



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EVALUACIÓN DEL DAÑO GENOTÓXICO POR
EXPOSICIÓN A PLAGUICIDAS EN NIÑOS EN EL
MUNICIPIO MIXQUIAHUALA DE JUÁREZ,
HIDALGO, MÉXICO**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGA

P R E S E N T A:

YARED GUTIÉRREZ PINZÓN



**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. SANDRA LUZ GÓMEZ ARROYO**

2016

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

1. Datos de la alumna
Gutiérrez
Pinzón
Yared
57518529
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Biología
306054952
2. Datos del tutor
Dra.
Sandra Luz
Gómez
Arroyo
3. Datos del sinodal 1
Dr.
Luis Felipe
Jiménez
García
4. Datos del sinodal 2
Dr.
Pedro Rafael
Valencia
Quintana
5. Datos del sinodal 3
M. en C.
Ana Rosa
Flores
Márquez
6. Datos del sinodal 4
M. en C.
Juana
Sánchez
Alarcón
7. Datos del trabajo escrito
Evaluación del daño genotóxico por exposición a plaguicidas en
niños en el municipio de Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo,
México
77 p.
2016

Agradecimientos

Agradezco a las autoridades así como a los pobladores del Municipio de Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo por su apoyo y colaboración en la realización de este trabajo. Especialmente a las madres y los niños participantes, sin ustedes este trabajo no hubiera sido posible.

Agradezco especialmente a la **Dra. Sandra Luz Gómez Arroyo** por su apoyo. Por creer en mí y tener tanta paciencia en la culminación de este trabajo. Lamento la demora.

A mis sinodales: Dr. Luis Felipe Jiménez García y al Dr. Pedro Rafael Valencia por sus correcciones y comentarios pertinentes. A la M. en C. Ana Rosa Flores Márquez por su apoyo. A la M. en C. Juana Sánchez Alarcón, por todas sus iluminaciones, cuestionamientos, sugerencias y apoyo ¡Gracias!

Agradezco y dedico este escrito a mi inigualable compañera y amiga de muestreos, laboratorio, comidas, desesperos e iluminaciones: **Lyz**, ¡Muchas gracias por estar conmigo en los momentos difíciles –te odiamos Ensayo Cometa- y en los de glotonería! Por alimentarme con enormes y deliciosas manzanas, por soportar mi carácter (que ya es mucho), por esos chismes y anécdotas chistosas. Y por enseñarme que efectivamente el trabajo en equipo (en esta ocasión de dos) resulta mejor que hacerlo de manera egoísta e individual. ¡Te quiero Lyz!

Dedicatorias

A **mis padres** (pequeñita y R2D2) que con tanto esfuerzo han intentado educarme (aunque sinceramente nunca lo lograrán). Por todas sus enseñanzas, motivaciones y correctivos educacionales. Gracias por enseñarme cosas valiosas como aplaudir mientras acentúo, o a que no debes confiar en el de al lado por más “buena onda” que sea, mientras juegues UNO o dominó (te estoy viendo a ti madre mía ¬_¬) Mi mayor inspiración siempre han sido ustedes. Por sus sacrificios (que fueron muchos) y por su fe en mí. ¡Los amo!

A mi hermana **Machi** que a pesar de todo eres mi mejor amiga, confidente, y mi porrista oficial ¡Gracias por esas terapeadas gratuitas! Sabes que eres mi persona favorita en el mundo ¡Te amo pequeña!

A **mis abuelos** Roberto (una estrellita más) y Flora, ¡Gracias por todas sus enseñanzas!... y los dulces, y la comida, y los paseos, y las risas, y las anécdotas universitarias ¡los amo!

A todos mis primos, tíos y sobrinos, ¡Por todo, gracias!

A **Glow** mi hermaniamiga BFF por TODO –menos por los pasteles y galletas que presumes y no compartes- (*in the ghetto*) ¡Te quiero harto!

A mi **Apá biolósofo adoptivo Jorge** por echarme porras para las dos carreras. También por las salidas y chistes anti estrés y también por sus múltiples terapeadas ¡Lo quiero Apá!

A **Isa**, por tenerme presente a pesar de la distancia (tenemos que cambiar eso) ¡Te quiero!

A **Aída** por esas comidas, risas y charlas después de atormentarnos en el laboratorio.

A **Vicky** por todo su apoyo administrativo y técnico ¡Gracias!

A la maquinita de chucherías del CCA por mantenernos bien alimentadas los fines de semana y en las vacaciones administrativas, así como a la maquinita de refrescos de Geofísica por quitarnos el antojo y la sed.

Y por supuesto a mi tosca guerrera: Compu ¡gracias por soportas los golpes, caídas y apagones!

...en memoria de Piccolo, Junior, Chetito, Motita y Momiji.

Índice

Resumen	6
Introducción	7
Antecedentes	9
Generalidades de los plaguicidas	9
Tipos de exposición a plaguicidas	12
Efectos de plaguicidas en poblaciones infantiles	13
Biomarcadores	15
Prueba de MN	16
Alteraciones nucleares	19
Células de la mucosa oral en el estudio genotóxico	22
Evaluación del estado nutricional	24
Factores sociales y culturales en niños con riesgo de exposición indirecta y ambiental a plaguicidas en el Municipio de Mixquiahuala	28
Justificación	33
Objetivo general	36
Objetivos particulares	36
Hipótesis general	36
Hipótesis particulares	36
Materiales y métodos	37
Sitio de estudio	37
Población de estudio	38
Cuestionario, mediciones antropométricas y toma de muestra de epitelio bucal	39
Procedimiento para realizar la prueba de MN	41

Análisis estadístico	42
Resultados	43
Discusión	57
Conclusiones y consideraciones	68
Referencias	70
Anexo I	76

Resumen

El uso indiscriminado de plaguicidas en poblaciones rurales, especialmente aquellas pertenecientes a países en desarrollo constituye un riesgo para la salud. Y en el caso de los niños el riesgo es aún mayor, pues pertenecen a un sector poblacional muy vulnerable debido a sus características anatómicas, fisiológicas y conductuales.

El objetivo principal de este estudio fue evaluar el riesgo genotóxico en niños que viven en hogares cercanos a las áreas agrícolas con intensa aplicación de mezclas de plaguicidas en el Municipio de Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo. Esto se realizó mediante la prueba de micronúcleos (MN) y anomalías nucleares en epitelio de la mucosa oral. Además, a cada niño participante se le realizó un cuestionario breve acerca de sus antecedentes patológicos y no patológicos, así como algunos hábitos comunes como su alimentación o lugar de juego. Así mismo, se les tomaron medidas antropométricas que incluían el peso, la talla y la circunferencia de cintura, esto con el fin de determinar su estado de nutrición y patrón de crecimiento.

Los resultados obtenidos indican que no existe una diferencia significativa entre la frecuencia de MN de individuos expuestos y no expuestos ambientalmente a plaguicidas. Sin embargo, las diferencias entre las frecuencias de células binucleadas, cariolíticas, picnóticas y cariorréxicas, si fueron significativas entre ambos grupos. Lo que indica un bloqueo en la citocinesis celular del tejido epitelial bucal, así como un proceso de muerte tisular. Se considera que esto se debe a la combinación de la exposición a plaguicidas y el estado de desnutrición (que también presenta la población no expuesta), evaluada por medio del Índice de Masa Corporal. Lo cual incrementa el riesgo de daño genético, de intoxicación y de padecer enfermedades del tipo infeccioso.

Por último, algunos factores sociales que pueden intervenir en el análisis de daño genotóxico también fueron evaluados. Como la exposición indirecta al humo de leña, de quema de basura y tabaco. Así como la edad y el género. Aunque ninguno mostró una correlación significativa con la frecuencia de MN en mucosa oral.

Introducción

La genética toxicológica es una disciplina cuyo objetivo es identificar, estudiar, y analizar los mecanismos e interacciones de los agentes físicos, químicos y biológicos, que inducen mutaciones genéticas en los seres vivos (Creus, 2001; Cuenca y Ramírez, 2004). Uno de los grupos de agentes químicos estudiados con mayor frecuencia es el de los plaguicidas.

El uso de plaguicidas como un medio de control de plagas y como una opción para el fortalecimiento de la agricultura mexicana, comenzó en los años cuarenta, con la introducción del DDT (Dicloro Difenil Tricloroetano) y otros plaguicidas organoclorados; aunque su uso se intensificó con la llamada “Revolución Verde”, a través de la introducción de compuestos organofosforados, carbamatos y otros herbicidas y fungicidas. Esto con la firme promesa de una mayor producción agrícola, abaratamiento de los alimentos y reducción de la pobreza rural. Sin embargo, esto no ocurrió y aquellos supuestos beneficios solo fortalecieron a los agricultores cuyos productos eran exportados y a las empresas multinacionales que destinaban sus productos químicos a países en desarrollo como México y el resto de América Latina (Albert, 2005).

Aún hoy en día se sostiene la idea de que los productos químicos para controlar las plagas a nivel mundial, han tenido buenos resultados, pues el beneficio en el sustento de la producción agrícola se ha incrementado y las pérdidas de producción se han reducido, además de limitar la expansión de enfermedades (Olea y Fernández, 2001; Albert, 2005). Sin embargo, los efectos negativos de estos productos químicos en organismos que no son su blanco y en el hombre, así como el impacto que representa su uso inmoderado en el ambiente, han llamado la atención de numerosas instituciones de salud tanto nacionales como internacionales, por lo que es de interés en el ámbito científico y especialmente en lo referente a las ciencias biológicas, esclarecer cual es el daño producido en los seres humanos por el empleo de plaguicidas, ya sea a nivel génico, cromosómico, citológico, sistémico o poblacional (Bolognesi *et al.*, 2011).

Datos experimentales sugieren que varios ingredientes agroquímicos poseen propiedades mutagénicas que inducen mutaciones, alteraciones cromosómicas o daño en el ADN (Bolognesi, 2003). Aiassa *et al.* (2012) sostienen que estos compuestos podrían ser los responsables de la alta incidencia de cáncer de labio, estómago, próstata, tejido conectivo, linfático y hematopoyético en trabajadores agrícolas y sus familias.

El daño producido por plaguicidas en la salud humana es variado, desde intoxicaciones, problemas de fertilidad y reproducción, hasta el riesgo de incrementar la predisposición a padecer algún tipo de cáncer, o alguna enfermedad neurodegenerativa como el Parkinson o el Alzheimer, o bien derivar en la muerte por intoxicación severa (Bolognesi, 2003; Cuenca y Ramírez, 2004; Bolognesi *et al.*, 2011). Por otra parte, se han encontrado trazas de plaguicidas en alimentos de consumo humano (Bolognesi *et al.*, 2011), además debido a las características de estas sustancias suelen ser persistentes y bioacumulables, lo cual también representa un grave peligro para el ambiente. Por ello la importancia de llevar a cabo análisis que puedan dictaminar que el uso inadecuado de plaguicidas, representan un riesgo que corre la población mexicana (y mundial), especialmente la infantil, que no está debidamente informada sobre el correcto uso de equipo de protección y de las medidas de seguridad adecuadas, así como la relevancia de considerar las concepciones socio-culturales del empleo de plaguicidas en la implementación de programas de salud pública (Benítez-Leite *et al.*, 2010).

Antecedentes

Generalidades de los plaguicidas

Los plaguicidas, de acuerdo con la FAO (1990) pueden ser definidos como “cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinadas a prevenir, destruir o controlar cualquier plaga, incluyendo los vectores de enfermedades humanas o de los animales, las especies de plantas o animales indeseables que causan perjuicio o que interfieren de cualquier otra forma en la elaboración, almacenamiento, transporte o comercialización de alimentos, productos agrícolas, de madera y alimentos para animales, o que pueden administrarse a los animales para combatir insectos, arácnidos u otras plagas en o sobre sus cuerpos. El término incluye las sustancias destinadas a utilizarse como reguladoras del crecimiento de las plantas, desfoliantes, desecantes, agentes para reducir la densidad de fruta o para evitar la caída prematura de la fruta y las sustancias aplicadas a los cultivos antes o después de la cosecha para proteger el producto contra el deterioro durante el almacenamiento y transporte”.

La clasificación de los plaguicidas está definida por diversos factores, por su uso, por los organismos que combate, por su toxicidad y por su composición química.

En este trabajo sólo se expondrán tres clasificaciones: por las especies blanco, por su composición química y por su toxicidad, esta última, con referencia a la propuesta de clasificación hecha por la WHO/OMS (Organización Mundial de Salud) en 2009. En ésta se distinguen rangos de peligrosidad de los plaguicidas, clasificándolos de mayor a menor impacto; basándose en la agudeza de toxicidad oral y dérmica, observada en ratas expuestas a agentes tóxicos, bajo estándares regulados. La clasificación está basada en la respuesta (de sobrevivencia) de las ratas medidas con un valor estadístico estimado: LD₅₀, el cual indica el número de mg del producto tóxico por Kg de peso corporal requerido para matar al 50% de la población de las ratas sometidas a la prueba toxicológica, ya sea por administración vía oral o dérmica (Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007;

WHO, 2009). Según la OMS los plaguicidas pueden clasificarse considerando su peligrosidad como se muestra en la Tabla 1.

Los plaguicidas además se pueden clasificar de acuerdo a su naturaleza química en dos grandes grupos: los orgánicos y los inorgánicos. Los primeros son sustancias cristalinas que asemejan sales. Los principales compuestos de este tipo incluyen cobre, azufre, arsénico y mercurio (Luko *et al.*, 1991).

Tabla 1. Clasificación de plaguicidas de acuerdo a su peligrosidad (modificado de WHO, 2009)

Clasificación de la OMS	LD ₅₀ para rata (mg/ Kg peso corporal)		Color de la etiqueta del envasado
	Oral	Dérmico	
Ia Extremadamente peligroso	<5	<50	Rojo
Ib Muy peligroso	5-50	50-200	Rojo
II Moderadamente peligroso	50-2000	200-2000	Amarillo
III Ligeramente peligroso	>2000	>2000	Azul
U Improbable que presente peligro agudo en un uso normal	>5000	>5000	Negro

Los plaguicidas orgánicos se dividen a su vez en sintéticos y en naturales. Los primeros incluyen los siguientes tipos:

- Organoclorados (hidrocarburos clorinados): son estables y persistentes en el ambiente, tienden además a acumularse en los tejidos grasos y al poseer una gran estabilidad química son bioacumulables en las cadenas tróficas (Fernández-Bringas, 2004; Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007). Tienen un amplio espectro de acción, especialmente en artrópodos, y su costo es relativamente bajo (Luko *et al.*, 1991).

- Organofosforados: se trata de sintetizados derivados del ácido fosfórico, presentan grupos alquil, alcoxi, amida y átomos de azufre, los cuales son solubles al agua (Fernández-Bringas, 2004). Estos plaguicidas son responsables de la mayoría de intoxicaciones severas en vertebrados, debido a que inhiben la enzima acetil-colinesterasa en las terminaciones nerviosas; permitiendo la acumulación de acetilcolina y favoreciendo la transmisión constante de impulsos nerviosos, lo cual conduce a la parálisis y a la muerte (Luko *et al.*, 1991).
- Carbámicos: compuestos derivados del ácido esteárico carbámico ($R_1OCONR_2R_3$). Son productos de acción rápida, con un efecto residual corto y un rápido espectro de acción. Inhiben la acción de la enzima acetilcolinesterasa (Luko *et al.*, 1991; Bernal-González, 2012).
- Ditiocarbamatos: derivados del ácido ditiocarbámico; presentan un amplio espectro de acción y baja fitotoxicidad (Luko *et al.*, 1991).
- Piretroides: suelen ser considerados poco tóxicos para mamíferos y aves, con un efecto residual corto. Sin embargo, la piretrina, la cual es el compuesto activo de este tipo de plaguicidas, afecta el sistema nervioso central al inducir neurotoxicidad por modificación de la dinámica de los canales de Na^+ de la membrana celular; también pueden inhibir la acción de la ATPasa Na^+/K^+ en la membrana neuronal (Luko *et al.*, 1991).

Los plaguicidas naturales son organismos o derivados químicos de éstos producidos como metabolitos secundarios que los ayudan a protegerse de forma natural de plagas específicas. Dentro de este grupo se encuentran especies que se comportan como depredadores, insecticidas virales, pesticidas bacterianos y fúngicos, hormonas de la metamorfosis y crecimiento de los propios insectos, así como feromonas que sirven como medio de comunicación y por tanto pueden ser manipulados (Ferrer, 2003). La mayor parte de este tipo de plaguicidas se obtiene a partir de los metabolitos secundarios de plantas. Estas sustancias suelen ser tan potentes como cualquiera de los compuestos químicos de plaguicidas obtenidos sintéticamente. Sin embargo, debido a su alto costo de producción no son utilizados en cultivos extensos, sino en pequeños invernaderos o bien, en cultivos

para consumo familiar (DuPont *et al.*, 1998). Por último, los plaguicidas pueden ser clasificados de acuerdo con el grupo de organismos a los que está enfocado a atacar. Ejemplos de esta clasificación son: los herbicidas, fungicidas, nematocidas, insecticidas, etc.

Tipos de exposición a plaguicidas

Existen al menos dos tipos de exposición a plaguicidas en seres humanos con respecto al tiempo de contacto con estos compuestos, la primera de ellas es la aguda, la cual ocurre cuando un individuo se expone en un periodo corto de tiempo pero intenso a un producto tóxico (Cortés-Enríquez, 1994). Esta forma de exposición se encuentra relacionada a la muerte por intoxicación, principalmente afecta a los trabajadores, quienes tienen contacto directo con los productos tóxicos. Aunque se puede presentar también en la familia de los trabajadores, principalmente niños pequeños que pueden consumir los plaguicidas mal etiquetados (Calderón, 1985; Cortés-Enríquez, 1994). El segundo tipo es la exposición crónica, cuyo tiempo de contacto con el plaguicida es mayor y no tiene un efecto notable inmediato en el individuo expuesto, esta manera es la mayormente estudiada en investigaciones sobre genética toxicológica (Cuenca y Ramírez, 2004). De la exposición crónica es posible considerar dos subtipos, la crónica intensa y la incidental (Calderón, 1985).

La exposición crónica intensa se refiere a aquella en la que el individuo se encuentra en contacto con el agente tóxico durante un tiempo prolongado y a una cantidad considerablemente nociva. Se relaciona con la exposición laboral, aunque también debido al almacenamiento de productos tóxicos en sitios poco adecuados y sin las medidas de seguridad necesarias, por lo que la familia de los trabajadores también corren el riesgo de este tipo de exposición (Calderón, 1985).

La exposición crónica baja o incidental, se refiere a la que puede ser prolongada o no, a una cantidad residual de los agentes tóxicos, en este caso plaguicidas, que pueden permanecer en el agua, el suelo y los alimentos, por lo cual toda la población puede estar expuesta de esta manera a estos compuestos (Calderón, 1985).

Para el desarrollo de este trabajo se consideraron la exposición crónica intensa y la crónica baja para la evaluación del daño citogenético capaces de producir daños a la salud en niños de edad escolar, cuyos padres se dedican a la agricultura y manejan y/o almacenan plaguicidas, o bien si los niños viven en comunidades cuya actividad principal es la agrícola y en las cuales se han descrito problemas ambientales debido al uso intenso de plaguicidas o bien al manejo, almacenamiento y desecho descuidado de éstos.

Efectos de plaguicidas en poblaciones infantiles

Los niños suelen convivir con plaguicidas, de diferentes formas, ya sea durante el almacenamiento de estas sustancias dentro de la vivienda, así como durante la dosificación, aplicación y desecho de los envases que los contienen (Souza-Casadinho, 2005). Además, diversos estudios han descrito que los compuestos activos de los plaguicidas pueden encontrarse en cuerpos de agua, aire, suelo e inclusive los alimentos de consumo humano y animal.

Si bien es sabido que los plaguicidas producen daños en poblaciones humanas adultas, es importante considerar que en los niños, el efecto es mayor. En gran medida esto se debe a que se encuentran en procesos ontogenéticos importantes (Neri *et al.*, 2003). La mayoría de sus sistemas son inmaduros, especialmente el nervioso y el inmunológico (Garry, 2004; Jurewicz *et al.*, 2006; Neri *et al.*, 2006; Gómez-Arroyo *et al.*, 2013). Algunos estudios han intentado vincular el lento desarrollo de las capacidades cognitivas y motoras en niños, debido a una exposición a plaguicidas, especialmente de los organofosforados y los carbámicos (Martos-Mula *et al.*, 2013). En cuanto a la neurotoxicidad provocada por plaguicidas, Soruco (2009) encontró una asociación significativa entre la exposición a ésta y la memoria auditiva de trabajo, así como una menor mediana de los puntajes en la prueba de retención de dígitos, en niños de Jujuy en Argentina. Además, documentó que el mayor daño neurotóxico se observó en niñas más que en niños. Se ha descrito una relación entre el incremento del riesgo de padecer cáncer cerebral en niños expuestos a plaguicidas (Bolognesi *et al.*, 2011).

Se han realizado estudios en los cuales se pretende relacionar la exposición a plaguicidas principalmente organoclorados y organofosforados con una disrupción del sistema endócrino, y una alteración en la acción o metabolismo de diversas hormonas (Olea y Fernández, 2001). También ha sido relacionada la exposición a plaguicidas y el desarrollo de cáncer en el sistema endócrino (Bolognesi *et al.*, 2011). En el caso del sistema reproductivo el uso de pesticidas organoclorados, los cuales suelen ser anti-andrógenos, pueden adelantar la menarquía en niñas con una exposición regular a ellos y en varones se altera la calidad espermática, malformaciones como la criptorquidia y las hipospadias, infertilidad y un incremento en el riesgo de padecer cáncer testicular en su vida adulta. El sistema inmune también se encuentra comprometido disminuyendo su acción (Benítez-Leite *et al.*, 2010).

El estilo de vida de los niños, especialmente de los pequeños, el hábito de llevar cosas a la boca incrementa el riesgo de intoxicaciones por aquellos productos químicos que se adhieren a las superficies de diversos objetos. En niños más grandes, que pasan la mayor parte de su tiempo fuera de casa (ya sea por motivos escolares o por juego), la exposición a contaminantes y plaguicidas, en el ambiente es más alta (Fenske *et al.*, 2000a, 2000b; Garry, 2004; Jurewicz *et al.*, 2006; Neri *et al.*, 2006; Gómez-Arroyo *et al.*, 2013). Igualmente, los infantes y adolescentes tienen un consumo de casi el doble que un adulto (relativo a proporciones corporales) de agua y alimentos, por lo que en caso de que consuma alimentos o agua contaminada con algún plaguicida, correrá un mayor riesgo de intoxicarse. El metabolismo de los individuos jóvenes es muy acelerado, por lo cual se facilita la asimilación de productos tóxicos (Garry, 2004; Neri *et al.*, 2006).

