



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN
Y ESTUDIOS AVANZADOS EN ODONTOLOGÍA
"DR. KEISABURO MIYATA"**

**IDENTIFICACIÓN DE MICRONUCLEOS Y ANORMALIDADES
NUCLEARES EN MUCOSA BUCAL DE NIÑOS EXPUESTOS Y
NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS**

PRESENTA:

C.D. AYUSI ALONSO ZOTEA

TUTOR ACADÉMICO

Dra. en O. BLANCA SILVIA GONZÁLEZ LÓPEZ

TUTORES ADJUNTOS

Dra. en C. OLIVIA TORRES BUGARÍN

M. en C. S. JULIO B. ROBLES NAVARRO

TOLUCA, ESTADO DE MÉXICO, AGOSTO DE 2015



AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer sinceramente a aquellas personas que compartieron sus conocimientos conmigo para hacer posible la conclusión de esta tesis.

Especialmente agradezco a mis tutores Dra. Blanca Silvia González López por su profesionalismo y motivación; Dra. Olivia Torres Bugarin por su asesoría siempre dispuesta aún en la distancia y al Dr. Julio B. Robles Navarro por sus ideas y recomendaciones respecto a esta investigación.

DEDICATORIA

Gracias a mis padres, que siempre estuvieron listos para brindarme toda su ayuda, ahora me toca regresar un poquito de todo lo inmenso que me han otorgado. Con todo mi cariño les dedico esta tesis

INDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	ANTECEDENTES.....	4
	1. Definición e historia de los plaguicidas.....	7
	a. Clasificación de los plaguicidas.....	9
	b. Nivel de toxicidad.....	13
	c. Efectos en la salud.....	14
	2. Floricultura.....	18
	a. La floricultura y uso de plaguicidas en Villa Guerrero.....	19
	3. Efecto de los plaguicidas en la salud de los niños.....	22
	a. Vías de contacto.....	25
	4. Características de la mucosa bucal.....	27
	5. Evaluación del daño genotóxico.....	33
	a. Biomarcadores de daño genético.....	34
	5.1.2. Biomarcadores de efecto.....	37
	6. El ensayo de micronúcleos.....	39
	a. Micronúcleos del epitelio bucal.....	41
	b. Otras anomalías nucleares.....	43
III.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	48
IV.	JUSTIFICACIÓN.....	49
V.	OBJETIVOS.....	51
VI.	HIPÓTESIS.....	52
VII.	MÉTODO Y MATERIALES.....	53
VIII.	RESULTADOS.....	69
	1. Acuse de Recibido del Artículo.....	69
	2. Artículo.....	70

3. Descripción General de Resultados.....	95
IX. TABLAS Y FIGURAS.....	100
X. DISCUSIÓN.....	106
XI. CONCLUSIONES.....	114
1. Recomendaciones.....	114
XII. RESUMEN.....	115
XIII. BIBLIOGRAFÍA.....	117
XIV. ANEXOS.....	129
1. Cuestionario.....	129
2. Conteo individual de micronúcleos y alteraciones nucleares de niños expuestos.....	132
3. Conteo individual de micronúcleos y alteraciones nucleares de niños no expuestos.....	135
4. Presentaciones en foros: modalidad cartel.....	138
5. Premios.....	141

The image features a decorative background with various shades of green and yellow circles of different sizes, some overlapping. A horizontal bar with a green-to-yellow gradient and a thin blue line runs across the middle. The word "INTRODUCCIÓN" is written in a bold, teal, sans-serif font on the right side of the page.

INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La floricultura es un cultivo permanente y de cosecha diaria, en su conjunto, representa una alternativa económica importante. En México, el valor de la producción de flores aumentó en el periodo 2000 a 2011 y se considera al Estado de México como el principal productor nacional, aquí se destaca el municipio de Villa Guerrero por la producción de la cantidad y variedad de flores¹.

Las flores son atacadas fácilmente por diversas plagas, para ser económicamente rentables, su cultivo requiere de grandes cantidades de plaguicidas, de la aplicación de fertilizantes, conservantes químicos y de la colocación de plásticos para cubrir los invernaderos¹. Además, como no se consumen como alimentos, el control del uso de plaguicidas tiene menos limitaciones en lo referente a niveles de residuos de plaguicidas. Por su parte, específicamente en la comunidad de San José de este municipio, la mayoría de los invernaderos se encuentran a máximo 100 metros de distancia de los hogares, escuelas y centro de salud, por esta razón los floricultores constituyen una población potencialmente expuesta, que entre los factores ocupacionales desempeñadas en el trabajo, el uso de equipo de protección y el lugar donde se desarrolla el trabajo (aire libre o invernadero), pueden acarrear una menor o mayor exposición a estos químicos².

Está bien documentado que los efectos de la exposición prolongada a dosis bajas de plaguicidas son difíciles de evaluar, ya que los signos y síntomas asociados pueden no manifestarse clínicamente³. Los niños que viven en entornos agrícolas son sometidos a una gran variedad de eventos que pueden conducir a la posibilidad de exposición acumulativa y multi-vía, tal es el caso de la presencia de residuos de plaguicidas de la ropa y zapatos de los trabajadores agrícolas después de la realización de tareas de campo.

En comparación con los adultos, los niños son especialmente vulnerables a los efectos adversos de los plaguicidas en el ambiente, debido a su constante

crecimiento y alta demanda energética, a su falta de madurez física, cognitiva y fisiológica⁴.

Por otra parte, se debe considerar que en la preparación de los plaguicidas se utilizan diferentes formulaciones en las que se incluyen, compuestos genotóxicos y a menudo de manera simultánea en mezclas complejas⁵.

Los agentes genotóxicos tienen el potencial de interactuar y dañar el ADN, también pueden ser iniciadores de cáncer, inducir o acelerar enfermedades crónicas, degenerativas, así como el aumento de malformaciones congénitas^{6,7}.

De acuerdo con este contexto, el monitoreo biológico en poblaciones expuestas es una herramienta de gran interés que permite estimar el riesgo genético resultante de la exposición ambiental a las sustancias químicas⁸. Ante este panorama, la técnica de micronúcleos (MN) y anormalidades nucleares (AN) en mucosa bucal, consiste en observar al microscopio la morfología de las células epiteliales superficiales y permite medir el daño genético a través de la proliferación, la diferenciación y muerte celular en células bucales exfoliadas. La prueba es rápida, sencilla, económica, mínimamente invasiva, relativamente indolora y bien aceptada por los pacientes⁹.

Los MN son fragmentos acéntricos (fragmentos de cromosomas que carecen de un centrómero) o cromosomas enteros que no son capaces de migrar con el resto de los cromosomas durante la anafase del ciclo celular¹⁰. Además de los MN en células exfoliadas Torres-Bugarin *et al.* (2013) describen otras AN, las que además de ser fenómenos que podrían ocurrir en procesos normales de diferenciación celular, son indicadores de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular, entre ellas se encuentran la cromatina condensada (CC), cariorrexis (CR), picnosis (PC), cariolisis (CL), núcleo lobulado también llamado prolongación nuclear, “budcell” o “broken eggs” (NL, BE) y la presencia de células con dos núcleos, llamadas células binucleadas (BN)^{11, 12, 13}.

Se llevó a cabo un estudio transversal, analítico y comparativo. Se evaluaron 126 niños de ambos sexos de 6 a 12 años de edad; 63 niños pertenecían a la escuela primaria “Ciencia y Trabajo” (rodeada por invernaderos a no más de 100 metros de

distancia) de la comunidad de San José Villa Guerrero, cuya principal actividad económica es la floricultura (población expuesta a plaguicidas) y 63 niños de la escuela primaria “Axayácatl” del municipio de Mexicaltzingo (población no expuesta).

Los padres de los niños firmaron el consentimiento informado y los niños dieron su asentimiento mediante su huella digital, posteriormente se tomaron frotis de la mucosa bucal, se tiñeron con naranja de acridina y fueron observados en un microscopio equipado con inmunofluorescencia. Se evaluaron 1000 células por laminilla.

En la población infantil potencialmente expuesta a plaguicidas, se observó diferencia significativa de CB ($p=0.002$) con relación a los controles, en tanto que en el grupo control prevalecieron las células con CR ($p=0.006$) en comparación con grupo expuesto. Los valores de MN en los niños expuestos y no expuestos se encontraron dentro de parámetros normales.

Por lo tanto, el hallazgo de AN en el grupo expuesto sugiere daño genotóxico por exposición a plaguicidas, debido a la continua exposición de los niños que trabajan en los invernaderos, a la exposición indirecta y la falta de medidas de protección.

The page features a decorative design with a purple horizontal bar across the middle. Above and below this bar are various circles in shades of purple, lavender, and yellow, some solid and some hollow. The word "ANTECEDENTES" is written in a bold, teal, sans-serif font, positioned to the right of the purple bar. A thin purple line runs horizontally across the bottom of the page.

ANTECEDENTES

II. ANTECEDENTES

Existen múltiples vías por las que los seres humanos se encuentran expuestos a plaguicidas (vías dérmica, inhalatoria y oral), que producen efectos dañinos a la salud a mediano y largo plazo¹⁴.

Se ha referido la importancia de evaluar el potencial genotóxico de los plaguicidas, debido a que existen suficientes evidencias experimentales y epidemiológicas que demuestran que el daño genético produce mutaciones y que el proceso cancerígeno se inicia y se favorece por la presencia de mutaciones en los oncogenes, en genes supresores de tumores y en los que codifican para los sistemas de reparación del ADN¹⁵, por ello es necesario evaluar la exposición a sustancias tóxicas, mediante el biomonitoreo humano (HBM, por sus siglas en inglés), para identificar población en riesgo de exposición¹⁶.

Entre los biomarcadores que se utilizan para detectar daño genotóxico está el ensayo de MN, que en los últimos años el número de estudios que emplean este análisis ha crecido significativamente debido a su accesibilidad, eficiencia y costo¹⁷,¹⁸, la mayoría de ensayos de MN se realizan en linfocitos, pero últimamente también se utilizan células exfoliadas de la cavidad bucal^{19, 20}.

Además, de observar MN en las células exfoliadas también es posible evaluar la frecuencia de algunas AN como NL, BN, PC, CC, CR y CL²¹.

Holland *et al.* (2011) hacen referencia de la importancia de la población infantil expuesta a plaguicidas, debido a que los niños pueden tener mayor sensibilidad a los agentes genotóxicos en comparación con los adultos y daños genéticos que ocurren en edades tempranas ya que se encuentran en mayor riesgo de tener efectos adversos para su salud.

Los estudios que evalúan la presencia de células con MN y otras AN en mucosa bucal específicamente en niños expuestos son escasos, además difieren en características con los adultos como el grado de exposición, también el tipo o mezclas de plaguicidas que se emplean en los cultivos, así como la técnica de tinción y la evaluación de factores que pueden disminuir o aumentar la presencia de MN y AN.

Benitez *et al.* (2010) determinaron la frecuencia de MN en células exfoliadas de la mucosa oral y la frecuencia de AN en niños expuestos potencialmente a plaguicidas en la población de Ñemby; las muestras se tiñeron con fuscina, los resultados muestran en el grupo expuesto promedio mayor de MN ($p < 0,0001$), CB ($p < 0,0001$), CR ($p < 0,004$) y PC ($p < 0,03$) en comparación con los niños no expuestos.

Bernardi *et al.* (2015), determinaron la frecuencia de MN en células exfoliadas de la mucosa bucal en niños expuestos a plaguicidas en la provincia de Córdoba, Argentina, no mencionan la técnica de tinción, pero encontraron diferencias significativas de MN entre los niños expuestos ($p < 0.05$) respecto al grupo no expuesto.

Por su parte los estudios realizados en adultos mediante el ensayo de MN en sangre y células exfoliadas son más numerosos, por ejemplo Coskun *et al.* (2011) determinaron la incidencia de MN, NL y CB en linfocitos de sangre periférica de 46 agricultores expuestos a plaguicidas en Çanakkale, Turquía, para ello las muestras se tiñeron con Giemsa y demostraron la asociación entre daño cromosómico y la exposición ocupacional ($p < 0.05$).

En Portugal se realizó un estudio de biomonitorio citogenético en 33 trabajadores expuestos a los plaguicidas en el distrito de Porto, a través del ensayo de MN, las muestras fueron a través de sangre y los resultados obtenidos mostraron incremento significativo en la frecuencia de MN ($p < 0.001$), en las personas ocupacionalmente expuestas comparadas con el grupo control²⁵.

Moura *et al.* (2009) utilizaron el análisis de MN en mucosa bucal, de agricultores brasileños de soya expuestos a plaguicidas, con la ayuda de la tinción Giemsa, mostraron que el número de células con MN en el grupo expuesto (3.55 ± 2.13) fue significativamente mayor que en el grupo control (1.78 ± 1.23).

En México, hay pocos estudios de niños expuestos a plaguicidas que utilicen el ensayo de MN, en 2013, en Sinaloa en un grupo de niños que viven cerca de un área agrícola, expuestos a mezclas de plaguicidas se evaluó la frecuencia de MN en células exfoliadas bucales, utilizaron la tinción fúelgen, mostraron incremento significativo en la frecuencia de MN así como CB, NL, CR y CL ($p < 0.0001$) en comparación con el grupo control²⁷.

1. Definición e historia de los plaguicidas

Un plaguicida representa una amplia gama de productos químicos, naturales o sintéticos²⁸, con diversos grados de toxicidad²⁹, destinados a eliminar o controlar plagas que interfieran en la producción de cultivos y contribuir al control de vectores de diversas enfermedades³⁰, por su parte The Food and Agricultural Organization (FAO) en colaboración con the United Nations Environment Programme (UNEP) definen a los plaguicidas como productos químicos destinados a combatir los ataques de las diferentes plagas y vectores en cultivos agrícolas, animales domésticos y seres humanos³¹.

Los plaguicidas se conocen desde la antigüedad, los primeros datos escritos que se tiene sobre su uso, datan del año 1550 a.C., como una serie de preparaciones para eliminar las moscas del interior de las viviendas^{32, 33} pero es a partir del año 1800 que se inicia el desarrollo de los plaguicidas, combinando diferentes productos para combatir las plagas y surge la primera generación de químicos³¹.

Entre 1930 y 1940, como resultado de la investigación orientada al desarrollo de armas químicas, aparece la segunda generación de plaguicidas a base de compuestos orgánicos sintéticos^{34, 31}, así el primer plaguicida orgánico sintético importante fue el Dicloro Difenil Tricloroetano (DDT), en 1874 fue sintetizado por Zeidler³⁵ y se utilizó por primera vez durante la segunda guerra mundial, en 1945 se comercializó en Estados Unidos de América. En esa misma década, Alemania comenzó a fabricar insecticidas organofosforados e investigadores ingleses descubrieron los carbamatos³⁴.

El uso de plaguicidas ha traído grandes beneficios, sin embargo, todos son biocidas, lo que implica que tengan elevada toxicidad, contienen ingredientes activos, pero también ingredientes contaminantes e ingredientes inactivos que son sustancias tóxicas. Y se encuentran en diferentes presentaciones: sólidos o líquidos

concentrados; soluciones o emulsiones de agua o solventes orgánicos; aerosoles; gránulos; mezclas de arena; polvos y fumigantes, cuando no se utilizan adecuadamente alteran los mecanismos naturales de control biológico de plagas³⁶.

A partir de los años setenta, los gobiernos se centraron en la elaboración de instrumentos para evaluar los riesgos y determinar la seguridad de los productos químicos. En 1995, el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) decidió iniciar un proceso de evaluación de plaguicidas organofosforados y el Foro Intergubernamental sobre Seguridad Química (FISQ) elaboró recomendaciones para la adopción de medidas internacionales de los productos químicos, reducción de riesgos y gestión de residuos³³.

El Convenio de Estocolmo firmado en 2001, representó la culminación de una lucha ambiental que duró más de medio siglo, supone el reconocimiento de las propiedades tóxicas, persistentes y bioacumulativas de los plaguicidas, su capacidad de transportarse a largas distancias y los problemas de salud que originan³⁷.

1.1. Clasificación de los plaguicidas

Dada la amplia cantidad de sustancias y combinaciones de compuestos, los plaguicidas se clasifican de acuerdo al modo de acción, al tipo de plagas que atacan y a su estructura química (tabla 1 y 2)³⁰.

Tabla 1. Clasificación por modo de acción

Modo de Acción	Características
De contacto	Actúa al ser absorbido por los tejidos externos de la plaga
De ingestión	Debe ser ingerido por la plaga para su acción efectiva
Sistémico	Se absorbe y traslada por su sistema vascular a puntos remotos del lugar en que se aplica y en los cuales actúa.
Fumigante	Se difunde en estado gaseoso y penetra por todas las vías de absorción
Repelente	Impide que las plagas ataquen
Defoliante	Causa caída del follaje de las plantas

Tabla 2. Clasificación por tipo de plaga

Tipo de plaguicida	Plaga
Insecticida	Insectos
Herbicida	Hierba y maleza
Rodenticida	Roedores
Fungicida	Hongos y levaduras
Acaricida	Acaros
Molusquicida	Moluscos
Bactericida	Bacterias
Avicida	Parásitos de aves
Virucida	Virus
Alguicida	Algas

Por su estructura química se clasifican en:

- ⊃ **Compuestos inorgánicos:** estos carecen de carbono, como los derivados de cobre, azufre, zinc y aluminio.

- ⊃ **Compuestos orgánicos:** son aquellos que contienen átomos de carbono en su estructura química, la mayoría son de origen sintético, algunos se extraen de plantas, por lo que se conocen como botánicos³⁰.
 - **Compuestos orgánicos sintéticos:** pertenecen a distintos grupos o familias químicas, identificándose cinco grupos principales:

- *Compuestos organoclorados (O-C)*: agrupan a una considerable cantidad de compuestos sintéticos, cuya estructura química corresponde a los hidrocarburos clorados. La mayoría de ellos se usan ampliamente como insecticidas para el control de una amplia gama de insectos, tienen una larga duración de efecto residual en el medio ambiente, ya que son resistentes a la mayoría de los productos químicos, degradación y biomagnificación microbiana así como una gran capacidad de bioacumulación^{34, 31}. Los que más persisten en el ambiente traen efectos adversos en la salud humana como pérdida de peso corporal, hepatotoxicidad, afecciones gástricas, carcinogénesis, efectos inmunotóxicos, alteraciones en el desarrollo y la función reproductora, el sistema nervioso y endocrino³³. El intestino reabsorbe con eficacia a muchos de los plaguicidas sin metabolizar; la principal ruta de excreción es la biliar, entre los más conocidos el DDT, aldrín y endosulfán³⁸.
- *Compuestos organofosforados (O-P)*: son ésteres del ácido fosfórico que presentan propiedades alquilantes, lo cual permite actuar directamente sobre el ADN, se absorben con facilidad por inhalación, ingestión y penetración dérmica³¹. Son compuestos volátiles, con una actividad biológica muy intensa que actúan tanto en insectos y ácaros como en mamíferos, por lo que presentan un elevado riesgo de intoxicación, principalmente por la fosforilación de la enzima acetilcolinesterasa encargada de hidrolizar el neurotransmisor acetilcolina, que actúa en las terminaciones nerviosas. Es uno de los grupos más extensos y utilizados, entre ellos están el paratión, malatión, diclorvós, mevinfos, diazinon y demetón³⁹.
- *Carbamatos*: son sustancias orgánicas de síntesis, ésteres derivados de los ácidos N-metil o dimetil carbámico. Con actividad biológica similar a la de los organofosforados, sin embargo, son menos

persistentes que los organoclorados y los organofosforados⁴⁰. El ácido carbámico, tiene efecto neurotóxico que, en dosis de exposición altas puede llevar a la muerte. Los carbamatos al igual que los organofosforados, son inhibidores de la acetilcolinesterasa, ingresan al organismo por las vías cutánea, respiratoria y digestiva y los efectos tóxicos son muy similares. Entre ellos se distinguen los inhibidores de la colinesterasa utilizados como insecticidas el carbaryl y aldicarb, se utilizan como fungicidas y herbicidas³¹.

- *Piretroides*: son sustancias sintetizadas a partir del crisantemo, del que se obtiene el piretro, posteriormente fueron producidos de forma sintética. Junto con los carbamatos, son uno de los grupos más utilizados actualmente. Son productos fotosensibles, se degradan fácilmente. Algunos de ellos son estrógenos ambientales, por lo tanto, interfieren en los procesos hormonales de animales y personas. Afectan a los canales de sodio de las membranas de las células nerviosas. Sin embargo, la acumulación en el organismo es baja y no persisten en el ambiente. Tienen un rápido efecto contra las plagas de insectos, baja toxicidad para los mamíferos y fácil biodegradación; ejemplos de piretroides: aletrina, cipermetrina y deltametrina²⁸.
- *Triazínicos*: considerados por la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (EPA), como posibles carcinógenos humanos, el empleo de las triazinas trajo graves consecuencias, entre ellas altas concentraciones de estos compuestos en suelo, agua y atmósfera, lo que implica serios problemas para la salud y se reconoce la relación entre los jornales agrícolas expuestos y la incidencia del linfoma No-Hodking³⁰.

1.2. Nivel de toxicidad

La toxicología de los plaguicidas es un fenómeno complejo en el que intervienen diversos compuestos, la estructura molecular (relación estructura-actividad) y sus propiedades fisicoquímicas, de las que depende su afinidad por sistemas biológicos específicos (toxicidad selectiva) y, de manera preponderante, la dosis en que los humanos se exponen a los mismos (relación dosis-tiempo-respuesta)³⁰.

Es frecuente que los efectos tóxicos de los plaguicidas se potencialicen por los ingredientes de la formulación o los aditivos con que se mezclan los que en ocasiones pueden ser más dañinos que los ingredientes activos³⁰.

Por lo anterior, se intentó por mucho tiempo desarrollar un sistema práctico para evaluar la toxicidad aguda y crónica de las sustancias químicas. En 1973 la Organización Mundial de la Salud (OMS) tomó medidas para elaborar una clasificación (sujeta a actualizaciones periódicas) de los plaguicidas según su peligrosidad, entendiendo éste término como la capacidad de producir daño agudo a la salud cuando se da una o múltiples exposiciones en un tiempo relativamente corto^{4, 41}.

El método que avala la OMS para medir la toxicidad es la Dosis Letal 50 (DL₅₀) que se define como la cantidad mínima de una sustancia expresada en mg/kg, capaz de matar al 50% de una población de animales de prueba (roedores). En estos experimentos se mide la toxicidad aguda oral y dérmica de los químicos, los resultados de DL₅₀ para una sustancia dada se extrapolan a los humanos y sirven de base para los sistemas de clasificación de la toxicidad (Tabla 3)^{30, 4}.

Tabla 3. Nivel de toxicidad de acuerdo a la dosis letal

Clasificación WHO	Toxicidad	LD ₅₀ para la rata (mg/kg peso)	
		Oral	Dérmico
Ia	Extremadamente tóxico	<5	<50
Ib	Altamente tóxico	5-50	50-200
II	Moderadamente tóxico	50-2000	200-2000
III	Ligeramente tóxico	Más de 2000	Más de 2000
V	Poca probabilidad de presentar riesgo agudo		5000 o más

1.3. Efectos en la salud

Los plaguicidas se emplean ampliamente alrededor del mundo y en recientes años su uso va en incremento, son contaminantes ambientales que generan grandes cantidades de sustancias potencialmente tóxicas⁴². A pesar de sus múltiples beneficios en la agricultura y en el control de vectores, su uso excesivo interfiere con el funcionamiento de los procesos biológicos esenciales para la vida, debido a que difieren entre sí en el modo de acción, captación por el organismo, metabolismo, eliminación y toxicidad para el hombre⁴³.

La exposición es la concentración que recibe un órgano diana, una vez que el producto químico ha sido absorbido⁴⁴, los efectos a la exposición intencional y no intencional de los plaguicidas afectan la salud humana, por ejemplo, los envenenamientos por una exposición originan la muerte de unos 355 000 personas en el mundo cada año. En los países en desarrollo donde se producen las dos terceras partes de estas muertes las intoxicaciones se asocian fuertemente con la exposición excesiva y el uso inadecuado de productos químicos tóxicos, los efectos pueden presentarse inmediatamente o tardar años en manifestarse³⁶.

Por lo que, los efectos de los plaguicidas en la salud dependen del tipo de plaguicida, la dosis, la vía y el tiempo de exposición así como de la susceptibilidad del organismo expuesto. Las vías por las que estos compuestos ingresan al organismo son dérmica, respiratoria y digestiva. Las dos primeras son las rutas más comunes de penetración en el ámbito laboral. Las vías respiratoria y dérmica están estrechamente relacionadas con la exposición en las distintas operaciones en que se pueden manipular este tipo de productos⁴⁵.

Anualmente se reconocen alrededor de 375 000 casos de intoxicaciones en el mundo las cuales provocan diversos efectos sistémicos³⁰, y se describen dos tipos de efectos tóxicos: agudos y crónicos (Tabla 4).

☞ *Efectos agudos*

El riesgo principal en la exposición aguda a plaguicidas es el periodo muy corto en el que se lleva la exposición, por lo que los efectos en la salud son inmediatos e incluyen dolor de cabeza, náuseas, vómito, rinorrea, broncoespasmos, irritación en la piel; pero si los plaguicidas son de elevada toxicidad y a su vez fácilmente metabolizados y eliminados, pueden llevar a la muerte o enfermedades graves⁴⁶.

☞ *Efectos crónicos*

En la exposición crónica los plaguicidas presentan menor toxicidad aguda, pero tienen gran tendencia a acumularse en el organismo a bajas concentraciones⁴³. Los efectos son más peligrosos y van desde reacción alérgica hasta el desarrollo de enfermedades crónico-degenerativas, tales como cáncer, alteraciones en sistema nervioso, reproductor, respiratorio, inmune, renal, endocrino y cardiovascular^{30, 42}. Estos efectos ocurren cuando los individuos están expuestos continua y repetidamente a los plaguicidas⁴⁷.

