Sandoval "Culture and Molecular Identification, of *Helicobacter pylori* in Drinking Water from Areas of High and Low Incidence of Gastric Cancer in Costa Rica," *Open Journal of Medical Microbiology*, vol. 4, no. 4, pp. 261-269, Dec. 2014, doi:10.4236/ojmm.2014.44030.
- [43] V. Montero, J. Quesada, A. Ledezma, and J. Sandoval, "Determination of arsenic in drinking water for human consumption in the province of Cartago," *Acta Médica Costarricense*, vol. 52, no. 2, pp. 96-101, 2010.
- [44] B. Valdés-Rodríguez, V. Montero-Campos, and M. G. Siebecker, "Causes of Chronic Kidney Disease of Non-Traditional Origin in Central America: An Approach Based on Medical Geology," *Geosciences*, vol. 13, no. 360, pp. 1-12, Nov. 2023, doi: 10.3390/geosciences13120360.
- [45] V. Montero, Y. Chinchilla, L. Gómez, A. Flores, A. Medaglia, R. Guillen, and E. Montero, "Human health risk assessment for consumption of microplastics and plasticizing substances through marine species," *Environmental Research*, vol. 237, no. 1, pp. 1-10, Aug. 2023, doi: 10.1016/j.envres.2023.116843