En el caso de los neonatos, es relevante reconocer la importancia de exposición a algún agente tóxico durante la gestación, pues se ha reconocido una relación entre exposición a compuestos tóxicos durante etapas de desarrollo embrionario crítico y la frecuencia de malformaciones congénitas, síndromes y anomalías cromosómicas (Cock *et al.*, 1994; Rojas *et al.*, 2000; Holland *et al.*, 2011). Además, se ha correlacionado el efecto de agentes tóxicos específicos con

la inducción de ciertas anomalías del crecimiento, de acuerdo con la etapa en la que el feto fue expuesto (Garry, 2004).

Los efectos tóxicos pueden manifestarse muchos años, e inclusive décadas después de la exposición (Aiassa *et al.*, 2014). Por supuesto, una de la mayores preocupaciones con respecto a la exposición a plaguicidas en la niñez es la repercusión que esta acción pueda tener en su vida adulta, por lo que es de suma importancia conocer los efectos que estas sustancias tienen en el organismo de un niño y que implicaciones tendrán en el futuro del mismo (Holland *et al.*, 2011).

Biomarcadores

Para conocer si un agente físico o químico es mutagénico se pueden rastrear las pistas que dejan los organismos con respecto a la alteración de su fisiología, y de mecanismos de proliferación celular y los cambios que en las células hijas se puedan presentar. Un biomarcador puede ser definido como un cambio químico, biológico, morfológico o fisiológico, producido en un sistema biológico. Pudiendo ser identificado como un reflejo o marca de un agente tóxico (Garte y Bonassi, 2005).

Los agentes genotóxicos son aquellos que tienen afinidad para interactuar con el ADN, produciendo alteraciones estructurales o funcionales en células germinales y somáticas (Aiassa *et al.*, 2012). Por otra parte, el término mutágeno hace referencia a una sustancia capaz de producir cambios genéticos heredables (Orozco-Barrenetxa *et al.*, 2011).

El monitoreo biológico, especialmente el citogenético, provee una herramienta útil para estimar el riesgo genético derivado de una exposición crónica a una mezcla compleja de plaguicidas. Se han realizado diversos estudios cuyo objetivo es el monitoreo de poblaciones humanas en contacto laboral a estos compuestos. En los cuales, se ha encontrado asociación positiva entre este tipo de exposición y la presencia de aberraciones cromosómicas, intercambios de cromátidas hermanas y MN. Por supuesto, también se han realizado investigaciones en las

cuales no se ha encontrado correlación positiva entre el daño genético observado y la exposición a estos compuestos (Bolognesi, 2003).

Prueba de MN

Los MN son fragmentos de cromatina que pueden ser observados durante la interfase como materia circular cercana al núcleo. Éstos se forman a partir de fragmentos de cromosomas o cromosomas completos, los cuales no logran integrarse al huso mitótico durante la anafase, por lo que no migran a ninguno de los polos. En la telofase éstos se encapsulan en una membrana propia, similar a la del núcleo celular, lo que permite su identificación en la interfase (Stich, 1987; Martínez-Valenzuela y Gómez-Arroyo, 2007; Holland *et al.*, 2008; Bonassi *et al.*, 2009; Ceppi *et al.*, 2010; Bonassi *et al.*, 2011; Kashyap y Reddy, 2012; Matheus-Lobo y Bolaños, 2014). Los MN pueden ser observados en el epitelio oral durante la mitosis en las capas basales como fragmentos de DNA extracromosómico como se muestra en la Fig. 1 (Alexandrescu *et al.*, 2006; Holland *et al.*, 2008; Moura de Bortoli *et al.*, 2009).

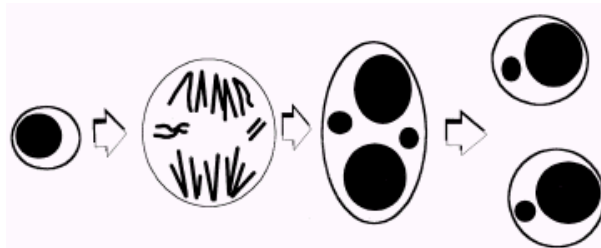


Fig. 1. Formación de MN a través del proceso de división celular (Tomado de Alexandrescu *et al.*, 2006)

Se reconoce que los MN pueden formarse debido a defectos en la mitosis, daño en los mecanismos de reparación del ADN, o como consecuencia de aberraciones cromosómicas (Matheus-Lobo y Bolaños, 2014). El origen de los MN puede deberse a la acción de sustancias que causan el rompimiento de los cromosomas (compuestos clastógenos) así como agentes que afectan el huso acromático (aneugénicos) (Moura de Bortoli *et al.*, 2009). Cabe destacar que es el

único biomarcador que permite evaluar tanto efectos clastogénicos como aneuploídicos (Pastor *et al.*, 2003).

Existen otras condiciones que incrementan la frecuencia de MN, entre ellas se puede mencionar un estado de desnutrición elevado, exposición a diversos fármacos, disolventes, radiaciones y/o plaguicidas, o bien el padecimiento de algún síndrome de inestabilidad cromosómica (Bonassi *et al.*, 2009). Agarwal *et al.* (2014), realizaron una revisión de los eventos moleculares asociados con los MN y puentes nucleares (Tabla 2).

Tabla 2. Eventos moleculares asociados con la producción de MN y puentes nucleares (Tomado y modificado de Agarwal *et al.*, 2014).

BIOMARCADOR	EVENTOS MOLECULARES ASOCIADOS CON EL BIOMARCADOR
MN	<p>Cromosomas acéntricos o fragmentos cromatídicos en la anafase</p> <ul style="list-style-type: none"> • Reparación inadecuada de rompimientos de la hebra de ADN • Rupturas de ADN no reparadas <p>Cromosomas con centrómero inactivado en la anafase</p> <ul style="list-style-type: none"> • Hipometilación de secuencias repetidas en el ADN centromérico y pericentromérico • Defectos en las proteínas del cinetocoro o de ensamblaje • Huso acromático disfuncional • Genes de los puntos de control de la anafase • Replicación no resuelta
PUENTES NUCLEARES	<p>Proceso activo de la eliminación de material nuclear</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eliminación de ADN amplificado generado a partir de ciclos BFB “<i>break-fusion-bridge</i>” • Eliminación de complejos de proteínas de reparación de ADN • Eliminación del exceso de cromosomas- puede ocurrir en las células con poliploidía <p>Contracción de los restos de un rompimiento durante la citocinesis</p>

En la prueba de MN puede utilizarse casi cualquier linaje celular. Aunque los mayormente utilizados son los linfocitos, eritrocitos y tejidos del tipo epitelial, incluyendo el oral, el urotelial, el nasal, el pulmonar, el cervical y el bronquial (Alexandrescu *et al.*, 2006; Kashyap y Reddy, 2012). Además, esta prueba es eficiente, estadísticamente significativa, pues se efectúa un conteo de por lo

menos mil células. Por otra parte, es muy sencilla de realizar y su análisis suele ser simple y barato en cuanto a tecnología requerida y costo económico y laboral (Aiassa *et al.*, 2012). Sin embargo, una de las desventajas del uso de este tipo de biomarcadores es su límite en la caracterización de la naturaleza del daño nuclear inducido, ya que existe una considerable variación intra e interindividual (Castro *et al.*, 2004).

La prueba de MN en epitelio oral comenzó a utilizarse en los años ochenta para evaluar el efecto genotóxico en individuos que consumían nueces de areca y que masticaban betel. El primer estudio en este tejido lo realizaron Stich y Rosin en 1984. Este ensayo en mucosa bucal se ha utilizado eficazmente en la evaluación del daño genotóxico en casos de exposición aguda a diversos agentes tóxicos en los cuales se ha relacionado con un incremento de daño con defectos genéticos en el mantenimiento del genoma, envejecimiento acelerado, y algunas enfermedades degenerativas (Matheus-Lobo y Bolaños, 2014). Además es eficiente en análisis epidemiológicos, para estudiar el estado nutricional. Así como prueba diagnóstica y monitoreo en pacientes con cáncer en la región oral, o bien para conocer el genotipo y su relación con el daño genético y los procesos de muerte celular en este tejido (Harshvardhan *et al.*, 2010). Además, representa una opción viable de análisis de daño genotóxico. Este linaje celular presenta varias ventajas para su estudio, ya que su obtención es poco invasiva. Además, puede ser utilizado en poblaciones vulnerables como niños, ancianos o enfermos. Por otra parte, suele ser una técnica sencilla y de bajo costo, ya que no se requiere ningún tipo de cultivo, ni de condiciones de esterilidad mínimas, en comparación con el tratamiento de linfocitos, por ejemplo.

El tejido epitelial está compuesto por estratos celulares, el primero de ellos es el basal, en éste las células comienzan a dividirse y es aquí donde se forman los MN y las alteraciones nucleares. En el estrato espinoso, las células comienzan a diferenciarse, por último en la superficie exfoliada se encuentran ya diferenciadas. Es esta capa de la cual se obtiene la muestra para el análisis de MN. De la capa basal a la capa más externa, las células tardan en migrar de 7 a 21 días, en

adultos, por lo que puede conocerse el tiempo aproximado de la exposición al agente productor de daño (Holland *et al.*, 2008). Cabe destacar que los MN en este epitelio son eventos poco frecuentes, la frecuencia basal de MN reportada varía ampliamente entre 0.05 y 11.5 MN por cada mil células. Pero en promedio, se considera una frecuencia basal de 0.5 y 2.5 MN/1000 células (Holland *et al.*, 2008).

Existen diversos criterios para identificar la presencia de MN. Tales como los propuestos por Heddle y Countryman en 1976 o Stich y Rosin (1984). Sin embargo en este estudio se utilizaron los sugeridos por Tolbert *et al.* (1992) y Thomas *et al.* (2009), quienes incluyen las siguientes características:

1. Estos deben ser redondos u ovalados, con una membrana bien definida.
2. Su tamaño deber ser menor a un tercio del diámetro del núcleo asociado, pero lo suficientemente grande para discernir su forma y color.
3. Debe ser positivo para la tinción de Feulgen (es decir, de color rosa en la iluminación de campo claro).
4. La intensidad de la tinción debe ser igual a la del núcleo.
5. Su textura debe ser similar a la de núcleo
6. Se debe observar en el mismo plano focal del núcleo celular.
7. No encontrarse solapado con algún otro objeto celular, y no debe presentarse un puente entre el MN y el núcleo.

Alteraciones nucleares

El análisis anomalías nucleares permite el estudio de la muerte celular y del potencial regenerativo del tejido de la mucosa bucal (Kausar *et al.*, 2013). El tipo de células que pueden ser observadas son las siguientes (Figs. 2 y 3):

- Células basales: presentan un núcleo ovalado o circular de gran tamaño por lo que el espacio citoplasmático se ve reducido. Típicamente presentan un tamaño más pequeño que las células diferenciadas (Bolognesi y Fenech, 2013).

- Células diferenciadas: son células que presentan un núcleo teñido de manera uniforme, cuya forma es usualmente redonda u ovalada. Se distinguen de las células basales debido a su gran tamaño y por la diferencia del espacio ocupado en su mayoría por el citoplasma en comparación con el núcleo, esto ocurre de manera contraria en células basales (Bolognesi y Fenech, 2013; Kausar *et al.*, 2013).
- Puente nuclear: en la célula se observa el núcleo unido por medio de una constricción Feulgen negativo a lo que parece un pequeño núcleo, lo que sugiere la eliminación de material nuclear a través de un puente. El proceso principal para la formación de puentes nucleares aún no se conoce pero puede estar relacionado con la eliminación de DNA amplificado o debido a algún mecanismo de reparación (Harshvardhan *et al.*, 2010).
- Células binucleadas: células con dos núcleos. Son un indicio de una probable falla en el proceso de citocinesis seguido de una división celular tardía en la capa basal celular. Se ha demostrado recientemente que la no disyunción cromosómica ocurre en una alta frecuencia en células binucleadas que no completan la citocinesis, a diferencia de aquellas en las que se completa con éxito la división celular. Una alta tasa de este tipo de anomalía nuclear puede relacionarse con individuos portadores de alguna aneuploidía (Harshvardhan *et al.*, 2010).
- Cariolisis o disolución nuclear: el núcleo es Feulgen negativo, por lo que no se tiñe, se observa como un “núcleo fantasma”. Puede originarse por un proceso de necrosis, relacionado a daño tisular (Harshvardhan *et al.*, 2010; Bolognesi y Fenech, 2013). La correlación positiva entre células picnóticas y en cariolisis, sugiere que estas últimas, se derivan directamente a partir de células con cromatina condensada o indirectamente a través de células picnóticas (Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra, 2013).
- Picnosis o núcleo reducido: se caracteriza por un pequeño núcleo contraído (con un diámetro aproximado de 1/3 a 2/3 del núcleo celular), con una alta densidad de material nuclear que está uniforme e intensamente teñido. Puede representar un mecanismo alternativo a la desintegración nuclear y

muerte celular que origina a la cromatina condensada y a las células con cariorrexis (Harshvardhan *et al.*, 2010; Bolognesi y Fenech, 2013).

- Cariorrexis o desintegración nuclear: involucra la pérdida de la integridad nuclear. El núcleo se caracteriza por una agregación de cromatina más extensa en comparación con la cromatina condensada. Además, presenta un patrón densamente moteado, que indica una fragmentación que conduce a una eventual desintegración del núcleo. Su origen parte de un proceso de muerte celular programada (Harshvardhan *et al.*, 2010; Bolognesi y Fenech, 2013).
- Cromatina condensada: el núcleo presenta un patrón de coloración estriado de forma paralela en el cual el agregado de cromatina se encuentra intensamente teñido (Harshvardhan *et al.*, 2010; Bolognesi y Fenech, 2013). Su origen también es apoptótico.

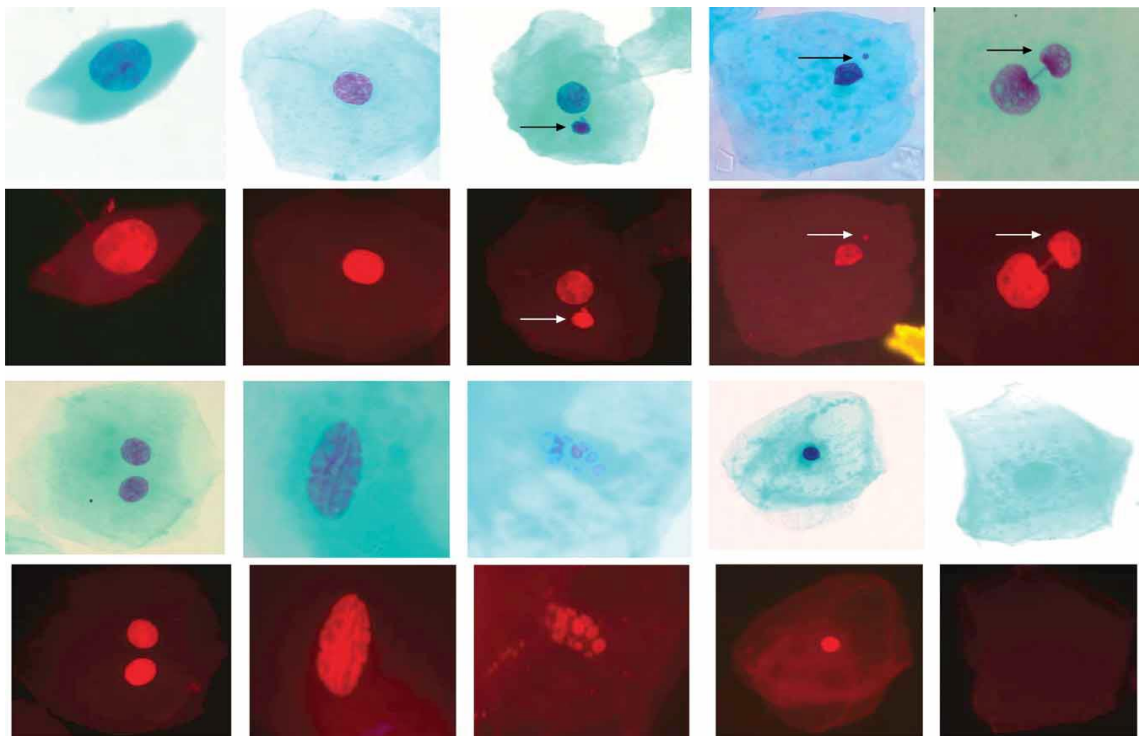


Fig. 2. Imágenes de los diferentes tipos celulares que pueden encontrarse en la prueba de MN y anomalías nucleares, teñidas con la tinción Feulgen y verde brillante; a) célula basal; b) célula diferenciada; c) célula diferenciada temprana con un micronúcleo (flecha); d) célula diferenciada tardía con un micronúcleo (flechada); e) célula diferenciada con un puente nuclear (flecha); f) célula binucleada; g) célula con cromatina celular condensada; h) célula con cariorrexis; i) célula picnótica; j) célula cariolítica. Todas las imágenes presentan una amplificación de 1000X (Tomada de Thomas *et al.*, 2009).

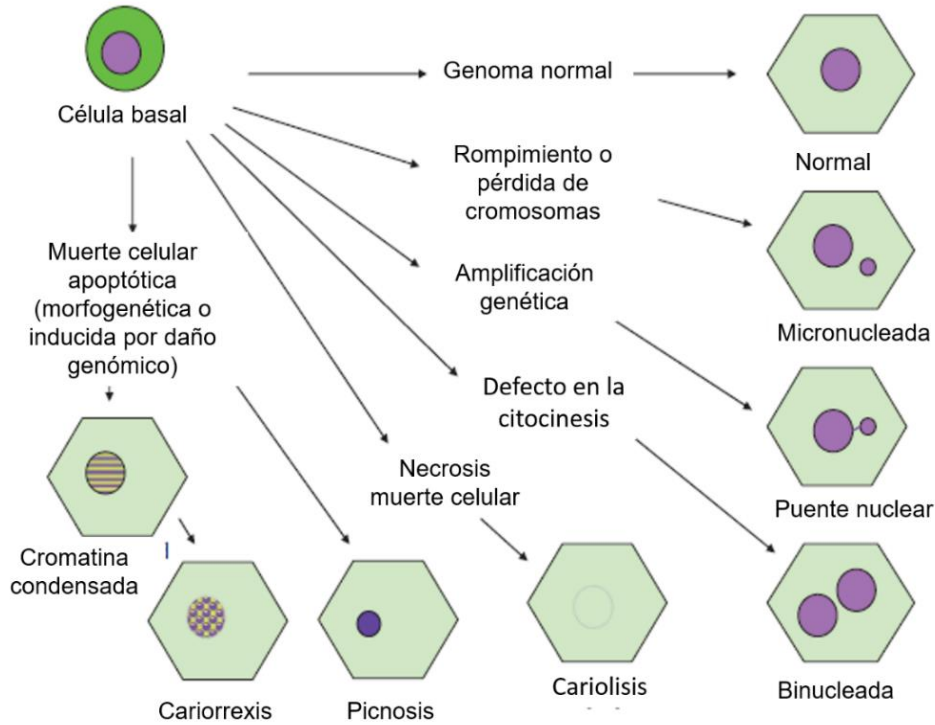


Fig. 3. Representación del origen de varios tipos celulares que pueden ser encontrados por medio de la prueba de MN y anomalías nucleares (Tomado y modificado de Thomas *et al.*, 2009 y Tolbert *et al.*, 1992).

Células de la mucosa oral en el estudio genotóxico

Se han utilizado diversos tejidos y linajes celulares; como linfocitos, células del cordón umbilical, leche materna, orina y esperma para el estudio genotóxico. Sin embargo algunas de las técnicas para la obtención de estos linajes celulares suelen ser muy invasivas; especialmente si el objetivo del estudio contempla una población infantil. Es por ello que las células de la mucosa oral son una buena opción, ya que permiten acceder a ellas bajo un proceso poco invasivo para el individuo. Y por otra parte, es un linaje celular con un menor riesgo de contaminación durante su procesamiento a diferencia de las células sanguíneas (Thomas *et al.*, 2009; Kausar *et al.*, 2013; Matheus-Lobo y Bolaños, 2014).

La cavidad oral se encuentra cubierta por una membrana de mucosa de revestimiento, la cual se compone de dos tejidos con origen embrionario y funcional diferente. El primero de ellos es el epitelio plano estratificado, cuyo

origen es ectodérmico. El tejido epitelial estratificado se compone por tres capas: la basal, el estrato espinoso y las células superficiales o exfoliadas. El segundo tejido es una lámina de tejido conectivo de origen mesenquimatoso o del corion. Ambos se encuentran conectados a partir de las papilas coriales y crestas epiteliales (Finn, 2001; Holland *et al.*, 2008; Garzón-Bello, 2009) (Figura 4). Esta cavidad se encuentra humedecida debido a la acción de las glándulas salivares que en ella se encuentran (Garzón-Bello, 2009).

El estrato basal es la capa en la cual ocurre la mitosis, por medio del cual se mantiene el proceso de renovación, estas nuevas células migran de la capa basal hacia el estrato superficial, esto ocurre en un lapso de 7 a 21 días. Cabe destacar que en la capa basal se originan (en raras ocasiones) las alteraciones nucleares (puente nucleoplasmático, binucleadas) y los MN. Algunas partes de la cavidad oral del epitelio estratificado plano sufre un proceso de queratinización, formando finalmente una capa córnea compuesta esencialmente por células anucleadas, especialmente en las regiones íntimamente relacionadas con actividades abrasivas como la masticación, es decir, las encías, el paladar duro y la superficie dorsal de la lengua (Holland *et al.*, 2008). Otras células durante la migración pueden degenerar a células con cromatina condensada, núcleos fragmentados (células cariorréxicas), núcleos picnóticos, o la pérdida completa del material nuclear (células carioplásticas) (Holland *et al.*, 2008).

En cuanto a las células bucales son de origen epitelial plano y escamoso. Éstas se encuentran unidas entre sí para formar una barrera de protección. Ya que se están en constante contacto con agentes químicos vía oral o por absorción a través de la boca y nariz (Holland *et al.*, 2008).