Tabla 4. Efectos sobre la salud

Clase de compuesto	Mecanismo de acción	Efecto adverso
Organoclorados	<ul style="list-style-type: none"> - Actúa a nivel del sistema nervioso central. - Altera propiedades electrofisiológicas y enzimáticas de las membranas neuronales¹¹². 	<ul style="list-style-type: none"> Pérdida de peso corporal Hepatotoxicidad Afecciones gástricas Carcinogénesis Efectos inmunotóxicos Alteraciones en el desarrollo, función reproductora, sistema nervioso y endocrino
Organofosforados	<ul style="list-style-type: none"> - Su mecanismo de acción es la inhibición de la enzima acetilcolinesterasa, que modula la cantidad y los niveles del neurotransmisor acetilcolina, interrumpiendo el impulso nervioso por fosforilación de la serina del grupo hidroxilo en el sitio activo de la enzima⁸⁸. 	<ul style="list-style-type: none"> Crisis colinérgicas Taquicardia Bradicardia Hiper/hipotensión Cianosis Incremento en los niveles séricos de creatinina
Carbamatos	<ul style="list-style-type: none"> - Al igual que los organofosforados son neurotóxicos e inhibidores de la acetilcolinesterasa⁶⁹ 	<ul style="list-style-type: none"> Efecto neurotóxico Dosis alta origina la muerte Síntomas cardiovasculares
Piretroides	<ul style="list-style-type: none"> - Bloqueo de los canales de sodio de las membranas de las células nerviosas⁹². 	<ul style="list-style-type: none"> Mareo Dolor de cabeza Nausea Alteraciones de la conciencia Convulsiones Pérdida del conocimiento

La exposición crónica a plaguicidas es a menudo un problema en el ámbito laboral, sobre todo entre las poblaciones rurales pobres, donde hombres, mujeres y niños, trabajan y viven en las proximidades de campos y huertos donde se aplican y almacenan los productos químicos³⁶. Además, factores ambientales como, temperatura, humedad y pH, pueden alterar las concentraciones de los contaminantes. Por ejemplo, la concentración de algunas sustancias químicas volátiles puede variar bajo diversas condiciones de temperatura⁴⁴.

A veces, las reacciones químicas entre sustancias contaminantes en el ambiente pueden cambiar cualitativamente la naturaleza de la exposición. La importancia de tales modos de acción aún no es completamente clara, particularmente en los niveles bajos de exposición⁴⁸.

Además de los efectos ya mencionados, se ha demostrado que los plaguicidas producen efectos genotóxicos y pueden causar mutación genética. Investigaciones realizadas a partir de los años noventa indican que algunos químicos incrementan o inhiben la acción de las hormonas, alterando el funcionamiento adecuado del sistema endocrino y puede promover el desarrollo de carcinomas³. Ya que, a veces no es la sustancia activa la que provoca la acción, sino los disolventes empleados en las formulaciones. Existen evidencias de que algunos de los disolventes utilizados presentan efectos carcinogénicos en el hombre como el benceno, cloroformo y tetracloruro de carbono³³. Las neoplasias de origen hematopoyético también se relaciona con la exposición ocupacional directa e indirecta a plaguicidas, así como cáncer pancreático, mieloma múltiple, sarcomas de tejidos blandos entre otros⁴.

2. Floricultura

Actualmente, 190 mil personas de países en desarrollo como Argentina, Colombia, Ecuador, México, India, Kenya y Zimbabwe laboran en la floricultura^{49, 50}. Esta práctica ha crecido en las últimas décadas debido a que es económicamente rentable en comparación con la superficie empleada, por esta razón está establecida como una de las actividades agrícolas más importantes a nivel mundial⁴².

En México la superficie dedicada al cultivo de flor se estima en 15 mil hectáreas, de las hectáreas cultivadas, 88% se realiza a cielo abierto y el 12% bajo invernadero, con un volumen de producción anual de 83 mil 377 toneladas⁵¹, de ellas los estados de mayor producción a nivel nacional son México, Michoacán y Morelos⁴⁵.

En 2010 el Estado de México fue el principal productor nacional en la actividad florícola, ya que generó 3,341 millones de pesos¹, los municipios que destacan por su productividad son Tenancingo, Coatepec Harinas, Ixtapan de la Sal, Tonalico, Zumpahuacán, Texcoco y Villa Guerrero conocidos estos como “El corredor florícola de la entidad”⁵¹.

Las especies cultivadas en la región centro sur de México (486 especies) sólo representan alrededor de un 12% del total de plantas cultivadas en el país y más del 90% de ellas corresponde a plantas no nativas, por su importancia comercial destacan la rosa, el crisantemo, el clavel, el statice, el ave del paraíso, la gerbera, la gipsófila, el anturio y las orquídeas; estas variedades de plantas son cultivadas en la comunidad de Villa Guerrero y constituye su principal actividad económica⁵¹.

En la floricultura existen tres categorías de productores de flores de corte:

- Primer grupo, los pequeños floricultores o productores a cielo abierto que cultivan en superficies reducidas (algunas menores a 200 m²), muchas veces con mano de obra familiar⁵². Las áreas de cultivo prácticamente colindan con

el traspaso de sus hogares, con bajos niveles tecnológicos, deficiente material vegetativo, poca diversificación de la producción y reducida o nula asistencia técnica; siembra a cielo abierto o bajo cubiertas plásticas rústicas, conocidas como invernaderos de túnel, por ello este grupo constituye el más numeroso y son los que tienen mayor vulnerabilidad económica⁵³.

- Segundo grupo, son los productores individuales con mejor nivel tecnológico que manejan grandes volúmenes de flores para el mercado nacional, por medio del sistema de viveros y en menor medida para el internacional. En este sector se encuentran los que acopian y comercializan al exterior parte de la producción con calidad de los pequeños floricultores y los que proveen de material vegetativo a muchos de los pequeños floricultores⁵³.
- Tercer grupo lo constituyen los grandes floricultores, que son básicamente empresas sustentadas por grupos de inversionistas que registran una alta tecnología en su producción (sistema de invernaderos). Estos generan los mayores volúmenes de producción de flor cultivados bajo invernaderos altamente tecnificados, con sistemas manuales o automatizados⁵³.

2.1. La floricultura y uso de plaguicidas en Villa Guerrero

La floricultura es la principal actividad económica de Villa Guerrero, Estado de México ya que se cultivan diversas flores todo del año y para su producción se emplean invernaderos instalados en las afueras de la comunidad manejados por productores y empresas con alta tecnología⁵³.

Además de los invernaderos con alta tecnología, también se cuenta con cultivos a cielo abierto o invernaderos de túnel, utilizados en las localidades de bajos recursos de dicho municipio. En estas zonas, el lugar de trabajo de los floricultores se encuentra a no más de 100 metros de distancia de sus hogares y escuelas.

La comunidad de San José, localizada a 10 km del centro del municipio de Villa Guerrero está rodeada en su totalidad por cultivos de flores, estando la población expuesta continuamente a plaguicidas y está demostrado que las concentraciones de residuos de plaguicidas en este tipo de comunidades son mayores, porque se encuentran cerca de los cultivos (Figura 1)¹⁵.



Fuente: Google Maps

Figura 1. Ubicación de San José Villa, Guerrero. La floricultura se ha convertido en su principal actividad económica

La floricultura requiere del empleo de grandes cantidades de plaguicidas, debido al exterminio de plagas es un trabajo intensivo en el cultivo de flores¹⁸. Por lo que, se emplean distintos agroquímicos que se aplican en actividades como la desinfección del suelo, la fertilización y antes del corte¹⁸. Entre los químicos utilizados se

encuentran los insecticidas, fungicidas y reguladores de crecimiento, que pueden ser aplicados como polvo, spray o aspersión⁵⁴.

El manejo inadecuado de los plaguicidas en particular, es una práctica común, debido a la falta de asistencia técnica, uso indiscriminado de la cantidad y frecuencia de una aplicación efectiva de los químicos, así como el aumento de plaguicidas más agresivos, prohibidos y/o restringidos, empleo de mezclas de varios plaguicidas que sus formulaciones resultan ser desconocidas, todo esto con el propósito de eliminar la plaga⁵¹. Además de la inadecuada disposición de los envases, que son generalmente desechados en tiraderos clandestinos, cuerpos de agua, enterrados en el suelo y otras veces quemados genera un alto riesgo de contaminación del suelo y cuerpos de agua⁵⁵.

La mayoría de los floricultores desconocen el daño que pueda ocasionar la generación de residuos, los riesgos e impactos sobre la salud humana y el medio ambiente⁴⁹, esto genera que los trabajadores de la comunidad no utilicen protección durante sus actividades.

Los efectos en la salud del Estado de México no se hacen esperar por el uso incorrecto de plaguicidas³⁷, especialistas aseguran que los municipios con actividades floristas encabezan la lista de lugares con niños que padecen enfermedades oncológicas, detallando que Villa Guerrero se encuentra en los primeros lugares donde los químicos y fertilizantes utilizados para la producción de flores y cosechas, indudablemente están dañando a los niños, también hay registro de problemas en fetos de madres adolescentes⁵⁶.

Esto genera la urgente necesidad de formular programas y medidas preventivas que garanticen el manejo seguro de estas sustancias³⁷, en cuanto al uso y manejo seguro de los plaguicidas el Código Internacional de Conducta para la Distribución y Utilización de Plaguicidas, Artículo 3 menciona que, el gobierno tienen la completa responsabilidad de regular la disponibilidad, distribución y utilización de plaguicidas,

mientras que la industria de plaguicidas y los comerciantes deberán suministrarlos con una calidad adecuada, envasados y etiquetados con el fin de disminuir los riesgos para los usuarios y reducir al mínimo los efectos adversos en el medio ambiente; proporcionar en cada envase información e instrucciones de uso; brindar asesoramiento sobre la disposición final de plaguicidas y de sus envases usados⁵³.

Para la reducción de riesgos en la salud y el ambiente se debe llevar a cabo un programa de vigilancia de la salud de las personas expuestas a plaguicidas en su trabajo, promover el uso de equipo de protección personal apropiado y de costo accesible así como servicios para la recolección de envases vacíos⁵⁷.

3. Efecto de los plaguicidas en la salud de los niños

Los niños constituyen un grupo de la población, con características específicas que los hacen más vulnerables a los plaguicidas a diferencia de los adultos^{40, 58}. The International Life Science Institute (ILSI) y Environmental Protection Agency (EPA) consideran a los niños una subpoblación única que debe ser tomada en cuenta en la evaluación del riesgo, debido a su inmadurez en el desarrollo fisiológico y metabólico a sustancias tóxicas. Ya que estas características en lactantes y niños pequeños pueden crear una mayor susceptibilidad toxicológica y los efectos serán sutiles en el desarrollo del sistema nervioso, disrupción endocrina y el impacto de la exposición pre y perinatales, en el desarrollo de enfermedades crónicas, que requieren años o incluso décadas antes de la manifestación de la enfermedad⁵⁹.

Los niños poseen características únicas y factores que influyen en la exposición diferencial a sustancias tóxicas que los hace más vulnerables⁶⁰.

- ☞ La capacidad de los niños para metabolizar, desintoxicar y excretar productos químicos es diferente de la de los adultos. Durante los primeros meses

después del nacimiento, sus rutas metabólicas son inmaduras, por lo que metabolizan muchos productos químicos menos eficientemente que los adultos, lo que significa que los productos se eliminan más lentamente, principalmente vía orina o heces (excreción biliar), también la función renal es relativamente inmadura al nacer pero rápidamente alcanza los niveles de un adulto: la capacidad de filtración de la sangre en aproximadamente el primer mes de edad y la función tubular renal por año. Todos estos factores dan lugar a diferencias en la bioacumulación y la persistencia de los agentes ambientales en los cuerpos de niños y la concentración de los agentes en órganos específicos⁴⁸.

- ☞ Los niños a diferencia de los adultos comen, beben y respiran más por peso corporal.
 - Los niños beben más agua (siete veces más agua por kilogramo de peso corporal). Durante los primeros 6 meses, los niños consumen en promedio 88 ml/kg/día de agua de la llave directamente o indirectamente (agua agregada en la preparación de fórmula o jugo de frutas) en comparación con los adultos que beben 17 ml/kg/día⁴⁴. Como consecuencia de este mayor consumo de agua, los niños pueden estar desproporcionadamente expuestos a químicos que se encuentran en el agua potable, incluyendo el agua utilizada para preparar la fórmula infantil⁶¹.
 - La frecuencia respiratoria en los niños es significativamente mayor en relación a la superficie pulmonar (la frecuencia respiratoria normal varía de 30 a 60 respiraciones por minuto en el momento de nacer) en comparación con los adultos (12 a 16 respiraciones por minuto)⁴, debido a que la entrada de aire por kilogramo de un niño en reposo es dos veces superior que la de un adulto, por lo tanto, los bebés reciben potencialmente una mayor exposición interna a los compuestos en el

aire. La tasa de respiración en un día de ejercicio puede alcanzar niveles más altos que los adultos⁴⁴.

- Los niños ingieren más comida por unidad de peso corporal. La dieta de los niños es muy diferente a la de un adulto, contiene más productos lácteos, frutas y verduras por unidad de peso corporal que los adultos. Las frutas pueden estar contaminadas con plaguicidas y otras sustancias tóxicas, exponiendo a los niños a estas sustancias químicas⁴⁴.
- ☞ Los niños experimentan un rápido crecimiento y desarrollo, si se altera una determinada fase puede tener efectos irreversibles. Por ejemplo, la exposición a agentes ambientales durante la primera infancia puede afectar el desarrollo del sistema inmunológico y puede contribuir más adelante al desarrollo de ciertas enfermedades como el asma y cáncer, debido a que la respuesta inmune es inmadura al nacer y se desarrolla durante la infancia y niñez hasta el primer año de edad, mientras que el establecimiento de memoria inmunológica no está totalmente establecida hasta los 18 años⁴⁴.

Los contaminantes ambientales pueden plantear un riesgo mayor para los niños que para los adultos, debido a que los niños tienen una mayor esperanza de vida para desarrollar enfermedades con periodos de latencia larga. Por ejemplo, si un adulto de 70 años de edad y un niño de 5 años de edad están expuestos a un agente carcinógeno con un período de latencia de 40 años, el niño tiene un mayor riesgo de por vida de desarrollar enfermedades crónicas provocadas por exposiciones tempranas⁵.

El cáncer y las enfermedades neurodegenerativas surgen a lo largo de una serie de etapas que requieren años o incluso décadas antes de la manifestación de la enfermedad. No se ha descrito completamente los

mecanismos bioquímicos relativos de la exposición de plaguicidas con el cáncer infantil, sin embargo, algunas pruebas sugieren que los plaguicidas pueden promover la formación de aberraciones cromosómicas que se asocian con un riesgo creciente del cáncer⁴⁴.

Los estudios epidemiológicos han sugerido un aumento en el riesgo de cáncer de cerebro, leucemia, linfoma no-Hodgkin (NHO), tumor de Wilms, el sarcoma de Ewing, y los tumores de células germinales asociadas con exposición ocupacional y no ocupacional de los padres a plaguicidas³³.

3.1. Vías de contacto a sustancias tóxicas en los niños

Los niños presentan mayor susceptibilidad a los plaguicidas, la proporción de las sustancias tóxicas que entran al cuerpo dependerá tanto de factores externos, ambientales y biológicos que determinan el ritmo de asimilación de las sustancias químicas en el organismo^{44, 28}, la exposición ocurre a través de:

☞ Vía prenatal:

Los plaguicidas pueden atravesar la placenta materna y alcanzar las células del feto en desarrollo⁶³. Se ha demostrado que el feto es vulnerable a la contaminación de estas sustancias durante la gestación lo que se traduce en una exposición en el útero, y origina un inadecuado desarrollo, aunque sus consecuencias se manifiesten clínicamente en la pubertad o la edad adulta^{64, 44}.

☞ Vía leche materna:

Una vez que el bebé ha nacido, la lactancia materna también puede ser el resultado de la exposición a productos químicos acumulados en la leche materna, debido a que se considera una vía de eliminación de los plaguicidas para la madre⁶⁴.

☞ El entorno:

La proximidad de las viviendas de los niños a zonas agrícolas expuestas a plaguicidas o los miembros del hogar que trabajan en estas zonas son ejemplos de contaminación del medio ambiente. En un ambiente interior la degradación de los plaguicidas es más lenta, por tanto, los niños están expuestos más tiempo⁴⁴ ya que reciben indirectamente las sustancias sobre el cuerpo a través de los residuos en la ropa y piel de los padres expuestos^{65, 28}. Además, la piel de los niños en relación con el peso corporal es superior a la de los adultos, y resulta en una mayor absorción de aproximadamente tres veces más^{19, 63}.

☞ Comportamiento mano-a-boca:

El comportamiento de los niños de traer consigo elementos del suelo a la boca y jugar más cerca de la tierra contaminada con plaguicidas los pone en mayor riesgo de exposición, debido a que los niños mayores de 6 años tienen generalmente muy limitado el comportamiento mano-boca y tienen mayores niveles de ingestión del suelo y polvo que un adulto⁴⁸. Por ejemplo, en un día típico, el niño promedio puede ingerir entre 28 y 45 mg de tierra o polvo vía mano-boca, mientras que lo estimado para un adulto es de 10 mg. Lo anterior, depende en gran medida del grado de actividad del niño respecto a su edad, estando más expuestos los niños de entre 1 y 6 años de edad.

4. Características de la mucosa bucal

La cavidad bucal está tapizada por una membrana mucosa de superficie húmeda, la estructura morfológica de la mucosa bucal varía por la adaptación funcional a la influencia mecánica que actúa sobre ella las diferentes regiones de la cavidad bucal⁶⁶. Se divide en tres tipos principales según sus criterios funcionales:

- ☞ *Mucosa de revestimiento*: función de protección. El epitelio es de tipo no queratinizado, corion laxo o semilaxo y presenta una submucosa bien definida. Es distensible y se adapta a la contracción y relajación de las mejillas, labios y lengua, y a los movimientos del maxilar inferior, producidos durante la masticación. Se halla presente en la cara inferior del labio, paladar blando, cara ventral de la lengua, mejillas y piso o suelo de la boca.

- ☞ *Mucosa masticatoria*: sometida directamente a las fuerzas internas y presión originadas por el impacto masticatorio. Suele estar fija al hueso y no experimenta estiramiento. A este tipo de mucosa corresponden la encía y el paladar duro. El epitelio es queratinizado o paraqueratinizado, corion semidenso o denso y carece de submucosa en la encía.

- ☞ *Mucosa especializada*: aloja botones gustativos intraepiteliales, que tienen una función sensitiva destinada a la recepción de los estímulos gustativos, esta variedad de mucosa se observa en la cara dorsal de la lengua⁶⁶.

La mucosa bucal está integrada por dos capas de tejidos estructural y embriológicamente diferentes: una capa superficial constituida por tejido epitelial y otra capa subyacente de tejido conectivo (lámina propia o corion). Ambas están conectadas por la membrana basal.

Epitelio: el epitelio de la mucosa bucal es de tipo plano o pavimentoso estratificado. Puede ser queratinizado, paraqueratinizado o no queratinizado; según la localización presenta diferencias estructurales y funcionales. Las células epiteliales están estrechamente unidas entre sí, de manera que forman una barrera funcional de protección entre el medio bucal y el tejido conectivo subyacente⁶⁶.

- *Epitelio plano estratificado queratinizado:* constituido por dos tipos de poblaciones celulares: la población intrínseca, propia del epitelio, formada por los queratinocitos, que representan el 90% de la población celular, y la población extrínseca, de origen ajeno al epitelio, formada por una población de células permanentes o residentes que representan el 9% de la población celular del epitelio y una población transitoria que representa el 1% (Figura 2)⁴⁸.

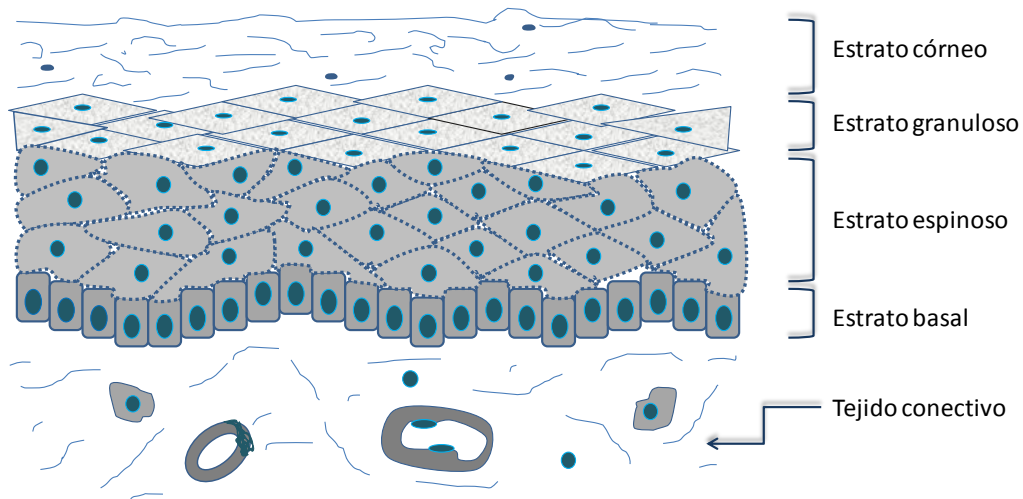


Figura 2. Epitelio plano estratificado queratinizado

Los queratinocitos son las células del epitelio destinadas a queratinizarse, durante su evolución sufren una migración desde las capas más profundas hasta la superficie. Luego de producida la mitosis pueden permanecer en la capa basal o dividirse nuevamente antes de emigrar hacia el exterior, se transforman en una célula

especializada. Durante la citodiferenciación experimentan cambios bioquímicos y morfológicos para convertirse en una escama eosinófila queratinizada (anucleada) que más tarde se descama y cae al medio bucal⁶⁶.

Los queratinocitos que integran el epitelio bucal se disponen formando cuatro capas o estratos:

- Basal o germinativo: constituido por una capa única de células de forma cúbica o cilíndrica. Los queratinocitos son responsables de la formación de la lámina basal, que forma parte de la membrana basal. En este estrato se observan figuras mitóticas y comienza el proceso de renovación epitelial a partir de las células madres.
- Espinoso: formado por varias hileras de queratinocitos. Las células que lo constituyen son poligonales de núcleo redondo con citoplasma ligeramente basófilo, con hemidesmosomas más prominentes.
- Granuloso: constituido por dos o tres capas de células aplanadas o escamosas con un núcleo pequeño de cromatina densa. El citoplasma está lleno de gránulos de queratohialina intensamente basófilos. La capa de células granulosas es la zona en la que comienza la degeneración del núcleo y del resto de los organoides celulares.
- Córneo: se caracteriza por estar constituido por células planas, sin núcleo evidente y con citoplasma fuertemente acidófilo. Estas células reciben la denominación de corneocitos y no presentan gránulos de queratohialina. La membrana plasmática es más gruesa que en las células de las capas más profundas. Las uniones intercelulares se modifican, lo que facilita la descamación celular.

La población epitelial queratinocítica que reviste la mucosa bucal se renueva de forma permanente. Existe un equilibrio biológico entre las células que se descaman en la superficie y las que se forman por mitosis en la capa basal. Esta capacidad especial proliferativa permite a la población celular mantenerse constante¹³. El ciclo de renovación dura aproximadamente de diez a catorce días. El número de unidades epiteliales proliferativas por milímetro cuadrado es aproximadamente de 1,400⁶⁶.

La velocidad de sustitución, o el tiempo de renovación de las células de la población epitelial, está sometida a la influencia de distintos factores, hormonas, citoquinas que la inhiben, inflamación y grado de queratinización⁶⁶.

Se ha sugerido que el proceso final de diferenciación queratinocítica que conduce a la descamación es un proceso vinculado a la apoptosis o muerte celular programada de la línea queratinocítica.

- *Epitelio plano estratificado paraqueratinizado*: presenta iguales características que el queratinizado a nivel de los estratos basal, espinoso y granuloso; este último poco desarrollado. Las diferencias se manifiestan en los elementos celulares del estrato córneo superficial, en este tipo de epitelio conservan sus núcleos y también algunas organelas celulares parcialmente lisadas, hasta que se descaman. Los núcleos son picnóticos con cromatina condensada (Figura 3).
- *Epitelio plano estratificado no queratinizado*: se diferencia del epitelio queratinizado principalmente porque no produce la capa superficial córnea y carece, además, del estrato granuloso (Figura 3)⁶⁶.

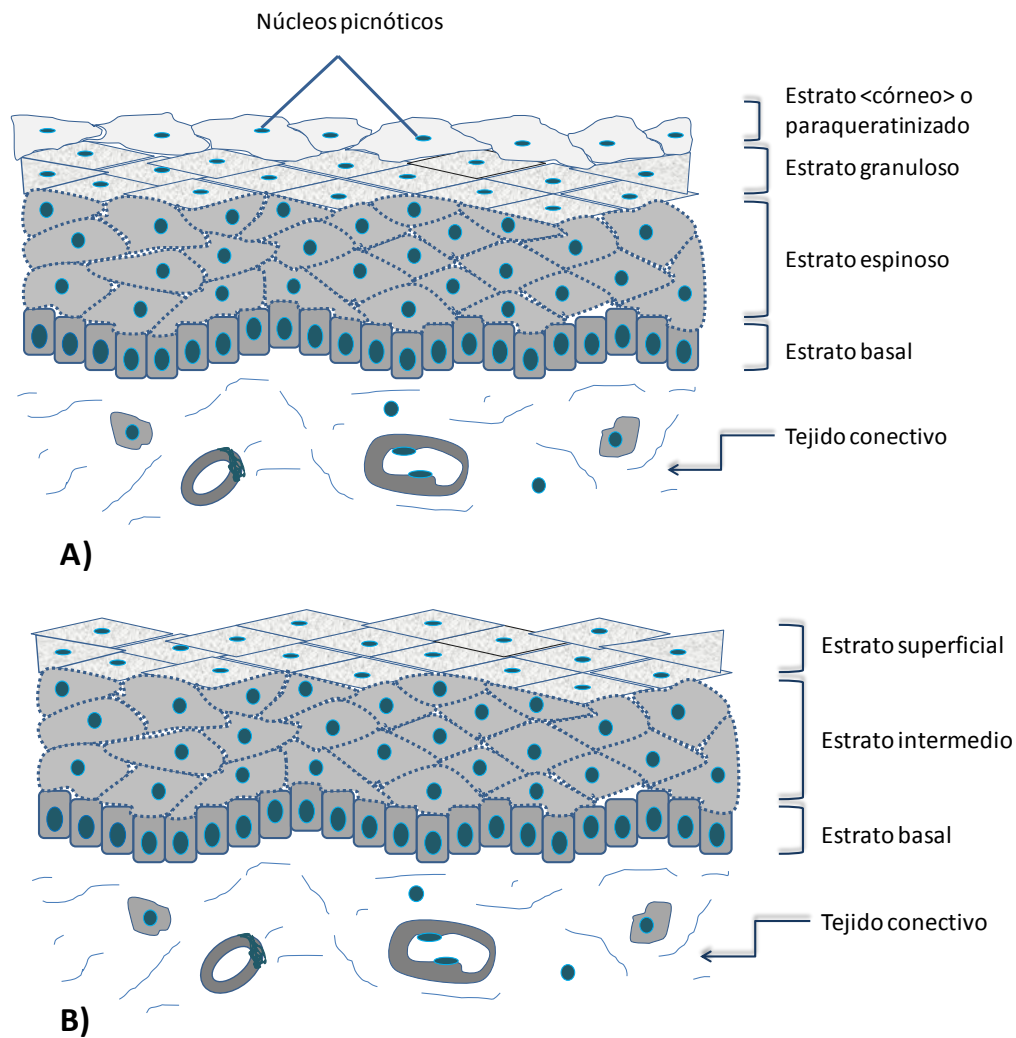


Figura 3. A) Epitelio plano estratificado paraqueratinizado
 B) Epitelio plano estratificado no queratinizado

El conocimiento de las distintas estructuras histológicas que constituyen la mucosa es de suma importancia para establecer, con claridad, el sustrato tisular en el que asientan las principales enfermedades que afectan a dicha región y, de ese modo, comprender su histogénesis y realizar un mejor diagnóstico y tratamiento.