Debido a las anteriores características, a la cavidad oral suele describirse como “el espejo que refleja la salud del individuo” (Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra, 2013). Ya que la mucosa que la recubre puede sufrir cambios indicadores de enfermedad, o efectos locales del consumo de diversas sustancias como el tabaco o el alcohol (Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra, 2013). Pero, la característica más significativa de este tejido para el uso en estudios genotóxicos o citotóxicos es que

constituye el punto de contacto con muchos agentes potencialmente peligrosos, por ejemplo a partir de la inhalación, la ingesta de agua o comida contaminada (Alexandrescu *et al.*, 2006; Holland *et al.*, 2008; Thomas *et al.*, 2009; Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra, 2013). Por otra parte, considerando que un gran porcentaje de cánceres (90%) son de origen epitelial el uso de la prueba de MN en epitelios tiene una importancia epidemiológica sobresaliente (Pastor-Benito, 2002; Alexandrescu *et al.*, 2006; Holland *et al.*, 2008; Thomas *et al.*, 2009).

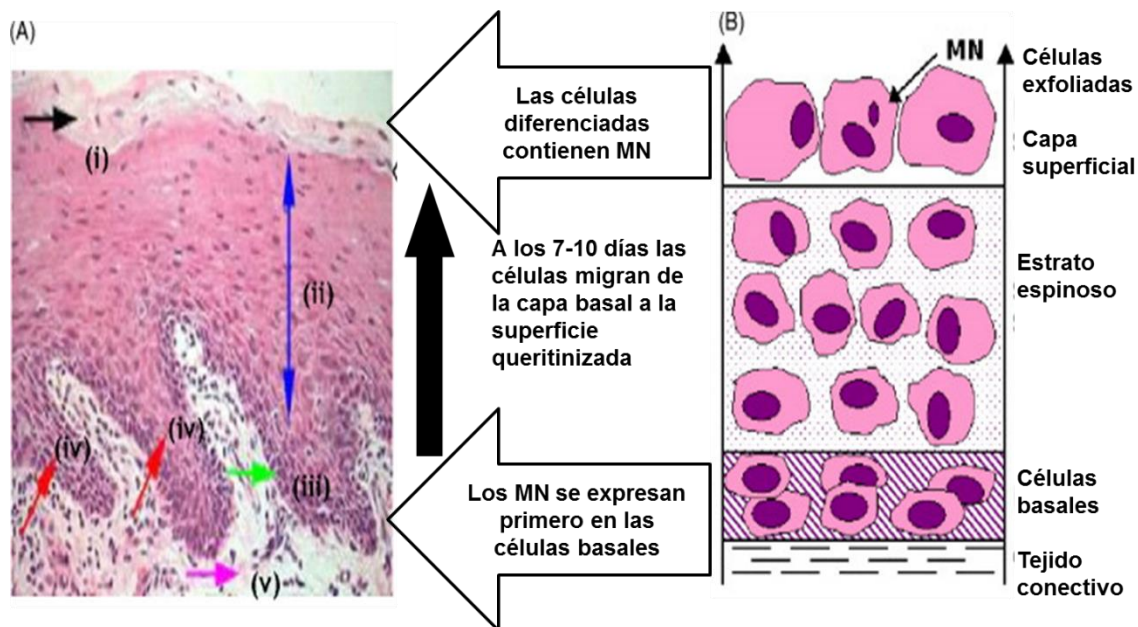


Fig. 4. Estructura y diferenciación del epitelio oral. A) Microfotografía de una sección de mucosa oral sana, en la cual se muestran varias capas de células en el epitelio oral, este es un epitelio escamoso. Y su estratificación presenta 4 capas: i) capa superficial queratinizada, ii) estrato espinoso, iii) capa basal, iv) tejido conectivo. B) esquema de la estratigrafía del epitelio oral (Modificado de Holland *et al.*, 2008).

Evaluación del estado nutricional

Se ha considerado que los efectos tóxicos de los plaguicidas aumentan debido a un estado de desnutrición y deshidratación en niños. Ya que la deficiencia de algunos nutrientes como vitaminas y minerales aumentan los efectos tóxicos, de hecho algunos metales pesados pueden absorberse con mayor facilidad si existe un déficit en algunos iones como el calcio o el hierro (De Grandis y Gomilla, 2010). También se considera que algunos niños con deficiencia nutricional tienden a comer cáscaras de pintura, papel de revestimiento u otros materiales. Por lo que

con esta conducta se incrementa el riesgo de exposición a plaguicidas que pueden permanecer en forma residual en las paredes, objetos o suelo (PNUMA, 2004; Neri *et al.*, 2006; Medina-Niembro, 2011). Por otra parte, los efectos en la constitución genética del individuo con una mala nutrición han sido evaluados por diversos investigadores, los cuales han obtenido resultados significativos y no significativos. Por ejemplo, Cervantes-Ríos *et al.* (2014), encontraron una relación estadísticamente significativa en individuos con desnutrición moderada y grave así como el incremento en la frecuencia de MN.

El estado de nutrición es consecuencia de diferentes interacciones de tipo biológico, psicológico y social (Ávila-Rosas, 1995). Por lo cual es una variable difícil de medir de manera exacta. Es por ello que existen diversos acercamientos para estimarlo tales como la evaluación dietética, clínica, antropométrica o bioquímica.

La evaluación antropométrica se define como aquella estimación del estado de nutrición de un individuo con base en la medición de sus dimensiones físicas y en algunos casos de su composición corporal (Ávila-Rosas, 1995). La antropometría ha sido ampliamente utilizada como un indicador que resume un amplio campo de información biomédica, que van desde los cambios reportados durante el crecimiento, el dimorfismo sexual, el envejecimiento y la valoración del estado nutricional, hasta el impacto de la actividad física en el organismo (García-Avedaño y Rodríguez, 2001). Debido a su bajo costo, simplicidad, validez y aceptación social se justifica su uso en estudios nutricionales. Además es considerado como un método poco invasivo para analizar el tamaño y las proporciones del cuerpo humano (Abeyá-Gilardón *et al.*, 2009).

Las mediciones básicas empleadas en este trabajo corresponden al peso, la talla y la circunferencia de cintura. Éstas no tienen ninguna interpretación por sí mismas, pues corresponden a cifras fuera de un contexto de proporciones anatómicas. Sin embargo, se ha encontrado que existe relación entre ellas y que estos vínculos pueden ser utilizados como indicadores del estado nutricional del individuo.

El peso se considera como un indicador global de masa corporal. Existen diversos indicadores que lo utilizan como base para conocer el estado nutricional de los individuos, ya que puede compararse con valores de peso ideal para la edad y sexo que muchas instituciones de salud y nutrición han publicado (López-Sobaler y Quintas-Herrero, 2006, Moreno-Galarraga, 2007). La talla es otra medida muy útil. Ésta nos permite analizar el crecimiento del individuo, siempre y cuando se compara con otras variables como edad o sexo (López-Sobaler y Quintas-Herrero, 2006).

Así mismo, la circunferencia de cintura es útil para describir la acumulación de grasa en dicha región anatómica. En México se considera a la circunferencia de cintura como uno de los mejores indicadores antropométricos relacionados con el riesgo de enfermedad cardiovascular (Olguín-Hernández, 2008). En el caso de la población pediátrica se considera como obeso a aquel niño que tenga una circunferencia de cintura igual o mayor a los valores de referencia del percentil 90 por edad según la OMS (2007).

Los índices permiten conocer de una manera más precisa el estado nutricional de la persona evaluada. Estos son combinaciones de medidas que pueden relacionarse con estándares de normalidad según edad y sexo (Abeyá-Gilardon *et al.*, 2009):

- Peso/edad: refleja la masa corporal en relación con la edad cronológica.
- Talla/edad: expresa el crecimiento lineal con respecto a la edad cronológica. Los déficits observados a partir de este índice se relacionan con alteraciones de naturaleza acumulativa a largo plazo en el estado de salud y nutrición, como la desnutrición aguda o la emaciación. Se compara utilizando puntuaciones estandarizadas como la Z-score proporcionada por la OMS (2007).

En la Tabla 3, se resumen los valores de las puntuaciones Z con respecto a los dos indicadores de crecimiento anteriores. Así como el diagnóstico que se puede obtener de ellos.

Tabla 3. Valores de la puntuación Z de los indicadores de crecimiento talla para la edad y peso para la edad (OMS, 2007).

Puntuación Z	Indicadores de crecimiento	
	Talla para la edad	Peso para la edad
Por encima de 3	Ver nota 1	
Por encima de 2	Normal	Ver nota 2
Por encima de 1	Normal	
0 (media)	Normal	Normal
Por debajo de -1	Normal	Normal
Por debajo de -2	Baja talla (Ver nota 3)	Bajo peso
Por debajo de -3	Baja talla (ver nota 3)	Bajo peso severo

Nota 1. Un niño en este rango es muy alto. Una estatura alta en raras ocasiones es un problema, a menos que sea un caso extremo que indique la presencia de desórdenes endócrinos como un tumor productor de la hormona del crecimiento.

Nota 2. Un niño cuyo peso para la edad cae en este rango puede tener un problema de crecimiento.

Nota 3. Es posible que un niño con retardo en el crecimiento, con baja talla o baja talla severa desarrolle sobrepeso.

- Índice de Masa Corporal (IMC): es un indicador de la relación existente entre el peso y la talla.

Tabla 4. Clasificación de las categorías de IMC de acuerdo con la OMS (2007)

Categoría	Valor de IMC
Bajo peso	<18.5
Peso adecuado	18.5-24.9
Sobrepeso u obesidad grado I	25-29.9
Obesidad grado II	30-34.9
Obesidad grado III	35-39.9
Obesidad grado IV	>40

La evaluación dietética se refiere a la estimación de consumo de nutrientes a través de la estimación de la dieta y de los hábitos alimenticios (Ávila-Rosas, 1995). El método utilizado para la valoración dietética realizada en este trabajo es el de frecuencia de consumo. Éste es útil para obtener información cualitativa y descriptiva sobre patrones de consumo de alimentos. El cual comprende una lista

de alimentos y una relación de frecuencia de consumo (por ejemplo, más de una vez al día, diario, dos veces por semana, etc.) (Ávila-Rosas, 1995).

Este tipo de evaluación permite asociar el consumo habitual o no de ciertos alimentos con problemas de salud. Es un método barato, rápido y puede utilizarse como complemento de otros métodos de evaluación directa. Sin embargo, su gran desventaja es que depende mucho de la memoria del sujeto encuestado (Ávila-Rosas, 1995).

Factores sociales y culturales en niños con riesgo de exposición indirecta y ambiental a plaguicidas en el Municipio de Mixquiahuala

El municipio de Mixquiahuala se encuentra ubicado en el estado de Hidalgo, a 67 Km de Pachuca de Soto, la capital del estado. El significado de la palabra Mixquiahuala proviene del nahua “*Mizquiyahuala*”, el cual deriva de *mizquit*, que significa mezquite y *yahualli*, círculo. Este municipio pertenece a la región conocida como “El valle del Mezquital” (Municipio de Mixquiahuala, 2016).

Su clima es semiseco templado en el total de su superficie. Tiene un rango de temperatura de los 14 a los 18 °C. La precipitación media anual corresponde a los 400-600mm (INEGI, 2013). Su población para el año 2010, de acuerdo con el INEGI correspondía a un total de 42 834 habitantes, de los cuales 20 483 eran hombres y 22 351 mujeres, lo cual representaba el 1.6% de la población estatal total. La mayor parte de la población corresponde a individuos de entre 5 y 14 años. Existe una gran cantidad de personas que emigran en busca de empleo. Su índice de marginación es bajo (Vázquez-García, 2014). Por otra parte, el municipio cuenta con 4 955 alumnos inscritos en escuelas primarias (INEGI, 2013).

De acuerdo con la Secretaría de Salud Hidalgo y la Dirección General de Epidemiología, las enfermedades más comunes en este municipio son las infecciones respiratorias agudas, intestinales, de vías urinarias, úlceras, gastritis y duodenitis, conjuntivitis, otitis media aguda, gingivitis, entre otras.

El uso de suelo involucra el 81.75% en actividades agrícolas y el 11.25% como zona urbana. Según la SAGARPA (2014) en este Municipio la principal actividad

económica es la agrícola, cuyos cultivos incluyen: maíz, frijol, avena para forraje, trigo grano, cebada, calabacita, alfalfa verde, chile verde, pasto de forraje, tomate verde, nabo, chícharo, entre otras. La agricultura de mayor peso es la mecanizada continua y además se realizan cultivos tanto de temporal como de riego, este último siendo el más importante de los dos (INEGI, 2013). En la tabla 5 se presentan los cultivos principales del municipio, la superficie sembrada y cosechada para el año 2013.

Tabla 5. Superficie sembrada y cosechada de los principales productos agrícolas del municipio de Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo para el año 2013 (tomado y modificado de INEGI, 2013).

Producto	Superficie sembrada (en hectáreas)			Superficie cosechada (en hectáreas)		
	Total	Riego	Temporal	Total	Riego	Temporal
Maíz grano	5 060	4 608	452	4 771	4 573	198
Frijol	910	306	604	892	288	604
Calabacita	142	142	0	123	123	0
Coliflor	313	313	0	301	301	0
Alfalfa verde	2894	2894	0	2 894	2 894	0

Una de las características más importantes del “Valle del Mezquital” es el cultivo intenso, utilizando un sistema de riego con aguas residuales, las cuales recibe aproximadamente 50 m³/s (Lesser-Carrillo, 2011). De hecho, se considera a esta región como el área más grande del mundo con riego de este tipo (Vázquez-García, 2014). Debido a su cercanía con la Ciudad de México y el área metropolitana, el valle fue por más de un siglo el principal abastecedor de alimentos básicos como el maíz, el frijol o la calabaza. Así como, alimentos de forraje para el ganado. Después de la firma del Tratado de Libre Comercio se cuestionó la producción de hortalizas con aguas residuales y se le dio mayor auge a entidades que tenían posibilidades competitivas, como Sonora y Sinaloa (Vázquez-García, 2014). Además, el Valle del Mezquital tiene el número más alto de personas involucradas en el consumo de aguas de reúso para consumo humano (Vázquez-García, 2014).

Se han realizado diversos estudios los cuales correlacionan el uso de aguas residuales como método de riego en esta región y la contaminación por la

presencia de metales pesados como el plomo, el cobre, el zinc, el hierro y el níquel, no únicamente en el suelo (Vázquez-Alarcón *et al.*, 2001; Flores-Magdaleno *et al.*, 2011) sino también en vegetales (Mireles *et al.*, 2004) y leche de vaca (Vidal *et al.*, 2004; Solís *et al.*, 2009).

Por otro lado, dos de los factores de confusión más analizados con respecto a la exposición a genotóxicos han sido la edad y el sexo. La primera debido a que puede existir una acumulación de daño al ADN, deterioro progresivo de la capacidad de reparación y el aumento de radicales libres en las células, las cuales son características de envejecimiento. Se ha evidenciado que en individuos expuestos a plaguicidas se eleva exponencialmente la frecuencia de MN con la edad (Benítez-Leite *et al.*, 2010; Bonassi *et al.*, 2009; Ceppi *et al.*, 2010; Matheus-Lobo y Bolaños, 2014).

En el caso del sexo del individuo algunos estudios han descrito incremento en la frecuencia de MN en mujeres con respecto a la presentada en hombres, aunque estos resultados no son contundentes, pues existen otros autores que no describen diferencia significativa en cuanto al sexo (Benítez-Leite *et al.*, 2010; Bonassi *et al.*, 2009; Ceppi *et al.*, 2010; Matheus-Lobo y Bolaños, 2014).

Otros factores que intervienen en la exposición a plaguicidas y a otros compuestos tóxicos, son de origen sociocultural. En el caso de la edad o el sexo, el individuo puede hacer muy poco para disminuir su efecto. Sin embargo, en el caso de hábitos, costumbres o creencias, los seres humanos pueden transformar sus acciones con el fin de evitar daños a su ambiente y a su salud. Una de éstas es el uso de equipos de protección durante el manejo de plaguicidas (Oviedo-Zúñiga *et al.*, 2003). Específicamente, en un estudio (Pastor *et al.*, 2003) se atribuyó la disminución de la frecuencia de MN observada en individuos que utilizaban equipos de protección adecuadamente, como guantes, cubrebocas y ropa exclusiva de trabajo.

Existen investigaciones en las cuales se analizó la relación del uso de plaguicidas en zonas cercanas a viviendas y el incremento en el padecimiento de

leucemia, especialmente la linfoblástica aguda, en niños que residen en ellas (Wigle *et al.*, 2009; Aiassa *et al.*, 2012; Gómez-Arroyo *et al.*, 2013). El incremento de la prevalencia de cáncer en niños cada vez más pequeños, sugiere una relación con la exposición paterna o materna a cancerígenos, la cual puede ser el desencadenador de esta enfermedad (Aiassa *et al.*, 2012). Además, se ha observado que la descendencia de personas laboralmente expuestas a plaguicidas tiene un mayor riesgo de presentar anomalías congénitas (Aiassa *et al.*, 2012). También es importante reconocer que los niños pueden trasladarse de su hogar a la escuela a través de parcelas o campos regados con aguas residuales, las cuales están contaminadas. O bien jugar en lugares cercanos a estos sitios, o en lugares en los cuales se asperjan plaguicidas.

Por otra parte, las creencias sobre la peligrosidad relativa de los plaguicidas, impide que los riesgos sean tomados en serio. Por ejemplo, las relaciones de género con el manejo de plaguicidas fue comprobado por Oviedo-Zúñiga *et al.* (2003) en su estudio “Percepción de riesgo por el uso de plaguicidas en niños escolares, Villa Guerrero, Estado de México”, en el que recalcan la importancia de la imitación de creencias de la peligrosidad diferencial entre hombres y mujeres, ya que en esa localidad las mujeres tienen en general un mayor cuidado al momento de manejar plaguicida, a diferencia de los hombres a los cuales señalan como más descuidados.

Otros hábitos importantes, son el manejo, almacenaje y desecho correcto de los envases de los plaguicidas. Souza-Casadinho (2005) sostiene que el almacenamiento de plaguicidas dentro de las viviendas puede ocasionar la contaminación de los alimentos. También señala que el almacenamiento fuera de casa pero en lugares poco apropiados (por ejemplo en el piso o en mesas) y al alcance de los niños, también puede favorecer la ocurrencia de una intoxicación.

Una vez que se ha utilizado el producto, es importante conocer la manera adecuada de desecharlo. Se calcula que en el estado de Hidalgo, se siembran más de 520 000 hectáreas, las cuales son protegidas con agroquímicos. Posterior a la publicación de la ley general para la prevención y gestión integral de los

residuos en octubre de 2003, en todo el país se llevaron a cabo medidas para evitar el impacto de residuos peligrosos en el ambiente y la salud humana. En 2011 en todo el estado de Hidalgo y especialmente en el municipio de Mixquiahuala de Juárez, el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Hidalgo (CESAVEH) puso en marcha la campaña “Campo Limpio”. La cual contemplaba la colecta de los envases vacíos de plaguicidas, con el fin de evitar su incineración, abandono en cuerpos de agua o en campos, o bien ser reutilizados incorrectamente. En los primeros días del mes de agosto de ese año se habían recolectado seis millones de envases, los cuales según cálculos, representaban únicamente el 10% de los desechos totales estimados (Roldán, 2013).

Uno de los centros de acopio creados para ésta campaña se estableció en la localidad de Progreso en 2011 y fue mudada a la localidad Motobatha en 2013. Sin embargo, para junio de 2014, los pobladores exigían el cambio del centro de acopio, pues su establecimiento “temporal” no contaba con las medidas de seguridad y sanitarias para su funcionamiento. Debido a la Ley general señala que este tipo de centros deben estar alejados al menos 5 Km de una zona urbana con menos de mil habitantes. El delegado de la localidad alegó que una gran parte de la población presentó dolor de cabeza, náuseas y mareos, todos ellos síntomas de intoxicaciones por plaguicidas (El independiente de Hidalgo, 2014 a, b).

Con respecto a otros factores que pueden ocasionar un incremento del daño al ADN, se puede mencionar el humo de leña, debido a que en México 27 millones de personas utilizan leña. Herrera-Portugal *et al.* (2009), demostraron que existe correlación entre el daño genético en linfocitos de mujeres de Chiapas y la exposición al humo de leña.

Justificación

Los niños pertenecen a uno de los sectores con un riesgo elevado de exposición a cualquier tipo de agente tóxico. Y aunque no presentan factores de confusión tales como ingestión de alcohol o consumo de cigarro, como en el caso de adultos y adolescentes, si pueden ser fumadores pasivos y tienen una mayor probabilidad de ingerir gases o polvos tóxicos (Aiassa *et al.*, 2014). Además, se ha documentado que los niños que viven en comunidades agrícolas tienen una exposición mayor a plaguicidas en comparación con los niños que no viven en regiones de este tipo, pues estas familias presentan un mayor contacto directo con plaguicidas, ya sea por almacenaje, transporte o aplicación (Rodríguez *et al.*, 2006).

Por otra parte, los sistemas fisiológicos de los niños se encuentran en un estado ontogenético inmaduro, el cual es vulnerable y el daño en esta etapa de la vida humana tiende a presentar una repercusión mayor en su vida adulta. Además debido a las actividades físicas al aire libre y a su conducta de llevar los objetos a su boca, absorben y metabolizan con mayor rapidez y facilidad los compuestos tóxicos (Fenske *et al.*, 2000 a,b; Curl *et al.*, 2002). Al comparar con adultos, los niños tienen una dieta menos variada y consumen proporcionalmente una mayor cantidad de alimentos y agua, que pueden ocasionar un mayor riesgo de intoxicación. Es por ello que la OMS ha declarado que los niños no pueden ser tratados como adultos pequeños, sino que deben ser estudiados con especial atención, diferenciándolos del resto de la población (Benítez-Leite *et al.*, 2010). Por otra parte, el estado de nutrición de cualquier individuo es un factor importante para poder analizar los riesgos a los que se encuentra expuesto. Esto debido a que el estado nutricional puede ser un reflejo de la vulnerabilidad del sujeto y del estado de salud en general. La ONU para la Alimentación y la Agricultura (FAO, 2004), ha recalado que la malnutrición y la deshidratación incrementan la sensibilidad de los niños a los plaguicidas. Es por ello que se hace necesario indagar acerca de su estado de nutrición y de esta manera poder reflexionar sobre el efecto que éste tiene con respecto a una posible exposición a cualquier agente genotóxico.