El epitelio de revestimiento y el tejido conectivo del corion y la submucosa, así como las estructuras vasculares y nerviosas de la mucosa y de los órganos de la cavidad bucal se alteran en numerosos procesos patológicos.

Los agentes físicos, bacterianos, micóticos y virales que originan las enfermedades de la mucosa bucal alteran la biología celular de los queratinocitos y muchas veces, como ocurre con los virus, provocan la degeneración y la muerte de estos dando origen a la formación de vesículas⁶⁶.

La proliferación irreversible y autónoma de las poblaciones celulares del epitelio y del conectivo conduce a neoplasias tumorales benignas y malignas. De hecho, la mucosa oral representa una barrera protectora para potenciales carcinógenos que, al ser metabolizados, generarían múltiples metabolitos reactivos; este tejido protege al resto del organismo de que estos compuestos penetren a otros órganos, sin embargo, al estar expuesta a estos agentes, la mucosa es susceptible de sufrir daño en el ADN, esta particularidad es de vital importancia debido a que el 95% de los cánceres de la cavidad bucal son carcinomas escamosos o epidermoides¹³.

Aprovechando la propiedad descamativa de los epitelios estratificados ha surgido la citología exfoliativa, como un importante método auxiliar en el diagnóstico de ciertas enfermedades, tanto de naturaleza neoplásica, como inflamatoria.

El citodiagnóstico se basa en el estudio de células que se descaman espontánea o artificialmente mediante la realización de un extendido.

Las células normales exfoliadas de la cavidad bucal provenientes del epitelio que la tapiza, son fáciles de reconocer y presentan escasas variantes condicionales a la zona de donde se descaman⁶⁶.

5. Evaluación del daño genotóxico

El uso del término genotóxico se refiere a aquellos agentes químicos o físicos que tienen afinidad para interactuar y modificar el ADN, produciendo alteraciones estructurales o funcionales tanto en células germinales como somáticas^{34, 67}.

- Si la transformación se origina en las células somáticas pueden existir modificaciones en las funciones metabólicas o fisiológicas celulares, causando un crecimiento celular excesivo y desordenado, también pueden producir un envejecimiento prematuro y/o enfermedades vasculares ^{33, 68}.
- Si la transformación se produce en las células germinales las alteraciones son heredadas a la siguiente generación y son causa de padecimientos genéticos, así como problemas de fertilidad en las personas expuestas a agentes tóxicos^{69, 15}.

El daño provocado por los agroquímicos no se limita simplemente a evidencias externas, sino que la mayoría de las veces estos productos son cancerígenos y genotóxicos³, y la probabilidad de que los plaguicidas causen daño genético depende de varios factores, como el nivel de exposición del organismo a la sustancia, el ingrediente activo del compuesto, las impurezas, la distribución y retención de ésta una vez que ha penetrado en el cuerpo, la eficiencia de los sistemas de activación metabólica y/o detoxificación en los tejidos diana y la reactividad de la sustancia o de sus metabolitos³⁹. Y la posibilidad de que el daño genético produzca una enfermedad depende en última instancia de la naturaleza del daño, la capacidad que posee la célula de reparar o amplificar el daño genético, la oportunidad de expresar cualquier alteración que se haya inducido y la capacidad del cuerpo de reconocer y suprimir la multiplicación de células aberrantes⁷⁰.

Por lo que, los plaguicidas interactúan con el material genético y lo perjudican, sin embargo, las células pueden reparar algunos de los daños al ADN de manera natural

al disparar los mecanismos de necrosis o apoptosis; si el daño al ADN no se repara y esta célula se sigue reproduciendo la transformación se da en células somáticas, se producen alteraciones en las funciones metabólicas o fisiológicas celulares, o bien el crecimiento celular desmesurado y desordenado^{71, 33}.

Se ha referido la presencia de aberraciones cromosomales, cambio de cromátidas hermanas, micronúcleos (MN) y células cometa, como resultado de la exposición a plaguicidas⁷².

Las técnicas para medir el daño genotóxico son muy diversas, se utilizan desde pruebas bioquímicas, moleculares y espectrofotométricas, hasta las pruebas citogenéticas y las basadas en la sedimentación del ADN dañado⁷¹. Sin embargo, el problema de la exposición ocupacional a los plaguicidas es complejo, ya que la evaluación de los efectos genotóxicos puede verse modificada por las condiciones ambientales y el estilo de vida³⁹.

5.1. Biomarcadores de daño genético.

El biomonitoreo humano surge de la necesidad de evaluar a la población en riesgo de exposición a sustancias tóxicas¹⁶.

Con referencia a lo anterior, el biomonitoreo es una medición controlada de sustancias químicas o marcadores biológicos en fluidos, tejidos u otras muestras accesibles de exposiciones a factores de riesgo ya sean químicos, físicos o biológicos en el lugar de trabajo o el medio ambiente. Los biomarcadores se basa en estudios del análisis del aire exhalado, sangre, orina y en muestras de tejido⁷³.

Para la detección de daño genético se emplean biomarcadores que indican el riesgo de toxicidad, por exposición a un agente tóxico, mediante el control de las cantidades tomadas que muestran los cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos

medibles, que se producen en un sistema biológico y se interpretan como un reflejo o indicador que cuantifica la exposición, el efecto biológico temprano y la susceptibilidad^{16, 67}.

Los marcadores biológicos se clasifican por lo general en tres tipos: biomarcadores de la exposición, biomarcadores del efecto y biomarcadores de la susceptibilidad⁶⁷.

☞ *Biomarcador de exposición:*

Puede ser un compuesto exógeno o metabolitos que penetran en el cuerpo a diferentes niveles, un producto interactivo entre el compuesto (o metabolito) y un componente endógeno, o cualquier otro hecho relacionado con la exposición^{67, 73}, la mayoría de estos marcadores indican exposición a contaminantes ambientales que son importantes para la salud pública¹⁶.

Específicamente para detectar la exposición a plaguicidas se utilizan diferentes biomarcadores como: la depresión de los niveles de colinesterasa y detección de aductos en hemoglobina³³.

☞ *Biomarcador del efecto:*

Son indicativos de cambios bioquímicos en un organismo como resultado de la exposición a xenobióticos⁶⁷. Incluyen modificaciones en la composición celular sanguínea, alteraciones en actividades enzimáticas, aparición de aductos del ADN, incrementos localizados de ARN-m, aumento de determinadas proteínas, e incluso aparición de anticuerpos específicos (autoanticuerpos) contra un xenobiótico o frente a fracciones celulares (núcleo, membrana)⁷³.

Las mutaciones genéticas y alteraciones cromosómicas a menudo se consideran biomarcadores de primeros efectos biológicos en los procesos cancerígenos y suelen utilizarse como indicadores preclínicos de anomalías⁷².

Los biomarcadores del efecto pueden ser específicos o no específicos. Los específicos son útiles porque indican un efecto biológico de una exposición concreta, aportan datos que pueden ser valiosos de cara a la prevención. Los biomarcadores no específicos no indican una causa individual del efecto, pero pueden reflejar el efecto total integrado debido a una exposición combinada⁶⁷.

Los dos tipos de biomarcadores pueden ser de considerable utilidad en el ámbito de la salud en el trabajo⁶⁷. Entre los biomarcadores para efectos biológicos tempranos de la exposición a agentes mutágenos ambientales, los micronúcleos y aberraciones cromosómicas pueden ser los más relevantes¹⁶.

Otro ejemplo de biomarcador de efecto de relevancia para las mezclas complejas de plaguicidas los que evalúan los cambios en los sistemas biológicos, por ejemplo, inhibición de la acetilcolinesterasa de exposición a plaguicidas organofosforados⁷².

☞ *Biomarcador de la susceptibilidad:*

Un marcador de la susceptibilidad, sea heredado o inducido, es un indicador de que el individuo es especialmente sensible al efecto de un xenobiótico o los efectos de un grupo de xenobióticos, que indican una capacidad a menudo constitutiva de un individuo para responder a riesgos específicos⁷². La capacidad de reparación del daño genético también está determinada genéticamente y aquellos individuos deficientes en los mecanismos de reparación sufrirán mayores niveles de daño genético irreversible, incluso frente a exposiciones de baja intensidad. Otros indicadores de susceptibilidad

que deben ser considerados son las diferencias inmunológicas y factores nutricionales, como las deficiencias en folato o vitamina C, que pueden incidir en la existencia de mayor daño genético³³. Se ha hecho hincapié en la susceptibilidad genética que puede deberse a un rasgo heredado y a la constitución del individuo a factores ambientales⁶⁷.

La utilización de biomarcadores que reflejan los efectos y la exposición a carcinógenos se vislumbra como una herramienta útil en el monitoreo de riesgo laboral, ya que permite tomar medidas para disminuir la exposición al agente tóxico cuando su efecto es reversible lo que disminuye el riesgo de desarrollar enfermedades degenerativas, envejecimiento precoz y cáncer^{15, 72}.

5.1.2. Biomarcadores de efecto

Los estudios pueden realizarse a partir de sangre de personas expuestas a genotóxicos y permiten detectar efectos tempranos y pueden agruparse en estudios citogenéticos, moleculares y bioquímicos.

Los estudios citogenéticos son: el ensayo de aberraciones cromosómicas (AC), el ensayo de micronúcleos (MN), que también puede realizarse en células epiteliales obtenidas de las mucosas y el ensayo de intercambio de cromátidas hermanas (ICH)¹⁵.

- **Ensayo de aberraciones cromosómicas (AC):**

Permite detectar alteraciones numéricas (efecto aneugénico) o estructurales (efecto clastogénico) a nivel cromosómico⁷⁴, la importancia de este ensayo radica en que existen evidencias experimentales y epidemiológicas de que las aberraciones estructurales están involucradas en el proceso de carcinogénesis y por lo tanto el incremento en el número de aberraciones cromosómicas está asociado con padecer mayor riesgo de cáncer en el futuro⁷.

- **Ensayo de micronúcleos (MN):**

Detecta rupturas a nivel de los cromosomas y alteraciones a nivel del aparato mitótico, por lo que permite también identificar compuestos con efectos aneugénicos y clastogénicos. Se utiliza ampliamente en epidemiología molecular y citogenética para evaluar la presencia y el grado de daño cromosómico en poblaciones humanas expuestas a agentes genotóxicos o teniendo un perfil genético susceptible⁷⁸. En comparación con las AC, el marcador de MN es más simple y consume menos tiempo. Los resultados de un análisis prospectivo de una base de datos de 6700 sujetos de 20 laboratorios representando diez países diferentes han confirmado que una frecuencia elevada de MN es predictiva de un riesgo aumentado de cáncer²⁰.

- **Ensayo de intercambio de cromátidas hermanas (ICH):**

Es una técnica citogenética que se emplea para evaluar alteraciones a nivel de los cromosomas. El intercambio entre cromátidas hermanas se produce justamente por el intercambio recíproco de ADN entre dos cromátidas hermanas de un cromosoma duplicado. La frecuencia de intercambio en células eucariotas se ve incrementada por la exposición a agentes genotóxicos que inducen daño al ADN interfiriendo con la replicación del mismo. Sin embargo, los mecanismos de formación no están completamente dilucidados y por lo tanto su significado biológico es aún incierto⁷.

En lo que respecta a estudios moleculares:

- **Ensayo cometa:**

Es una técnica de electroforesis en microgeles de agarosa considerada de alta sensibilidad para detectar daño al ADN, a nivel de células individuales. Permite evidenciar rupturas de simple y doble cadena del ADN, sitios álcali lábiles, y entrecruzamientos ADN/ADN o ADN proteína asociados con sitios de

reparación por escisión incompleta en células individuales. Cuando el núcleo es sometido a la electroforesis, los fragmentos rotos de ADN migran fuera del mismo, dándole la apariencia de cometa que dio lugar al nombre de la técnica⁷⁵.

Además, la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1987) sugiere que por medio de estudios bioquímicos se mida la actividad de la enzima colinesterasa en el plasma como indicador biológico de la exposición de plaguicidas organofosforados y/o carbamatos, porque la toxicidad de sus sustancias afecta principalmente el sistema nervioso, inhibiendo la acetil colinesterasa neuronal, produciendo un incremento de la acetilcolina en las sinapsis y desencadenando un síndrome colinérgico agudo una neurotransmisión continua, que puede llevar a la muerte si no existe una apropiada y rápida intervención⁶⁰.

Con las metodologías citogenéticas, moleculares y bioquímicas que existen, es posible detectar cambios o alteraciones que actúan como señal de alarma, que permiten tomar las medidas oportunas para minimizar el riesgo para la salud^{76, 15}.

6. El ensayo de micronúcleos

Estudios epidemiológicos y experimentales pusieron en evidencia un aumento de las alteraciones cromosómicas como resultado de la exposición a agentes genotóxicos^{71, 77}. Muchas de las alteraciones, espontáneas o inducidas, que se producen en el ADN, se traducen en roturas y pérdidas cromosómicas. Sea cual sea el origen, algunas alteraciones se pueden reparar y volver a su estado inicial, si no se reparan o se reparan incorrectamente, provocan diferentes anomalías, algunas de ellas detectables mediante diferentes técnicas citogenéticas y/o moleculares⁷⁸.

Las técnicas citogenéticas más utilizadas para detectar cambios cromosómicos estructurales y numéricos, para evaluar el riesgo genético de determinadas poblaciones expuestas a mutágenos, es el análisis de MN¹³.

Los MN forman parte de los biomarcadores de efecto, se originan espontáneamente, por estrés oxidativo, defectos genéticos, genes de reparación del ADN, así como por deficiencias de nutrientes o como respuesta a la acción de agentes clastogénicos y/o aneugénicos^{26, 17}.

Los MN son pequeños cuerpos extranucleares de masa de cromatina, que aparecen cerca del núcleo principal en las células interfásicas²⁰. La formación de los MN en las células divididas es el resultado de la rotura de un cromosoma (fragmentos acéntricos sin centrómero), debido a una mala reparación de la lesión al ADN (daño clastogénico), los fragmentos al no disponer de centrómero no se incluirán en los núcleos de las células hijas durante la división celular, al no poderse unir al huso mitótico en la anafase. Estos fragmentos se rodean de membrana nuclear y aparecen en el citoplasma como pequeños núcleos⁷⁹.

Cuando el daño genotóxico se produce en cromosomas completos, donde se ha afectado a proteínas del cinetocoro, al centómero o al huso mitótico, lo más probable es que se produzca un retraso mitótico y un desequilibrio en la distribución de los cromosomas, provocando que queden rezagados por una malsegregación de los cromosomas en la formación del huso mitótico (efecto aneuploidógeno) durante la anafase y se rodean de membrana nuclear, quedándose excluidos del núcleo principal de las células hijas resultantes^{8, 13}. En la interfase posterior condensan a pequeños núcleos que se identifican fácilmente^{80, 77}.

El significado biológico de los MN dependerá de la región involucrada en la rotura y del cromosoma(s) que se pierda. Si bien, alguna rotura puede provocar muerte celular, las aneuploidías, tanto germinales como somáticas se relacionan con

alteraciones genéticas mucho más graves implicadas en abortos espontáneos, retraso mental y cáncer^{33, 15}.

El ensayo de MN se puede llevar a cabo en estudios *in vitro* e *in vivo*, utilizando células de descamación de la vejiga, mucosa bucal, vagina o de sangre periférica entre otros tejidos¹⁹.

6.1. Micronúcleos del epitelio bucal

El conteo de MN se puede llevar a cabo en cualquier tejido que se divida, como el epitelio de mucosa bucal¹¹. La mejilla es una de las zonas ideales, debido a que posee un epitelio plano estratificado no queratinizado característico de las superficies epiteliales húmedas. En esta zona, la recolección de las células exfoliadas es mínimamente invasiva en comparación con la obtención de muestras de sangre para linfocitos y ensayos de eritrocitos o biopsias de tejido⁷⁹. Por lo que el ensayo de MN, ha demostrado ser un método sensible para la supervisión de daños genéticos de poblaciones expuestas a tóxicos⁷⁴.

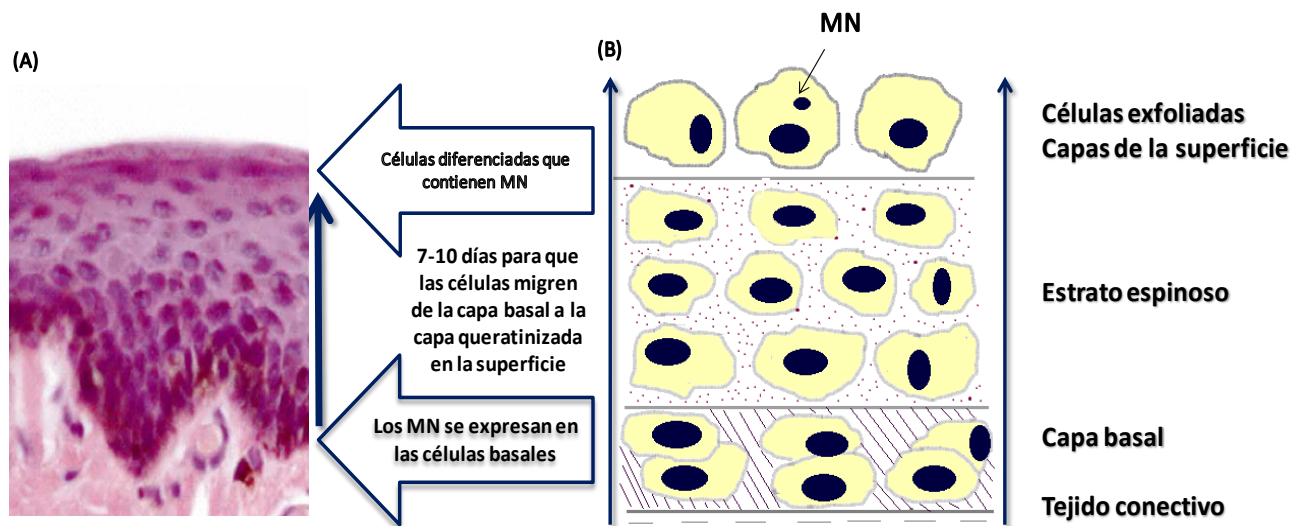
El ensayo de MN fue propuesto por primera vez en 1983 y continúa ganando popularidad como biomarcador de daño genético, es validado universalmente como práctico y accesible tecnológicamente, útil para evaluar la inestabilidad genética provocada por agentes genotóxicos ya que es fácil, rápido y económico^{79, 81}. Este tipo de biomonitoreo puede ser un método adecuado para la detección del incremento de riesgo a cáncer en humanos, ya que el 90% de los cánceres humanos es de origen epitelial^{82, 38}. Debido a que es bien conocido que la cavidad oral refleja la salud de un individuo y en la mucosa que recubre la boca se pueden observar cambios indicativos de enfermedad¹¹.

A diferencia de otros tejidos, el epitelio está formado por varias capas de células estructurales, progenitoras y de maduración, incluyendo la lámina propia o tejido

conectivo, las células basales o lámina basal, capa o estrato espinoso y una capa superficial de queratina, que se van exfoliando a medida que alcanzan al superficie, por lo que el daño genético que se detecta es el que ha ocurrido en las capas basales, el lugar en donde las células se han dividido⁷⁹. Es en la capa basal donde se encuentran las células madre capaces de expresar alteraciones genéticas durante la división celular tales como MN. Las células hijas, que pueden o no incluir MN se diferencian en la capa espinosa y la queratinizada para luego exfoliar en la cavidad bucal³³.

Las células de la mucosa bucal están expuestas a la superficie y su alta sensibilidad a diversas sustancias contribuye a que se vean ampliamente afectadas por agentes potencialmente peligrosos, además, las células epiteliales son no queratinizadas, por lo que son más vulnerables a los cambios, esto las hace muy buenas candidatas para detectar daños, además, de que presentan abundante citoplasma, conservando el núcleo al momento de ser exfoliadas^{83, 69}.

La capacidad proliferativa del epitelio oral, permite que la población celular mantenga constante su rápida renovación de tejidos epiteliales y hace que el máximo índice de formación de MN aparezca entre 1-3 semanas después de la exposición al agente genotóxico, que será el tiempo necesario para que las células migren desde las capas basales del epitelio hasta la superficie, después del cese del tratamiento o de la exposición, posteriormente los valores de MN descienden (Figura 4)^{11, 33}.



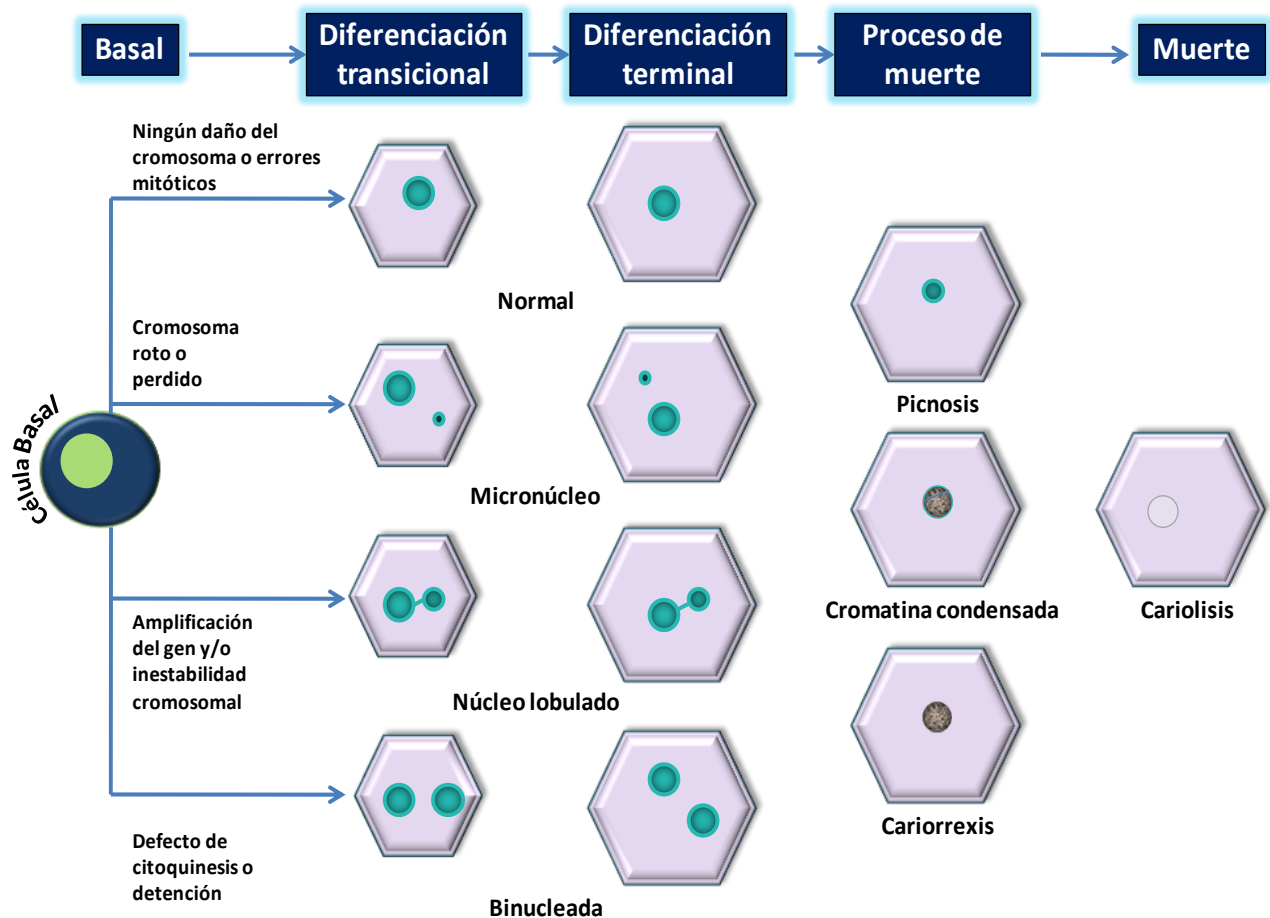
Fuente: Holland, *et al.*, 2008, Torres-Bugarín *et al.*, 2013

Figura 4. Estructura y diferenciación del epitelio bucal. (A) fotomicrografía de una sección de la mucosa bucal, muestra varias capas de células en el epitelio bucal. Epitelio oral estratificado plano no queratinizado; En capa basal se lleva a cabo la división celular, y es donde se originan los MN y anomalías nucleares para luego migrar a la superficie. (B) Esquema de mucosa bucal con las capas de la celulares.

6.2. Otras anomalías nucleares

Durante el análisis de MN también se observan otras anomalías nucleares que ocurren en procesos normales de diferenciación celular, sin embargo, también son indicadores de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular³⁸. Las alteraciones más sugestivas en la morfología como tamaño, densidad y distribución de la cromatina se producen en el núcleo, la presencia de células binucleadas son biomarcadores de toxicidad, cariólisis y cariorrexis son biomarcadores de apoptosis; núcleos lobulados son un marcador de genotoxicidad y muerte celular bajo la forma de necrosis o apoptosis (ambas se manifiestan como picnosis, cromatina condensada, cariorrexis o cariólisis) (Figura 5)^{25, 11}.

El mecanismo de formación de cada anomalía aún no está bien esclarecido y para su identificación, se usan los criterios establecidos por Tolbert *et al.* (1991) (Figura 5)²⁹.



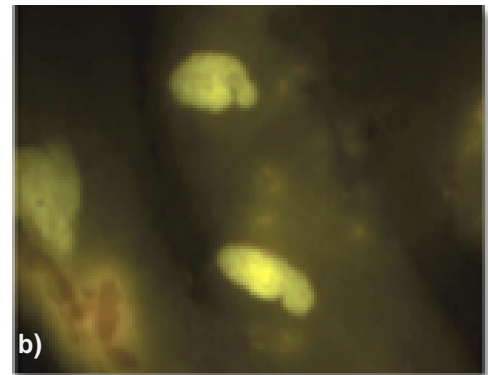
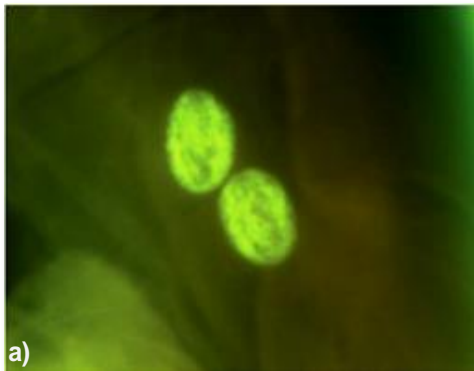
Fuente: Bolognesi et al., 2013

Figura 5. Modelo citológico de MN bucal. Representación esquemática de varios tipos de células bucales y el mecanismo de su origen.

Características de las anomalías nucleares

- **Células binucleadas (CB):** La célula tiene dos núcleos del mismo tamaño, morfología y textura similares. A menudo los núcleos están cercanos y casi en contacto. El mecanismo más probable de formación de estas células es el fallo en la citocinesis debido a defectos en la formación del anillo de microfilamentos o detención del ciclo celular debido a una malsegregación de cromosomas o disfunción de los telómeros (Figura 6).

- *Células con núcleo lobulado (NL)*: contienen cuerpos que están conectados al núcleo principal por un puente nucleoplásmico. El núcleo lobulado tiene la misma textura y se tiñe intensamente que el núcleo principal y su diámetro es de un rango entre 1/3 y 1/16 parte del núcleo principal. Su estructura sugiere un proceso de eliminación de un excedente de material nuclear, como reparación o amplificación del ADN tras una segregación en la periferia del núcleo. En algunos casos raros el NL puede llegar a ser mayor que el núcleo principal (Figura 6).

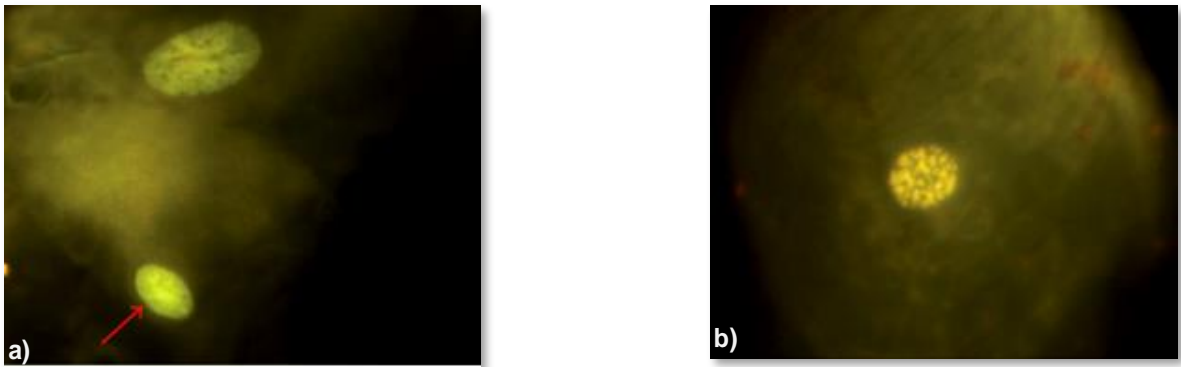


Fuente: Torres-Bugarín, et al., 2014

Figura 6. a) Célula binucleada (BN); b) Núcleo lobulado (NL). Microfotografía, tinción con naranja de acridina vista a 1000 magnificaciones con fluorescencia IVFL filtro (450-490 nm). Microscopio Binocular Carl Zeiss (Axiostar Plus)

- *Células con picnosis (PC)*: Son células terminalmente diferenciadas que tienen un núcleo pequeño de forma angular y plano, intensamente teñido. El diámetro del núcleo es usualmente 1/3 o 2/3 partes de un núcleo normal de una célula terminalmente diferenciada. La picnosis representa una condensación irreversible de la cromatina del núcleo de las células en proceso de apoptosis, se cree que precede a la cariorrexis. El significado biológico de las células con picnosis y el mecanismo de formación en células bucales no es del todo claro. Sin embargo, su frecuencia se ha demostrado que se correlaciona positivamente con la frecuencia de cromatina condensada y cariorrexis, lo que sugiere que las células están en proceso de muerte (Figura 7).

- *Células con cromatina condensada (CC)*: Se caracterizan por un núcleo angular y plano con un patrón estriado de extensiones paralelas de CC, las áreas distintas de cromatina condensada en el núcleo están intensamente teñidas que el resto del núcleo. La estructura de la cromatina se ha asociado con el proceso de apoptosis. Estas células no deberían ser confundidas como MN o NL porque la apoptosis puede causar fragmentación nuclear y generación de cuerpos nucleares similar a MNs o NLs (Figura 7).

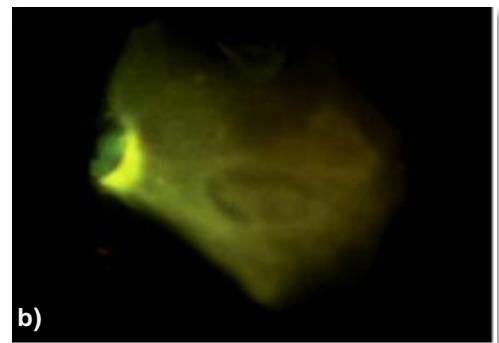
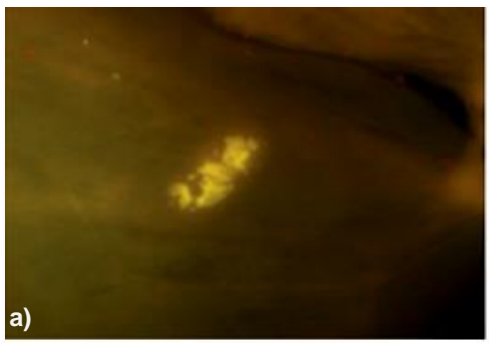


Fuente: Torres-Bugarín, et al., 2014

Figura 7. a) Picnosis (PC); b) Cromatina Condensada (CC). Microfotografía, tinción con naranja de acridina vista a 1000 magnificaciones con fluorescencia IVFL filtro (450-490 nm). Microscopio Binocular Carl Zeiss (Axiostar Plus)

- *Células con cariorrexis (CR)*: su forma es generalmente angular y plana con el tamaño de una célula diferenciada. Se caracterizan por la agregación de cromatina nuclear más extensa con respecto a las células con cromatina condensada. Su patrón densamente moteado es indicativo de una típica desintegración nuclear de las etapas posteriores de la apoptosis. Estas células no deben ser confundidas con MN o NL porque la apoptosis puede causar fragmentación nuclear y generación de cuerpos nucleares similares a estos (Figura 8).

- *Células con cariólisis (CL)*: su forma es generalmente angular y plana son células terminalmente diferenciadas que parecen estar ausentes de núcleo. Su núcleo está completamente vacío de ADN, se observa como una imagen fantasma del núcleo. La cariólisis es el estado de desintegración completa del núcleo, ocurre en estados posteriores de necrosis y apoptosis. Estas células muestran las siguientes características (Figura 8).



Fuente: Torres-Bugarín, et al., 2014

Figura 8. a) Cariorraxis (CR); b) Cariólisis (CL). Microfotografía, tinción con naranja de acridina vista a 1000 magnificaciones con fluorescencia IVFL filtro (450-490 nm). Microscopio Binocular Carl Zeiss (Axiostar Plus)

El monitoreo citogenético debe ser considerado como parte integral de una buena vigilancia médica en las personas en contacto con plaguicidas, ya que permite evaluar el riesgo potencial de las exposiciones ocupacionales, de este modo es posible la planeación de medidas necesarias para la identificación temprana de riesgo genético¹⁵.



PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

JUSTIFICACIÓN

OBJETIVOS

HIPÓTESIS

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las comunidades del municipio de Villa Guerrero, Estado de México el aumento de la superficie floricultora ha originado el uso excesivo de plaguicidas, los cuales se les atribuye como uno de los principales determinantes en el deterioro de la salud de los pobladores colindantes con los cultivos. En este sentido, particularmente los niños se vuelven los más vulnerables debido a su constante crecimiento y alta demanda energética, a su falta de madurez física, cognitiva y fisiológica.

La importancia de detectar el daño genético de los plaguicidas es su acción mutagénica, así como su acción carcinogénica y teratogénica

Es por esto que es ineludible contar con programas encaminados a identificar el daño genético que pueden producir los plaguicidas en los niños con la finalidad de reducir los efectos de los plaguicidas sobre su salud. La técnica de micronúcleos y alteraciones nucleares, brinda una gran oportunidad ya que ha sido mundialmente validada, no es invasiva, se puede aplicar en células de mucosa bucal y facilita conocer los efectos tempranos de estos agentes tóxicos a nivel genético.

Motivo por el cual surge la pregunta de investigación;

¿Los niños expuestos a plaguicidas presentan mayor frecuencia de células micronucleadas y anomalías nucleares en mucosa bucal en comparación con niños no expuestos?

IV. JUSTIFICACIÓN

En las comunidades de Villa Guerrero la principal actividad económica es la floricultura, esta actividad favorece el incremento del uso de plaguicidas en la zona¹⁵. La utilización inadecuada e indiscriminada de los plaguicidas, la falta de conciencia en cuanto a las barreras de protección, las múltiples vías de absorción y el bajo conocimiento de la población en torno a sus consecuencias en la salud los expone a los efectos tóxicos de los mismos, solo un 0,1 % de los plaguicidas llega a la plaga, el resto queda circulando por el ambiente, contaminando el suelo, agua y ecosistema, debido a estas deficiencias en las prácticas del cultivo se generan efectos colaterales negativos que dañan la salud humana^{44, 33}.

Los plaguicidas si bien aportan el beneficio del control de plagas, pueden causar graves daños a la salud de los niños son particularmente más susceptibles a los peligros ambientales que los adultos debido a las diferencias en la fisiología y su comportamiento, el sistema nervioso de los niños se encuentra en etapas críticas de desarrollo, están en continuo crecimiento y su sistema de defensa es más susceptible⁸⁴.

Está demostrado la asociación de la exposición de estas sustancias con la aparición de malformaciones congénitas, alteraciones sistémicas, problemas cognitivos, y que pueden ocurrir a corto y largo plazo^{5, 28}. Por lo que los niños son un subgrupo específico en salud pública, que está aún en fase de desarrollo, y esta condición puede tener influencia sobre una respuesta diferente a la que tiene los adultos al daño ambiental, y los efectos en su salud podrían manifestarse muchos años después de la exposición¹⁵.

Por lo tanto, el biomonitoreo en poblaciones humanas es considerado una herramienta útil para estimar el riesgo genético frente a la exposición de mezclas complejas de químicos¹⁷. Las pruebas de genotoxicidad permiten evaluar tanto la exposición a sustancias genotóxicas como el riesgo de carcinogénesis. Un sistema que puede ser utilizado para el estudio de efectos genotóxicos es el ensayo de

micronúcleos (MN) y alteraciones nucleares (AN), es uno de los biomarcadores más usados debido a que es un método no invasivo ya que estas alteraciones se pueden observar en células descamadas del epitelio bucal; es fácil de realizar además de su bajo costo¹³.

La importancia que tiene el localizar y cuantificar las alteraciones cromosómicas, es muy útil para descubrir efectos tempranos de daño genotóxico que pueden ser precursores de una enfermedad grave, y así, convertirse en una herramienta efectiva no sólo para la evaluación del riesgo, sino también para su predicción provenientes de la exposición ocupacional y ambiental²⁹.

V. OBJETIVOS

Objetivo general

Comparar la presencia de micronúcleos y anomalías nucleares en células exfoliadas de la mucosa bucal entre niños expuestos y no expuestos a plaguicidas.

Objetivos específicos

1. Determinar la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa oral en niños expuestos y no expuestos a plaguicidas.
2. Determinar la frecuencia de alteraciones nucleares en células exfoliadas de la mucosa oral en niños expuestos y no expuestos a plaguicidas.
3. Comparar la frecuencia de alteraciones nucleares en células exfoliadas de la mucosa oral en niños expuestos con la de no expuestos.
4. Asociar la frecuencia de alteraciones nucleares en células exfoliadas de la mucosa oral en niños expuestos y no expuestos a plaguicidas con los factores de variabilidad como: actividad laboral de los padres, medidas de protección, edad, sexo y hábitos alimenticios.

VI. HIPÓTESIS

Hipótesis de trabajo

Los niños expuestos a plaguicidas de la comunidad de San José, Villa Guerrero presentan mayor frecuencia de micronúcleos y alteraciones nucleares de mucosa bucal en comparación con los niños no expuestos.

Hipótesis nula

La frecuencia de micronúcleos y alteraciones nucleares de mucosa bucal de niños de la comunidad de San José, Villa Guerrero es similar a la de los niños no expuestos.

The background features a pattern of overlapping circles in various shades of green and yellow. A prominent horizontal bar spans the width of the page, with a light green upper section and a darker green lower section, separated by a thin blue line. The text is positioned in the upper right area of the page.

MÉTODO Y MATERIALES

VII. MÉTODO Y MATERIALES

Diseño del estudio

Transversal – analítico – comparativo.

Universo y muestra

126 niños en edad escolar.

- ☞ *Población expuesta*: 63 niños/as sanos de la escuela primaria “Ciencia y Trabajo” de San José, Villa Guerrero.
- ☞ *Población no expuesta*: 63 niños/as sanos de la escuela primaria “Axayácatl” del municipio de Mexicaltzingo.

La distancia entre ambas comunidades es de 40.5 km, ambas ubicadas en el Estado de México.

Muestra: por cuota y conveniencia.

Unidades de observación: laminillas con extendidos celulares y cuestionarios.

Criterios de inclusión

- Niños expuestos a plaguicidas.
- Niños que hayan radicado en la comunidad por un mínimo de 2 años.
- Niños no expuestos a plaguicidas.
- Asentimiento de los niños y consentimiento informado de los padres para que sus hijos participen en el estudio.

Criterios de eliminación

- Niños con antecedentes de consumo de medicamentos en el mes de la toma de la muestra.
- Niños que accedan participar en el estudio, pero que sus padres no firmen el consentimiento informado.
- Extendidos celulares con menos de 1000 células.

Variables

Variable dependiente

- ☞ Micronúcleos y anormalidades nucleares

Variable independiente

- ☞ Exposición a plaguicidas

Factores de variabilidad

- Edad
- Sexo
- Índice de masa corporal (IMC)
- Hábitos higiénico-dentales
- Hábitos alimenticios
- Antecedentes patológicos
- Antecedentes toxicológicos

Operacionalización de variables

☞ Variables dependientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadísticos
Micronúcleos	Daño genético en los núcleos de las células.	Conteo de micronúcleos	Cuantitativa Discreta	Total de micronúcleos	U de Mann-Whitney
Anormalidades nucleares	Célula binucleada: células que contienen dos núcleos principales.	Conteo de anomalías nucleares	Cuantitativa Discreta	Total de anomalías nucleares	U de Mann-Whitney
	Núcleo lobulado: el núcleo presenta una constricción en un extremo.				
	Picnosis: células con un núcleo pequeño, con alta densidad de material nuclear uniforme e intensamente teñido.				
	Cromatina condensada: células con núcleos intensamente teñidos, con regiones condensadas de cromatina.				
	Cariorrexis: células que presentan un núcleo que se caracteriza por agregación de la cromatina nuclear.				
Cariolisis: células completamente vacías de ADN, por lo tanto, no tienen núcleo.					

↻ Variables independientes

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadísticos
Exposición a plaguicidas					
- Residencia en zona florícola	Domicilio cercano a un invernadero.	No Si	0 1	Categoría Nominal	U de Mann-Whitney
- Padre floricultor	Actividad laboral del padre.	No Si	0 1		
- Madre floricultora	Actividad laboral de la madre.	No Si	0 1		
- Distancia del invernadero	Invernadero cercano al hogar.	Más de 2km 50,100mts	0 1		
- Actividades del niño en el invernadero	Trabajo del niño dentro del invernadero.	No Si	0 1		
- Frecuencia de las actividades	Días laborales de los niños en el invernadero.	1 vez al mes Diario/3xsem	0 1		
- Uso de plaguicidas	Manipulación de los agroquímicos por parte de los niños.	No Si	0 1		
- Aseo del niño	Higiene del niño después de su día laboral.	No Si	0 1		

☞ Variables independientes

Factores	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadísticos
– Lugar de la ropa usada en el invernadero	Sitio donde se coloca la ropa contaminada de una jornada de trabajo.	Fuera de casa 0 Dentro de casa 1			
– Lavado de la ropa usada en el invernadero con el del resto de la familia	Aseo de la ropa contaminada de la jornada de trabajo con la del resto de la familia.	No 0 Si 1	Categórica Nominal	Nominal 0 a 1	U de Mann-Whitney

3 Factores de variabilidad

Factores	Definición conceptual	Definición operacional		Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadísticos
Edad	Edad del paciente en años cumplidos	Años cumplidos		Cuantitativa Discreta	Absoluta Años cumplidos	Correlación
Sexo	Características biológicas que definen a los seres humanos como hombre o mujer.	Femenino	0	Categórica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Masculino	1	Nominal	0 – 1	
Índice de Masa Corporal	Medida de asociación entre el peso y talla de un individuo.	Kilogramos/metros		Cuantitativa Discreta	Absoluta Kilogramos/metros	Correlación
<i>Hábitos higiénico-dentales</i>						
– Uso de cepillo y pasta dental	Aseo bucal tres veces al día con cepillo y pasta dental.	No	0	Categorica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			
– Uso de enjuague bucal	Uso de enjuague bucal una vez al día.	No	0	Categorica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			
– Alcohol en enjuague bucal	Contenido de alcohol en enjuague bucal.	No	0	Nominal	0 – 1	U de Mann-Whitney
		Si	1			
– Visita al dentista	Consulta dental en el último mes antes de la toma de la muestra.	No	0	Categorica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			
– Tratamiento dental	Obturaciones con amalgama, resina o iónomero.	No	0	Categorica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			

☞ Factores de variabilidad

Factores	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadísticos
<i>Hábitos alimenticios</i>					
– Consumo de alimentos enlatados	Ingesta de alimentos enlatados durante la última semana antes de la toma de la muestra				
– Consumo de embutidos	Ingesta de alimentos embutidos durante la última semana antes de la toma de la muestra.	No Si	0 1		
– Consumo de frutas y verduras	Ingesta de frutas y verduras durante la última semana antes de la toma de la muestra.	No Si	0 1		
– Consumo de pescado	Ingesta de pescado durante la última semana antes de la toma de la muestra.	No Si	0 1	Categórica Nominal	U de Mann-Whitney
– Consumo de carne	Ingesta de carne durante la última semana antes de la toma de la muestra.	No Si	0 1	0 – 1	
– Cocción de carne	Tipo de cocción de la carne que se consume.	No Si	0 1		
– Consumo de té	Ingesta de té durante la última semana antes de la toma de la muestra.	No Si	0 1		
– Consumo de café	Ingesta de café durante la última semana antes de la toma de la muestra.	No Si	0 1		

☞ Factores de variabilidad

Factores	Definición conceptual	Definición operacional		Tipo de variable	Escala de medición	Análisis estadísticos
– Consumo de café con leche	Ingesta de café con leche durante la última semana antes de la toma de la muestra.	No	0	Categórica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			
– Lavado de frutas y verduras	Lavado de frutas y verduras con agua y jabón.	No	0	Nominal	0 – 1	
		Si	1			
<i>Antecedentes patológicos</i>						
– Antecedentes heredofamiliares	Problemas hereditarios de cáncer	No	0	Categórica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			
– Problemas de nacimiento	Abortos, muertos antes de nacer, niños prematuros y bajos de peso al nacer	No	0	Categórica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			
– Consumo de vitaminas	Ingesta de multivitamínicos	No	0	Categórica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			
<i>Antecedentes toxicológicos</i>						
– Fumador pasivo	Niño que no fuma pero está sometida al humo del tabaco de las personas que fuman en su entorno.	No	0	Categórica	Nominal	U de Mann-Whitney
		Si	1			

Material

- * Bata blanca
- * 1 galón de agua purificada
- * 130 vasos de plástico No. 1 marca Bosco
- * 2 cajas de guantes de látex chicos marca OTAi
- * 2 Cubre bocas Ambiderm
Econoply Blanca
- * 2 paquetes con 100 gasas medida 10 x 10 cms. marca Leroy
- * 130 porta objetos marca Corning Frosted border 2947C
- * 130 Cubreobjetos marca Corning 22 x 30 mm
- * Lápiz con punta de diamante
- * Caja transportadora de porta objetos
- * 4 Copas Coplin de vidrio
- * Canastilla para portaobjetos
- * Etanol al 80%
- * Balanza analítica marca METTLER AJ150
- * Agitador magnético marca CORNING
- * Magneto
- * 11.49 g de fosfato monobásico de sodio marca J. T. Baker
- * 2.16 g de fosfato de sodio dibásico marca J. T. Baker
- * 1 litro de agua destilada
- * Matraz Erlenmeyer 1000 ml marca KIMAX
- * Papel estraza
- * Jeringa de 10 ml
- * Naranja de acridina 0.1 % solución acuosa marca HYCEL
- * Microscopio binocular Mca. Carl Zeiss Mod. Axiostar Plus. Fluorescencia IVFL. Filtro de 450 a 490 nanómetros. Objetivo planacromático 100x/1.25 oil
- * Cámara Axiocam cc 1.
- * Aceite de inmersión
- * Programa estadístico SPSS vs 20 INC (Chicago US)

Implicaciones Bioéticas

Este estudio se apegó a los estatutos de la Declaración de Helsinki y el proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UAEMex.

Se respetó el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud que en su Título 2º. Cap. I, establece los siguientes artículos:

Art. 16.

- Se protegerá la privacidad del individuo sujeto de investigación, identificándolo sólo cuando los resultados lo requieran y éste lo autorice.

Art. 17, Inciso I.

- Investigación sin riesgo: Son estudios que emplean técnicas y métodos de investigación documental retrospectivos y aquéllos en los que no se realiza ninguna intervención o modificación intencionada en las variables fisiológicas, psicológicas y sociales de los individuos que participan en el estudio.

Art. 21, Inciso VIII.

- No se identificará al sujeto y se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad.

Art. 23.

- En caso de investigaciones sin riesgo, la Comisión de Ética, por razones justificadas, podrá dispensar al investigador la obtención del consentimiento informado⁸⁴.

METODOLOGÍA

Procedimiento del estudio

Para este estudio se pidió autorización de los directores de las Escuelas Primaria “Ciencia y Trabajo” de la comunidad de San José, Villa Guerrero y Escuela Primaria “Axayácatl” del municipio de Mexicaltzingo, Estado de México.

Una vez obtenido el permiso, se impartió una plática informativa sobre la importancia y metodología del estudio a los padres.

Los padres que permitieron la participación de sus hijos en este estudio, firmaron el consentimiento informado y los niños dieron su asentimiento mediante su huella digital.

Posteriormente, en un aula de ambas escuelas proporcionada por los directores, se realizó una entrevista cerrada al niño acompañado de su madre o tutor. Se registró su edad, sexo, talla, peso, hábitos higiénico-dentales, hábitos alimenticios, antecedentes de salud (preguntas realizadas a la madre o tutor) y hábitos toxicológicos (Figura 9).



Fuente directa

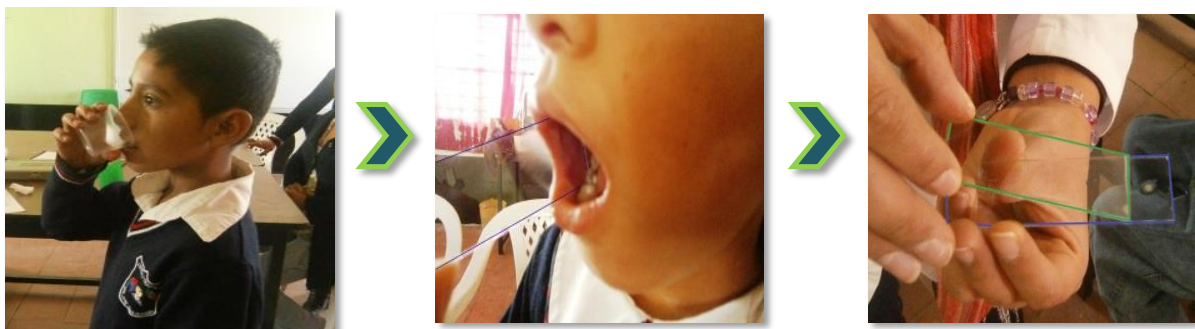
Figura 9. (1) Plática a padres de familia sobre la metodología del estudio; (2) Firma de consentimiento informado y asentimiento; (3) Aplicación del cuestionario.

En el grupo expuesto se realizaron preguntas específicas relacionadas con la exposición a plaguicidas: tiempo de residencia en la comunidad, ocupación de los padres, distancia del invernadero al hogar, actividades de los niños dentro del invernadero, frecuencia de las actividades, aplicación de plaguicida, aseo personal, lugar donde se coloca la ropa usada en el invernadero y lavado de la ropa usada en el invernadero (Anexo 1).

Procedimiento de citología exfoliativa

Posterior a la aplicación del cuestionario, se procedió a la toma de muestra de células epiteliales exfoliadas de mucosa bucal. Para ello se pidió a cada niño que realizara un enjuague con agua purificada durante 30 segundos, con el fin de eliminar residuos de comida que pudieran interferir en la lectura de las laminillas.

Con un lápiz punta de diamante se codificaron las laminillas, se anotó en un extremo fecha y número de folio (cuestionario). Posteriormente con la laminilla codificada y limpia se realizó un gentil raspado de la mucosa vestibular del niño y con un segundo portaobjetos se realizó el extendido de las células (Figura 10).



Fuente directa

Figura 10. (1) Enjuague con agua purificada; (2) Raspado de la mucosa vestibular; (3) Extendido celular

Los frotis se dejaron secar a temperatura ambiente y se almacenaron en cajas transportadoras para evitar su contaminación, en una bitácora de laboratorio se registró cada código de los pacientes.