Debido a algunas de las características de los plaguicidas, por ejemplo su solubilidad en agua (hidrosolubles) o en grasa (liposolubles), pueden incorporarse con facilidad y persistir en el ecosistema. Lo que produce la contaminación de suelo, mantos acuíferos, aire, etc., es decir, el manejo inadecuado de plaguicidas produce grandes efectos en el ambiente. Aunado a esto, el daño genético en seres humanos es probablemente la causa más importantes y fundamental de enfermedades degenerativas y del desarrollo (Benítez-Leite *et al.*, 2010). Por lo cual es necesario reconocer los peligros a los que se expone un individuo, especialmente si es un niño, al habitar un ambiente contaminado con estos compuestos

En México el uso de plaguicidas se encuentra aparentemente regulado con Normas Oficiales (NOM-232-SSA1-2009) y protocolos internacionales (los convenios de Rotterdam y Estocolmo), lo cierto es que en muy pocas ocasiones los agricultores y trabajadores del campo las conocen, por lo que no se toman medidas de seguridad necesarias en el manejo, uso y desecho de plaguicidas. Esto afecta no únicamente a los trabajadores sino también a sus familias y a la población local en general. Pues de acuerdo con Benítez-Leite *et al.* (2010) todas las personas se encuentran inevitablemente expuestas a plaguicidas ya sea a través de una exposición indirecta o ambiental, debido al contacto con trazas de estos compuestos a partir de agua, suelo, aire y alimentos contaminados, o por una exposición directa o laboral.

Las lesiones en el material genético ocasionadas por la exposición crónica a plaguicidas, puede incrementar el riesgo de padecer cáncer o de presentar problemas fisiológicos diversos (Aiassa *et al.*, 2012). Los biomarcadores representan un medio útil para detectar el daño genético temprano, el cual puede ser reversible y por tanto, los efectos negativos a la salud pueden ser controlados (Aiassa *et al.*, 2012). Al trabajar con poblaciones infantiles, es necesario utilizar un biomarcador sencillo, representativo, económico y poco invasivo, por lo cual la prueba de MN en epitelio de la mucosa oral es ideal para este tipo de estudios.

El municipio de Mixquiahuala en el estado de Hidalgo se caracteriza por una producción agrícola como la principal fuente de generación de empleos. Además, se debe considerar que originalmente el valle del Mezquital donde se localiza este municipio es una zona semiárida. Sin embargo, desde el siglo XIX las aguas residuales de la Ciudad de México (y actualmente también de la zona metropolitana) empezaron a descargarse y usarse sin darles ningún tratamiento previo, para el riego de las zonas agrícolas de esta región (Lesser-Carrillo *et al.*, 2011). Algunos estudios como los de Reyes-Solís *et al.* (2009), se han enfocado en determinar el grado de contaminación de los suelos del Mezquital que han sido irrigados con aguas residuales, con énfasis en metales pesados. Aunado a esto, el uso indiscriminado de plaguicidas así como un mal manejo de ellos y de los envases que los contienen en esta región, hace de ella un sitio de interés para comprender el efecto de estos factores en la constitución genética de individuos vulnerables como los niños.

Objetivo general

Evaluar el riesgo genotóxico en niños que viven en hogares cercanos a las áreas agrícolas con intensa aplicación de mezclas de plaguicidas en el Municipio de Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo.

Objetivos particulares

- Evaluar el daño genotóxico producido por la exposición a un ambiente contaminado por plaguicidas en niños en edad escolar mediante el análisis de MN en células epiteliales de la mucosa oral.
- Conocer si existe efecto sinérgico debido a la exposición a plaguicidas, con otros factores que han sido reportados como mutagénicos (tabaquismo pasivo, desnutrición, exposición al humo de leña y quema de basura).
- Evaluar la importancia de factores sociales y económicos en el incremento del riesgo a exposición a agentes tóxicos como los plaguicidas.

Hipótesis general

Existe un mayor daño genotóxico en niños expuestos a un ambiente contaminado con plaguicidas que en aquellos niños cuya residencia se encuentra en localidades donde el uso de plaguicidas es poco frecuente o nulo.

Hipótesis particulares

- Existe mayor prevalencia de alteraciones nucleares, así como de MN en niños expuestos a un ambiente contaminado con plaguicidas que en niños cuyo sitio de residencia no está dentro de un ambiente contaminado por plaguicidas.
- Existe un efecto sinérgico entre la exposición a plaguicidas y a otros factores como el tabaquismo pasivo, la desnutrición y la exposición a humo de leña.

Materiales y métodos

Sitio de estudio

El Municipio de Mixquiahuala de Juárez está ubicado al suroeste del Estado de Hidalgo. En las coordenadas geográficas 20°13' 52" de latitud norte y 99° 12' 47" de longitud oeste, del meridiano de Greenwich. Se localiza a una altura sobre el nivel del mar de 2100 m. Colinda al norte con los municipios de Chilcuautla, Progreso de Obregón y San Salvador; al este con los municipios de San Salvador, Francisco I. Madero y Ajacuba; al sur con los municipios de Ajacuba, Tetepango, Tlahuelilpan y Tezontepec de Aldama; al oeste con Tezontepec de Aldama y Chilcuautla. Ocupa el 0.55% de la superficie del estado. Cuenta con 45 localidades y una población total de 37 747 habitantes.

Las localidades que participaron en el estudio fueron:

Zona Sur: Motobatha en la "Escuela Primaria Emiliano Zapata". En esta localidad, además de cultivar con agua de riego y aplicar plaguicidas, también se encuentra ubicado un centro de recolección de envases de plaguicidas. Cabe destacar que los pobladores están inconformes con la ubicación y las medidas de seguridad de este centro de acopio.

Zona Norte: Jagüey Blanco y colonia Benito Juárez. Escuela Primaria "José María Morelos y Pavón". En esta localidad se utiliza agua de riego tratada, así como plaguicidas en los cultivos.

Zona Este: Colonia Morelos, Escuela Primaria "Orden y Progreso". Está ubicada a menos de 20 metros del canal de aguas residuales con la que se riegan los cultivos y a menos de 50 m de las áreas de cultivo en los que se aplican plaguicidas.

Zona testigo: Tepeitic. En esta localidad se realizan cultivos de temporal y los pobladores aseguran no utilizar plaguicidas en sus cultivos. Mixquiahuala es una localidad más urbanizada, dedicada a la prestación de servicios terciarios, como los de salud, comercio, transporte, etc. Existen en esta localidad negocios

dedicados a la compra y venta de plaguicidas. Sin embargo, todos los niños entrevistados de esta localidad niegan una exposición a dichos agentes químicos.

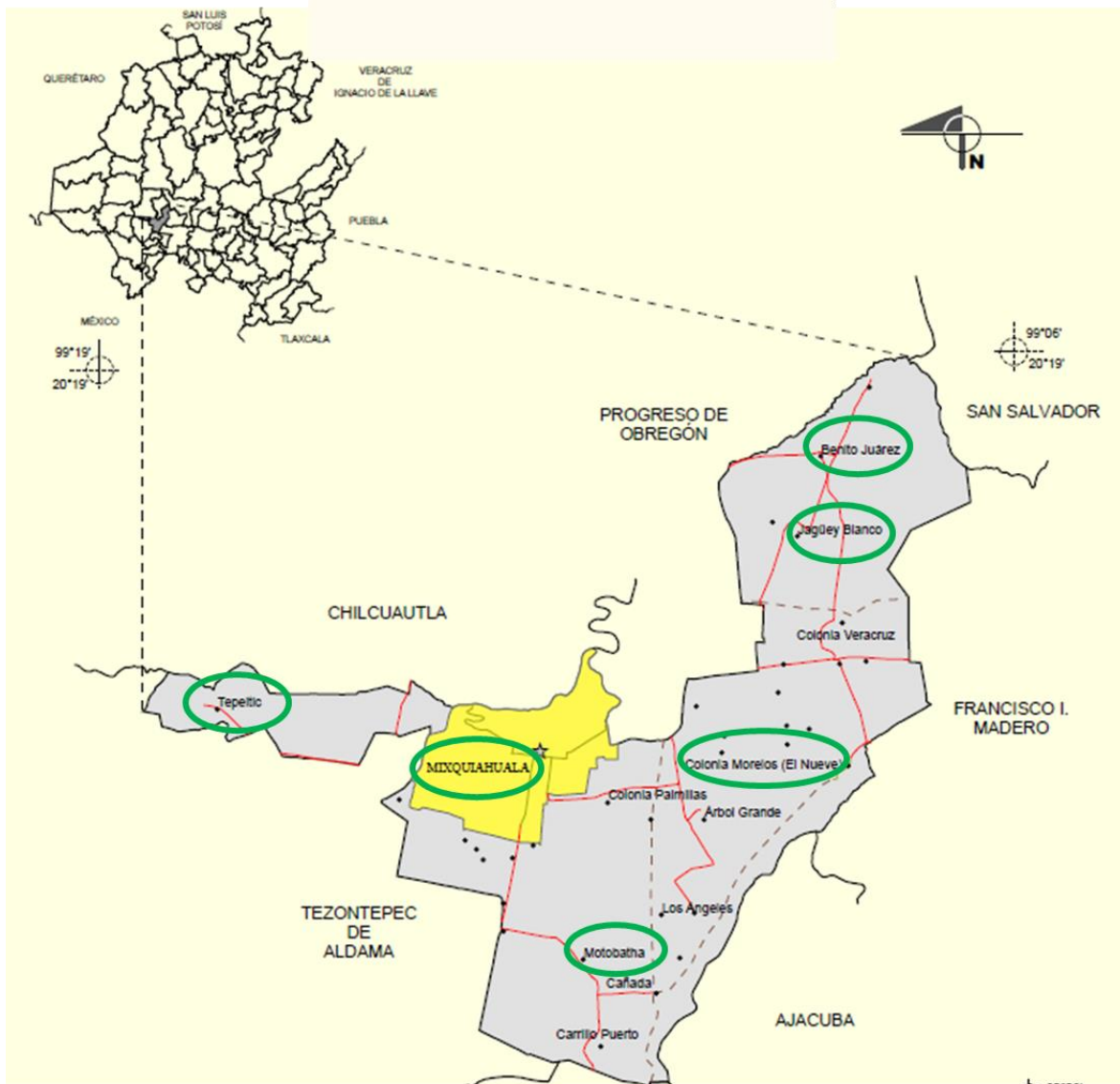


Fig. 5. Ubicación geográfica del municipio y las localidades participantes en el estudio (Tomado y modificado de INEGI, 2005).

Población de estudio

El estudio contó con la participación de 83 niños en edad escolar (de 6 a 12 años) que asisten a las primarias de las localidades mencionadas. Esta población total, se dividió en subpoblaciones de acuerdo con su tipo de exposición. A continuación se presentan los elementos de inclusión utilizados en el estudio:

- *Población expuesta ambientalmente a plaguicidas*: niños que habitan en una localidad donde el uso de plaguicidas es constante y se utiliza agua de riego proveniente de aguas residuales. De los 83 participantes, aquellos que cumplieron con esta característica fueron 55. Aquellos que habitan en una localidad en la cual no se utilizan comúnmente plaguicidas y cuyos cultivos son de temporal (usan agua de lluvia para sus cultivos), fueron 28.
- *Población con exposición indirecta*: individuos cuyos padres son agricultores y manejan plaguicidas. De los 83 niños, aquellos que cumplieron con esta condición ascendieron a 30. Los niños cuyos padres no son agricultores y tampoco utilizan, manejan o almacenan ningún tipo de plaguicida fueron 53.

Cuestionario, mediciones antropométricas y toma de muestra de epitelio bucal

Para conocer a que factores de riesgo se encuentran expuestos los niños de la población del estudio, se encuestó a sus madres sobre sus antecedentes patológicos y no patológicos familiares, prenatales y postnatales, hábitos de higiene personal, de juego y alimentarios. Además se consideraron otros factores relacionados con el ambiente en el que viven, como la distancia de su hogar a la parcela expuesta a plaguicidas más cercana; si ha estado expuesto a humo de leña, o a humo de cigarrillo de tabaco. Para el desarrollo del cuestionario se consideraron las recomendaciones de Thomas *et al.* (2009) acerca de variables de confusión para el ensayo de MN, las cuales incluyen la fecha de nacimiento (edad), género, el índice de masa corporal, historial clínico acerca de antecedentes de cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, medicación o enfermedades recientes, predisposición a enfermedades degenerativas, hábitos alimenticios, así como la probable exposición a carcinógenos químicos o radiaciones. Además, se tomaron medidas antropométricas para descartar desnutrición, ya que de acuerdo con Dusinka y Collins (2008), los individuos con este problema pueden presentar daño genético significativo. En el cuestionario (véase ANEXO I) se incluyó además una carta de consentimiento, en la cual se le solicitaba a la madre o tutor su firma, explicando el

objetivo del estudio, el tipo de muestra que se obtuvo, además de su conocimiento que podía preguntar cualquier duda que tuviese al respecto, así como la libertad de abandonar el estudio cuando así lo creyera conveniente.

Por cuestiones de logística todas las mediciones fueron tomadas con los niños vestidos. Sin embargo, para el peso se les solicitó retirarse los zapatos. Las medidas antropométricas se realizaron de acuerdo a lo sugerido en el “Manual de procedimientos para proyectos de nutrición del Instituto de Salud” (2006), el cual contempla las siguientes categorías:

- **Peso:** esta medida se obtuvo con una báscula de piso de la marca Ekco con una capacidad máxima de 120 Kg y un rango de error de 25-100 gramos. Se le solicitó al individuo permanecer de pie e inmóvil en el centro de la plataforma, con el peso del cuerpo distribuido de manera pareja en ambos pies, con las piernas estiradas y las rodillas juntas, con la mirada al frente y perpendicular al eje vertical del cuerpo (plano de Frankffort), espalda erguida y brazos relajados a los costados. El peso se registró hasta los 100 gramos más próximos al equilibrio de la balanza.
- **Talla:** la longitud se midió con un estadímetro en la pared de tal manera que formara un ángulo de 90° con el piso. Con la escala 00 a nivel del piso. Para la talla al igual que para el peso, se solicitó a los niños permanecer de pie, en posición de firmes, con la espalda, talones, pantorrillas, glúteos y cabeza totalmente recargados en la pared, la cabeza en plano de Frankffort. Se registró el dato observado al décimo de centímetro (0.1 cm) más cercano.
- **Circunferencia de cintura:** se utilizó una cinta métrica con una exactitud de 1mm. Al igual que en las anteriores medidas se le pidió al niño permanecer de pie, en posición de firmes, con los brazos ligeramente separados del costado del cuerpo, pero relajados. La cinta métrica permaneció en una posición horizontal y sin presionar la piel. La medición se lee en cm. El punto exacto de medición se realizó en la zona media entre el reborde costal y las crestas iliacas.

- Peso para la edad: considerando las medidas tomadas por cada individuo se contrastó con los patrones de referencia de la OMS (2007), anotando la puntuación Z en la que se encontraba cada individuo para este indicador de crecimiento.
- Talla para la edad: se contrastó la talla y la edad en año y mes cumplido reportado por cada niño con los patrones de referencia publicados por la OMS (2007), de lo cual se obtuvo la puntuación Z por cada individuo para este indicador de crecimiento.
- Índice de Masa Corporal (IMC): expresa una relación entre el peso y la altura de cualquier individuo, constante y similar en todas las poblaciones (Moreno-Galarraga, 2007).

Se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IMC} = \frac{\text{Peso (Kg)}}{\text{Talla}^2(\text{m})} \times 100$$

La muestra de células exfoliadas para la prueba de MN y alteraciones nucleares, consistió en un raspado de la parte interna de la mejilla con un abatelenguas de madera; previamente remojado en agua, para de esta manera obtener con mayor facilidad células de descamación oral. Antes de tomar la muestra se le pidió al niño que se enjuagara la boca tres veces con agua potable embotellada, esto con el fin de obtener muestras sin residuos de alimentos o de otro tipo, el raspado se realizó en ambas mejillas.

La toma de muestra, la aplicación de cuestionarios y las mediciones antropométricas se realizaron de manera paralela. La colecta de estos datos se realizó en el periodo comprendido entre el mes abril de 2014 y el mes de febrero de 2015.

Procedimiento para realizar la prueba de MN

Una vez obtenida la muestra por medio del raspado de la parte interna de la mejilla se realizó un frotis, con la ayuda del abatelenguas, en un portaobjetos que previamente fue limpiado de restos de grasa con alcohol frío y un paño óptico limpio, se obtuvieron dos laminillas por individuo. Se dejó secar a temperatura

ambiente y se agregó por goteo la cantidad suficiente de fijador ácido-acético (3:1) frío para cubrir la laminilla; nuevamente se dejó evaporar a temperatura ambiente. Todo este procedimiento se llevó a cabo en el lugar de la toma de muestra, para facilitar su transporte, puesto que ya se encontraban fijadas.

En el laboratorio, para su tinción, las laminillas se expusieron a un tratamiento de hidrólisis, el cual se describe a continuación: fueron rehidratadas en agua destilada durante 10 minutos, pasado este tiempo se colocaron en una caja coplin con HCl 1N a temperatura ambiente durante 10 minutos. Posteriormente, las preparaciones se trasladaron a una caja coplin que contenía HCl 1N a 60°C durante 10 minutos. Las laminillas se enjuagaron el tiempo necesario con agua destilada para evitar residuos de HCl y se dejaron secar a temperatura ambiente. A continuación, se colocaron en una caja coplin con el reactivo de Schiff (fucsina leucobásica), en oscuridad y por un tiempo estimado de 1:30 horas. Se enjuagaron con una cantidad abundante de agua corriente y se dejaron secar a temperatura ambiente.

La observación de laminillas se realizó en un microscopio óptico a 40X, si se sospechaba la presencia de un MN se observaba con el objetivo 100X con aceite de inmersión, para tener una lectura confiable. Asimismo, se documentaba la existencia de un mirconúcleo anotando las coordenadas con el fin de facilitar su posterior localización y se tomaron fotografías directamente del microscopio con una cámara digital SONY cyber-shot de 7.2 megapíxeles. En total se contabilizaron 3000 células por individuo, 1500 por cada laminilla. Los criterios considerados para establecer la presencia de un MN fueron los sugeridos por Tolbert *et al.* (1992) y Thomas *et al.* (2009). Además de MN se contabilizaron otras anomalías nucleares como células binucleadas, yemas nucleares, cariorrexis, cariolisis, picnosis y cromatina condensada.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos se analizaron con el programa estadístico SPSS 15.0 para Windows a través de una comparación de medias utilizando el análisis de varianza de una vía (ANOVA-one way).

Resultados

En total participaron 83 niños en el estudio. Su edad osciló entre los 6 y 12 años. Teniendo una media de 7.98 años. En la Fig. 6 se muestra la distribución de la edad de los individuos participantes. Las niñas correspondieron al 61.97%, mientras que los niños representaron el 38.03% del total de la población. Ningún niño declaró haber estado sometido a toma de placas con rayos-X o estar en contacto con este tipo de radiación, en al menos seis meses. Por otra parte, todos los niños dijeron no estar enfermos o tomar medicamentos que pudiera generar algún factor de confusión en el estudio.

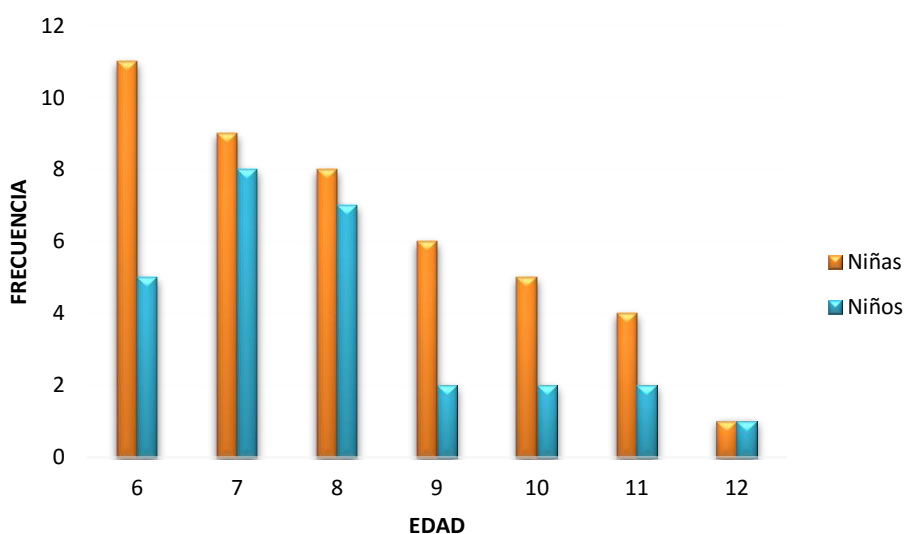


Fig. 6. Distribución de frecuencia de los niños participantes de acuerdo a su edad y sexo

Para caracterizar el estado nutricional de los niños, se les cuestionó sobre sus hábitos alimenticios, preguntándoles el número de comidas al día, así como la frecuencia de consumo de algunos alimentos básicos. Tales como pescado, pollo, carne, verduras y frutas. En la Fig. 7 se muestra la frecuencia de consumo de estos alimentos, cabe destacar que los de mayor consumo diario fueron las frutas y las verduras, productos que el 95.18% de los individuos adquieren en mercados o tianguis locales, 2.41% en supermercados y 2.41% los cultivan en casa. La Fig. 8 muestra la frecuencia de comidas al día. El porcentaje de individuos que

indicaron consumir alimentos tres veces al día corresponde al 73.2%, mientras que un 1.4% declaró hacer 5 comidas al día.

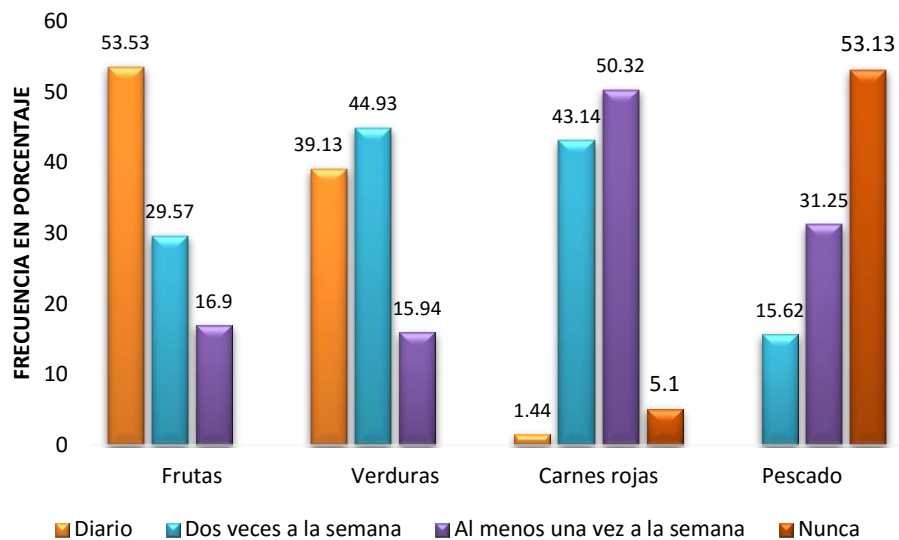


Fig. 7. Porcentajes de las frecuencias de consumo de los diferentes grupos alimenticios



Fig.8. Porcentajes de frecuencias de número de comidas al día

En la población la puntuación Z, según el peso/edad se distribuyó de la siguiente manera: en niñas el 62.85% presenta peso normal de acuerdo con su edad, el 5.72% tienen bajo peso de acuerdo a su edad y el 31.42% pueden

padecer un déficit en su crecimiento, pues su peso puede dificultar el crecimiento en longitud. Por otra parte, en niños el 44% presenta peso normal según su edad, el 16% muestra peso bajo para su edad y el 40% tienen un peso mayor que el de las referencias según su edad.

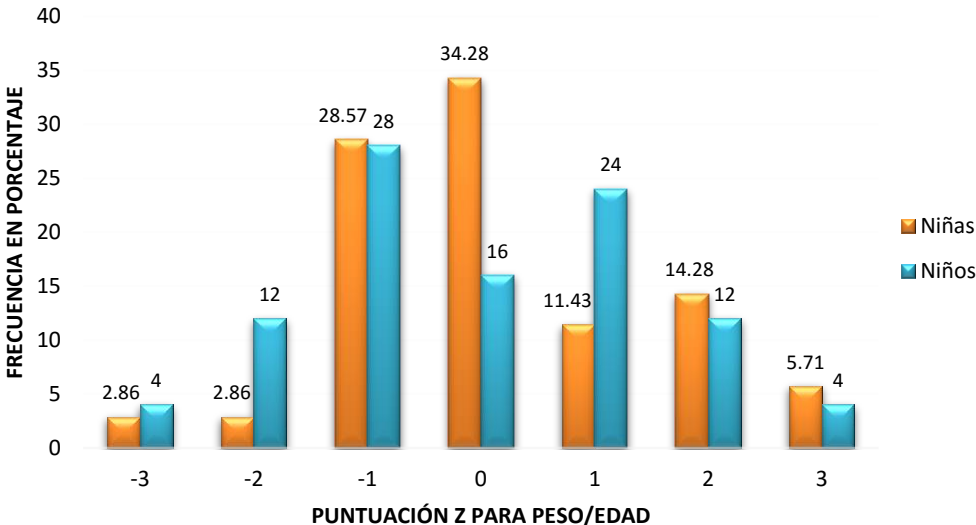


Fig. 9. Frecuencia de las puntuaciones Z de acuerdo con el peso según la edad de los niños participantes.

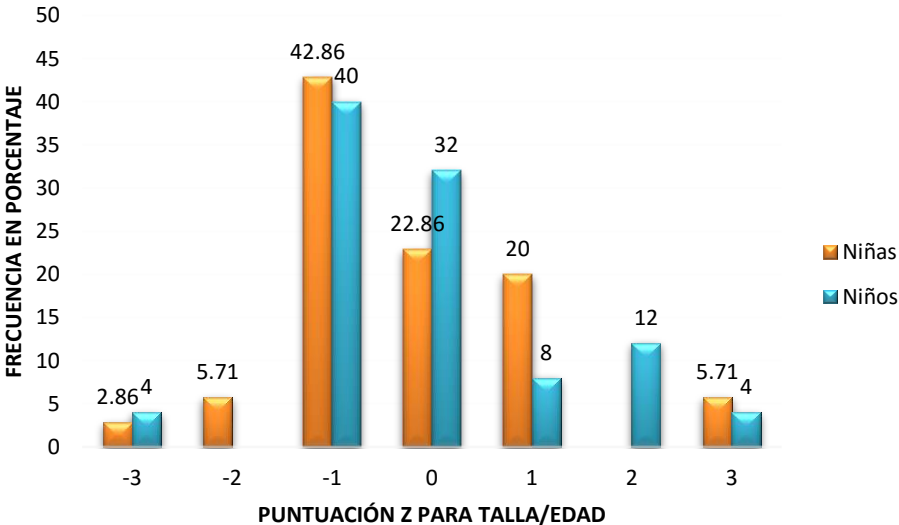


Fig. 10. Frecuencia de las puntuaciones Z de acuerdo con la talla según la edad

En el caso de las puntuaciones Z según la talla por edad de los niños se obtuvo la siguiente información: en mujeres el 85.72% tienen una talla normal según los parámetros de la OMS (2007) para su edad; el 5.71% tienen un incremento considerable en su talla, mientras que el 8.57% presentan una talla muy baja a diferencia de los valores de referencia, por lo que se puede considerar que existe un proceso de crecimiento aletargado.

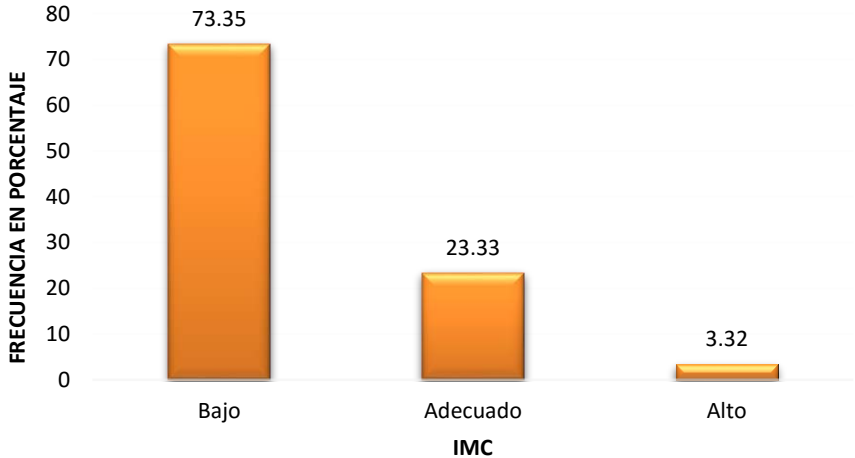


Fig. 11. Frecuencia de individuos con un IMC bajo, normal y alto en la población general

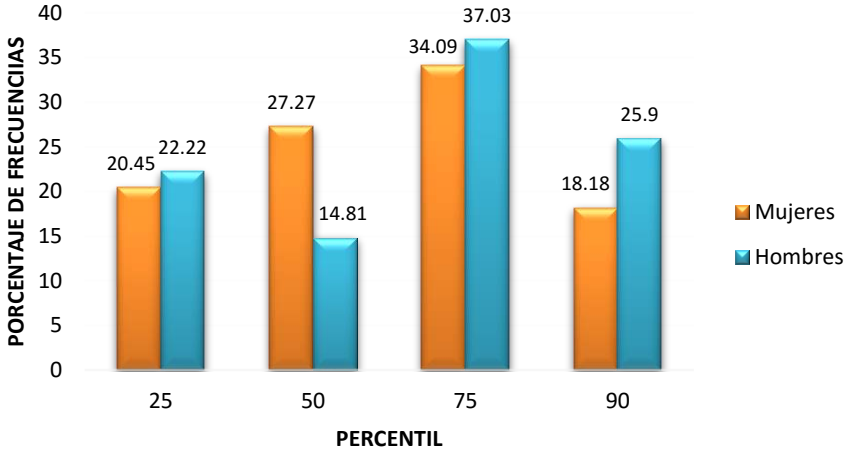


Fig. 12. Frecuencia de percentiles obtenidos de la comparación de los datos obtenidos con los valores de referencia de la OMS (2007) para circunferencia de cintura en mujeres y hombres

En la Fig. 11 se observa la distribución de porcentajes de acuerdo con la clasificación del IMC. El 73.35% de la población presentan un IMC bajo, lo cual puede relacionarse con un estado de desnutrición. Mientras que el 23.33% presenta un IMC normal y el 3.32% un IMC alto. La circunferencia de cintura fue normal (percentiles 50 y 75) en el 61.36%, mientras que fue muy baja en el 20.45% y con un aparente incremento de grasa abdominal en el 18.18% de las niñas. Mientras que en niños, el 51.84% tuvo una circunferencia de cintura normal, 22.22% una muy baja y el 25.9% presentan acumulación de grasa abdominal.

En el caso de la lactancia, la mayor parte de las madres de los niños del estudio declararon haber amamantado a su hijo por lo menos un mes y hasta un año y medio. En las Figs. 13, 14 y 15 se presentan los porcentajes de las poblaciones expuesta y no expuesta ambientalmente, indirectamente y ambientalmente e indirectamente, así como el tiempo en el cual fueron amamantados.

Los cuestionarios arrojaron información diversa acerca del nivel socioeconómico de los niños que habitan el municipio de Mixquiahuala de Juárez. El 48.61% de la población total indicó estar expuesto a plaguicidas debido a que su padre o sus padres utilizan estas sustancias de manera familiar o laboral. El 40.27% indicó estar expuesto a humo de leña. El 33.33% a humo de quema de basura, mientras que el 15% indicó ser fumador pasivo. De éstos únicamente el 4.16% se encuentran expuestos a estos cuatro factores. El porcentaje de niños que trabajan en el campo fue de 8.33% del total de la población. Las actividades que realizan incluyen la siembra, deshierbe y colecta. Sin embargo, ninguno de ellos declaró utilizar plaguicidas de manera directa y ninguno sobrepasó los 2 años de antigüedad realizando sus labores en el campo.

En la Fig. 16 se presentan los porcentajes de las ocupaciones de los padres de los niños encuestados. El 46.15% del total de los padres utilizan plaguicidas en su trabajo. Todos, declararon tomar medidas de seguridad como lavar la ropa de trabajo de manera separada a la ropa del resto de la familia, también lavarse las manos y bañarse después del uso de estos agentes tóxicos.

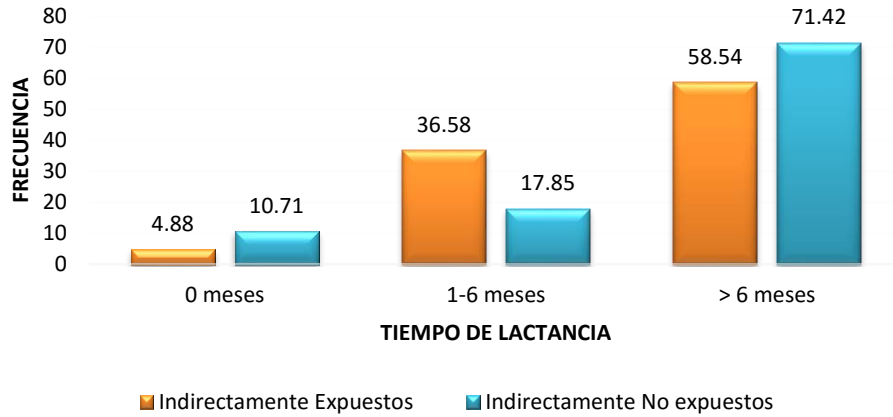


Fig. 13. Frecuencia en porcentaje del tiempo de lactancia reportado en las poblaciones expuesta y no expuesta indirectamente.

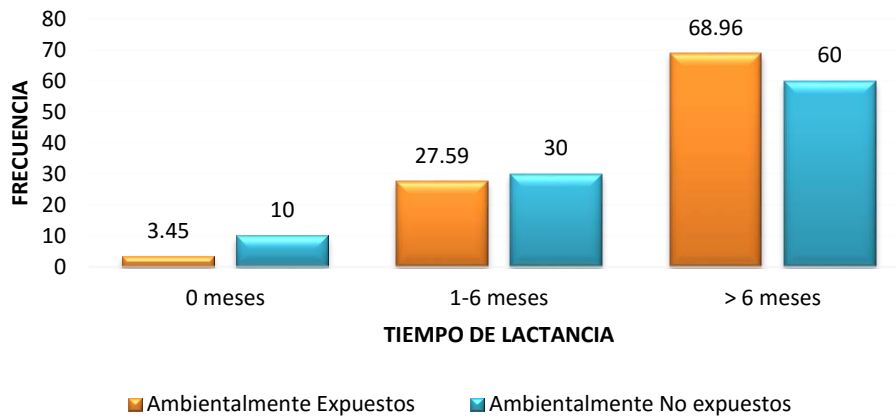


Fig. 14. Frecuencia en porcentaje del tiempo de lactancia reportado en las poblaciones expuesta y no expuesta ambientalmente.

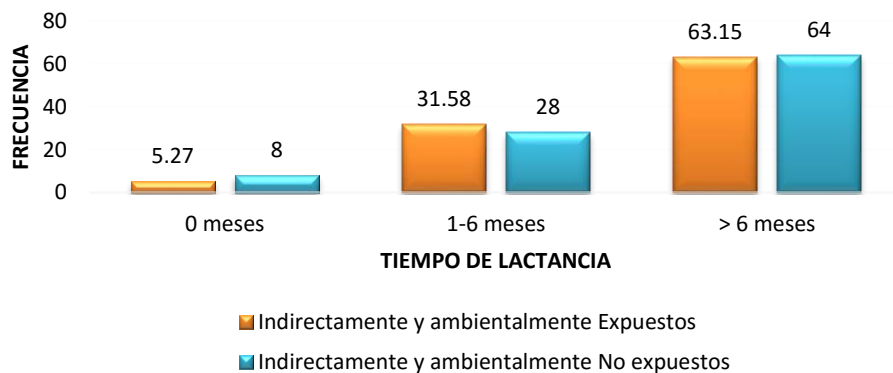


Fig. 15. Frecuencia en porcentaje del tiempo de lactancia reportado en las poblaciones con o sin exposición ambiental e indirecta.

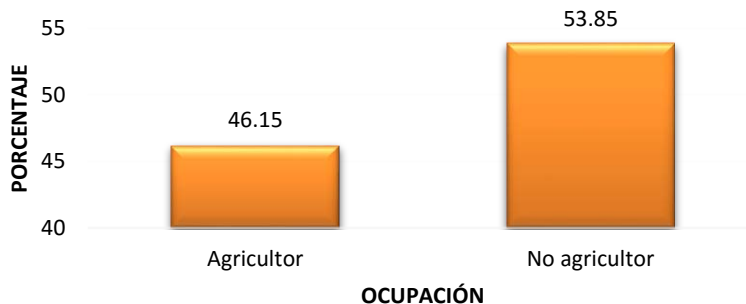


Fig. 16. Ocupación de los padres de los niños participantes en el estudio, expresados en porcentajes.

Sobre el tipo de plaguicidas que son utilizados argumentaron haber aplicado plaguicidas caseros tipo “Raid”®, así como raticidas del tipo Guayaquil (fluoroacetato de sodio). Los plaguicidas de uso agrícola empleados en el municipio, de acuerdo con las madres de los niños participantes son: alfadex, endosulfán, esterón, foley-rey, furarán, malatión y paraquat. En la tabla 6, se presentan los compuestos activos de estos plaguicidas.

Tabla 6. Compuestos activos de los plaguicidas agrícolas que se utilizan con mayor frecuencia en el Municipio de Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo. De acuerdo con su peligrosidad según la OMS (2010).

Organoclorados	Organofosforados	Carbamatos	Piretroides	Otros
Insecticidas				
Endosulfán(II)	Clorpirifós(II)	Carbofurano (Ib)	Cipermetrina (III)	
	Malatión (III)		Permetrina (II)	Fluoroacetato de sodio (Ia)
	Metamidofos(Ib)		Aletrina (II)	
			Tetrametrina (U)	
			Fenotrin (U)	
			Esbiotrin (II)	
Herbicidas				
				2,4-D(III)
				Paraquat(II)

OMS/WHO (2010) Clasificación según la peligrosidad de las sustancias activas de los plaguicidas: Ia= extremadamente peligroso, Ib= altamente peligroso, II= moderadamente peligroso, III= ligeramente peligroso, U= Improbable que presente peligro agudo en un uso normal.

En el cuestionario se les preguntó a las madres acerca del sitio donde los niños suelen pasar la mayor parte de su tiempo de juego, las respuestas se dividieron en dos categorías: juego al exterior y juego al interior de la casa. El porcentaje de niños que juegan fuera de casa en las localidades con una posible exposición ambiental a plaguicidas corresponde al 47.37%, mientras que aquellos que juegan la mayor parte de su tiempo dentro de casa representan el 52.63%.

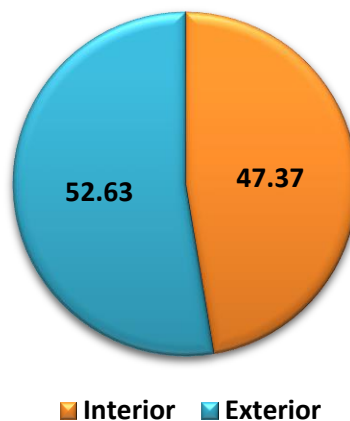


Fig. 17. Porcentaje de niños que juegan al interior y al exterior de su casa

En cuanto a la frecuencia de MN y anomalías nucleares observadas según los diferentes tipos de exposición no se encontró diferencias significativas al comparar las poblaciones expuestas y no expuestas por medio del análisis de varianza (ANOVA).

En el ANOVA realizado para comparar las medias de los individuos expuestos y no expuestos a plaguicidas debido al ambiente se obtuvo una F de 0.192 con 1 grado de libertad y una significancia de 0.662, en el caso de los MN. De las alteraciones nucleares, la cariorrexis presenta una diferencia significativa de 0.001 con una F de 12.743 y 1 grado de libertad. Las células binucleadas tienen una significancia de 0.001, con una F de 12.863 y 1 grado de libertad. La picnosis y la cariolisis también fueron significativas entre las poblaciones expuesta y no expuesta, con valores de 0.002 (F 10.014 y 1 grado de libertad) y 0.001 (F 12.743

y 1 grado de libertad), respectivamente. En la tabla 7 se exponen las medias de las poblaciones expuestas y no expuestas de acuerdo con la frecuencia de MN y anomalías nucleares.

Tabla 7. Medias y desviación estándar de las frecuencias por mil células de MN y anomalías nucleares de niños con exposición y sin exposición ambiental a plaguicidas

	Población expuesta ambientalmente a plaguicidas ($\bar{X} \pm D.E.$)	Población no expuesta ambientalmente a plaguicidas ($\bar{X} \pm D.E.$)
Número de individuos	55	28
Edad	8.42 \pm 1.537	7.32 \pm 1.081
IMC	17.33 \pm 2.317	17.39 \pm 1.839
MN	0.18 \pm 0.16	0.15 \pm 0.13
Binucleadas	0.38 \pm 0.23**	0.19 \pm 0.14
Yemas nucleares	0.04 \pm 0.04	0.03 \pm 0.03
Cariorrexis	0.74 \pm 0.35**	0.62 \pm 0.22
Picnosis	0.85 \pm 0.67**	0.43 \pm 0.18
Cromatina condensada	0.57 \pm 0.21	0.48 \pm 0.19
Cariolisis	0.40 \pm 0.28**	0.15 \pm 0.14

** $p > 0.05$

En niños con exposición indirecta (debido a que sus padres laboran en actividades que involucran el uso o manejo de plaguicidas) no se encontró diferencia significativa en comparación con la población de niños cuyos padres no utilizan plaguicidas, en la prueba de MN ni anomalías nucleares de acuerdo con el ANOVA realizado (Tabla 8). En el caso de los MN la significancia obtenida fue de 0.523 y una F de 0.523 con 1 grado de libertad.

En el caso de los individuos con una exposición ambiental y que además sus padres trabajan en actividades agrícolas, se encontraron diferencias significativas para las células binucleadas, picnóticas y cariolíticas (Tabla 9). En cuanto a las células binucleadas, su significancia fue de 0.011 con una F de 7.149 y 1 grado de libertad. La significancia en el caso de las células picnóticas fue de 0.003 y una F de 9.809 y 1 grado de libertad. La cariolisis tuvo una significancia de 0.004 con una F de 9.182 con 1 grado de libertad. En el caso de los MN la diferencia entre la

población expuesta y no expuesta a ambos factores no fue significativa con un valor de 0.534, una F de 0.394 y 1 grado de libertad.

Tabla 8. Promedios de las frecuencias de MN y anomalías nucleares de niños con exposición indirecta

	Población expuesta indirectamente a plaguicidas ($\bar{X} \pm D.E.$)	Población no expuesta indirectamente a plaguicidas ($\bar{X} \pm D.E.$)
	Media	Media
Número de individuos	30	53
Edad	8.3 \pm 1.58	7.75 \pm 1.26
IMC	16.71 \pm 1.80	17.86 \pm 2.4
MN	0.18 \pm 0.15	0.16 \pm 0.14
Binucleadas	0.23 \pm 0.17	0.26 \pm 0.19
Yemas nucleares	0.05 \pm 0.05	0.04 \pm 0.03
Cariorrexis	0.69 \pm 0.26	0.6 \pm 0.24
Picnosis	0.67 \pm 0.2	0.43 \pm 0.47
Cromatina condensada	0.53 \pm 0.15	0.51 \pm 0.24
Cariolisis	0.95 \pm 0.29	0.47 \pm 0.10

**p>0.05

Tabla 9. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares de niños con o sin exposición ambiental.

	Población expuesta ambiental e indirectamente a plaguicidas ($\bar{X} \pm D.E.$)	Población no expuesta ambiental e indirectamente a plaguicidas ($\bar{X} \pm D.E.$)
Número de individuos	21	19
Edad	8.76 \pm 1.56	7.36 \pm 1.02
IMC	16.82 \pm 2.026	17.85 \pm 2.188
MN	0.2 \pm 0.15	0.16 \pm 0.12
Binucleadas	0.38 \pm 0.23**	0.17 \pm 0.13
Yemas nucleares	0.05 \pm 0.04	0.03 \pm 0.03
Cariorrexis	0.76 \pm 0.38	0.54 \pm 0.24
Picnosis	0.37 \pm 0.14**	0.104 \pm 0.78
Cromatina condensada	0.63 \pm 0.26	0.48 \pm 0.16
Cariolisis	0.34 \pm 0.16**	0.187 \pm 0.17

**p>0.05

En el caso de los factores de confusión como la edad o sexo, no se encontró diferencia significativa para micronúcleos y tampoco para anomalías nucleares (Tablas 10 y 11). Los factores culturales propuestos en el estudio como el estado nutricional, la exposición a humo de leña, humo por quema de basura y juego al interior y exterior de la casa no mostró diferencia significativa en ninguna de las categorías de exposición (Tablas 12 a 16). En el caso de humo de cigarro se observó una diferencia significativa en individuos con una clara exposición a humo de tabaco y un IMC bajo. La significancia fue de 0.025 con una F de 3.918 y 2 grados de libertad.

Tabla 10. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares según el sexo de los niños participantes.