Procedimiento de laboratorio

- **Fijación de las muestras**

Las muestras tomadas se llevaron al laboratorio y se colocaron en canastillas, posteriormente se sumergieron en etanol al 80%, se fijaron durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, los frotis se dejaron secar por completo a temperatura ambiente, se volvieron a almacenar en cajas oscuras con el fin de mantenerlas libre de polvo para su posterior tinción.

- **Preparación del buffer de fosfatos**

En una balanza analítica se pesaron 11.49 g de fosfato monobásico de sodio y 2.16 g de fosfato de sodio dibásico. En un matraz Erlenmeyer se agregó un litro de agua destilada y un magneto, se colocó en una mezcladora y poco a poco se agregaron los fosfatos, hasta disolverse por completo. Se mantuvo la solución en refrigeración (4°C) por un máximo de dos semanas, para evitar que se contaminara, lo que podría propiciar falsos (Figura 11).



Fuente directa



Figura 11. (1) Peso de fosfatos en balanza analítica; (2) Mezcla de fosfatos

- **Tinción de las muestras**

Las muestras se tiñeron con naranja de acridina; el colorante es específico para ácidos nucleicos que emite radiaciones verdes de 525 nm, facilita la identificación de los MN y disminuye los falsos positivos¹⁰, y permite identificar cambios en el estado de la cromatina, mecanismo de interacción con los ácidos nucleicos se reconocen dos modos de enlace fluorocromático: el primero el naranja de acridina se intercala dentro de un doble enlace de polímeros, ambos ADN y ARN da la fluorescencia verde, en contraste el naranja de acridina iónico los dímeros enlazan a un enlace simple y los ácidos nucleicos resultan en fluorescencia roja. La proporción de intensidad de la fluorescencia roja/verde, es usada como indicador de transformación de doble enlace de ADN dentro del enlace simple de ADN, induce cambios en los estados de cromatina en la célula o desnaturalización del ADN *in situ*⁸⁵.

El área de trabajo se protegió con papel estraza debido a que el colorante es mutagénico, posteriormente, en una caja Coplin se agregaron 10 ml del colorante anaranjado de acridina (solución acuosa al 0.1%) y se disolvió con el buffer de fosfatos (previamente elaborado).

En una canastilla se colocaron los frotis, se sumergieron de 1 ½ a 2 minutos, posteriormente se enjuagaron por 3 minutos con buffer de fosfatos, fue conveniente agitar suavemente la canastilla en repetidas ocasiones para eliminar el exceso de colorante. Ya teñidas las muestras se dejaron secar en una caja oscura para evitar la exposición a la luz y mantenerlas en óptimas condiciones, hasta el momento de su uso (Figura 12).



Fuente directa

Figura 12. (1) Tinción de las muestras con el colorante naranja de acridina; (2) Lavado de las muestras teñidas, en buffer de fosfatos; (3) Secado y almacenamiento de las muestras previamente teñidas y lavadas.

Procedimiento de lectura bajo el microscopio

- **Preparación de los frotis**

La muestra se embebió con una gota de buffer de fosfato, se colocó un cubre objetos, se envolvió en una gasa presionando suavemente para eliminar las burbujas. La muestra se llevó al microscopio (Microscopio binocular Mca. Carl Zeiss Mod. Axiostar Plus) bajo el lente 100x, se agregó una gota de aceite de inmersión y se observó en el microscopio. Se terminó la lectura de la laminilla una vez iniciado el proceso debido a que esta se contamina y se disminuye la intensidad de la tinción, lo que favorece los falsos negativos (Figura 13).



Fuente directa


Figura 13. (1) Muestra embebida con una gota del buffer de fosfatos; (2) Colocación del cubreobjetos y eliminación de burbujas de aire de la muestra con una gasa; (3) Colocación del aceite de inmersión y observación bajo el objetivo 100x.

- **Análisis de las laminillas**

Bajo el microscopio (objetivo 100 X) se realizó el conteo de 1000 células por paciente y se registraron en una base de datos las células con micronúcleos (MN) o con alguna anormalidad nuclear (AN), de acuerdo a los criterios establecidos por Tolbert *et al.* (1991).

Análisis estadístico

Los datos se tabularon y analizaron en el paquete SPSS v20 Inc (Chicago, USA), la normalidad de las variables se comprobó mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las diferencias estadísticas entre la prueba de MN y anormalidades nucleares, y la diferencia entre niños expuestos y no expuestos en relación con diferentes características de la población, se llevó a cabo mediante las pruebas no paramétricas U de Mann-Whitney (para muestras independientes) y el análisis de correlación se realizó entre las variables cuantitativas edad e índice de masa corporal y MN y AN.



RESULTADOS
TABLAS Y
FIGURAS


VIII. RESULTADOS

1. Acuse de Recibido

Envío predictamen artículo

Recibidos x



 CIENCIA ergo sum <ciencia.ergosum@yahoo.com.mx>
para mí ▾

15 abr. ☆



Estimada Profa. Ayusi Alonso,

Con el envío de un cordial saludo, me permito enviar en archivo anexo el predictamen definitivo a su artículo. Agradeceré confirme la correcta recepción del archivo.

Jorge Ramírez
Jefe Editorial
CIENCIA ergo-sum

CIENCIA ergo-sum, Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva
Universidad Autónoma del Estado de México
Instituto Literario Ote. #215
Col. 5 de Mayo, C.P. 50090
Toluca, Estado de México
Teléfono: 277-38-35 y 36, ext. 2109 y 2107
<http://ergosum.uaemex.mx/>

2. Artículo

TÍTULO

IDENTIFICACIÓN DE MICRONÚCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES EN CÉLULAS EXFOLIADAS DE MUCOSA BUCAL EN NIÑOS EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS.

TITLE OF THE ARTICLE

IDENTIFICATION OF MICRONUCLEI AND NUCLEAR ABNORMALITIES IN CELLS EXFOLIATED OF BUCCAL MUCOSA IN EXPOSED AND UNEXPOSED CHILDREN TO PESTICIDES.

RESUMEN

San José, Villa Guerrero es una comunidad dedicada al cultivo de flores, que requiere de fumigaciones con mezclas de plaguicidas. El efecto de la exposición directa e indirecta a plaguicidas en los niños debe ser monitoreado. El objetivo del estudio fue identificar la presencia de micronúcleos (MN) y anormalidades nucleares (AN) en células exfoliadas de la mucosa bucal de niños expuestos y no expuestos a plaguicidas. Frotis de la mucosa bucal, teñidos con naranja de acridina, fueron observados en un microscopio con inmunofluorescencia. Los valores de MN se encontraron dentro de parámetros normales en ambos grupos, las células binucleadas (CB) ($p=0.001$) prevalecieron en niños expuestos y en el grupo control la cariorrexis (CR) ($p=0.006$). En el grupo expuesto se observaron valores significativos de CB ($p=0.01$) en el Índice de Masa Corporal; MN ($p=0.04$) en niños con tratamiento dental; cariolisis (CL) ($p=0.03$) en niños con consumo de alimentos enlatados; MN ($p=0.05$) en niños con familiares con antecedentes de cáncer al igual que en fumadores pasivos ($p=0.05$). En el grupo control se observaron CB ($p=0.04$) en niños que no tienen higiene dental adecuada y sin uso de enjuague bucal CL ($p=0.05$); los

niños que no acuden al dentista presentaron núcleos lobulados (NL) ($p=0.01$) y total de anomalías nucleares (TAN) ($p=0.05$); mientras que en los niños con consumo de frutas y verduras presentaron picnosis ($p=0.05$), CR ($p=0.05$) y TAN ($p=0.05$) y por consumo de té NL ($p=0.04$) y TAN ($p=0.03$). La presencia de AN en los niños expuestos a plaguicidas sugiere daño citogenético.

Palabras clave: plaguicidas, niños, micronúcleos y anomalías nucleares, células exfoliadas.

ABSTRACT

San Jose, Villa Guerrero is a community dedicated to the cultivation of flowers that require spraying with pesticide mixtures. The effect of direct and indirect exposure to pesticides in children should be monitored. The objective of the study was to identify the presence of micronuclei (MN) and nuclear abnormalities (AN) in exfoliated cells of oral mucosa of children exposed and not exposed to pesticides. The buccal mucosa smears, stained with acridine orange, were observed in a microscope with immunofluorescence. The values of MN were found within normal parameters in both groups, the binucleate cells (CB) ($p=0.001$) prevailed karyorrhexis (CR) in exposed children and the control group ($p=0.006$). CB significant values were observed in the exposed group ($p=0.01$) and body mass index; MN ($p=0.04$) in children with dental treatment; (CL) karyolysis ($p=0.03$) in children with consumption of canned foods; MN ($p=0.05$) in children with a family with a history of cancer to passive smoking ($p=0.05$). CB were observed in the group control ($p=0.04$) in children who do not have an adequate dental hygiene and without use mouthwash CL ($p=0.05$); children who do not attend the dentist had buds nuclei (NL) ($p=0.01$) and total nuclear abnormalities (TNA) ($p=0.05$); While children with consumption of fruits and vegetables had; pyknosis ($p=0.05$), CR ($p=0.05$) and TNA ($p=0.05$); NL ($p=0.04$) tea consumption and TNA ($p=0.03$). The presence of AN in children exposed to pesticides suggests cytogenetic damage.

Key words: pesticide, children, micronuclei and nuclear abnormalities, exfoliated cells.

INTRODUCCIÓN

Un plaguicida es una mezcla de productos químicos destinados a eliminar o controlar plagas que interfieren en la producción de cultivos (USEPA 2010). Estos químicos se utilizan de forma masiva en la agricultura (Moore y Enquobahrie 2011). En 2006, el consumo de plaguicidas en México fue de 95 025 toneladas (SENER 2007), en la floricultura, su uso es indiscriminado, por tratarse de un cultivo permanente y de cosecha diaria.

En México la superficie dedicada al cultivo de flor se estima en 15 000 hectáreas, el 88% se realiza a cielo abierto y el 12% bajo invernadero, con un volumen de producción anual de 83 377 toneladas (Ceballos 2009). El Estado de México se considera como el principal productor nacional, destacando el municipio de Villa Guerrero (SIAP 2012). Según datos del Instituto Nacional de Estadística y Geografía Censo de Población (INEGI 2010), tiene una población total de 59 991 habitantes, la población económicamente activa se dedica en su gran mayoría a la producción de diferentes variedades de flores, su cultivo requiere de grandes cantidades de plaguicidas (SIAP 2012).

En la preparación de los plaguicidas se utilizan diferentes formulaciones, incluyendo compuestos genotóxicos, a menudo de manera simultánea en mezclas complejas (Remor *et al.* 2009). Los agentes genotóxicos tienen el potencial de interactuar y dañar el ADN, por lo que se les ha atribuido un papel en la iniciación de tumores (Cifuentes *et al.* 2010), cáncer (Ding y Tian 2013), en el desarrollo de enfermedades crónicas, degenerativas y en el aumento de malformaciones congénitas (Benedetti *et al.* 2013); así como la aparición de trastornos en el desarrollo (Ding y Tian 2013), neurodesarrollo (Roberts y Karr 2012) y déficit de atención (London *et al.* 2012).

Los niños que viven en entornos agrícolas y de floricultura son sometidos a una gran variedad de eventos que pueden conducir a la exposición acumulativa e indirecta (Vida y Moretto 2007). En comparación con los adultos, los niños son más susceptibles a los efectos adversos de los plaguicidas en el ambiente, debido a su falta de madurez física, cognitiva y fisiológica. Los niños en crecimiento son

especialmente vulnerables; sus características físicas y actividades al aire libre los ponen en mayor riesgo de sufrir daños ambientales (WHO 2006).

El monitoreo biológico en poblaciones expuestas es una herramienta de gran interés que permite estimar el riesgo genético resultante de la exposición ambiental a las sustancias químicas (Bonassi *et al.* 2011).

El ensayo de MN es un método no invasivo de bajo costo para medir el daño genético en células bucales exfoliadas (Bolognesi *et al.* 2011). La presencia de MN en la mucosa bucal se asocia con alteraciones citogénéticas en población expuesta a diversos agentes ambientales (Jyoti *et al.* 2013), entre ellos plaguicidas (Bortoli *et al.* 2009). Además de los MN en células exfoliadas existen otras AN, las que además de ser fenómenos que podrían ocurrir en procesos normales de diferenciación celular, son indicadores de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular: CB, NL, cromatina condensada (CC), cariorrexis (CR), picnosis (PC), y CL (Bolognesi *et al.* 2013, Torres-Bugarín *et al.* 2014).

El propósito de este estudio fue la identificación de MN y AN en células exfoliadas de la mucosa bucal de niños expuestos y no expuestos a plaguicidas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio transversal, analítico y comparativo. Se evaluaron 126 niños de ambos sexos (62 hombres y 64 mujeres) de 6 a 12 años de edad; 63 niños de la escuela primaria “Ciencia y Trabajo” de la comunidad de San José Villa Guerrero, cuya principal actividad económica es la floricultura (población expuesta a plaguicidas) y 63 niños de la escuela primaria “Axayácatl” del municipio de Mexicaltzingo, actividad económica predominante es el comercio de carne en canal (población no expuesta), con una distancia de 40.5 km entre ambas comunidades, en el Estado de México.

Los padres de los niños fueron informados previamente sobre el estudio y los que accedieron a que sus niños participaran, firmaron el consentimiento informado. Los niños dieron su asentimiento y se tomó su huella digital.

Se realizó una entrevista cerrada registrando género, edad, tratamiento dental, hábitos alimenticios, consumo de vitaminas, antecedentes familiares de cáncer, antecedentes ginecológicos de la madre (niños con bajo peso, prematuros, abortos, muertos al nacer), hábitos tóxicos de los niños (fumador pasivo). En el grupo expuesto, además, se realizaron preguntas específicas relacionadas con la exposición a plaguicidas (ocupación de los padres, distancia del invernadero al hogar, actividades de los niños dentro del invernadero, frecuencia de las actividades, aplicación del plaguicida, aseo personal de los niños y de los padres que trabajan en los invernaderos, lugar donde se coloca la ropa usada en el invernadero y el lavado de la misma).

Criterios de inclusión: niños expuestos directa o indirectamente a plaguicidas, niños no expuestos a plaguicidas, aparentemente sanos, tiempo mínimo de residencia de dos años, con asentimiento de los niños y consentimiento informado de los padres.

Criterios de exclusión: niños con enfermedades sistémicas o genéticas, consumo de medicamentos en el último mes y extendidos celulares con menos de 1000 células.

Toma de la muestra: previo enjuague de la boca con agua purificada, se introdujo un portaobjetos de bordes esmerilados limpio y codificado a la boca del paciente y se realizó un raspado gentil de la mucosa vestibular, el extendido celular se llevó a cabo con un segundo portaobjetos. Los frotis se secaron al aire libre y se almacenaron en cajas oscuras transportadoras. Posteriormente se fijaron en etanol al 80% por 48 horas. Para la tinción se utilizó el colorante fluorescente naranja de acridina, solución acuosa al 0.1%, que tiñe el ADN y permite la diferenciación con el ARN (Jyoti *et al.* 2013, Torres-Bugarín *et al.* 2014). Los criterios utilizados para la identificación de MN y AN fueron los descritos por Bolognesi *et al.* (2013).

Para evitar lecturas de falsos negativos la lectura de cada laminilla se realizó en una sesión. Los portaobjetos fueron identificados, codificados y observados en un microscopio de equipado con inmunofluorescencia por un único observador (bajo el lente 100 X). Se evaluaron 1000 células por laminilla.

El estudio se apegó a los estatutos de la Declaración de Helsinki y el proyecto fue aprobado por el Comité de Bioética de la Facultad de Odontología de la UAEMex.

Análisis estadístico: Las diferencias estadísticas entre la prueba de MN y AN, y la diferencia entre niños expuestos y no expuestos en relación con diferentes características de la población, se llevó a cabo utilizando la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney $p \leq 0.05$ y correlación de Spearman para las variables continuas.

RESULTADOS

En la población infantil potencialmente expuesta a plaguicidas, se observó diferencia significativa de CB ($p=0.002$) con relación a los controles, en tanto que en el grupo control prevalecieron las células con CR ($p=0.006$) en comparación con el grupo expuesto. Los niños expuestos a plaguicidas presentaron una baja frecuencia de MN, las cifras no fueron significativas. Mientras que la presencia de células con NL ($p=0.5$), PC ($p=0.9$), CC ($p=0.1$) y el TAN ($p=0.8$) prevalecieron en el grupo expuesto, aun cuando, no se notaron diferencias significativas (**Cuadro I**).

La floricultura fue la actividad preponderante de los padres (58/63) y de las madres (7/63) del grupo expuesto; los domicilios (58/63) se encuentran a un rango menor de 100 metros de distancia de un invernadero, invernaderos de túnel o cultivos a cielo abierto, 43/63 de los niños participan en el desbotonamiento, acarreo, empaquetamiento de la flor y limpieza del invernadero, de estos 37/43 trabajan dos o tres veces a la semana en los invernaderos. Los niños (14/63) y los padres (35/63) no suele bañarse después de realizar las actividades en el invernadero; 21/63 niños colocan la ropa usada en el invernadero dentro de su casa; la madre lava la ropa de trabajo con la del resto de la familia en 4/63 niños y en 8/63 padres.

Se observaron células con CL ($p=0.05$) y el TAN ($p=0.04$) en los niños de padres dedicados a la floricultura. Además, los niños del grupo expuesto, de madres dedicadas al hogar presentaron células con CL ($p=0.02$).

Factores de variabilidad grupo expuesto

El Índice de Masa Corporal del grupo expuesto presentó valores significativos de CB ($p=0.01$). Los niños que recibieron tratamiento dental (amalgamas y/o resinas) presentaron células con MN ($p=0.04$). En los niños que consumieron alimentos enlatados se observaron células con CL ($p=0.03$). Los niños con antecedentes familiares de cáncer ($p=0.05$) y fumadores pasivos ($p=0.05$) presentaron MN. Las variables edad, género, consumo de vitaminas y problemas ginecológicos de las madres en el grupo expuesto, no mostraron diferencias significativas (**Cuadro II**).

Factores de variabilidad grupo no expuesto

En el **cuadro III** se observa los valores significativos de células BN ($p=0.04$) por no usar cepillo y pasta dental; células con CL ($p=0.05$) por no usar enjuague bucal; células con NL ($p=0.01$) y TAN ($p=0.05$) por no acudir a consulta para tratamiento dental. El consumo de frutas y verduras mostró diferencias significativas de PC ($p=0.05$), CR ($p=0.05$) y TAN ($p=0.05$); consumo de té se observaron valores significativos de NL ($p=0.04$) y TAN ($p=0.03$). Las variables edad, género, consumo de vitaminas, problemas de nacimiento y otros hábitos alimenticios no mostraron diferencias significativas.

DISCUSIÓN

El propósito de este estudio fue determinar la presencia de MN y AN mediante un análisis paralelo en niños de un grupo control de una escuela del Municipio de Mexicaltzingo centro cuya actividad económica preponderante es la carne de canal, aunque también el INEGI refiere cultivo de maíz y avena pero con baja producción,

los campos de cultivo se encuentran distantes a la escuela y un grupo de niños expuestos a plaguicidas, de la comunidad de San José, Villa Guerrero que es una zona florícola, con diversidad de cultivos que requieren del uso de diferentes plaguicidas para su mantenimiento, el periodo de fumigación en cada invernadero o cultivo está programado semanalmente de acuerdo al tipo de flor y plaga que puedan presentar, por lo que, la fumigación es constante, estas condiciones de exposición ambiental han sido descritas previamente (Antonio *et al.* 2013). Los invernaderos y los sembradíos a cielo abierto se hallan aproximadamente a 100 metros de distancia de los hogares y de la escuela primaria de la localidad, lo que sugiere que los niños, están sujetos a una exposición acumulativa de residuos de plaguicidas de acuerdo a Vida y Moretto (2007).

Los plaguicidas según su formulación tienen un tiempo de permanencia en el ambiente, siendo los más utilizados en nuestro medio los organofosforados con una vida media de años y los no persistentes como los carbamatos y piretroides con una vida media de días a semanas (Prieto *et al.* 2012). Los niños presentan un alto riesgo de exposición aun cuando no estén presentes durante las fumigaciones debido a sus actividades laborales en los invernaderos y de esparcimiento al aire libre.

Los niños a diferencia de los adultos son más sensibles a los efectos tóxicos de los plaguicidas a causa de la inmadurez de su cuerpo (Gebara *et al.* 2011), de su metabolismo y las funciones del hígado (Gómez-Arroyo *et al.* 2013), de su frecuencia respiratoria y ritmo cardíaco (Vida y Moretto 2007). El riesgo potencial de intoxicación crónica por la exposición a plaguicidas en niños ha sido reportado (Pesticide Exposure 2012).

En este estudio se utilizó la técnica de MN en células descamadas de la mucosa bucal debido a que es mínimamente invasiva (Ros-Llor y Lopez-Jornet 2014, Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra 2013), y adecuada para poblaciones pediátricas (Bonassi *et al.* 2011), las células fueron teñidas con naranja de acridina como lo sugiere Jyoti *et al.* (2013).

La frecuencia de MN en el grupo expuesto y el grupo no expuesto, se encontró dentro de los parámetros de 0 a 4 por 1000 células, referidos por Martínez-Valenzuela *et al.* (2009) en poblaciones sanas. Estos valores en el grupo control fueron los esperados, en tanto que la baja frecuencia de MN en los niños expuestos en este estudio, al compararla con los resultados de Benítez *et al.* (2010) y Bortoli *et al.* (2009) puede deberse a que los autores utilizaron la tinción con Giemsa, Bonassi *et al.* (2011) explican que la tinción con Giemsa no es específica para ADN y los MN se pueden confundir con bacterias o fragmentos no nucleares como los gránulos de queratohialina, dando resultados falsos-negativos. Además, debe considerarse que las características de las poblaciones expuestas a plaguicidas, varían de un lugar a otro (Pastor 2002, Martínez-Valenzuela 2009), incluyendo el uso de distintos compuestos, o mezclas (Remor *et al.* 2009), la frecuencia de aplicación de los plaguicidas según el tipo de cultivo (Lucero *et al.* 2000), las condiciones ambientales, particularmente el clima cálido y húmedo (Piperakis *et al.* 2006), en el caso de las personas expuestas ocupacionalmente, el uso de protección durante la preparación y aplicación de los plaguicidas (Costa *et al.* 2007), si el trabajo es realizado en invernaderos y/o a cielo abierto (Costa *et al.* 2007), si la vía de contacto es dérmica y si se utilizan plaguicidas con baja toxicidad (Lidén 2011), estos factores pueden influir en la formación y cantidad de MN en individuos expuestos a plaguicidas.

El riesgo de alteraciones citogenéticas, aumenta cuando el contacto es por vía oral (Holland *et al.* 2008), principalmente en países subdesarrollados donde los protocolos de protección no se siguen y se utilizan mezclas plaguicidas potencialmente tóxicos (Martínez-Valenzuela *et al.* 2007) lo que ha dado lugar a resultados controvertidos en la identificación de MN y AN en individuos expuestos directamente e indirectamente a plaguicidas (Bortoli *et al.* 2009).

La búsqueda de MN en células de la mucosa bucal y en linfocitos de sangre periférica, en agricultores no siempre ha sido exitosa (Scarpato *et al.* 1996, Lucero *et al.* 2000, Pastor *et al.* 2001, Piperakis *et al.* 2006, Remor *et al.* 2009). Pastor *et al.* (2001), en trabajadores que manipulan plaguicidas no encontraron MN y AN, sin

embargo, detectaron reducción del índice de bloqueo de la proliferación de citoquinas, lo que indica contacto con sustancias citotóxicas, que pueden afectar la cinética de la proliferación celular. Además, Remor *et al.* (2009) demostró una disminución en la actividad de acetilcolinesterasa y de la dehidrasa del ácido delta-aminolevulínico (ALA-D) en sangre, así como un incremento en daño del ADN mediante el ensayo cometa.

Algunos reportes en la literatura refieren un incremento significativo de MN y AN en trabajadores expuestos a plaguicidas (Gómez-Arroyo *et al.* 2013) y en población infantil expuesta indirectamente (Benítez *et al.* 2010)

Los resultados de este estudio no muestran valores significativos en el número de MN al contrastarlo con el grupo control, probablemente debido a que los niños no están directamente expuestos a las fumigaciones vía dérmica. La actividad de los niños en el invernadero y la frecuencia con que asisten, no revelaron diferencias significativas en el número de MN y AN. Un hallazgo similar se observa en los niños que dejan su ropa en el invernadero y que queda expuesta a las fumigaciones constantes. A pesar de que esta situación significa un riesgo potencialmente alto de exposición, ya que los componentes de un gran número de plaguicidas pueden ser absorbidos por la piel sana, particularmente cuando se encuentra caliente o sudorosa (momento en que los poros están más dilatados) (Lidén 2011) esto es factible debido al clima cálido y húmedo característico de la Localidad de San José (Piperakis *et al.* 2006). Además, el plaguicida es absorbido con mayor rapidez si la formulación es líquida, aceitosa o si la piel está inflamada o tiene cortes o abrasiones (Lidén 2011), eventos comunes en los niños durante el desbotonamiento de la flor, en este caso es probable que los residuos de los plaguicidas en las flores sean un factor de exposición indirecta.

Las AN: CB, NL, PC, CC y TAN, fueron más frecuentes en el grupo expuesto, aunque solo las CB mostraron valores significativos, resultados similares fueron referidos por Benítez *et al.* (2010). Las CB son indicadoras de fallas en la citocinesis

y susceptibilidad a aneuploidía que está asociada a un incremento en el riesgo de cáncer y enfermedades neurodegenerativas (Thomas *et al.* 2008, Bonassi *et al.* 2011, Rezende *et al.* 2011, Bolognesi *et al.* 2011).