	Niñas ($\bar{X} \pm D.E.$)	Niños ($\bar{X} \pm D.E.$)
MN	0.17 ± 0.15	0.17 ± 0.23
Binucleadas	0.28 ± 0.27	0.22 ± 0.22
Yemas nucleares	0.04 ± 0.05	0.03 ± 0.04
Cariorrexis	0.64 ± 0.39	0.66 ± 0.30
Picnosis	0.60 ± 0.64	0.53 ± 0.55
Cromatina condensada	0.51 ± 0.26	0.51 ± 0.29
Cariolisis	0.76 ± 0.12	0.82 ± 0.16

**p>0.05

Tabla 11. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares según la edad de los niños participantes.

	6 a 8 años ($\bar{X} \pm D.E.$)	9 a 10 años ($\bar{X} \pm D.E.$)	11 a 12 años ($\bar{X} \pm D.E.$)
MN	0.16 ± 0.18	0.17 ± 0.15	0.21 ± 0.26
Binucleadas	0.27 ± 0.27	0.26 ± 0.22	0.18 ± 0.18
Yemas nucleares	0.03 ± 0.04	0.04 ± 0.04	0.08 ± 0.07
Cariorrexis	0.64 ± 0.34	0.7 ± 0.46	0.55 ± 0.25
Picnosis	0.60 ± 0.60	0.56 ± 0.77	0.42 ± 0.13
Cromatina condensada	0.51 ± 0.29	0.58 ± 0.26	0.44 ± 0.15
Cariolisis	0.85 ± 0.14	0.81 ± 1.52	0.32 ± 0.17

**p>0.05

Tabla 12. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares de niños con bajo peso, peso normal o sobrepeso.

	Bajo peso ($\bar{X} \pm D.E.$)	Peso normal ($\bar{X} \pm D.E.$)	Sobrepeso ($\bar{X} \pm D.E.$)
MN	0.17 ± 0.18	0.19 ± 0.22	0.20 ± 0.001
Binucleadas	0.28 ± 0.27	0.23 ± 0.26	0.30 ± 0.14
Yemas nucleares	0.03 ± 0.05	0.05 ± 0.06	0.01 ± 0.02
Cariorrexis	0.69 ± 0.38	0.57 ± 0.31	0.31 ± 0.41
Picnosis	0.54 ± 0.61	0.83 ± 0.79	0.25 ± 0.11
Cromatina condensada	0.52 ± 0.24	0.54 ± 0.40	0.80 ± 0.42
Cariolisis	0.65 ± 0.11	0.61 ± 0.5	0.46 ± 0.37

**p>0.05

Tabla 13. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares de niños con y sin exposición a humo de leña.

	Población con exposición a humo de leña ($\bar{X} \pm D.E.$)	Población sin exposición a humo de leña ($\bar{X} \pm D.E.$)
MN	0.17 ± 0.26	0.17 ± 0.17
Binucleadas	0.27 ± 0.28	0.26 ± 0.23
Yemas nucleares	0.04 ± 0.05	0.03 ± 0.04
Cariorrexis	0.67 ± 0.38	0.63 ± 0.35
Picnosis	0.63 ± 0.61	0.56 ± 0.64
Cromatina condensada	0.55 ± 0.26	0.49 ± 0.28
Cariolisis	0.66 ± 1.05	0.60 ± 1.03

**p>0.05

Tabla 14. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares de niños con y sin exposición a humo de quema de basura.

	Individuos con exposición a quema de basura ($\bar{X} \pm D.E.$)	Individuos sin exposición a quema de basura ($\bar{X} \pm D.E.$)
MN	0.21 ± 0.19	0.19 ± 0.16
Binucleadas	0.26 ± 0.23	0.26 ± 0.27
Yemas nucleares	0.04 ± 0.05	0.03 ± 0.04
Cariorrexis	0.66 ± 0.37	0.65 ± 0.36
Picnosis	0.71 ± 0.72	0.68 ± 0.56
Cromatina condensada	0.58 ± 0.17	0.48 ± 0.31
Cariolisis	0.49 ± 0.17	0.47 ± 0.33

**p>0.05

Tabla 15. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares de niños con y sin exposición a humo de tabaco.

	Individuos con exposición a humo de tabaco ($\bar{X} \pm D.E.$)	Individuos sin exposición a humo de tabaco ($\bar{X} \pm D.E.$)
MN	0.17 ± 0.17	0.17 ± 0.20
Binucleadas	0.26 ± 0.28	0.26 ± 0.22
Yemas nucleares	0.04 ± 0.05	0.03 ± 0.67
Cariorrexis	0.67 ± 0.35	0.63 ± 0.38
Picnosis	0.63 ± 0.54	0.56 ± 0.61
Cromatina condensada	0.55 ± 0.28	0.49 ± 0.26
Cariolisis	0.66 ± 0.18	0.66 ± 0.10

**p>0.05

Tabla 16. Promedio de las frecuencias de MN y anomalías nucleares de niños que juegan al interior y exterior de sus viviendas o escuela.

	Niños que juegan al interior de su casa o escuela ($\bar{X} \pm D.E.$)	Niños que juegan al exterior de su casa o escuela ($\bar{X} \pm D.E.$)
MN	0.16 ± 0.23	0.16 ± 0.16
Binucleadas	0.18 ± 0.17	0.19 ± 0.22
Yemas nucleares	0.03 ± 0.04	0.05 ± 0.05
Cariorrexis	0.59 ± 0.28	0.72 ± 0.41
Picnosis	0.51 ± 0.53	0.64 ± 0.67
Cromatina condensada	0.49 ± 0.33	0.52 ± 0.23
Cariolisis	0.79 ± 0.16	0.90 ± 0.14

**p>0.05

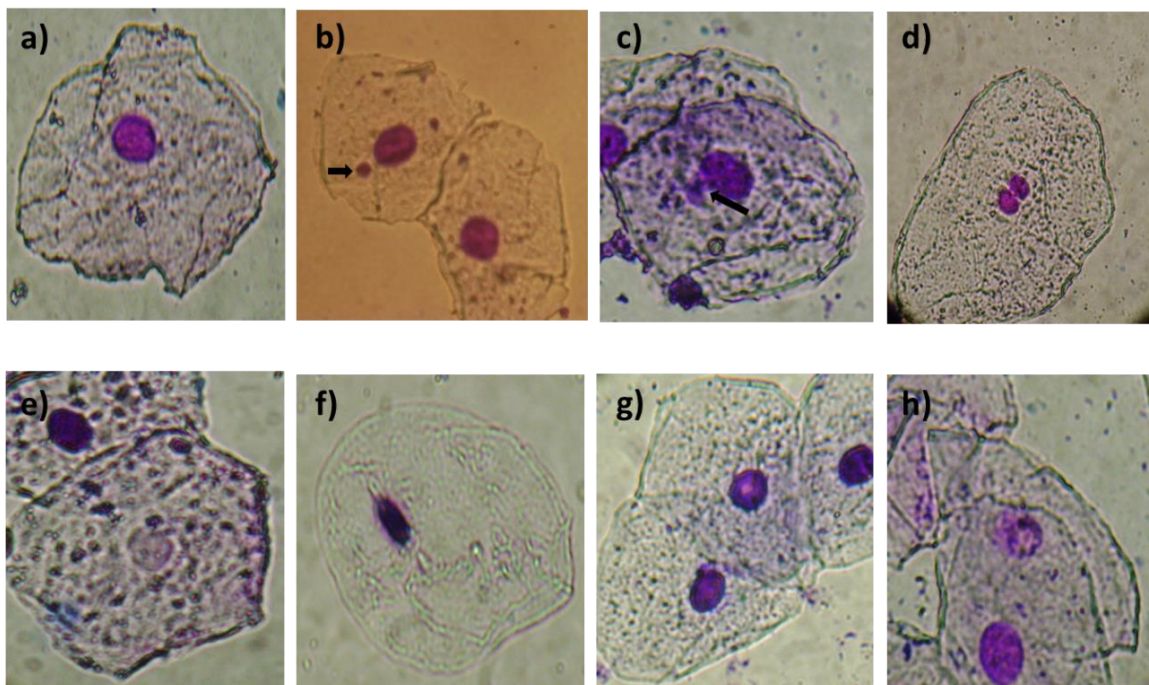


Fig. 18. Microfotografía de células de mucosa oral observadas al microscopio óptico a 400 aumentos. a) célula diferenciada con núcleo intacto, b) célula diferenciada con un micronúcleo, c) célula con puente nucleoplasmático, d) célula binucleada, e) célula con núcleo kariolítico, f) célula con un núcleo picnótico, g) célula con cromatina condensada, h) célula kariorrética

Discusión

Los niños en poblaciones rurales dedicadas a la agricultura, sobre todo en países en desarrollo como México, se encuentran expuestos a plaguicidas de diversas maneras, resultando difícil cuantificar el tiempo de exposición. Esto debido a que el lapso entre el uso de los plaguicidas en el campo no es continuo. Aunque no se descarta un daño crónico acumulativo, el cual se incrementa con el paso del tiempo (Matheus-Lobo y Bolaños, 2014). Por otra parte, la medición del tiempo y grado de exposición se determina a través de cuestionarios, o encuestas, así como los datos sobre contaminación ambiental para la zona en la que reside la población de estudio. Un problema con esto es la falta de información, pues en la mayoría de los casos no se le da seguimiento, obteniendo como resultado un cálculo sobre tiempo y grado de exposición demasiado alto o bajo y no el real (Aiassa *et al.*, 2014). En el caso de este estudio se trata de una evaluación, que si bien considera factores de exposición y vulnerabilidad del pasado, no se realizó un análisis profundo de otros factores que también pudieron intervenir en su exposición. Como el tipo de construcción en la que habita el niño, si su cocina se encuentra al interior o exterior de la vivienda, si ha padecido síntomas frecuentes relacionados a la exposición de agroquímicos (dolor de cabeza, estomacal, mareo, dificultad para respirar, erupciones en la piel, etc.), entre otros.

De los resultados obtenidos es posible afirmar que aunque los plaguicidas de uso regular reportados en los cuestionarios son catalogados en su mayoría como peligrosos por la OMS (Ia, Ib, II y III), al parecer la exposición en esta población no parece tener efectos importantes en el material genético, con respecto a los MN. Esto puede relacionarse con el hecho de que la mayoría de los niños pasan la mayor parte de su tiempo de juego en sitios cerrados, protegidos de esta manera al ambiente contaminado. Y aquellos que juegan en el exterior, lo hacen en su mayoría lejos de los campos o sitios donde se asperjan los plaguicidas. Sin embargo no se descarta que pueda agravarse con el tiempo y grado de exposición al que someten estos niños. La localidad con mayor frecuencia de MN fue la Colonia Morelos, cuya escuela se encuentra a escasos metros del canal de aguas residuales y de los sitios de cultivo. Estudios como el de Bernardi *et al.* (2015), han

demostrado que la distancia de la vivienda y escuela de los niños y los campos de cultivo, son un factor importante de exposición a plaguicidas. Estos autores en un estudio con niños en la provincia de Córdoba, Argentina, evaluaron el daño al ADN de acuerdo a la distancia en la que se encontraban las viviendas de los niños de los sitios asperjados con plaguicidas, encontrando una elevación significativa de la incidencia de MN en niños que habitan a menos 500 m de los sitios contaminados con plaguicidas. A pesar de que se esperaba una mayor frecuencia de MN en la localidad de Motobatha, sitio donde se encuentra ubicado un centro de acopio de envases de plaguicidas, su frecuencia promedio fue la segunda más alta, pero no significativa con relación al grupo no expuesto.

No obstante, en el caso de las células binucleadas si existe una diferencia significativa entre el grupo expuesto y el no expuesto, ambientalmente. Por lo que posiblemente existe un bloqueo de la citocinesis, en el que puede estar implicada la exposición a agroquímicos (Harshvardhan *et al.*, 2010; Kashyap y Reddy, 2012). En la misma categoría de exposición también existe un incremento significativo en la frecuencia de células cariorrexicas, picnóticas y cariolíticas. Estas últimas son características de lesiones tisulares y necrosis (Harshvardhan *et al.*, 2010; Bolognesi y Fenech, 2013; Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra, 2013), lo cual concuerda con el estado bucal de los niños. Quienes presentaban resequead e inflamación en el paladar y en el área interna de las mejillas, aunado a la presencia de caries en los dientes. Por lo que no se descarta infecciones y problemas bucales en la población, quizá relacionados con el estado de desnutrición y deshidratación. Por otra parte, las células cariorréticas y picnóticas, tienen su origen en la muerte celular programada conocida como apoptosis, el cual puede ser parte del proceso de mantenimiento celular natural en el tejido (Harshvardhan *et al.*, 2010; Bolognesi y Fenech, 2013).

La prueba de MN en mucosa oral, en esta población en particular, no demostró la existencia de una correlación entre el daño genético y la exposición a plaguicidas; ya fuera debido al ambiente, por exposición paterna, o ambas. Inclusive en ninguno de los factores de confusión como edad, sexo, exposición a

humo de leña, quema de basura o tabaco. Sin embargo, si se percibió un pequeño incremento en la frecuencia de estos en la exposición ambiental, en la indirecta y en la combinación de ambas. Por lo que los efectos de exposición a plaguicidas a largo plazo no se descartan. No obstante, las frecuencias de MN obtenidas en este estudio se encuentran por debajo de los parámetros de frecuencias basales descritas para adultos por diversos autores como Harshvardhan *et al.* (2010) o Alexandrescu *et al.* (2006), o bien, los referidos por Gómez-Arroyo *et al.* (2000). Neri *et al.* (2003) establecen que en promedio existe una frecuencia basal de 0.5 a 3 MN por cada mil células de epitelio bucal. Mientras que Neri *et al.* (2005) realizaron un metanálisis para determinar la frecuencia basal de MN en linfocitos, con un valor de 5.7 MN por cada mil células.

Con respecto a la diferencia entre frecuencias en distintos tejidos, se debe recordar que la mucosa oral al ser un tejido especializado, las células que se colectan para su análisis pasaron por un proceso de al menos 2 semanas (en adultos, en niños se desconoce el tiempo exacto) de diferenciación celular (Aiassa, 2014).

Los tejidos epiteliales tienden a renovarse continuamente mediante el proceso de mitosis en las capas basales en las que exclusivamente puede expresarse el daño genético, pues son las únicas células en proceso de división (Kashyap y Reddy, 2012). Por lo cual se ha demostrado que este biomarcador es más eficaz evaluando el daño agudo a plaguicidas y no tanto el crónico (Matheus-Lobo y Bolaños, 2014). Lo que explicaría la baja frecuencia de MN observada tanto en el grupo expuesto como en el no expuesto. Ya que el periodo de recolección de muestras no coincidió con el tiempo de mayor uso de plaguicidas. Por otra parte, los linfocitos T parecen ser por excelencia el tejido para investigar el daño genético por exposición crónica, ya que estos permanecen meses circulando en la sangre periférica, por lo que pueden acumular daño genético por mucho más tiempo que en el caso de las células epiteliales (Holland *et al.*, 2011).

En cuanto al monitoreo ambiental de la región, se han realizado análisis de contaminación por metales pesados en agua, suelo, vegetales y productos lácteos

en todo el Valle del Mezquital. Respecto a la calidad del agua, en un estudio realizado por Lesser-Carrillo *et al.* (2011), encontraron que en 65 pozos analizados de la región del Mezquital todos presentaban cantidades de sodio y sólidos totales disueltos superiores al límite permisible para agua de uso y consumo humano. Además, en algunos de ellos se percataron de la presencia de arsénico, fluoruros y plomo en concentraciones por encima del límite permitido.

En el suelo regado con aguas residuales, la acumulación de metales pesados como Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn y Pb, se encontró en cantidades peligrosas (Vázquez-Alarcón *et al.*, 2001; Mireles *et al.*, 2004; Flores-Magdaleno *et al.*, 2011).

Con respecto al efecto en plantas, Mireles *et al.* (2004) no encontraron bioacumulación de metales pesados en ninguno de los productos agrícolas analizados, provenientes de Mixquiahuala de Juárez. Sin embargo, Vázquez-Alarcón *et al.* (2001), hallaron cantidades importantes de cadmio, plomo y níquel, en la semilla, tejido foliar y grano de muestras de maíz, trigo y alfalfa provenientes de diversas regiones del Valle del Mezquital, las cuales fueron regadas con agua tratada proveniente del Gran Canal. Por último, en cuanto a la cadena de bioacumulación de contaminantes, se han realizado análisis en la leche de vacas que pastorean o son alimentadas con forraje regado con aguas residuales y otras con alimentación regulada. Solís *et al.* (2009) no encontraron diferencia significativa en las trazas de cobre, plomo y zinc. Mientras que Vidal *et al.* (2004) notaron aumento significativo en la cantidad de plomo y cobre, entre las muestras testigo y las contaminadas. A pesar de que se han mencionado incrementos significativos en la frecuencia de MN de poblaciones infantiles expuestas a metales pesados (Kapka *et al.*, 2007), en esta región no se ha descrito daño genético provocado por este tipo de exposición.

En cuanto a la contaminación y bioacumulación de plaguicidas, se ha demostrado que la concentración de estos compuestos en el ambiente es mayor en comunidades agrícolas y cerca de los campos tratados con estos compuestos químicos (Aiasa *et al.*, 2012). La revisión de Waliszewski *et al.* (2013), refleja la fuerte exposición a plaguicidas a la que se encuentran sometidos los pobladores

de estados agrícolas como Veracruz, Oaxaca, Puebla, Tabasco y Chiapas, en los cuales se ha reportado la presencia de plaguicidas organoclorados en sus habitantes. Gómez-Arroyo *et al.* (2013), observaron un incremento significativo en la frecuencia de MN en niños expuestos ambientalmente a plaguicidas en el estado de Sinaloa, México. Martínez-Valenzuela *et al.* (2009), también encontraron un aumento significativo de la frecuencia de MN en el mismo estado, pero en trabajadores agrícolas. Al igual que Carbajal-López *et al.* (2016) en trabajadores agrícolas del estado de Guerrero. Fernández-Bringas (2004) evaluó la cantidad de plaguicidas organoclorados en el sistema lacustre de Metztitlán en el estado de Hidalgo, en tilapias (*Oreochromis sp.*) y sedimentos obtenidos del lago. El estudio mostró que en ambas muestras una cantidad considerable de compuestos clorados y de sulfato de endosulfán provenientes de los campos de cultivo cercanos al sistema lacustre, lo que permite inferir que existe una acumulación de estos compuestos en el suelo y en los organismos que habitan cercanos a estas áreas. Sin embargo, para el caso del municipio de Mixquiahuala no existen referencias sobre el monitoreo ambiental de plaguicidas.

La exposición indirecta, en la cual se toma como factor de inclusión el hecho de ser hijo de un trabajador agrícola expuesto a plaguicidas. Este tipo de exposición es conocido como “*take-home pathway*” en inglés. El principio básico para considerarlo como un factor importante de exposición es que los agricultores suelen llevar residuos de plaguicidas a su hogar después de una jornada laboral. Los cuales pueden acumularse en el suelo de la vivienda y en superficies como la de muebles o juguetes, o cualquier objeto que puede ser utilizado por el niño. Aunque él no esté en contacto directo con plaguicidas, si lo está indirectamente debido a la actividad de su padre (Fenske *et al.*, 2000 a, b; Curl *et al.*, 2002; Thompson *et al.*, 2003). Se han encontrado por medio del análisis de metabolitos en orina correlaciones positivas entre la cantidad de estos metabolitos derivados de plaguicidas organofosforados en niños hijos de agricultores a diferencia de niños cuyos padres se dedican a otras actividades (Curl *et al.*, 2002; Thompson *et al.*, 2003).

Matheus-Lobo y Bolaños (2014) realizaron una revisión de los estudios publicados en el periodo del 2000 al 2013 acerca del uso del ensayo de MN como biomarcador de la exposición laboral a plaguicidas. Encontraron que aquellos estudios en los cuales la asociación de la frecuencia de MN no fue significativa puede atribuirse al manejo de plaguicidas de forma segura así como un correcto uso del equipo de protección. Además, atribuyen al empleo de mezclas de plaguicidas como un factor de mayor riesgo para la producción de daño genético, por lo que la aplicación de plaguicidas únicos con un grado de toxicidad bajo es relativamente más seguro que utilizar mezclas de estos compuestos. Para el caso de Mixquiahuala, todas las mujeres dijeron haber tomado medidas de seguridad básicas como lavar por separado la ropa del agricultor, lavarse las manos, mantener los envases de plaguicidas alejados de los individuos así como evitar en los niños cualquier contacto con ellos.

En el caso de los niños que ayudan en las labores de campo, estos reportaron realizar actividades en las cuales no estaban en contacto directo con plaguicidas, como el pastoreo, siembra, deshierbe y colecta. Sin embargo, no significa que no estén en contacto directo con residuos de plaguicidas en la tierra y los vegetales que recogen con las manos. El promedio de años laborando fue muy bajo, ninguno sobrepasó los dos años. Considerando el tiempo de exposición existen muchos estudios que han obtenido una correlación entre este factor y la frecuencia de MN en adultos.

En este estudio se había considerado a la desnutrición como un factor importante en la producción de daño genotóxico en niños, tal como lo señalan Torres-Bugarín *et al.* (2012). Quienes hallaron una correlación entre el IMC y la frecuencia de MN. Los niños con IMC bajo presentaron la mayor frecuencia de MN (6.1 ± 5.1 MN/ 1000 células) a diferencia de los otros grupos estudiados (IMC alto, IMC normal). Con respecto al estado nutricional de la población es posible destacar que en general, se puede considerar que la población presenta un riesgo de desnutrición elevado, ya que la frecuencia de consumo de algunos alimentos como el de proteína animal y pescado es bajo, además el porcentaje de individuos

con un IMC bajo es muy elevado. Por otra parte, de acuerdo con los indicadores de crecimiento (peso/edad y talla/edad), el patrón de crecimiento en esta población no parece afectado de momento. Sin embargo, no puede descartarse que exista un efecto a largo plazo, principalmente durante la adolescencia. Por otra parte el sistema inmune puede ya estar comprometido debido a la desnutrición, lo que puede ocasionar que el efecto de los agentes tóxicos sea mayor. Sin embargo, al ser la desnutrición una enfermedad compleja en la que muchas deficiencias ocurren simultáneamente (Krishnaswamy, 1989), quizá el efecto de los plaguicidas pueda absorberse al cuadro sintomático (PNUMA, 2004).