Aun cuando las fumigaciones de plantíos a cielo abierto ofrecen un menor riesgo que los ambientes cerrados, los niños por sus actividades al aire libre pueden tener contacto con las gotitas del aerosol suspendidas en el aire y expliquen la presencia de AN. Los niños cuyos padres se dedican a la floricultura presentaron valores estadísticamente significativos en células con CL y el TAN, Ergene *et al.* (2007) reportaron hallazgos similares, que sugieren la posibilidad de exposición indirecta, puesto que los padres llevan la ropa de trabajo al hogar. Este hecho se confirma al notar que los niños de las madres dedicadas al hogar presentaron valores significativos de CL, el mecanismo de formación de la CL, no se ha clarificado, es posible que se asocie con un efecto acumulativo de factores de riesgo, entre ellos: cercanía a los invernaderos (Bernardi 2015) y áreas de cultivo a cielo abierto (Pastor *et al.* 2001), los niños que laboran en el invernadero frecuentemente, falta de cuidados dentales (atención dental e higiene deficiente) (Bastos-Aires *et al.* 2013), antecedentes de cáncer en familiares (Weichenthal *et al.* 1989), antecedentes de bajo peso al nacer (Acosta-Maldonado *et al.* 2009), fumador pasivo (Jindal *et al.* 2013) probable exposición indirecta a plaguicidas por lavado deficiente de frutas y verduras (Mantovani *et al.* 2008).

Aunque, los efectos adversos por exposición de plaguicidas en dosis bajas son poco claros, Burns *et al.* (2013) y Bolognesi *et al.* (2011) sugieren que las diferencias interindividuales en la capacidad de activar o desintoxicar sustancias genotóxicas y reparar el daño producido al ADN manifiestan susceptibilidad diferencial a la exposición de plaguicidas.

Los resultados reportados en la literatura acerca de la influencia de factores de variabilidad que pueden intervenir en el aumento o disminución de la frecuencia de MN y AN son poco concluyentes (Gajski *et al.* 2013).

En el grupo expuesto se notaron valores estadísticamente significativos: de células con MN en los niños a los que se les ha realizado un tratamiento con resina y/o amalgama, en el mes en que se obtuvieron las muestras. Rezende *et al.* (2011), sugieren que la combinación de iónomero de vidrio, óxido de cinc y eugenol con resina incrementa la frecuencia de MN y CB en células exfoliadas de los niños, en tanto que en el grupo control solo se reportó este tipo de tratamiento en un niño

En el grupo expuesto no se observaron diferencias significativas de MN o AN, la mayoría de los niños, aunque no acuden al dentista en forma regular, tienen una higiene apropiada sin el uso de enjuague bucal, mientras que en el grupo control, se observó diferencia significativa de CB en los niños con higiene dental deficiente, CL en los que no usan enjuague bucal y NL y TAN en los que no han asistido a consulta dental, estos hallazgos pueden explicarse considerando que los procesos inflamatorios de las encías por deficiente cuidado dental inducen el desarrollo de MN y AN (Bastos-Aires *et al.* 2013).

En el grupo control se observaron valores estadísticamente significativos de células con cariorrexis, que según Bolognesi *et al.* (2013), se deben a la exposición a genotóxicos desconocidos, acitotoxinas presentes en el ambiente, a la existencia de defectos genéticos capaces de inducir daño en el genoma y en la morfología celular.

El consumo de alimentos enlatados mostró valores significativos de células con CL en el grupo expuesto, esto puede deberse a que los envases de los alimentos y bebidas enlatadas tienen un revestimiento protector de plástico, que contiene Bisfenol-A (BPA), este es conocido como un disruptor endocrino (Xin *et al.* 2014). Tiwari *et al.* (2012) *in vivo* e *in vitro* en ratones, observaron que la exposición a BPA se asoció con un aumento significativo en la frecuencia de MN. Los niños del grupo control no presentaron CL ni otro tipo de AN debido al bajo consumo de estos productos.

El consumo de embutidos en ambos grupos no mostró diferencias significativas en la presencia de MN y AN. Se ha considerado que el uso generalizado de los conservadores en los alimentos causa graves problemas de salud. Goc *et al.* (2010) encontraron valores significativos de MN en médula ósea, de ratones sometidos a una dosis de 400 mg/kg de Devocil, que es utilizado en el procesamiento del queso y embutidos.

Bonassi *et al.* (2011) notaron una baja frecuencia de MN en los sujetos con una dieta diaria de frutas y verduras, el efecto antioxidante de estos alimentos se asocia a disminución de daño en el ADN. En los niños del grupo expuesto que consumen frutas y verduras de forma regular, y que son lavadas apropiadamente, no se detectó un aumento en la frecuencia de MN o AN, sin embargo, en los niños del grupo control se observaron valores significativos de PC, CR, TAN, estos resultados contradictorios pueden deberse a la presencia de plaguicidas en las frutas y verduras que no fueron lavadas correctamente. Mantovani *et al.* (2008) concluyen que la dieta es una vía de exposición a agroquímicos, ya que detectaron la presencia de más de un plaguicida en un 26.7% de sus muestras.

El consumo de café y café con leche a altos niveles (5 tazas o más) se ha relacionado con un aumento en el número de MN y AN (Castro *et al.* 2004), en el estudio los niños de ambos grupos consumen estos productos, sin detectarse una frecuencia alta de MN y AN.

En ambos grupos los niños consumen té aunque no especifican cual, solo los niños del grupo control mostraron evidencia de NL y TAN en una diferencia significativa, el té en cualquiera de sus variedades contiene catequinas, sustancias con actividad antioxidante, antiviral. Además, las catequinas del té verde suprimen la actividad genotóxica de diferentes agentes carcinógenos, disminuyendo la frecuencia de MN. (Ogura *et al.* 2008).

La elección y la cantidad en la ingesta de alimentos y suplementos tienen una fuerte influencia sobre la concentración celular de micronutrientes necesarios en la síntesis

y reparación del ADN, no obstante la aparición de MN también puede deberse al exceso o deficiencia nutricional (Fenech *et al.* 2011), en el grupo expuesto, solo dos niños cursaron con desnutrición, 29/63 se encontraron en el percentil más bajo al límite del peso notándose una relación entre el IMC y CB. Cervantes *et al.* (2014) en su estudio mencionan que los niños con desnutrición sufren daño al ADN. Mientras que en el grupo control se notó sobrepeso sin detectarse asociación con la frecuencia de MN y AN, a pesar de que Torres-Bugarín (2008), detectaron en personas obesas cifras significativas de MN.

Al comparar el consumo de pescado en ambos grupos, aunque es mayor en el grupo control, no se observó un incremento en la frecuencia de MN y AN en el grupo expuesto. Se ha reportado que los ácidos grasos omega-3 presentes en el pescado ejercen protección celular contra el daño citogenético (Pastor *et al.* 2001).

En las familias de los niños expuestos con historia familiar de cáncer, se detectaron MN, con valores estadísticamente significativos al contrastarlo con niños sin dichos antecedentes. Es posible que el cáncer en los familiares del grupo de los niños expuestos se relacione con un efecto acumulativo de los plaguicidas, o debido a cambios en los mecanismos epigenéticos presentes desde el desarrollo intrauterino por la exposición a plaguicidas. La desregulación epigenética da lugar a enfermedades que pueden manifestarse en la infancia, la vida adulta e incluso por herencia transgeracional como síndromes neurológicos y cáncer (Magnarelli *et al.* 2014, Coskun *et al.* 2011).

La historia ginecológica de las madres no reveló valores significativos, en la formación de MN y AN en los niños. Las mujeres embarazadas constituyen un grupo de alto riesgo ya que en los bebés la exposición se inicia desde la vida intrauterina, provocando abortos, amenaza de parto prematuro, muerte perinatal, (Magnarelli *et al.* 2014) y en la infancia alteraciones cognitivas y conductuales (Roberts *et al.* 2012), los plaguicidas atraviesan la placenta y son capaces de inducir alteraciones en el

desarrollo de las estructuras placentarias al alterar el sistema colinérgico placentario (Acosta-Maldonado *et al.* 2009).

Algunos de los niños que participaron en el estudio son fumadores pasivos, en el grupo expuesto se notó un aumento estadísticamente significativo en la frecuencia de MN. El hábito de fumar y la exposición a los componentes del humo del cigarro influyen en la frecuencia de daño citogenético (Jindal *et al.* 2013). El uso de tabaco y el contacto de plaguicidas aumenta la frecuencia de MN y AN (Ergene *et al.* 2007) aunque no siempre con diferencias significativas (Piperakis *et al.* 2006).

El papel de la edad y el género aún son inconsistentes en su influencia sobre la frecuencia de MN y AN (Gajsky *et al.* 2013). En ambos grupos no se presentaron diferencias significativas considerando estos factores.

CONCLUSIONES

Los resultados del estudio sugieren daño citogenético por exposición a plaguicidas y factores de variabilidad en los niños del grupo expuesto, a pesar de que el número de MN se encontró dentro de los parámetros normales, su frecuencia y las AN fueron mayores en el grupo expuesto, además de asociación de MN y de AN con algunos factores de variabilidad, debe ser investigada.

Se requieren estudios de biomonitoreo para evaluar el efecto de la exposición crónica a plaguicidas directa e indirecta, en las habilidades cognitivas y conductuales de los niños; en la prevalencia de alteraciones ginecológicas, en el desarrollo de cáncer. Y el análisis del papel de los factores de variabilidad identificado el tipo de plaguicida y mezclas utilizadas, mediante el uso de biomarcadores como el ensayo cometa, el análisis de los niveles de glucocorticoides, de los niveles de actividad de la enzima Paraxonasa 1.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

El estudio tienen un carácter exploratorio, la muestra no es lo suficientemente representativa para generalizar los resultados, los hallazgos sugieren la existencia de daño citogenético en los niños expuestos a plaguicidas, por lo que se considera la necesidad de ampliar la muestra, incluir niños con malformaciones, adolescentes, mujeres embarazadas y adultos de localidades agrícolas y floricultoras del Estado de México.

REFERENCIAS

- Acosta-Maldonado B., Sánchez-Ramírez B., Reza-López S. y Levario-Carrillo M. (2009). Effects of exposure to pesticides during pregnancy on placental maturity and weight of newborns: A cross-sectional pilot study in women from the Chihuahua State, Mexico. *Human and Experimental Toxicology* 28, 451-459.
- Antonio K. R. M., Blanco J. M., Escamilla M. C. N., Juárez C. A. P., y Shilman A. H. (2013). Predictores ocupacionales de las concentraciones de Dialquifosfatos (DAPs) en floricultores de Morelos y Estado de México. *Instituto Nacional de Salud Pública* 2-25.
- Bastos-Aires D., Azevedo A., Pereira M. L., Pérez-Mongiovi D. y Teixeira A. (2013). Preliminary study of micronuclei levels in oral exfoliated cells from patients with periodontitis. *Journal of Dental Sciences* 8, 200-204.
- Benedetti D., Nunes E., Sarmiento M., Porto C., Iochims S. C. E., Ferraz D. J. y Silva J. (2013). Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. *Mutation Research* 752, 28-33.
- Benitez L. S., Macchi M. L., Fernández V., Franco D., Ferro E., Mojoli A.,... Sales L. (2010). Daño celular en una población infantil potencialmente expuesta a pesticidas. *BASE investigaciones sociales* 131, 1-25.

- Bernardi N., Gentile N., Mañas F., Méndez A., Gorla N. y Aiassa D. (2015). Assessment of the level of damage to the genetic material of children exposed to pesticides in the province of Córdoba. *Arch. Argent. Pediatr.* 113,126-132.
- Bolognesi C., Creus A., Ostrosky-Wegman P., y Marcos R. (2011). Micronuclei and pesticide exposure. *Mutagenesis* 26, 19-26.
- Bolognesi C., Knasmuelles S., Nersesyan A., Thomas P. y Fenech M. (2013). The HUMNx scoring criteria for different cell types and nuclear anomalies in the buccal micronucleus cytome assay – An update and expanded photogallery. *Mutat. Res.* 753, 100-113.
- Bonassi S., Coskun E., Ceppi M., Lando C., Bolognesi C., Burgaz S. y Fenech M. (2011). The HUman Micronucleus Project on exfoliated buccal cells (HUMNXL): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutat. Res.* 728, 88-97.
- Bortoli M. G., Azevedo B. M. y Silva B. L. (2009). Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: Micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutat. Res.* 675, 1-4.
- Burns C. J., McIntosh L. J., Mink P. J., Jurek A. M. y Li A. A. (2013). Pesticide Exposure and Neurodevelopmental Outcomes: Review of the Epidemiologic and Animal Studies. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews* 16, 3-4.
- Castro R., Ramírez V. y Cuenca P. (2004). Micronúcleos y otras anomalías nucleares en el epitelio oral de mujeres expuestas y no expuestas ocupacionalmente a plaguicidas. *Rev. Biol. Trop* 52, 611-621.
- Ceballos G., List R., Garduño G., López C. R., Muñozcano Q. M. J., Collado E. y San R. J. E. (2009). *La diversidad biológica del Estado de México. Estudio de Estado. Primera Edición.*
- Cervantes R. E., Rodríguez C. I., Graniel G. J. y Ortiz M. A. R. (2014). Evaluación de la frecuencia y tipo de micronúcleos en niños con desnutrición moderada y grave. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 30, 23-35.

- Cifuentes E., Trasande L., Ramirez M. y Landrigan P. J. (2010). A qualitative analysis of environmental policy and children's health in Mexico. *Environmental Health* 9, 1-11.
- Coskun M., Cayir A. y Ozdemir O. (2011). Frequencies of micronuclei (MNi), nucleoplasmic bridges (NPBs), and nuclear buds (NBUDs) in farmer exposed to pesticides in Canakkale, Turkey. *Environmental International* 37, 93-96.
- Costa C., Silva S., Coelho P., Roma-Torres J., Teixeira J. P. y Mayan O. (2007). Micronucleus analysis in a Portuguese population exposed to pesticides: Preliminary survey. *Int. J. Hyg. Environ.-Health* 210, 415–418.
- Ding G. y Tian Y. (2013). Organophosphate pesticide exposure and child health in China. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 2117-8.
- Ergene S., Çelik A., Çavaş T. y Kaya F. (2007). Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ. Int.* 33, 877–885.
- Fenech M. y Bonassi S. (2011). The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis* 26, 43-49.
- Gajski G., Geric M, Orescanin V. y Garaj-Vrhovac V. (2013). Cytogenetic status of healthy Children assessed with the alkaline comet assay and the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Mutation Research* 750, 55-62.
- Gebara A. B., Ciscato C. H. P., Monteiro S. H. y Souza G. S. (2011). Pesticide residues in some commodities: dietary risk for Children. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 86, 506-510.
- Goc R. P. y Kaymak F. (2010). Chromosome aberrations, micronucleus and sperm head abnormalities in mice treated with Delvocid, a food preservative. *Food and Chemical Toxicology* 48, 789–797
- Gómez-Arroyo S., Martínez-Valenzuela C., Calvo-González S., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S. M., Calderon-Segura M. E.,...Lagarda-Escarrega A. (2013). Assessing the genotoxic risk for mexican children who are in residential proximity

to agricultural areas with intense aerial pesticide applications. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 29, 217-225.

- Holland N., Bolognesi C., Kirsch-Volders M., Bonassi S., Zeiger E., Knasmueller S. y Fenech M. (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, 93-108.
- INEGI (2010). Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos Villa Guerrero, México. 01/06/2015.
- Jindal S., Chauhan I. y Kaur H. G. (2013). Alteration in buccal mucosal cells due to the effect of tobacco and alcohol by assessing the silver-stained nucleolar organizer regions and micronuclei. *J. Cytol.* 30, 174-178.
- Jyoti S., Khan S., Afzal M., Naz F., y Siddique Y. H. (2013). Evaluation of micronucleus frequency by acridine orange fluorescent staining in buccal epithelial cells of oral submucous fibrosis (OSMF) patients. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 14, 189–193.
- Lidén C. (2011). Pesticides. En J.D. Johansen et al. (eds.), *Contact Dermatitis* 927-936.
- London L., Beseler Ch., Bouchard M. F., y Bellinger D. (2012). Neurobehavioral and neurodevelopmental effects of pesticide exposures. *NeuroToxicology* 33, 887-896.
- Lucero L., Pastor S., Durbán R., Gómez C., Parrón T., Creus A. y Marcos R. (2000). Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouse workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutation Research* 464, 255-262.
- Magnarelli G., Guinazu N. y Rovedatti M. G. (2014). Exposición ambiental a plaguicidas en la vida intrauterina: mecanismos toxicológicos involucrados en los efectos a corto y largo plazo. *CIENCIA E INVESTIGACIÓN* 64, 23-38
- Mantovani A., Maranghi F., La C. R., Tiboni G. M., Clementi M. (2008). The role of toxicology to characterize biomarkers for agrochemicals with potential endocrine activities. *Reproductive Toxicology* 26, 1–7

- Martínez C. V. y Gómez S. A. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 23, 1-25.
- Martínez-Valenzuela C., Gómez-Arroyo S., Villalobos-Pietrini R., Waliszewski S., Calderón-Segura M. E., Félix-Gastélum R. y Álvarez-Torres A. (2009). Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. *Environmental International* 35, 1155-1159.
- Martínez-Valenzuela M. C. (2009). Evaluación del daño genotóxico en personas ocupacionalmente expuestas a plaguicidas en las Grullas, municipio de Ahome, Sinaloa. Tesis Doctoral.
- Moore A., y Enquobahrie D. A. (2011). Paternal occupational exposure to pesticides and risk of neuroblastoma among Children: a meta-analysis. *Cancer Causes Control* 22, 1529-1536.
- Ogura R. Ikeda N. Yuki K. Morita O. Saigo K. Blackstock C. Nishiyama N. Kasamatsu T. (2008). Genotoxicity studies on green tea catechin. *Food and Chemical Toxicology* 46, 2190–2200.
- Pastor B. S. (2002). Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a plaguicidas mediante el ensayo de micronúcleos. Tesis Doctoral.
- Pastor S., Gutiérrez S., Creus A., Cebuska-Wasilewska A. y Marcos R. (2001). Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 495, 147–156.
- Pesticide Exposure in Children. (2012). Council on Environmental Health. *Pediatrics*, E1757.
- Piperakis S. M., Kontogianni K., Piperakis M. M., Marcos R. y Tsilimigaki S. (2006). Effects of pesticides on occupationally exposed humans. *TheScientificWorldJOURNAL* 6, 1211-1220.
- Prieto G. F., Cortés A. S. Y., Gaytan O. J. C., Ceruelo H. A. y Vazquez A. P. (2012). Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *J. Res. Environ. Sci. Toxicol.* 11, 279-293.

- Remor A. P., Caprini T. C., Alves M. D., Pimentel D. G., Dahlström H. V., Marlei B. J. (2009). Occupational exposure of farm workers to pesticides: Biochemical parameters and evaluation of genotoxicity. *Environ. Int.* 35, 273-278.
- Rezende E. F., Mendes-Costa M. C., Campideli F. J. y Oliveira R. A. (2011). Nuclear anomalies in the buccal cells of children under dental treatment. *RSBO* 8, 182-8.
- Roberts R. J., y Karr C. J. (2012). Pesticide exposure in children. *Pediatrics* 130, e1765-e1788.
- Ros-Llor I., y Lopez-Jornet P. (2014). Cytogenetic analysis of oral mucosa cells, induced by chlorhexidine, essential oils in ethanolic solution and triclosan mouthwashes. *Environmental Research* 132, 140-145.
- Scarpato R., Migliore L., Angotzi G., Fedi A., Miligi L. y Loprieno N. (1996). Cytogenetic monitoring of a group of Italian floriculturists: no evidence of DNA damage related to pesticide exposure. *Mutation Research* 367, 73-82
- SENER (2007). Anuario estadístico de la industria petroquímica. Secretaría de Energía. México, D.F. pp.289.
- SIAP (2012). La floricultura en México. Estadísticas del Sector Agroalimentario y Pesquero. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. *DISEMINA* No. 89.
- Thomas P., Harvey S., Gruner T. y Fenech M. (2008). The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutation Research* 638, 37-47.
- Tiwari D., Kamble J., Chilgunde S., Patil P., Maru G., Kawle D.,...Vanage G. (2012). Clastogenic and mutagenic effects of bisphenol A: An endocrine disruptor. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 743, 83-90.
- Torres-Bugarín O. y Torres M. B. M. G. (2008). Genotoxicidad asociada al índice de masa corporal, evaluada por medio de la prueba de micronúcleos en mucosa bucal. *Avances en la Investigación Científica en el CUCBA*. ISBN 978-607-00-2083-4

- Torres-Bugarín O. y Ramos-Ibarra M. L. (2013). Utility micronucleus test and nuclear abnormalities in exfoliated cells of oral mucosa in the evaluation of genotoxic and cytotoxic damage. *Int. J. Morphol.* 31, 650-657.
- Torres-Bugarín O., Zavala-Cerna M. G., Nava A., Flores-García A. y Ramos-Ibarra M. L. (2014). Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Disease Markers* 13 pages.
- USEPA (2010). Types of Pesticides, United States Environmental Protection Agency [en línea] <http://www.epa.gov/pesticides/about/types.htm>. 30/05/2014
- Vida P. y Moretto A. (2007). Pesticide exposure pathways among children of agricultural workers. *Public. Health* 15, 289–299.
- Weichenthal M., Roser M., Ehlert U., Frenzer S., Breitbart E. y Riidiger H.W. (1989). Increased numbers of spontaneous micronuclei in blood lymphocytes and cultures fibroblasts of individuals with familial cutaneous malignant melanoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 115, 26z1~268
- WHO (2006). Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. *Environmental Health Criteria* 237. International Program of Chemical Safety. World Health Organization.
- Xin F., Jian L., Liu X., Geng Ch., Wang W., Zhong L.,... Chen M. (2014). Bisphenol A induces oxidative stress-associated DNA damage in INS-1 cells. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 769, 29.33.

CUADROS

CUADRO I. MICRONÚCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES EN CÉLULAS DE MUCOSA BUCAL DE NIÑOS EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS

Variables	Niños expuestos	Niños no expuestos	Significancia
	n = 63	n = 63	
Micronúcleo	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.7	0.4
Célula Binucleada	3.1 ± 2.6	1.7 ± 1.8	0.002*
Núcleo Lobulado	17.7 ± 14.5	16.6 ± 9.3	0.5
Picnosis	9.3 ± 6.7	9.2 ± 6.2	0.9
Cromatina Condensada	7.8 ± 9.9	5.2 ± 6.2	0.1
Cariorexix	1.1 ± 1.8	2.2 ± 2.6	0.006*
Cariolisis	11.2 ± 10.4	12.5 ± 11.9	0.5
TAN	50.4 ± 28.0	47.6 ± 21.0	0.8

Total de Anormalidades Nucleares (TAN)
 Los datos están expresados en M ± DE
 *U de Mann-Whitney

CUADRO II. FACTORES DE VARIABILIDAD INFLUYENTES EN LA FORMACIÓN DE MICRÓNÚCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES DEL GRUPO EXPUESTO

	Factores de Variabilidad	Significancia								
		MN	BN	NL	PC	CC	CL	CR	TAN	
	Edad	8.4 ± 1.8	0.2†	0.6†	0.8†	0.5†	0.1†	0.2†	0.2†	0.2†
	IMC	16.5 ± 1.8	0.4†	0.01†	0.8†	0.8†	0.9†	0.7†	0.2†	0.7†
	Género	♀	0.3 ± 0.5	3.3 ± 2.2	15.3 ± 12.0	9.1 ± 5.9	6.6 ± 7.4	1.1 ± 2.1	11.0 ± 8.3	46.7 ± 21.0
		♂	0.9*	0.2*	0.4*	0.8*	0.6*	0.5*	0.5*	0.6*
	Uso de cepillo dental	Si	0.3 ± 0.5	2.9 ± 2.9	19.3 ± 16.1	9.4 ± 7.3	8.7 ± 11.4	1.1 ± 1.6	11.3 ± 11.8	53.0 ± 32.1
		No	0.3*	0.4*	0.9*	0.7*	0.7*	0.4*	0.1*	0.3*
	Consulta dental	Si	0.4 ± 0.5	3.5 ± 2.5	18.0 ± 15.7	9.4 ± 5.9	9.1 ± 12.4	2.1 ± 2.8	16.8 ± 13.5	59.2 ± 38.6
		No	0.6 ± 0.5	2.6 ± 2.5	9.6 ± 3.7	3.3 ± 3.2	4.3 ± 2.0	0.3 ± 0.5	20.0 ± 19.6	40.3 ± 18.1
	Tratamiento dental	Si	0.2*	0.8*	0.4*	0.09*	0.8*	0.4*	0.3*	0.6*
		No	0.3 ± 0.5	3.1 ± 2.6	18.1 ± 14.8	9.6 ± 6.7	8.0 ± 10.1	1.2 ± 1.9	10.8 ± 9.9	50.9 ± 28.4
	Enlatados	Si	1.0 ± 0.0	2.5 ± 3.5	7.5 ± 0.7	1.5 ± 0.7	4.0 ± 2.8	0.5 ± 0.7	21.5 ± 27.5	37.5 ± 24.7
		Ninguno	0.04*	0.6*	0.2*	0.08*	0.7*	0.8*	0.6*	0.5*
	Embutidos	Si	0.3 ± 0.5	3.1 ± 2.6	18.0 ± 14.7	9.5 ± 6.7	8.0 ± 10.0	1.2 ± 1.8	10.9 ± 9.8	50.8 ± 28.2
		No	0.2 ± 0.4	2.2 ± 2.3	12.2 ± 8.7	9.4 ± 4.9	4.6 ± 3.2	3.2 ± 2.8	12.2 ± 10.4	43.8 ± 13.4
	Frutas y verduras	Si	0.5*	0.3*	0.5*	0.8*	0.8*	0.03*	0.8*	0.7*
		No	0.3 ± 0.5	3.1 ± 2.6	18.1 ± 14.9	9.2 ± 6.9	8.1 ± 10.3	1.0 ± 1.6	11.1 ± 10.5	51.0 ± 28.9
	Pescado	Si	0.4 ± 0.8	4.0 ± 3.2	18.5 ± 15.2	10.4 ± 6.1	9.3 ± 13.8	1.2 ± 1.9	9.4 ± 9.9	53.1 ± 39.0
		No	0.9*	0.2*	0.7*	0.3*	0.6*	0.9*	0.4*	0.9*
	Té	Si	0.3 ± 0.5	2.9 ± 2.4	17.5 ± 14.6	9.0 ± 6.9	7.5 ± 9.0	1.1 ± 1.8	11.6 ± 10.6	49.8 ± 25.6
		No	0.7*	0.5*	0.6*	0.2*	0.3*	0.7*	0.4*	0.3*
	Café	Si	0.1 ± 0.3	2.8 ± 2.4	23.0 ± 15.4	8.2 ± 6.7	6.0 ± 7.9	0.9 ± 1.3	9.4 ± 5.5	50.3 ± 22.2
		No	0.1*	0.7*	0.2*	0.5*	0.4*	0.7*	0.9*	0.7*
	Café con leche	Si	0.4 ± 0.5	3.1 ± 2.6	16.7 ± 14.3	9.5 ± 6.8	8.2 ± 10.3	1.2 ± 1.9	11.6 ± 11.1	50.4 ± 29.2
		No	0.2 ± 0.5	2.7 ± 2.5	19.5 ± 13.1	9.5 ± 5.8	6.1 ± 7.0	1.2 ± 2.1	9.1 ± 7.6	48.3 ± 22.2
	Lavado de frutas y verduras	Si	0.5 ± 0.7	3.2 ± 2.5	18.5 ± 15.9	8.9 ± 6.5	8.0 ± 12.1	1.1 ± 2.1	10.3 ± 10.1	50.3 ± 34.7
		No	0.07*	0.6*	0.7*	0.8*	0.3*	0.4*	0.3*	0.4*
	Antecedentes heredo-familiares de cáncer	Si	0.2 ± 0.4	3.0 ± 2.7	17.0 ± 13.7	9.5 ± 6.9	7.7 ± 7.9	1.1 ± 1.6	11.9 ± 10.8	50.5 ± 22.2
		No	0.3 ± 0.4	3.0 ± 2.4	22.1 ± 16.8	10.4 ± 7.7	10.4 ± 11.8	0.7 ± 1.3	8.6 ± 7.7	55.5 ± 29.1
	Problemas de nacimiento	Si	0.9*	0.9*	0.1*	0.4*	0.08*	0.4*	0.3*	0.3*
		No	0.3 ± 0.6	3.1 ± 2.7	15.8 ± 13.2	8.8 ± 6.3	6.7 ± 8.9	1.3 ± 2.0	12.3 ± 11.3	48.2 ± 27.6
	Consumo de vitaminas	Si	0.3 ± 0.5	3.3 ± 2.8	15.7 ± 12.9	9.0 ± 7.1	7.5 ± 10.2	1.1 ± 1.6	10.3 ± 9.0	47.2 ± 25.9
		No	0.2 ± 0.5	2.5 ± 1.9	22.1 ± 17.3	9.8 ± 5.7	8.6 ± 9.5	1.2 ± 2.4	13.3 ± 13.2	57.8 ± 31.8
	Fumador pasivo	Si	0.6 ± 0.6	2.1 ± 1.5	12.1 ± 9.7	6.3 ± 5.5	7.7 ± 7.7	1.5 ± 2.6	13.7 ± 13.3	43.7 ± 21.4
		No	0.05*	0.3*	0.2*	0.1*	0.7*	0.8*	0.7*	0.3*
	Consumo de vitaminas	Si	0.2 ± 0.5	3.3 ± 2.7	18.8 ± 15.2	9.9 ± 6.8	7.9 ± 10.4	1.1 ± 1.6	10.7 ± 9.8	51.8 ± 29.2
		No	0.3 ± 0.4	2.9 ± 2.4	21.2 ± 18.4	9.8 ± 6.6	10.4 ± 12.7	0.8 ± 1.4	11.4 ± 7.5	56.7 ± 28.7
	Fumador pasivo	Si	0.8*	0.8*	0.4*	0.6*	0.2*	0.3*	0.3*	0.2*
		No	0.3 ± 0.6	3.1 ± 2.7	16.5 ± 13.2	9.1 ± 6.8	7.0 ± 8.9	1.2 ± 1.9	11.2 ± 11.3	48.4 ± 27.8
	Lavado de frutas y verduras	Si	0.0 ± 0.0	4.6 ± 6.4	18.0 ± 28.6	3.3 ± 3.0	17.0 ± 29.4	1.6 ± 1.5	5.0 ± 4.3	49.6 ± 60.0
		No	0.2*	0.9*	0.4*	0.07*	0.4*	0.3*	0.2*	0.3*
	Antecedentes heredo-familiares de cáncer	Si	0.3 ± 0.5	3.0 ± 2.4	17.6 ± 14.0	9.6 ± 6.7	7.4 ± 8.4	1.1 ± 1.8	11.5 ± 10.6	50.4 ± 26.5
		No	0.5 ± 0.7	2.8 ± 2.5	15.5 ± 13.3	9.0 ± 6.6	7.7 ± 10.6	1.4 ± 2.1	13.4 ± 11.2	50.0 ± 29.5
	Consumo de vitaminas	Si	0.05*	0.4*	0.3*	0.7*	0.4*	0.5*	0.1*	0.7*
		No	0.2 ± 0.4	3.3 ± 2.7	19.1 ± 15.4	9.5 ± 6.9	8.0 ± 9.5	0.9 ± 1.6	9.7 ± 9.7	50.7 ± 27.3

Valores expresados en M ± DE; † Correlación de Spearman; *U de Mann-Whitney
Índice de Masa Corporal (IMC)
Micronúcleos (MN); Binucleada (BN); Núcleo Lobulado (NL); Pcinosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorexix (CR); Cariolisis (CL); Total de Anormalidades Nucleares (TAN)

CUADRO III. FACTORES DE VARIABILIDAD INFLUYENTES EN LA FORMACIÓN DE MICRONÚCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES DEL GRUPO NO EXPUESTO

Factores de variabilidad		Significancia								
		MN	BN	NL	PC	CC	CR	CL	TAN	
Edad		9.5±2.0	+0.9	+0.06	+0.1	+0.6	+0.8	+0.5	+0.7	+0.5
IMC		17.9±2.2	+0.5	+0.2	+0.09	+0.9	+0.8	+0.9	+0.5	+0.1
Género	U		0.5±0.8	2.0±1.9	16.2±9.8	9.8±7.1	4.5±5.3	2.1±2.6	11.6±11.2	46.6±20.2
	p		0.64	0.08	0.60	0.48	0.52	0.76	0.63	0.81
Uso de cepillo dental	Si		0.4±0.6	1.3±1.5	17.1±8.9	8.3±4.5	6.1±7.3	2.3±2.7	13.6±12.8	48.8±22.3
	p		0.5±0.7	1.6±1.7	16.5±9.6	9.1±6.3	5.3±6.3	2.2±2.7	12.8±12.0	47.8±21.5
Uso de enjuague bucal	No		0.0±0.0	4.0±2.0	17.6±2.0	11.3±2.5	3.0±3.0	0.6±1.1	5.3±4.5	44.0±6.9
	p		0.5±0.8	2.1±1.8	13.5±7.9	9.1±5.6	6.3±6.0	2.4±3.0	8.6±8.0	42.5±18.7
Alcohol en enjuague bucal	Si		0.9*	0.1*	0.06*	0.6*	0.09*	0.8	0.05*	0.2*
	p		0.4±0.7	1.5±1.8	18.2±9.7	9.2±6.5	4.6±6.3	2.1±2.4	14.5±13.1	50.3±21.8
Consulta dental	No		0.0±0.0	0.5±0.7	10.5±12.0	4.5±6.3	7.0±9.8	2.0±1.4	4.5±2.1	29.0±31.1
	p		0.2*	0.2*	0.3*	0.3*	0.9*	0.6*	0.2*	0.3*
Tratamiento dental	Si		0.4±0.7	1.7±1.8	16.8±9.3	9.3±6.1	5.1±6.2	2.2±2.7	12.7±12.0	48.2±20.7
	p		0.7±0.5	3.0±1.6	5.5±3.6	5.7±6.7	4.2±7.8	1.7±2.8	6.0±5.7	26.2±23.4
Enlatados	No		0.17	0.09	0.01*	0.30	0.26	0.53	0.17	0.05*
	p		0.4±0.7	1.6±1.8	17.3±9.1	9.4±6.1	5.2±6.2	2.2±2.6	12.9±12.1	49.0±20.2
Embutidos	Si		1.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	0.0±0.0	1.0±0.0	0.0±0.0	1.0±0.0	8.0±0.0
	p		0.25	0.31	0.13	0.09	0.43	0.22	0.11	0.09
Frutas y verduras	No		0.4±0.7	1.7±1.8	16.8±9.3	9.3±6.1	5.2±6.3	2.2±2.6	12.6±11.9	48.2±20.5
	p		0.0±0.0	0.3±0.5	11.0±10.8	6.6±6.1	5.0±8.6	2.3±2.3	5.3±4.9	30.6±31.1
Pescado	Si		0.5±0.7	1.8±1.8	16.8±9.3	9.3±6.2	5.2±6.2	2.2±2.7	12.8±12.0	48.4±20.4
	p		0.7±1.0	1.6±1.8	16.4±10.1	8.5±5.9	3.5±3.9	2.8±3.1	12.3±15.4	45.6±20.3
Carne	No		0.28	0.64	0.88	0.58	0.35	0.22	0.20	0.70
	p		0.3±0.5	1.8±1.8	16.6±9.1	9.5±6.3	5.9±6.9	1.9±2.4	12.5±10.2	48.4±21.4
Té	Si		0.5±0.7	1.7±1.7	17.0±9.3	9.6±6.1	5.4±6.4	2.3±2.7	13.1±12.1	49.3±20.4
	p		0.39	0.66	0.16	0.05*	0.43	0.05*	0.07	0.05
Café	No		0.2±0.4	2.2±2.3	11.4±8.6	4.2±4.2	2.6±2.7	0.4±0.5	5.6±5.9	27.6±18.8
	p		0.5±0.8	1.7±2.0	18.6±10.7	9.2±7.2	5.5±6.5	2.0±1.8	14.6±12.7	51.8±21.0
Café con leche	Si		0.4±0.6	1.7±1.6	15.1±8.1	9.2±5.4	5.0±6.1	2.3±3.1	11.0±11.2	44.6±20.7
	p		0.4±0.7	1.7±1.8	16.7±9.3	9.2±6.2	5.0±6.1	2.1±2.6	12.4±12.0	47.4±21.1
Vitaminas	No		1.0±0.0	3.0±0.0	7.0±0.0	10.0±0.0	16.0±0.0	6.0±0.0	14.0±0.0	56.0±0.0
	p		0.5±0.8	1.6±1.9	18.3±9.6	9.4±7.2	5.2±6.3	2.4±2.9	14.2±13.0	51.4±22.1
Lavado de frutas y verduras	Si		0.17	0.32	0.04*	0.53	0.65	0.68	0.09	0.03*
	p		0.3±0.5	1.9±1.6	13.5±8.2	8.9±3.8	5.1±6.2	1.7±2.0	9.4±9.1	41.0±17.4
Antecedentes familiares de cáncer	Si		0.5±0.7	1.4±1.7	18.3±9.8	9.4±6.8	5.1±6.3	2.0±2.4	14.5±12.6	50.9±18.9
	p		0.32	0.11	0.15	0.87	0.94	0.64	0.07	0.09
Problemas de nacimiento	No		0.4±0.7	2.0±1.8	14.6±8.5	9.0±5.5	5.3±6.3	2.4±2.9	10.2±10.7	43.9±22.8
	p		0.5±0.8	1.9±2.3	18.2±9.9	9.2±7.0	5.6±6.8	1.9±2.4	13.2±12.9	50.6±20.3
Fumador pasivo	Si		0.91	0.61	0.26	0.59	0.61	0.58	0.71	0.12
	p		0.4±0.6	1.5±1.1	14.9±8.6	9.1±5.3	4.7±5.7	2.4±2.9	11.7±11.0	44.7±21.6
Fumador activo	Si		0.6±0.5	0.8±0.8	11.6±7.5	10.2±2.6	1.8±2.3	1.6±1.1	17.6±15.7	43.6±22.5
	p		0.4±0.7	1.8±1.8	17.0±9.4	9.1±6.4	5.5±6.4	2.2±2.7	12.0±11.6	47.9±21.0
Fumador pasivo	Agua y jabón		0.5±0.7	1.8±1.8	17.5±9.4	9.5±6.3	4.8±6.1	2.2±2.8	13.5±12.7	49.7±21.4
	p		0.74	0.42	0.13	0.37	0.44	0.92	0.26	0.22
Fumador pasivo	Agua		0.4±0.6	1.4±1.7	13.4±8.8	8.2±5.7	6.4±6.7	1.9±2.1	9.3±8.4	40.8±18.8
	p		0.6±0.8	0.8±1.6	22.1±14.1	7.3±4.8	7.5±8.8	3.1±4.4	12.5±10.6	53.5±20.7
Fumador pasivo	Si		0.43	0.10	0.34	0.27	0.30	0.98	0.86	0.38
	p		0.4±0.7	1.8±1.8	16.0±8.7	9.4±6.3	4.9±5.9	2.1±2.4	12.5±12.1	47.0±21.1
Fumador pasivo	No		0.6±0.9	2.1±2.0	16.2±10.9	10.0±7.0	5.0±6.2	1.5±1.6	14.0±14.8	49.1±17.7
	p		0.52	0.41	0.79	0.59	0.74	0.47	0.68	0.81
Fumador pasivo	Si		0.4±0.6	1.6±1.7	16.6±9.1	9.0±6.0	5.2±6.3	2.3±2.8	12.1±11.2	47.2±21.8
	p		0.4±0.6	1.4±1.8	16.6±7.1	9.2±3.1	6.2±6.7	2.4±3.1	15.9±14.9	52.3±22.6
Fumador pasivo	No		0.74	0.34	0.93	0.40	0.42	0.93	0.45	0.47
	p		0.5±0.7	1.8±1.8	16.5±10.0	9.2±6.9	4.9±6.1	2.1±2.5	11.4±10.7	46.1±20.5

Valores expresados en M±DE; *Correlación de Spearman; *U de Mann-Whitney

Índice de Masa Corporal (IMC)

Micronúcleos (MN); Núcleo Lobulado (NL); Picnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorrexis (CR); Cariolisis (CL); Total de Alteraciones Nucleares (TAN)

1. Descripción General de Resultados

*** Características de las poblaciones**

Los niños de las poblaciones de San José Villa Guerrero (8.4 ± 1.8) y Mexicaltzingo (9.5 ± 2.0) tienen una distribución de edad similar, la proporción de sexos (F/M) fue del 26/37 en el grupo expuesto y 36/27 en el grupo no expuesto. El Índice de Masa Corporal en el grupo expuesto fue de 16.5 ± 1.8 , cuatro niños de este grupo mostraron desnutrición; el IMC en el grupo no expuesto fue de 17.9 ± 2.2 y dos niños presentaron sobrepeso (Tabla 5).

*** Características de la exposición**

La mayoría de los padres 58/63 y madres 7/63 de los niños expuestos laboran en la floricultura, sus domicilios de 58/63 de los niños expuestos se encuentran a rango menor de 100 metros de distancia de un invernadero (Tabla 7)

Los niños del grupo expuesto participan en diversas actividades (43/63) como desbotonamiento, acarreo y empaquetamiento de la flor y limpieza del invernadero, de estos 37/43 realizan dicho trabajo de dos a tres veces por semana en los invernaderos, 6/43 realizan estas actividades una vez al mes, ningún niño indicó colaborar en la aplicación de plaguicidas (Tabla 8).

Niños y padres expuestos no suelen bañarse después de sus actividades (14/63), la ropa usada en el invernadero la colocan dentro de su casa (21/63), y se lava con la del resto de la familia (12/63) (Tabla 9).

*** Análisis de micronúcleos y anormalidades nucleares entre el grupo expuesto y no expuesto**

La población infantil expuesta a plaguicidas presentó mayor frecuencia de células BN ($p=0.002$) con relación a los controles, la diferencia fue significativa. En el grupo control se observó diferencia significativa en el número de células con CR ($p=0.006$) en comparación con el grupo expuesto (Tabla 6).

Los niños expuestos a plaguicidas mostraron baja frecuencia de MN, las células con NL, CC y el TAN se presentaron en mayor proporción en el grupo expuesto, en tanto que la frecuencia de células con CL se mostró más alta en el grupo control, sin embargo, no se observaron diferencias significativas (Tabla 6).

*** Análisis de micronúcleos y anormalidades nucleares en relación a la exposición**

Los niños de padres dedicados a la floricultura, presentaron diferencias significativas en la frecuencia de células con CL ($p=0.05$) y en el TAN ($p=0.04$). Los niños de madres dedicadas al hogar mostraron valores significativos en las células con CL ($p=0.02$). Los niños que viven cerca de un invernadero y realizan actividades tres veces por semana dentro del mismo no mostraron valores significativos en oposición con los niños que realizan actividades una vez al mes en el invernadero quienes presentaron diferencias significativas en el TAN ($p=0.001$) (Tabla 7 y 8).

Los niños que no suelen bañarse después de sus actividades, colocan la ropa usada en el invernadero dentro de su casa y su ropa se lava con la del resto de la familia no mostraron cifras significativas de MN y AN (Tabla 9).

*** Factores de variabilidad del grupo expuesto**

El 52% de los niños utilizaron cepillo y pasta dental, ninguno indicó uso de enjuague bucal, el 4.8% asistió a consulta dental, de estos niños el 3.2% recibieron como tratamiento dental obturaciones con amalgama o resina (Tabla 5).

El consumo de alimentos enlatados y embutidos fue bajo (7.9/17.5%), así como el consumo de pescado (15.9%), el consumo de frutas y verduras fue del 82% y 69.8% el lavado de estas se realizó con agua y jabón, únicamente el 30.2% se lavo con agua. El consumo de carne fue del 100%, té 71.4% y café 42.9%, se manifestó bajo consumo de vitaminas (4.8%) (Tabla 5).

El 17.5% de las madres de los niños entrevistadas refirieron tener familiares con cáncer, el 23.8% manifestaron antecedentes de problemas durante el nacimiento y/o embarazo (Tabla 5).

El 41.3% de los niños de la comunidad de San José, son fumadores pasivos (Tabla 5).

*** Formación de micronúcleos y anormalidades nucleares respecto a los factores de variabilidad, grupo expuesto**

El IMC en los niños del grupo expuesto mostró valores significativos de células BN ($p=0.01$), así como aquellos con tratamiento dental con resina y/o amalgama ($p=0.04$) (Tabla 10).

En los niños que consumieron alimentos enlatados se observaron valores significativos en la frecuencia de CL ($p=0.03$) (Tabla 10).

Los niños de madres que refirieron antecedentes familiares con cáncer mostraron diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia de MN ($p=0.05$) y los fumadores pasivos ($p=0.05$) (Tabla 10).

Las variables edad, género, consumo de vitaminas, problemas de nacimiento y otros hábitos alimenticios no mostraron diferencias significativas (Tabla 10).

*** Factores de variabilidad del grupo no expuesto**

El 95.2% de los niños de este grupo utilizó cepillo y pasta dental, 34.9% enjuague bucal, de los cuales 3.2% reportaron contenido de alcohol de este auxiliar dental. La asistencia a consulta dental (6.3%) fue mínima y el 1.6% de los niños reportaron como tratamiento dental, obturación con amalgama o resina (Tabla 5).

Los niños reportaron bajo consumo de alimentos enlatados (4.8%), el 30.2% reportaron consumir embutidos y un alto porcentaje refirieron el consumo de frutas y verduras (98.4%) y carne (98.4%). Aproximadamente el 50% de los niños consumieron café y/o café con leche, mientras el 63.5% consumieron té, y el 23.8% de los niños son fumadores pasivos (Tabla 5).

El 9.5% de las madres de los niños entrevistadas refirieron tener familiares con cáncer y 19% problemas durante el nacimiento y/o embarazo (Tabla 5).

*** Formación de micronúcleos y anomalías nucleares respecto a los factores de variabilidad, grupo no expuesto**

En el grupo no expuesto, se observaron valores significativos de células BN ($p=0.04$) relacionados con el uso del cepillo dental, células con CL ($p=0.05$) por uso de enjuague bucal y células con NL ($p=0.01$), así como TAN ($p=0.05$) por tratamiento dental (Tabla 11).

El consumo de frutas y verduras mostró diferencias significativas de PC ($p=0.05$), CR ($p=0.05$) y TAN ($p=0.05$), mientras que en el consumo de té se observaron valores significativos de NL ($p=0.04$) y TAN ($p=0.03$) (Tabla 11).

Las variables edad, género, consumo de vitaminas, problemas de nacimiento y otros hábitos alimenticios no mostraron diferencias significativas (Tabla 11), en la Figura 13 se muestra fotografías de MN y AN tomadas durante el análisis de las muestras.

IX. TABLAS Y FIGURAS

Tabla 5. Características de las poblaciones

Variables			Expuestos n = 63 (%)	No expuestos n = 63 (%)
Edad			8.4 ± 1.8 (6-11)*	9.5 ± 2.0 (6-12)*
IMC			16.5 ± 1.8*	17.9 ± 2.2*
Sexo	♀		26 (41.3)	36 (57.1)
	♂		37 (58.7)	27 (42.9)
Hábitos higiénico-dentales (último mes)	Uso de cepillo y pasta dental	Si	52 (82.5)	60 (95.2)
		No	11 (17.5)	3 (4.8)
	Uso de enjuague bucal	Si	0 (0)	22 (34.9)
		No	63 (100)	41 (65.1)
	Alcohol en enjuague bucal	Si	0 (0)	2 (3.2)
		No	63 (100)	61 (96.8)
	Consulta dental	Si	3 (4.8)	4 (6.3)
		No	60 (95.2)	59 (93.7)
Tratamiento dental	Si	2 (3.2)	1 (1.6)	
	No	61 (96.8)	62 (98.4)	
Hábitos alimenticios (durante la semana)	Enlatados	Si	5 (7.9)	3 (4.8)
		No	58 (92.1)	60 (95.2)
	Embutidos	Si	11 (17.5)	19 (30.2)
		No	52 (82.5)	44 (69.8)
	Frutas y verduras	Si	51 (82)	62 (98.4)
		No	12 (19)	1 (1.6)
	Lavado de frutas y verduras	Agua y jabón	44 (69.8)	48 (76.2)
		Agua	19 (30.2)	15 (23.8)
	Pescado	Si	10 (15.9)	26 (41.3)
		No	53 (84.1)	37 (58.7)
	Carne	Si	63 (100)	62 (98.4)
		No	0 (0)	1 (1.6)
	Té	Si	45 (71.4)	40 (63.5)
		No	18 (28.6)	23 (36.5)
Café	Si	27 (42.9)	33 (52.4)	
	No	36 (57.1)	30 (47.6)	
Café con leche	Si	19 (30.2)	31 (49.2)	
	No	44 (69.8)	32 (50.8)	
Vitaminas	Si	3 (4.8)	5 (7.9)	
	No	60 (95.2)	58 (92.1)	
Antecedentes familiares de cáncer	Si	11 (17.5)	6 (9.5)	
	No	52 (82.5)	57 (90.5)	
Problemas de nacimiento	Si	15 (23.8)	12 (19)	
	No	48 (76.2)	51 (81)	
Fumador pasivo	Si	26 (41.3)	15 (23.8)	
	No	37 (58.7)	48 (76.2)	

*Datos expresado en Media ± Desviación Estándar (IMC) Índice de Masa Corporal

Tabla 6. Micronúcleos y anomalías nucleares en células de mucosa bucal de niños expuestos y no expuestos a plaguicidas

Variables	Niños expuestos n = 63	Niños no expuestos n = 63	Significancia
Micronúcleos	0.3 ± 0.5	0.4 ± 0.7	0.4
Células Binucleadas	3.1 ± 2.6	1.7 ± 1.8	0.002*
Núcleos Lobulados	17.7 ± 14.5	16.6 ± 9.3	0.5
Picnosis	9.3 ± 6.7	9.2 ± 6.2	0.9
Cromatina Condensada	7.8 ± 9.9	5.2 ± 6.2	0.1
Cariorrexis	1.1 ± 1.8	2.2 ± 2.6	0.006*
Cariolisis	11.2 ± 10.4	12.5 ± 11.9	0.5
TAN	50.4 ± 28.0	47.6 ± 21.0	0.8

Total de Anomalías Nucleares (TAN)

Los datos están expresados en Media ± Desviación Estándar

*U de Mann-Whitney

Tabla 7. Variables de exposición

	Padre floricultor			Madre floricultora			Distancia Invernadero		
	Si	p	No	Si	p	No	A menos de 100 mts	p	A más de 2 km
Total de la población n = 63	58/63(87.9%)		5/63 (12.1%)	7/63 (11.1%)		56/63 (88.9%)	58/63 (92.1%)		5/63 (7.9%)
MN	0.3 ± 0.5	0.6*	0.4 ± 0.5	0.2 ± 0.4	0.8*	0.3 ± 0.5	0.3 ± 0.5	0.6*	0.4 ± 0.5
CB	3.1 ± 2.7	0.8*	2.6 ± 1.5	3.8 ± 3.2	0.5*	3.0 ± 2.5	3.0 ± 2.6	0.4*	4.0 ± 3.2
NL	18.1 ± 14.9	0.6*	13.0 ± 8.8	17.0 ± 14.7	0.9*	17.7 ± 14.7	17.2 ± 14.4	0.5*	22.4 ± 17.7
PC	9.6 ± 6.8	0.1*	4.8 ± 2.7	9.0 ± 6.9	0.9*	9.3 ± 6.7	9.3 ± 6.8	0.9*	9.2 ± 6.7
CC	8.2 ± 10.3	0.6*	4.0 ± 2.0	3.8 ± 2.9	0.3*	8.3 ± 10.4	8.2 ± 10.1	0.3*	4.2 ± 6.2
CR	1.1 ± 1.8	0.8*	1.2 ± 2.1	0.4 ± 0.5	0.4*	1.2 ± 1.9	1.0 ± 1.7	0.3*	2.2 ± 2.5
CL	11.9 ± 10.6	0.05*	3.8 ± 2.8	4.2 ± 6.0	0.02*	12.1 ± 10.6	11.2 ± 10.5	0.9*	11.0 ± 10.3
TAN	52.2 ± 28.3	0.04*	29.4 ± 11.3	38.4 ± 22.5	0.2*	51.9 ± 28.4	50.2 ± 28.9	0.5*	53.0 ± 16.5

Valores expresados en Media ± Desviación Estándar; *U de Mann-Whitney

Micronúcleos (MN); Binucleada (BN); Núcleo Lobulado (NL); Picnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorrexis (CR); Cariolisis (CL); Total de Anomalías Nucleares (TAN)