La lactancia materna como medio de alimentación exclusiva durante los seis primeros meses de vida, parece ser un protector en los niños pequeños a la influencia de factores como el efecto de compuestos tóxicos o estrés (Engle *et al.*, 2011). En diversos estudios con niños europeos se ha determinado que la lactancia en los primeros meses puede controlar el incremento desmedido de peso en niños en edad escolar, esto debido a que la leche materna provee una nutrición ideal, que incluye niveles adecuados de hormonas, factores de crecimiento y anticuerpos (González, 2009). Alimentación que tiene repercusión durante la vida adulta. Existen evidencias acerca de la relación entre la lactancia y el desarrollo del sistema inmune del niño. Por ejemplo, en casos de niños con y sin diagnóstico de leucemia se reveló una relación entre la alimentación con leche materna y un efecto protector en el desarrollo de la leucemia (González, 2009). Un gran porcentaje de la población de niños fue alimentada por un periodo superior a seis meses, lo cual pudo conferirles una nutrición formidable y de esta manera desarrollaron un sistema inmune capaz de contrarrestar los efectos negativos del ambiente, como la contaminación por plaguicidas.

En cuanto a la frecuencia de alimentos, la mayoría reportó consumir frutas y verduras en mayor cantidad que cualquier proteína de origen animal. Cotidianamente la alimentación en la región centro del país, el consumo de legumbres como frijoles o lentejas y vegetales y hortalizas como el cilantro, el chile y el jitomate es muy común. Este tipo de alimentos es rico en folato (vitamina B9),

vitamina A y beta-carotenos los cuales han sido clasificados como antioxidantes, con un alto grado de efectividad en la reducción del efecto citotóxico y genotóxico de diversos agentes peligrosos (Stich, 1987)

La información recabada de los informes electrónicos de las instituciones de salud del estado de Hidalgo. Proporcionó una lista de las enfermedades más comunes de esta región, entre las que se encuentran el cólera, el dengue, la hepatitis, la brucelosis, la tuberculosis, el mal de chagas, el paludismo, los accidentes (en general), la rabia, enfermedades relacionadas al consumo de alcohol, el cáncer cérvico uterino, el cáncer pulmonar y de estómago, la mortalidad materna y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (Atlas de riesgos de la salud, 2016). Para el 2002 se reportaron 23 intoxicaciones en trabajadores agrícolas y en la población general. Se estima que el subregistro para México es de aproximadamente cinco veces, lo que implica que por cada caso registrado existen otros cinco que no se reportan. Esto puede deberse a que los síntomas de intoxicaciones pueden confundirse con otros problemas de salud. Además se sabe que las exposiciones crónicas presentan un periodo de latencia en el cual sus efectos no pueden ser detectados. La incidencia de cáncer en comunidades agrícolas con un uso intenso de plaguicidas es preocupante, especialmente en hijos de trabajadores agrícolas (Gómez-Arroyo *et al.*, 2013). Sin embargo, en Mixquiahuala la incidencia de cáncer reportada como “antecedentes de cáncer” en las encuestas es mínima (menos del 3% de la población). No obstante, al igual que ocurre con otro tipo de información se puede considerar que es una cifra subestimada.

Se ha reconocido que el polimorfismo genético forma una parte importante en la expresión de daño genético en individuos expuestos a agentes genotóxicos. Sin embargo, en niños los datos acerca de esta relación se encuentran muy limitados. Decodier *et al.* (2007), estudiaron el impacto del estrés oxidante inducido por H₂O₂, en la frecuencia de MN en un grupo de recién nacidas, encontrando que aquellas que poseían la variante del gen XRCC1 (implicado en la reparación de ADN) tenían una mayor frecuencia de MN que aquellas que poseían otros

polimorfismos. Por lo que se puede decir que la susceptibilidad a agentes tóxicos dependerá de diversos factores, entre los que se encuentran la variabilidad genética (Matheus-Lobo y Bolaños, 2014). Sería interesante conocer si en la población de Mixquiahuala de Juárez existe algún tipo de polimorfismo que le permita ser menos susceptibles al daño genético provocado por plaguicidas u otros agentes genotóxicos (como los metales pesados).

En relación a los factores de confusión, la variable sexo en este estudio no fue significativo, pues la frecuencia de MN y anomalías nucleares en hombres y mujeres fue muy parecida. Lo cual coincide con lo reportado por Barale *et al.* (1998) y Shi *et al.* (2000). Sin embargo, se ha establecido que la cantidad de metabolitos de pesticidas clorados es mayor en niños que en niñas (Koch *et al.*, 2001). Esto puede deberse a que son los niños y no las niñas, quienes pasan un mayor tiempo fuera de casa. Además, en un estudio realizado en el Estado de México, por Oviedo-Zúñiga *et al.* (2003), relacionaron una mayor percepción de riesgo en niñas con respecto a los plaguicidas que en los niños. A los cuales cultural y socialmente, se les incita desde pequeños a trabajar en mayor contacto con los plaguicidas (Souza-Casadinho, 2005).

La edad, es otro de los factores de confusión con mayor controversia. Pues algunos autores señalan una asociación positiva (Ganguly, 1993) y otros en los cuales parece no tener efecto (Zotti-Martelli *et al.*, 1999; Holland *et al.*, 2011; Baier *et al.*, 2002). En este caso particular no se encontró una diferencia significativa en la frecuencia de MN debido a la edad.

La exposición a humo de leña y a quema de basura es un factor importante en el deterioro de la salud general de la población. Debido a que aún hoy día la leña es el combustible principal de los hogares rurales mexicanos. Se ha relacionado el uso de leña como combustible para cocinar con el desarrollo de cáncer del tipo pulmonar y faríngeo (Herrera-Portugal *et al.*, 2009). Por otra parte, la quema de basura es la opción para localidades como en el caso del municipio de Mixquiahuala que cuentan con un servicio de colecta de basura poco eficiente (INEGI, 2013). La quema de basura y biomasa, genera una importante cantidad de

contaminantes atmosféricos como metales pesados, hidrocarburos derivados del petróleo, compuestos orgánicos semivolátiles, bifenilos policlorados, furanos y dioxinas (Hodzic *et al.*, 2012). Estos últimos relacionados con la prevalencia de cáncer en personas expuestos a estos compuestos. A pesar de lo anterior, en este estudio no se encontró una diferencia significativa de la frecuencia de MN en niños que viven en hogares en los cuales se cocina con leña y se quema la basura.

El humo de tabaco está compuesto por una gran cantidad de sustancias que están catalogadas como inductoras de daño al ADN y son peligrosas para la salud humana (Proia *et al.*, 2006). Varias revisiones han reportado una asociación entre el hábito de fumar materno o paterno y enfermedades relacionadas con la composición genética, en los niños. Neri *et al.* (2006) señalan el incremento significativo en MN de mucosa oral en niños cuyos padres (o alguno de ellos) son fumadores en ambientes cerrados. Carvalho de Assis *et al.* (2009), evaluaron el grado de daño al ADN en linfocitos de madres y de recién nacidos. Los dividieron en tres grupos: si la madre era fumadora, si la madre era fumadora pasiva o si no se encontraba expuesta a humo de cigarro. Observaron incremento significativo en el daño al ADN en las mujeres fumadoras, pero no así en aquellas que eran fumadoras pasivas. En cuanto a los recién nacidos, mostraron resultados similares. Los hijos de madres fumadoras presentaron mayor incremento en el daño al ADN, seguidos por los hijos de madres fumadoras pasivas. En este trabajo, no se observaron diferencias significativas entre el grupo de los niños expuestos a humo de tabaco y los no expuestos, excepto cuando se correlacionó con un IMC por debajo de 18.5. Lo cual se relacionaría con un estado malnutrido y por tanto con un sistema inmune deficiente, que también se vincula con una alta incidencia de enfermedades respiratorias descritas en niños que son fumadores pasivos.

Existen otras técnicas citogenéticas, moleculares y químicas que permiten conocer el efecto de la exposición a plaguicidas en poblaciones humanas. Incluyendo las de aberraciones cromosómicas, el intercambio de cromátidas hermanas, el ensayo cometa, la evaluación de aductos de ADN, determinación de

metabolitos, etc. La técnica de intercambio de cromátidas hermanas, parece ser la prueba más sensible a efectos genotóxicos (Murty *et al.*, 1977). Sin embargo, requiere el uso de cultivos para su realización.

El uso de biomarcadores permite conocer de una manera temprana el efecto y daño genético que compuestos químicos como los plaguicidas pueden ocasionar en la salud humana. Por tanto, pueden ser útiles en la prevención de enfermedades relacionadas a la exposición a estos compuestos y al daño genético que pueden producir (Aiassa *et al.*, 2012). Es necesario, indagar en los problemas ambientales, epidemiológicos y sociales, relacionados con los plaguicidas que pueden afectar a la comunidad que los utiliza. Con el fin de mejorar la calidad de vida de estas personas. Esto se realizará a través de políticas públicas, programas sociales y educativos. La información proporcionada por estudios de biomonitoreo biológico, en este sentido, pueden ser la base para sustentar la necesidad de la creación de este tipo de programas.

Conclusiones y consideraciones

Se realizó una evaluación del riesgo genotóxico por plaguicidas al que se encuentran expuestos los niños del municipio de Mixquiahuala de Juárez en el estado de Hidalgo. Los resultados obtenidos con la prueba de MN en mucosa oral, no son significativos para ninguna de las categorías de exposición. Ya fuera ambiental, indirecta o ambas. Y tampoco para otros factores de confusión como el sexo, la edad la exposición a humo de leña, tabaco o de quema de basura.

En cuanto a la exposición ambiental, las frecuencias de células binucleadas fueron significativamente altas en la población expuesta, por lo que no se puede negar la existencia de problemas en la división celular, tales como un retraso en la citocinesis. Lo cual está presumiblemente motivado por la exposición a plaguicidas y otros contaminantes ambientales como los metales pesados. Otras anomalías con diferencia significativa fueron las cariopláticas, picnóticas y cariorréticas, las cuales se relacionan con lesiones necrosantes a nivel tisular y a un proceso de mantenimiento del tejido. El daño en el tejido, refleja el estado nutricional de los niños. La mayor parte de la población estudiada presenta problemas de desnutrición, aunque no así de crecimiento.

Los factores sociales y culturales son difíciles de medir, pues al parecer todos intervienen en el proceso complejo de exposición. Sin embargo, de manera estadística no se encontraron diferencias significativas en los individuos expuestos a factores como la desnutrición, el tabaquismo pasivo, o la exposición a humo de leña y/o quema de basura. Las prácticas sociales en la que se relacionan los niños permiten en mayor y menor medida una facilidad de exposición, dependiendo del rol que el niño juegue socialmente. Si es varón, probablemente pase un mayor tiempo ayudando en labores de campo y fuera de casa, lo que incrementa su exposición a plaguicidas en el ambiente. Sin embargo, si es mujer probablemente no pase la mayor parte de su tiempo fuera de casa o la escuela y esté en mayor contacto con otros contaminantes, como la quema de basura o el humo de leña.

Como parte de las consideraciones finales, es necesario utilizar al menos dos biomarcadores que permitan evaluar el daño genético a diferentes niveles. Por

ejemplo, utilizar una prueba citogenética, como la de MN, junto con otra indicadora de genotoxicidad como el ensayo cometa, ya que existen pruebas más sensibles que otras para la determinación de daño genético. Asimismo, el linaje celular elegido para el análisis debe cumplir con las características mínimas para cubrir los objetivos. Así, si se pretende evaluar una exposición crónica lo más factible es utilizar linfocitos T, mientras que si el estudio pretende conocer los efectos de una exposición momentánea, como la aguda, las células bucales son un buen tejido para ese fin.

Referencias

- Abeyá-Gilardon, E., E. Calvo, P. Durán, E. Longo y C. Mazza. (2009). **Evaluación del estado nutricional de niñas, niños y embarazadas mediante antropometría**. Ministerio de Salud de la Nación, Buenos Aires, pp. 144.
- Agarwal, M., J. Sunitha, G. Dawar y N. Singh. (2014). Micronuclei assay of exfoliated oral mucosal cells: a review. *Annals of Dental Specialty*, 2(2): 47-50.
- Aiassa, D., F. Mañas, B. Bosch, N. Gentile, N. Bernardi y N. Gorla. (2012). Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta biológica Colombiana*, 17 (3): 485-510.
- Aiassa, D., F. Mañas, N. Bernardi, N. Gentile, Á. Méndez, D. Roma y N. Gorla. (2014). Monitoreo de genotoxicidad en personas expuestas a plaguicidas, estudio preliminar en niños. *Revista Cuestiones de Población y Sociedad*, 4(4): 73-84.
- Albert, L. A. (2005). Panorama de los plaguicidas en México. *Revista de Toxicología en Línea*, 8: 1-17. Disponible en línea: <http://www.sertox.com.ar/retel/n08/01.pdf> Fecha de acceso: 10/08/2013.
- Alexandrescu, I., D. Havârneanu y D. Popa. (2006). New approaches in biomonitoring human populations exposed to genotoxic agents: epithelial cell micronucleus assay. *Journal of Preventive Medicine*, 14 (3-4): 57-65.
- Atlas de riesgos por desastres de la salud. (2016). Disponible en línea: <http://p-serviciososalud.hidalgo.gob.mx/?p=35>
- Ávila-Rosas, H. (1995). Evaluación del estado de nutrición. En: Casanueva, E., M. Kaufer-Horwitz, A. Pérez-Lizaur y P. Arroyo (eds.). **Nutriología médica**. Panamericana, México; pp. 469-538.
- Baier, G., H. Stopper, C. Kopp, U. Winkler y Zwimmer-Baier. (2002). Respiratory diseases and genotoxicity in tobacco smoke exposed children. *Laryngorhinotologie*, 81 (3): 217-225.
- Barale, R., L. Chelotti, T. Davini, S. Del Rey, M. Grazia Andreassi, M. Ballardín, M. Bulleri, J. He, S. Baldacci, Francesco Di Pede, F. Gemignani y S. Lani. (1998). *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 31(3): 228-242.
- Bernardi, N., N. Gentile, F. Mañas, Á. Méndez, N. Gorla, y D. Aiassa. (2015). Evaluación del nivel de daño en el material genético de niños de la provincia de Córdoba expuestos a plaguicidas. *Archivos argentinos de pediatría*, 113(2): 6-11.
- Benítez-Leite, S., M. Macchi, V. Fernández, D. Franco, E. Ferro, A. Mojoli, F. Cuevas, J. Alfonso y L. Sales. (2010). Daño celular en una población infantil potencialmente expuesta a pesticidas. *Pediatría*, 37(2): 97-106.
- Bernal-González, M. (2012). Contaminación del agua por plaguicidas. En: Pérez-Espejo, R., A. Aguilar-Ibarra, A. Hansen, C. González-Rodríguez, L. González-Márquez, M. Bernal-González, A. Santos-Baca y A. Jara-Durán. **Agricultura y contaminación del agua**. UNAM-Instituto de Investigaciones Económicas, México, pp. 79-105.
- Bolognesi, C. (2003). Genotoxicity of pesticides: a review of human biomonitoring studies. *Mutation Research*, 543 (3): 251-272.
- Bolognesi, C., A. Creus, P. Otrrosky-Wegman y R. Marcos. (2011). Micronuclei and pesticide exposure. *Mutagenesis*, 26(1): 19-26.
- Bolognesi, C. y M. Fenech. (2013). Micronucleus assay in human cells: lymphocytes and buccal cells. En: Dhawan, A. y M. Bajpayee (eds.), **Genotoxicity assessment: Methods and protocols**. Methods in Molecular Biology, Springer Science, USA, pp. 191-207.
- Bonassi, S., E. Coskun, M. Ceppi, C. Lando, C. Bolognesi, S. Burgaz, N. Holland, M. Kirsh-Volders, S. Knasmueller, E. Zeiger, D. Carnesoltas, D. Cavallo, J. da Silva, V. M. de Andrade, G. Cakmak Dermicigil, A. Domínguez-Odio, H. Donmez-Altuntas, G. Gattas, A. Giri, S. Giri, B. Gómez-Meda, S. Gómez-Arroyo, V. Hadjidekova, A. Haveric, M. Kamboj, K. Kurteshi, M. Grazia Martino-Roth, R. Montero Montoya, A. Nersesyan, S. Pastor-Benito, D. Favero Salvadori, A. Shaposhnikova, H. Stopper, P. Thomas, O. Torres-Bugarín, A. Singh Yadav, G. Zúñiga González y M. Fenech. (2009). State of the art survey of the buccal micronucleus assay- a first stage in the HUMN_{XL} Project initiative. *Mutagenesis*, 24(4): 295-302.
- Bonassi, S., E. Coskun, M. Ceppi, C. Lando, C. Bolognesi, S. Burgaz, N. Holland, M. Kirsh-Volders, S. Knasmueller, E. Zeiger, D. Carnesoltas, D. Cavallo, J. da Silva, V. M. de Andrade, G. Cakmak Dermicigil, A. Domínguez-Odio, H. Donmez-Altuntas, G. Gattas, A. Giri, S. Giri, B. Gómez-Meda, S. Gómez-Arroyo, V. Hadjidekova, A. Haveric, M. Kamboj, K. Kurteshi, M. Grazia Martino-Roth, R.

- Montero Montoya, A. Nersesyan, S. Pastor-Benito, D. Favero Salvadori, A. Shaposhnikova, H. Stopper, P. Thomas, O. Torres-Bugarín, A. Singh Yadav, G. Zúñiga González y M. Fenech. (2011). The Human MicroNucleus Project on exfoliated buccal cells (HUMN_{XL}): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutation Research*, 728 (3): 88-97.
- Calderón, G. R. (1985). Manejo adecuado de agroquímicos. En: **Curso internacional sobre tecnología de aplicación de agroquímicos en café**. Promecafe, El Salvador, pp. 115-130.
- Carbajal-López, Y., S. Gómez-Arroyo y R. Villalobos-Pietrini. (2016). Biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticide mixtures in Guerrero state, Mexico, with comet assay and micronucleus test. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(3): 2513-2520.
- Carvalho de Assis, K., M. Ladeira, R. Bueno, B. dos Santos, I. Dalben y D. Salvadori. (2009). Genotoxicity of cigarette smoking in maternal and newborn lymphocytes. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 679(1): 72-78.
- Castro-Achí, R., V. Ramírez-Mayorga y P. Cuenca-Berger. (2004). MN y otras anomalías nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Revista de Biología Tropical*. 52(3):611-621.
- Ceppi, M., B. Biasotti, M. Fenech y S. Bonassi. (2010). Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: statistical and epidemiological issues. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 705(1): 11-19.
- Cervantes-Ríos, E., L. Rodríguez-Cruz, J. Graniel-Guerrero y A. R. Ortiz-Muñiz. (2014). Evaluación de la frecuencia y tipo de MN en niños con desnutrición moderada y grave. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 30(1): 23-35.
- Cock, J., D. Heedrik, E. te Velde y R. van Kooji. (1994). Time to pregnancy and occupational exposure to pesticides in fruit growers in The Netherlands. *Occupational and Environmental Medicine*, 51(10): 693- 699.
- Countryman, P. I. y J. A. Heddle. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 41(2): 321-331.
- Cortés- Enríquez, G. (1994). **Atlas agropecuario de costa rica**. Euned. Costa Rica, pp. 513.
- Creus, A. 2001. Genotoxicidad, mutagénesis y carcinogénesis. En: C. Paz-y-Miño, A. Creus, O. Cabré & P. Leone (eds.). **Genética toxicológica y carcinogénesis. Laboratorio de Genética Molecular y Citogenética Humana**. Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito., pp. 17-162.
- Cuenca, P. y V. Ramírez. (2004). Aberraciones cromosómicas en trabajadoras expuestas a plaguicidas. *Revista de Biología Tropical*, 52 (3): 585-590.
- Curl, C.L., R.A. Fenske, J. C. Kissel, J. H. Shirai, T. F. Moate, W. Griffith, G. Coronado y B. Thompson. (2002). Evaluation of take-home organophosphorus pesticide exposure among agricultural workers and their children. *Environmental Health Perspectives*, 110 (12): A787-A792.
- Decordier, I., K. De Bont, K. De Bock, R. Mateuca, M. Roelants, R. Ciardelli, D. Haumont, L. Knudsen y M. Kirsch-Volders. (2007). Genetic susceptibility of newborn daughters to oxidative stress. *Toxicology letters*, 172(1): 68-84.
- De Grandis, S. y A. Gomilla. (2010). Nutrición y salud ambiental infantil. En: Quiroga, D., R. Fernández y E. Paris (comp.). **Salud ambiental infantil: manual para enseñanza de grado en escuelas de medicina**. Organización Panamericana de la Salud, Argentina, pp. 31-34.
- Diario Oficial de la Federación. (2010). Norma Oficial Mexicana NOM-232-SSA1-2009, Plaguicidas: que establece los requisitos del envase, embalaje y etiquetado de productos grado técnico y para uso agrícola, forestal, pecuario, jardinería, urbano, industrial y doméstico.
- Dusinka, M. y A. R. Collins. (2008). The comet assay in human biomonitoring: gene- environmental interactions. *Mutagenesis*, 23 (3): 191-205.
- Du Pont, P. T. (1998). Energy policy and consumer reality: the role of energy in the purchase of household appliances in the US and Thailand. Tesis Doctoral, Universidad de Delaware. Estados Unidos.
- Engel, S., J. Wetmur, J. Chen, C. Zhu, D. Boyd Barr, R. Canfield y M. Wolff. (2011). Prenatal exposure to organophosphates, paraoxonase 1, and cognitive development in childhood. *Environmental health perspectives*, 119(8): 1182.
- FAO. (1990). Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas, Roma.
- FAO. (5 de octubre de 2004). Los niños corren mayores riesgos de intoxicación por plaguicidas. Recuperado de: <http://www.fao.org/Newsroom/es/news/2004/51018/index.html>

- Fenske, R. A., J. C. Kissel, D. Chensheng Lu, A. Kalman, N. J. Simcox, E. H. Allen y M. C. Keifer. (2000). Biologically based pesticide dose estimates for children in an agricultural community. *Environmental Health Perspectives*, 108 (6): 515-520.
- Fenske, R.A., N. Chensheng Lu, J. Simcox, C. Loewenherz, J. Touchstone, T. F. Moate, E. H. Allen y J. C. Kissel. (2000). Strategies for assessing children's organophosphorus pesticide exposure in agricultural communities. *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology*, 10(6): 662-671.
- Fernández-Bringas, L. (2004). Evaluación de plaguicidas organoclorados en el sistema lacustre de Metztlán, Hidalgo. Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Metropolitana. México.
- Ferrer, A. (2003). Intoxicación por plaguicidas. *ANALES Sin San Navarra*, 26(1): 155-171.
- Finn, G. (2001). **Histología**. Panamericana. Argentina, pp. 780.
- Flores-Magdaleno, H., O. Mancilla-Villa, E. Mejía-Saenz y M. Del Carmen. (2011). Heavy metals in agricultural soils and irrigation wastewater of Mixquiahuala, Hidalgo, Mexico. *African Journal of Agricultural Research*, 6(24): 5505-5511.
- Ganguly, B. B. (1993). Cell division, chromosomal damage and micronucleus formation in peripheral lymphocytes of healthy donors: related to donor's age. *Mutation Research/DNAging*, 295(3): 135-148.
- García-Avedaño, P. y A. Rodríguez. (2001). Medición de la precisión y exactitud en las evaluaciones antropométricas. En: Serrano-Carreto, E. y M. Villanueva-Sagrado (eds.). **Estudios de antropología biológica: volumen X**. Instituto de Investigaciones Antropológicas- Universidad Autónoma de México, el Instituto Nacional de Antropología e Historia y la Asociación Mexicana de Antropología Biológica, México, pp. 53-70.
- Garry, Vincent F. (2004). Pesticides and children. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198(1): 152-163.
- Garte S. y Bonassi S. (2005). Linking toxicology to epidemiology: biomarkers and new technologies- Special issue overview. *Mutation Research*, 592(1): 3-5.
- Garzón-Bello, I. J: (2009). Estudio de marcadores de diferenciación epitelial en mucosa oral construida por ingeniería tisular. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. España.
- Gómez-Arroyo, S., Y. Díaz-Sánchez, M.A. Meneses-Pérez, R. Villalobos-Pietrini y J. De León-Rodríguez. (2000). Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 466(1), 117-124.
- Gómez-Arroyo, S., C. Martínez-Valenzuela, S. Calvo-González, R. Villalobos-Pietrini, S. M. Waliszewski, M. E. Calderón-Segura, A. Martínez-Arroyo, R. Félix-Gastélum y A. Lagarda-Escarrega. (2013). Assessing the genotoxic risk for Mexican children who are in residential proximity to agricultural areas with intense aerial pesticide applications. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29(3): 217-225.
- González, H. F. (2009). Consecuencias a largo plazo de la lactancia materna: revisión. En: Uauy, R., E. Carmuega y D. Barker (eds.). **Impacto del crecimiento y desarrollo temprano sobre la salud y bienestar de la población**. Instituto Danone del Cono Sur, Argentina, pp. 71-84.
- Harshvardhan, S., D. Alka y K. Mohan. (2010). Micronucleus as potential biomarker of oral carcinogenesis. *Indian Journal of Dental Advancements*, 2(2): 197-202.
- Herrera-Portugal, C., G. Franco-Sánchez, M. Pelayes-Cruz, Y. Schlottfeldt-Trujillo y B. L. Pérez-Solís. (2009). Daño al ADN en mujeres expuestas al humo de la leña en Chiapas, México. *Acta Toxicológica de Argentina*, 17(2): 56-61.
- Hodzic, A., C. Wiedinmyer, D. Salcedo y J.L. Jiménez. (2012). Impact of trash burning on air quality in Mexico City. *Environmental Science and Technology*, 46 (9): 4950-4957.
- Holland, N., C. Bolognesi, M. Kirsch-Volders, S. Bonassi, E. Zeiger, S. Knasmueller y M. Fenech. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research*, 659(1): 93-108.
- Holland, N., A. Fucic, D. Franco Merlo, R. Sram y M. Kirsch-Volders. (2011). Minuclei in neonates and children: effects of environmental, genetic, demographic and disease variables. *Mutagenesis*, 26(1): 51-56.
- INEGI. (2005). Carta Geológica-Minera Mixquiahuala F14-C89, Hgo., Esc. 1: 50,000.
- INEGI. (2013). Anuario estadístico y geográfico de Hidalgo 2013.

- Jurewicz, J., Wojciech Hanke, C. Johansson, C. Lundqvist, S. Ceccatelli, P. Van Den Hazel, M. Saunders y R. Zetterström. (2006). Adverse health effects of children's exposure to pesticides: What do we really know and what can be done about it. *Acta pediátrica*, 95(453): 71-80.
- Kapka L, A. Baumgartner, E. Siwinska, L.E. Knudsen, D. Anderson y D. Mielzynska. (2007). Environmental lead exposure increases micronuclei in children. *Mutagenesis*, 22(3): 201–207.
- Kashyap, B. y P. S. Reddy. (2012). Micronuclei assay of exfoliated oral buccal cells: means to assess the nuclear abnormalities in different diseases. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 8(2): 184-191.
- Kausar, A., S. Giri, P. Roy y A. Giri. (2013). Changes in buccal micronucleus cytome parameters associated with smokeless tobacco and pesticide exposure among female tea garden workers of Assam, India. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 217 (2-3): 169-175.
- Koch, H. M., J. Hardt y J. Angerer. (2001). Biological monitoring of exposure of the general population to the organophosphorus pesticides chlorpyrifos and chlorpyrifos-methyl by determination of their specific metabolite 3, 5, 6-trichloro-2-pyridinol. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 204(2): 175-180.
- Krishnaswamy, K. (1989). Drug metabolism and pharmacokinetics in malnourished children. *Clinical pharmacokinetics*, 17(1): 68-88.
- Lesser-Carrillo, L. E., J. M. Lesser-Illades, S. Arellano-Islas y D. González-Posadas. (2011). Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle del Mezquital, México central. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 28(3): 323-336.
- Ley general para la prevención y gestión integral de los residuos. Diario Oficial de la Federación de los Estados Unidos Mexicanos, 8 de octubre de 2003.
- López-Sobaler, A. M. y M. E. Quintas-Herrero. (2006). Estudio antropométrico. En: Ortega-Anta, R. M. y A. M. Requejo-Marcos. **Nutriguía: manual de nutrición clínica en atención primaria**. Editorial Complutense, España, pp. 346-352.
- Luko Hilje, Q., C. F. Araya, R. Scorea y M. Víquez. (1991). **Plagas y enfermedades forestales en América Central: Manual de consulta y guía de campo**. CATIE, Costa Rica, pp. 185.
- Matheus-Lobo, T., y Bolaños, A. (2014). Ensayo de MN: biomarcador de genotoxicidad en expuestos a plaguicidas. *Salus*, 18(2): 18-26.
- Martínez-Valenzuela, C. y S. Gómez-Arroyo. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 23(4): 185-200.
- Martínez-Valenzuela, C., S. Gómez-Arroyo, R. Villalobos-Pietrini, S. Waliszewski, M. E. Calderón-Segura, R. Félix-Gastélum y A. Álvarez-Torres. (2009). Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. *Environment international*, 35 (8): 1155-1159.
- Martos Mula, A. J., O. N. Saavedra, N. R. Wierna, M. A. Ruggeri, J. A. Tschambler, N. M. Ávila Carreras y M. G. Bovi Mitre. (2013). Afectación de las funciones cognitivas y motoras en niños residentes de zonas rurales de Jujuy y su relación con plaguicidas inhibidores de la colinesterasa: Un estudio piloto. *Acta toxicológica argentina*, 21(1): 15-25.
- Medina-Niembro, N. E. (2011). Percepción infantil del riesgo a los agroquímicos e intervención educativa en la comunidad rural San Jerónimo, Jalisco. Tesis de Maestría, Universidad de Guadalajara. México.
- Mireles, A., C. Solís, E. Andrade, M. Lagunas-Solar, C. Piña y R. G. Flocchini. (2004). Heavy metal accumulation in plants and soil irrigated with wastewater from Mexico city. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research*, B 219-220: 187-190.
- Moreno-Galarraga, L. (2007). Valoración del daño en el ADN en la infancia y su relación con la nutrición y diversas patologías. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. España.
- Moura de Bortoli, G., M. Barbieri de Azevedo y L. Basso de Silva. (2009). Cytogenetic biomonitoring of brazilian workers exposed to pesticides: Micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutation Research*, 675(1): 1-4.
- Municipio de Mixquiahuala de Juárez. (2016). Página de la presidencia municipal. Disponible en: <http://mixquiahuala.hidalgo.gob.mx/>
- Murty, U.V., M. Luthra y V. Singh. (1977). Sister chromatid exchanges in patients with precancerous lesions of cervix uteri. *Human Genetics*, 72(1): 37-42p.
- Neri, M., A. Fucic, L. Knudsen, C. Lando, F. Merlo y S. Bonassi. (2003). Micronuclei frequency in children exposed to environmental mutagens: a review. *Mutation Research*, 544(2): 243-254.

- Neri, M., M. Ceppi, L. E. Knudsen, D. F. Merlo, R. Barale, R. Puntoni y S. Bonassi. (2005). Baseline micronuclei frequency in children: estimates from meta-and pooled analyses. *Environmental Health Perspectives*, 113(9):1226-1229.
- Neri, M., S. Bonassi, L. E. Knudsen, R. J. Sram, N. Holland, D. Ugolini y D. F. Merlo. (2006). Children's exposure to environmental pollutants and biomarkers of genetic damage I. Overview and critical issues. *Mutation Research*, 612(1): 1-13.
- Olea, N. y M. Fernández. (2001). Plaguicidas persistentes. En: *Congreso de Implementación del convenio de contaminantes orgánicos persistentes*, España. 26 a 27 de noviembre de 2001.
- Olguín-Hernández, Z. (2008). Relación del índice cintura cadera e índice de masa corporal con periodontitis crónica en diabéticos de la clínica de diabetes de la Cd. de Actopan, Hidalgo. Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. México.
- Orozco-Barrenetxa, C., A. Pérez, M. N. González, F. Rodríguez y J. Alfayate. (2002). **Contaminación ambiental. Una visión desde la química**. Thompson, España.
- Oviedo-Zúñiga, A. M., M. Karam-Calderón y C. Rodríguez García. (2003). Percepción de riesgo por el uso de plaguicidas en niños escolares, Villa Guerrero, Estado de México. *Revista de Toxicología en línea*. Disponible en: <http://www.sertox.com.ar>
- Pastor-Benito, S. (2002). Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a plaguicidas, mediante el ensayo de MN. Tesis Doctoral, Universitat Autònoma de Barcelona. España.
- Pastor, S., A. Creus, T. Parrón, A. Cebluska-Wasilewska, C. Siffel y S. Piperakis. (2003). Biomonitoring of four European populations occupationally exposed to pesticides: use of micronuclei as biomarkers. *Mutagenesis*, 18(3): 249-258.
- PNUMA, S. (2004). INE, 2004: Perspectivas del medio ambiente en México.
- Proia, N. K., G. M. Paszkiewicz, M. A. Nasca, G. E. Franke y J. L. Pauly. (2006). Smoking and smokeless tobacco-associated human buccal cell mutations and their association with oral cancer—a review. *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 15(6): 1061-1077.
- Reyes-Solís, I. E., C. Solís, K. Isaac-Olive, N.E. García y E. Andrade. (2009). Fractionation analysis of trace metals in humic substances of soils irrigated with wastewater in Central Mexico by particle induced X-ray emission. *Microchemical Journal*, 91(1): 129-132.
- Rodríguez, T., L. Younglove, Ch. Lu, A. Funez, S. Weppner, D. Barr y R. Fenske. (2006). Biological monitoring of pesticide exposures among applicators and their children in Nicaragua. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 12(4):312-320.
- Rojas A., M. E. Ojeda B. y X. Barraza O. (2000). Congenital malformations and pesticide exposure. *Revista Médica de Chile*, 128(4): 399-404.
- SAGARPA. (2014). Calendario de apertura y cierre de ventanillas: PROAGRO productivo. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/agricultura/Programas/proagro/Ventanillas/PV14/Hidalgo.html>
- Shamah, L., S. Villalpando y J. Rivera Dommarco. (2006). Manual de procedimientos para proyectos de nutrición. *Cuernavaca: Instituto Nacional de Salud Pública*, México.
- Shi, Q., J. Chen, I. Adler, J. Zhang, R. Martin, S. Pan, X. Zhang y X. Shan. (2000). Increased nondisjunction of chromosome 21 with age in human peripheral lymphocytes. *Mutation Research*, 452(1): 27-36.
- Solís, C., K. Issac-Olive, A. Mireles y M. Vidal-Hernández. (2009). Determination of trace metals in cow's milk from waste water irrigated areas in Central Mexico by chemical treatment coupled to PIXE. *Microchemical Journal*, 91(1): 9-12.
- Soruco, E. B. (2010). Evaluación neuroconductual en niños ambientalmente expuestos a plaguicidas en El Carmen, Jujuy. *Archivos de Medicina Familiar y General*, 6(2): 28-35.
- Souza Casadinho, J. (2005). Intoxicaciones con plaguicidas en niños: impacto en la salud y preparación temprana para el desarrollo de actividades laborales. *7° Congreso Nacional de Estudios del Trabajo- Asociación argentina de especialistas en estudios del trabajo*, Argentina.
- Stich, H. F. y M. P. Rosin. (1984). Micronuclei in exfoliated human cells as a tool for studies in cancer risk and cancer intervention. *Cancer letters*, 22(3): 241-253.
- Stich, H. F. (1987). Micronucleated exfoliated cells as indicators for genotoxic damage and as markers in chemoprevention trials. *Journal of Nutrition, Growth and Cancer*, 4: 9-18.
- Thomas, P., N. Holland, C. Bolognesi, M. Kirsch-Volders, S. Bonassi, E. Zeiger, S. Knasmueller y M. Fenech. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 4(6):825-837.

- Thompson, B., G. Coronado, J. Grossman, K. Puschel, C. Solomon, I. Islas, C. Curl, J. Shirai, J. Kissel y R. Fenske. (2003). Pesticide take-home pathway among children of agricultural workers: study design, methods, and baseline findings. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*, 45(1): 42-53.
- Tolbert P., C. Shy y J. Allen. (1992). Micronuclei and other nuclear abnormalities in buccal smears: Methods and development. *Mutation Research*, 271 (1): 69-77.
- Torres-Bugarín, O., G. Esparza-Méndez, B. M. Torres-Mendoza y J. L. Zavala-Aguirre. (2012). Genotoxicidad asociada al índice de masa corporal, evaluada mediante la prueba de MN en mucosa bucal. En: Pica-Granados y P. Ramírez-Romero (eds.). **Contribuciones al conocimiento de la ecotoxicología y química ambiental en México**. Instituto Mexicano de tecnología del Agua, México, pp. 258-262.
- Torres-Bugarín, O. y M. L. Ramos-Ibarra. (2013). Utilidad de la prueba de MN y anomalías nucleares en células exfoliadas de mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico y citotóxico. *International Journal of Morphology*, 31(2): 650-657.
- Vázquez-Alarcón, A., L. Justin-Cajuste, Ch. Siebe-Grabach, G. Alcántar-González y M. de L. de la Isla de Bauer. (2001). Cadmio, níquel y plomo en agua residual, suelo y cultivos en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Agrociencia*, 35(3): 267-274.
- Vázquez-García, V. (2014). División genérica del trabajo y distribución de beneficios por género en las unidades domésticas campesinas de Mixquiahuala, Hidalgo. *Cuicuilco*, 21(60): 109-127.
- Vidal, M., A. Mireles y C. Solís. (2004). Determination of trace elements in whole milk by PIXE. 10° *International Conference on Particle Induced X-ray Emission and its Analytical Applications*. Eslovenia.
- Waliszewski, S., M. Caba, S. Gómez-Arroyo, R. Villalobos-Pietrini, A. Martínez, R. Valencia-Quintana, M. E. Lozano-Flores y M. A. Regalado-Torres. (2013). Niveles de plaguicidas organoclorados en habitantes de México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 29: 121-131.
- WHO/OMS. (2009). The WHO recommended classification of pesticides by hazard And Guidelines to Classification. Ginebra.
- WHO/OMS. (2007). WHO child growth standards: growth velocity based on weight, length and head circumference: methods and development. World Health Organization. Ginebra.
- WHO. (2010). WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 2009. World Health Organization. Ginebra.
- Wigle, D., M. Turner y D. Krewski. (2009). A systematic review and meta-analysis of childhood leukemia and parental occupational pesticide exposure. *Environmental Health Perspectives*, 117 (10): 1505-1513.
- Zotti-Martelli, L., L. Migliore, G. Panasiuk y R. Barale. (1999). Micronucleus frequency in Gomel (Belarus) children affected and not affected by thyroid cancer. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 440(1): 35-43.

Artículos de periódicos en línea:

- Recolección de envases vacíos de agroquímicos para evitar contaminación en el campo: SAGARPA. Puntopunto (5 de septiembre de 2011). <http://www.puntopunto.mx/archives/60720>
- Roldán, D. (9 de agosto de 2013). Promueven campaña Campo Limpio en Progreso de Obregón. Sexenio Hidalgo. Recuperado de: <http://www.sexenio.com.mx/hidalgo/articulo.php?id=6618>
- Exige Motobatha retirar centro que acopia envases de plaguicidas. El independiente de Hidalgo. (30 junio de 2014): <http://www.elindependientedehidalgo.com.mx/hemeroteca/2014/06/222718>
- Centro de acopio de envases agroquímicos en Mixquiahuala, con antecedente en PROFEPA. El independiente de Hidalgo. (1 julio de 2014): <http://www.elindependientedehidalgo.com.mx/hemeroteca/2014/07/222932>

Anexo I

Cuestionario aplicado durante el estudio



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE CIENCIAS



APARTADO II.- NIÑO

Folio _____

1. Nombre: _____ 2. Edad: _____
3. Fecha de Nacimiento: _____ 4. Lugar de Nacimiento: _____

ANTECEDENTES PRENATALES DEL NIÑO

5. ¿En que número de embarazo nació? _____
6. ¿Recuerda cuántas semanas de gestación tuvo al nacer? _____
7. ¿Tuvo peso normal al nacer? Si () No () ¿Cuánto pesó? _____ Kg
8. ¿Estuvo algún tiempo en incubadora? Si () No () Causa: _____
9. ¿Durante el embarazo usted utilizó algún medicamento Sí () No () ¿Cuál?: _____
10. ¿Durante el embarazo usted utilizó aplicó algún plaguicida? Sí () No ()
11. ¿Dónde?: (casa) (trabajo) 12. ¿Cuál?: _____
13. ¿Durante el embarazo se almacenó algún plaguicida en casa? Si () No ()
14. ¿Cuál?: _____ 15. ¿En qué sitio de la casa se guardaba? _____
16. ¿Durante el embarazo fumó? Si () No () 17. ¿Cuántos cigarrillos al día?: _____
18. ¿Durante el embarazo alguna persona fumaba en casa? Si () No ()
19. ¿Durante el embarazo consumió alcohol? Si () No ()
20. ¿Durante el embarazo estuvo expuesta a: humo de leña Si () No ()
21. humo por quema de basura Si () No ()
22. ¿Amamantó al niño? Si () No () 23. ¿Cuánto tiempo lo alimentó con leche materna? _____

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS DEL PADRE DEL NIÑO

24. Nombre (del padre): _____ 25. Ocupación: _____
26. Tabaquismo: actualmente Si (), No (), 27. ¿En el pasado ha fumado? Si (), No (),
28. Número de cigarrillos consumidos diariamente () 29. ¿Cuánto tiempo ha fumado?: _____ (años o meses). 30. ¿En dónde fuma?: Casa (), Trabajo (), Vía pública ().
31. ¿Aplica algún plaguicida?: Si () No (), 32. ¿Dónde?: _____ 33. ¿Cuál? _____ 34. ¿Después de la aplicación de algún plaguicida se cambia de ropa? Si () No ()
35. ¿La ropa con la que aplicó el plaguicida se mezcla con la del resto de la familia? Si () No ()
36. ¿Después de la aplicación de algún plaguicida se baña? Si () No ()

VIVIENDA

37. ¿Dónde juega frecuentemente el niño?
38. ¿Se aplica algún plaguicida en zona dónde suele jugar? Sí () No ()
39. ¿Qué tipo plaguicida se aplica en esa área? _____
40. ¿El niño ayuda en las labores de campo? Sí () No ()
41. ¿En qué actividad? _____
42. ¿El niño maneja algún tipo de plaguicida? Sí () No () 43. ¿Cuál? _____

44. ¿Cómo lo utiliza? _____ 45. ¿Con qué frecuencia? _____
46. ¿Qué edad tenía cuando empezó con ésta actividad? _____

HÁBITOS ALIMENTICIOS

47. Número de comidas al día ()

¿Con qué frecuencia ingiere los siguientes alimentos?:

48. Frutas diario (), dos veces a la semana (), al menos una vez a la semana ()
49. Verduras diario (), dos veces a la semana (), al menos una vez a la semana ()
50. Carnes rojas diario (), dos veces a la semana (), al menos una vez a la semana ()
51. Pescado o mariscos diario (), dos veces a la semana (), al menos una vez a la semana ()
52. ¿La escuela a la que asiste su hijo participa en algún programa alimentario del Gobierno (por ejemplo desayunos escolares)? Sí () No ()
53. ¿Su hijo es beneficiario de dicho programa? Sí () No ()

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS DEL NIÑO

54. ¿Padece de alguna enfermedad? Si () No () 55. ¿Cuál? _____
56. ¿Toma algún medicamento? Si () No () 57. ¿Cuál? _____

¡Gracias por su tiempo! Le recordamos que su información será confidencial, por favor lea y firme el apartado de consentimiento informado ☺

ANTROPOMETRÍA

58. Peso: _____ Kg 59. Estatura: _____ cm 60. IMC (calculado): _____
61. Circunferencia de Cintura: _____ cm. 62. Circunferencia de cadera: _____ cm.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Siendo el día _____ del mes _____ de 2014

Por medio de la presente, (el) la _____ que suscribe _____ como tutor del (la) niño(a) _____, con previo consentimiento de este, autorizo su participación en el proyecto titulado “*Evaluación del riesgo de daño genotóxico en niños con exposición directa e indirecta a plaguicidas en el Municipio de Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo, México*”. Se me ha explicado que su participación consistirá en proporcionar una muestra de las células descamadas de la mucosa oral, cuya toma no presenta ningún riesgo para su salud, y que consiste en el raspado de la parte interna de ambas mejillas con una cucharilla plástica, así como un abatelenguas ambos limpios, los cuales serán desechados a la basura en mi presencia. Como parte del estudio también se pretende evaluar su estado nutricional, por lo cual al niño (a) se le tomarán medidas antropométricas para evaluar su condición, estas consisten en la estimación de estura, peso, así como circunferencias de cintura y cadera.

El investigador responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier otro procedimiento alternativo adecuado para la investigación, así como responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

Entiendo que conservo el derecho de retirar a mi hijo en cualquier momento, en que lo considere conveniente. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos, reservando mi identidad y la de mi hijo, así mismo nuestros datos serán manejados en forma confidencial.

Nombre y firma del Tutor