Tabla 8. Niños con actividades en el invernadero

	Actividades en el invernadero			Frecuencia de actividades		
	SI	p	NO	3/semana	p	1/ mes
Total de la población	43/63 (68.3%) n = 63		20/63 (31.7%) n = 63	37/43 (86%) n = 43		6/43 (14%) n = 43
MN	0.4 ± 0.6	0.4*	0.2 ± 0.4	0.4 ± 0.6	0.9*	0.3 ± 0.5
BN	3.2 ± 2.7	0.6*	2.8 ± 2.3	3.4 ± 2.8	0.3*	2.3 ± 2.4
NL	17.5 ± 14.5	0.9*	17.9 ± 15.0	15.7 ± 11.8	0.2*	29.0 ± 24.2
PC	9.7 ± 7.0	0.4*	8.2 ± 5.9	9.5 ± 7.1	0.6*	11.1 ± 7.2
CC	7.7 ± 8.7	0.5*	8.2 ± 12.4	7.5 ± 9.0	0.3*	9.0 ± 6.9
CR	1.2 ± 1.9	0.3*	0.9 ± 1.6	1.4 ± 2.0	0.3*	0.5 ± 0.8
CL	11.0 ± 10.8	0.6*	11.6 ± 9.9	10.3 ± 10.3	0.3*	15.3 ± 13.8
TAN	50.7 ± 30.3	0.9*	49.8 ± 23.1	48.0 ± 30.2	0.08*	67.3 ± 27.3

Valores expresados en Media ± Desviación Estándar; *U de Mann-Whitney
 Micronúcleos (MN); Binucleada (BN); Núcleo Lobulado (NL); Picnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorexix (CR); Cariolisis (CL); Total de Anormalidades Nucleares (TAN)

Tabla 9. Padres y niños expuestos

	Aseo después de las actividades			Colocación de ropa contaminada			Lavado de ropa contaminada		
	SI	p	NO	Fuera de la casa	p	Dentro de la casa	Resto de la familia	p	Separada
Total de la población n = 63	49/63 (77.8%)		14/63 (22.2%)	42/63 (66.7%)		21/63 (33.3%)	12/63 (19%)		51/63 (81%)
MN	0.3 ± 0.5	0.5*	0.4 ± 0.6	0.3 ± 0.5	0.5*	0.4 ± 0.6	0.2 ± 0.4	0.6*	0.3 ± 0.5
BN	2.9 ± 2.7	0.2*	3.7 ± 2.3	3.3 ± 2.6	0.2*	2.5 ± 2.5	3.7 ± 3.5	0.6*	2.9 ± 2.4
NL	18.5 ± 14.6	0.3*	14.8 ± 14.7	16.2 ± 13.2	0.3*	20.6 ± 16.8	16.8 ± 13.6	0.9*	17.9 ± 14.9
PC	9.0 ± 6.7	0.5*	10.2 ± 6.9	9.1 ± 6.6	0.8*	9.7 ± 7.1	9.9 ± 8.2	0.8*	9.1 ± 6.4
CC	7.9 ± 9.5	0.4*	7.5 ± 11.5	7.8 ± 9.8	0.9*	8.0 ± 10.4	7.0 ± 5.6	0.6*	8.1 ± 10.7
CR	0.9 ± 1.7	0.08*	1.8 ± 2.2	1.1 ± 1.9	0.9*	1.1 ± 1.7	1.1 ± 1.5	0.7*	1.1 ± 1.9
CL	11.6 ± 10.8	0.6*	9.8 ± 9.3	12.8 ± 11.5	0.1*	8.1 ± 7.2	7.5 ± 8.7	0.1*	12.1 ± 10.7
TAN	51.0 ± 25.1	0.2*	48.1 ± 37.5	50.5 ± 25.0	0.7*	50.1 ± 34.0	46.1 ± 29.5	0.5*	51.4 ± 27.9

Valores expresados en Media ± Desviación Estándar; *U de Mann-Whitney
 Micronúcleos (MN); Binucleada (BN); Núcleo Lobulado (NL); Picnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorexix (CR); Cariolisis (CL); Total de Anormalidades Nucleares (TAN)

Tabla 10. Factores de variabilidad influyentes en la formación de micronúcleos y anomalías nucleares del grupo expuesto

Factores de Variabilidad		Significancia							
		MN	BN	NL	PC	CC	CL	CR	TAN
Edad	8.4 ± 1.8	0.2*	0.6*	0.8*	0.5*	0.1*	0.2*	0.2*	0.2*
IMC	16.5 ± 1.8	0.4*	0.01*	0.8†*	0.8*	0.9*	0.7*	0.2*	0.7*
Género	♀	0.3 ± 0.5	3.3 ± 2.2	15.3 ± 12.0	9.1 ± 5.9	6.6 ± 7.4	1.1 ± 2.1	11.0 ± 8.3	46.7 ± 21.0
	♂	0.9*	0.2*	0.4*	0.8*	0.6*	0.5*	0.5*	0.6*
Uso de cepillo dental	Si	0.3 ± 0.5	2.9 ± 2.9	19.3 ± 16.1	9.4 ± 7.3	8.7 ± 11.4	1.1 ± 1.6	11.3 ± 11.8	53.0 ± 32.1
	No	0.3*	0.4*	0.9*	0.7*	0.7*	0.4*	0.1*	0.3*
Consulta dental	Si	0.4 ± 0.5	3.5 ± 2.5	18.0 ± 15.7	9.4 ± 5.9	9.1 ± 12.4	2.1 ± 2.8	16.8 ± 13.5	59.2 ± 38.6
	No	0.6 ± 0.5	2.6 ± 2.5	9.6 ± 3.7	3.3 ± 3.2	4.3 ± 2.0	0.3 ± 0.5	20.0 ± 19.6	40.3 ± 18.1
Tratamiento dental	Si	0.2*	0.8*	0.4*	0.09*	0.8*	0.4*	0.3*	0.6*
	No	0.3 ± 0.5	3.1 ± 2.6	18.1 ± 14.8	9.6 ± 6.7	8.0 ± 10.1	1.2 ± 1.9	10.8 ± 9.9	50.9 ± 28.4
Enlatados	Si	1.0 ± 0.0	2.5 ± 3.5	7.5 ± 0.7	1.5 ± 0.7	4.0 ± 2.8	0.5 ± 0.7	21.5 ± 27.5	37.5 ± 24.7
	No	0.04*	0.6*	0.2*	0.08*	0.7*	0.8*	0.6*	0.5*
Embutidos	Si	0.3 ± 0.5	3.1 ± 2.6	18.0 ± 14.7	9.5 ± 6.7	8.0 ± 10.0	1.2 ± 1.8	10.9 ± 9.8	50.8 ± 28.2
	No	0.2 ± 0.4	2.2 ± 2.3	12.2 ± 8.7	9.4 ± 4.9	4.6 ± 3.2	3.2 ± 2.8	12.2 ± 10.4	43.8 ± 13.4
Frutas y verduras	Si	0.5*	0.3*	0.5*	0.8*	0.8*	0.03*	0.8*	0.7*
	No	0.3 ± 0.5	3.1 ± 2.6	18.1 ± 14.9	9.2 ± 6.9	8.1 ± 10.3	1.0 ± 1.6	11.1 ± 10.5	51.0 ± 28.9
Pescado	Si	0.4 ± 0.8	4.0 ± 3.2	18.5 ± 15.2	10.4 ± 6.1	9.3 ± 13.8	1.2 ± 1.9	9.4 ± 9.9	53.1 ± 39.0
	No	0.9*	0.2*	0.7*	0.3*	0.6*	0.9*	0.4*	0.9*
Té	Si	0.3 ± 0.5	2.9 ± 2.4	17.5 ± 14.6	9.0 ± 6.9	7.5 ± 9.0	1.1 ± 1.8	11.6 ± 10.6	49.8 ± 25.6
	No	0.3 ± 0.5	2.9 ± 2.5	17.1 ± 14.0	8.8 ± 6.7	7.2 ± 8.8	1.1 ± 1.8	11.4 ± 10.0	48.7 ± 27.7
Café	Si	0.7*	0.5*	0.6*	0.2*	0.3*	0.7*	0.4*	0.3*
	No	0.3 ± 0.6	3.6 ± 3.0	19.2 ± 17.1	11.1 ± 6.8	10.7 ± 14.0	1.3 ± 1.9	10.5 ± 12.5	57.4 ± 29.6
Café con leche	Si	0.1 ± 0.3	2.8 ± 2.4	23.0 ± 15.4	8.2 ± 6.7	6.0 ± 7.9	0.9 ± 1.3	9.4 ± 5.5	50.3 ± 22.2
	No	0.1*	0.7*	0.2*	0.5*	0.4*	0.7*	0.9*	0.7*
Lavado de frutas y verduras	Si	0.4 ± 0.5	3.1 ± 2.6	16.7 ± 14.3	9.5 ± 6.8	8.2 ± 10.3	1.2 ± 1.9	11.6 ± 11.1	50.4 ± 29.2
	No	0.4 ± 0.5	3.2 ± 2.6	16.9 ± 15.2	9.2 ± 7.1	8.6 ± 10.8	1.1 ± 1.7	12.1 ± 11.4	51.2 ± 30.2
Antecedentes heredo-familiares de cáncer	Si	0.1*	0.5*	0.3*	0.6*	0.4*	0.8*	0.5*	0.9*
	No	0.2 ± 0.5	2.7 ± 2.5	19.5 ± 13.1	9.5 ± 5.8	6.1 ± 7.0	1.2 ± 2.1	9.1 ± 7.6	48.3 ± 22.2
Problemas de nacimiento	Si	0.5 ± 0.7	3.2 ± 2.5	18.5 ± 15.9	8.9 ± 6.5	8.0 ± 12.1	1.1 ± 2.1	10.3 ± 10.1	50.3 ± 34.7
	No	0.07*	0.6*	0.7*	0.8*	0.3*	0.4*	0.3*	0.4*
Consumo de vitaminas	Si	0.2 ± 0.4	3.0 ± 2.7	17.0 ± 13.7	9.5 ± 6.9	7.7 ± 7.9	1.1 ± 1.6	11.9 ± 10.8	50.5 ± 22.2
	No	0.3 ± 0.4	3.0 ± 2.4	22.1 ± 16.8	10.4 ± 7.7	10.4 ± 11.8	0.7 ± 1.3	8.6 ± 7.7	55.5 ± 29.1
Fumador pasivo	Si	0.9*	0.9*	0.1*	0.4*	0.08*	0.4*	0.3*	0.3*
	No	0.3 ± 0.6	3.1 ± 2.7	15.8 ± 13.2	8.8 ± 6.3	6.7 ± 8.9	1.3 ± 2.0	12.3 ± 11.3	48.2 ± 27.6
Antecedentes heredo-familiares de cáncer	Si	0.3 ± 0.5	3.3 ± 2.8	15.7 ± 12.9	9.0 ± 7.1	7.5 ± 10.2	1.1 ± 1.6	10.3 ± 9.0	47.2 ± 25.9
	No	0.3*	0.5*	0.1*	0.4*	0.3*	0.3*	0.5*	0.2*
Problemas de nacimiento	Si	0.2 ± 0.5	2.5 ± 1.9	22.1 ± 17.3	9.8 ± 5.7	8.6 ± 9.5	1.2 ± 2.4	13.3 ± 13.2	57.8 ± 31.8
	No	0.6 ± 0.6	2.1 ± 1.5	12.1 ± 9.7	6.3 ± 5.5	7.7 ± 7.7	1.5 ± 2.6	13.7 ± 13.3	43.7 ± 21.4
Consumo de vitaminas	Si	0.05*	0.3*	0.2*	0.1*	0.7*	0.8*	0.7*	0.3*
	No	0.2 ± 0.5	3.3 ± 2.7	18.8 ± 15.2	9.9 ± 6.8	7.9 ± 10.4	1.1 ± 1.6	10.7 ± 9.8	51.8 ± 29.2
Fumador pasivo	Si	0.3 ± 0.4	2.9 ± 2.4	21.2 ± 18.4	9.8 ± 6.6	10.4 ± 12.7	0.8 ± 1.4	11.4 ± 7.5	56.7 ± 28.7
	No	0.8*	0.8*	0.4*	0.6*	0.2*	0.3*	0.3*	0.2*
Fumador pasivo	Si	0.3 ± 0.6	3.1 ± 2.7	16.5 ± 13.2	9.1 ± 6.8	7.0 ± 8.9	1.2 ± 1.9	11.2 ± 11.3	48.4 ± 27.8
	No	0.0 ± 0.0	4.6 ± 6.4	18.0 ± 28.6	3.3 ± 3.0	17.0 ± 29.4	1.6 ± 1.5	5.0 ± 4.3	49.6 ± 60.0
Fumador pasivo	Si	0.2*	0.9*	0.4*	0.07*	0.4*	0.3*	0.2*	0.3*
	No	0.3 ± 0.5	3.0 ± 2.4	17.6 ± 14.0	9.6 ± 6.7	7.4 ± 8.4	1.1 ± 1.8	11.5 ± 10.6	50.4 ± 26.5
Fumador pasivo	Si	0.5 ± 0.7	2.8 ± 2.5	15.5 ± 13.3	9.0 ± 6.6	7.7 ± 10.6	1.4 ± 2.1	13.4 ± 11.2	50.0 ± 29.5
	No	0.05*	0.4*	0.3*	0.7*	0.4*	0.5*	0.1*	0.7*
		0.2 ± 0.4	3.3 ± 2.7	19.1 ± 15.4	9.5 ± 6.9	8.0 ± 9.5	0.9 ± 1.6	9.7 ± 9.7	50.7 ± 27.3

Valores expresados en Media ± Desviación Estándar; † Correlación de Spearman; *U de Mann-Whitney

Índice de Masa Corporal (IMC)

Micronúcleos (MN); Binucleada (BN); Núcleo Lobulado (NL); Pícnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorrhexis (CR); Cariolisis (CL); Total de Anomalías Nucleares (TAN)

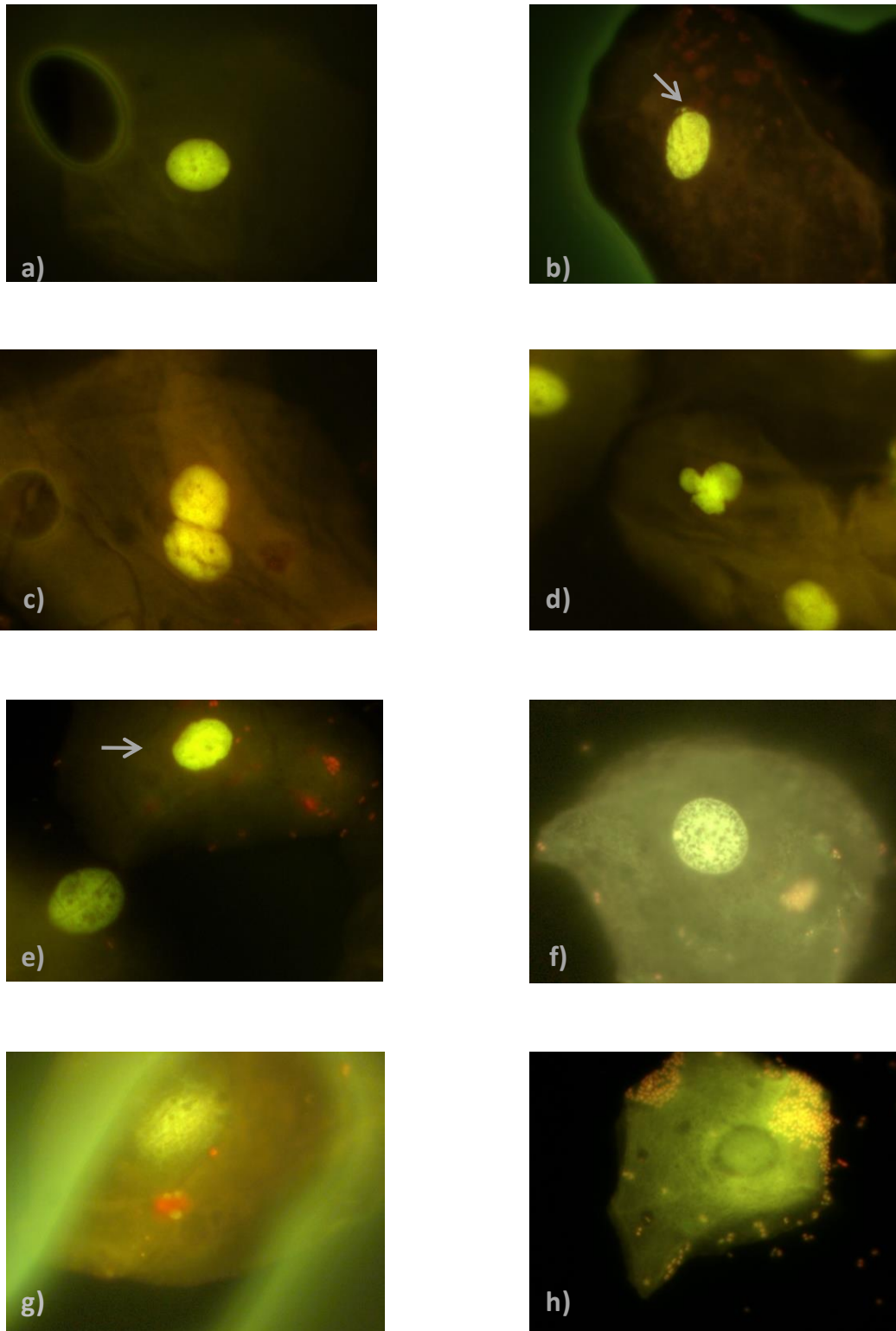
Tabla 11. Factores de variabilidad influyentes en la formación de micronúcleos y anomalías nucleares del grupo no expuesto

Factores de variabilidad		Significancia							
		MN	BN	NL	PC	CC	CR	CL	TAN
Edad	9.5±2.0	0.9 α	0.06 α	0.1 α	0.6 α	0.8 α	0.5 α	0.7 α	0.5 α
IMC	17.9±2.2	0.5 α	0.2 α	0.09 α	0.9 α	0.8 α	0.9 α	0.5 α	0.1 α
Género	♀	0.5±0.8	2.0±1.9	16.2±9.8	9.8±7.1	4.5±5.3	2.1±2.6	11.6±11.2	46.6±20.2
	♂	0.4±0.6	1.3±1.5	17.1±8.9	8.3±4.5	6.1±7.3	2.3±2.7	13.6±12.8	48.8±22.3
Uso de cepillo dental	Si	0.5±0.7	1.6±1.7	16.5±9.6	9.1±6.3	5.3±6.3	2.2±2.7	12.8±12.0	47.8±21.5
	No	0.19	0.04*	0.82	0.24	0.73	0.22	0.20	0.87
Uso de enjuague bucal	Si	0.0±0.0	4.0±2.0	17.6±2.0	11.3±2.5	3.0±3.0	0.6±1.1	5.3±4.5	44.0±6.9
	No	0.5±0.8	2.1±1.8	13.5±7.9	9.1±5.6	6.3±6.0	2.4±3.0	8.6±8.0	42.5±18.7
Alcohol en enjuague bucal	Si	0.9*	0.1*	0.06*	0.6*	0.09*	0.8	0.05*	0.2*
	No	0.4±0.7	1.5±1.8	18.2±9.7	9.2±6.5	4.6±6.3	2.1±2.4	14.5±13.1	50.3±21.8
Consulta dental	Si	0.0±0.0	0.5±0.7	10.5±12.0	4.5±6.3	7.0±9.8	2.0±1.4	4.5±2.1	29.0±31.1
	No	0.2*	0.2*	0.3*	0.3*	0.9*	0.6*	0.2*	0.3*
Tratamiento dental	Si	0.4±0.7	1.7±1.8	16.8±9.3	9.3±6.1	5.1±6.2	2.2±2.7	12.7±12.0	48.2±20.7
	No	0.7±0.5	3.0±1.6	5.5±3.6	5.7±6.7	4.2±7.8	1.7±2.8	6.0±5.7	26.2±23.4
Enlatados	Si	0.17	0.09	0.01*	0.30	0.26	0.53	0.17	0.05*
	No	0.4±0.7	1.6±1.8	17.3±9.1	9.4±6.1	5.2±6.2	2.2±2.6	12.9±12.1	49.0±20.2
Embutidos	Si	1.0±0.0	3.0±0.0	3.0±0.0	0.0±0.0	1.0±0.0	0.0±0.0	1.0±0.0	8.0±0.0
	No	0.25	0.31	0.13	0.09	0.43	0.22	0.11	0.09
Frutas y verduras	Si	0.4±0.7	1.7±1.8	16.8±9.3	9.3±6.1	5.2±6.3	2.2±2.6	12.6±11.9	48.2±20.5
	No	0.0±0.0	0.3±0.5	11.0±10.8	6.6±6.1	5.0±8.6	2.3±2.3	5.3±4.9	30.6±31.1
Pescado	Si	0.19	0.10	0.31	0.60	0.38	0.66	0.19	0.18
	No	0.5±0.7	1.8±1.8	16.8±9.3	9.3±6.2	5.2±6.2	2.2±2.7	12.8±12.0	48.4±20.4
Carne	Si	0.7±1.0	1.6±1.8	16.4±10.1	8.5±5.9	3.5±3.9	2.8±3.1	12.3±15.4	45.6±20.3
	No	0.28	0.64	0.88	0.58	0.35	0.22	0.20	0.70
Té	Si	0.3±0.5	1.8±1.8	16.6±9.1	9.5±6.3	5.9±6.9	1.9±2.4	12.5±10.2	48.4±21.4
	No	0.5±0.7	1.7±1.7	17.0±9.3	9.6±6.1	5.4±6.4	2.3±2.7	13.1±12.1	49.3±20.4
Café	Si	0.39	0.66	0.16	0.05*	0.43	0.05*	0.07	0.05*
	No	0.2±0.4	2.2±2.3	11.4±8.6	4.2±4.2	2.6±2.7	0.4±0.5	5.6±5.9	27.6±18.8
Café con leche	Si	0.5±0.8	1.7±2.0	18.6±10.7	9.2±7.2	5.5±6.5	2.0±1.8	14.6±12.7	51.8±21.0
	No	0.94	0.79	0.21	0.46	0.62	0.49	0.09	0.13
Vitaminas	Si	0.4±0.6	1.7±1.6	15.1±8.1	9.2±5.4	5.0±6.1	2.3±3.1	11.0±11.2	44.6±20.7
	No	0.4±0.7	1.7±1.8	16.7±9.3	9.2±6.2	5.0±6.1	2.1±2.6	12.4±12.0	47.4±21.1
Lavado de frutas y verduras	Si	0.25	0.31	0.25	0.63	0.13	0.13	0.49	0.62
	No	1.0±0.0	3.0±0.0	7.0±0.0	10.0±0.0	16.0±0.0	6.0±0.0	14.0±0.0	56.0±0.0
Antecedentes familiares de cáncer	Si	0.5±0.8	1.6±1.9	18.3±9.6	9.4±7.2	5.2±6.3	2.4±2.9	14.2±13.0	51.4±22.1
	No	0.17	0.32	0.04*	0.53	0.65	0.68	0.09	0.03*
Problemas de nacimiento	Si	0.3±0.5	1.9±1.6	13.5±8.2	8.9±3.8	5.1±6.2	1.7±2.0	9.4±9.1	41.0±17.4
	No	0.5±0.7	1.4±1.7	18.3±9.8	9.4±6.8	5.1±6.3	2.0±2.4	14.5±12.6	50.9±18.9
Fumador pasivo	Si	0.32	0.11	0.15	0.87	0.94	0.64	0.07	0.09
	No	0.4±0.7	2.0±1.8	14.6±8.5	9.0±5.5	5.3±6.3	2.4±2.9	10.2±10.7	43.9±22.8
Antecedentes familiares de cáncer	Si	0.5±0.8	1.9±2.3	18.2±9.9	9.2±7.0	5.6±6.8	1.9±2.4	13.2±12.9	50.6±20.3
	No	0.91	0.61	0.26	0.59	0.61	0.58	0.71	0.12
Problemas de nacimiento	Si	0.4±0.6	1.5±1.1	14.9±8.6	9.1±5.3	4.7±5.7	2.4±2.9	11.7±11.0	44.7±21.6
	No	0.6±0.5	0.8±0.8	11.6±7.5	10.2±2.6	1.8±2.3	1.6±1.1	17.6±15.7	43.6±22.5
Fumador pasivo	Si	0.37	0.24	0.26	0.32	0.17	0.96	0.59	0.63
	No	0.4±0.7	1.8±1.8	17.0±9.4	9.1±6.4	5.5±6.4	2.2±2.7	12.0±11.6	47.9±21.0
Antecedentes familiares de cáncer	Si	0.5±0.7	1.8±1.8	17.5±9.4	9.5±6.3	4.8±6.1	2.2±2.8	13.5±12.7	49.7±21.4
	No	0.74	0.42	0.13	0.37	0.44	0.92	0.26	0.22
Problemas de nacimiento	Si	0.4±0.6	1.4±1.7	13.4±8.8	8.2±5.7	6.4±6.7	1.9±2.1	9.3±8.4	40.8±18.8
	No	0.6±0.8	0.8±1.6	22.1±14.1	7.3±4.8	7.5±8.8	3.1±4.4	12.5±10.6	53.5±20.7
Fumador pasivo	Si	0.43	0.10	0.34	0.27	0.30	0.98	0.86	0.38
	No	0.4±0.7	1.8±1.8	16.0±8.7	9.4±6.3	4.9±5.9	2.1±2.4	12.5±12.1	47.0±21.1
Fumador pasivo	Si	0.6±0.9	2.1±2.0	16.2±10.9	10.0±7.0	5.0±6.2	1.5±1.6	14.0±14.8	49.1±17.7
	No	0.52	0.41	0.79	0.59	0.74	0.47	0.68	0.81
Fumador pasivo	Si	0.4±0.6	1.6±1.7	16.6±9.1	9.0±6.0	5.2±6.3	2.3±2.8	12.1±11.2	47.2±21.8
	No	0.4±0.6	1.4±1.8	16.6±7.1	9.2±3.1	6.2±6.7	2.4±3.1	15.9±14.9	52.3±22.6
Fumador pasivo	Si	0.74	0.34	0.93	0.40	0.42	0.93	0.45	0.47
	No	0.5±0.7	1.8±1.8	16.5±10.0	9.2±6.9	4.9±6.1	2.1±2.5	11.4±10.7	46.1±20.5

Valores expresados en Media ± Desviación Estándar; α Correlación de Spearman; *U de Mann-Whitney

Índice de Masa Corporal (IMC)

Micronúcleos (MN); Núcleo Lobulado (NL); Pícnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorraxis (CR); Cariolisis (CL); Total de Alteraciones Nucleares (TAN)



Fuente directa

Figura 13. Fotografías de a) Célula Normal; b) Célula micronúcleada (MN) *flecha*; c) Célula binucleada (BN); d) Núcleo lobulado (NL); e) Pícnosis (PN) *flecha*; f) Cromatina condensada (CC); g) Cariorrexis (CR); h) Cariolisis (CL). Microscopio Binocular Mca. Carl Zeiss Mod Axiostar Plus Fluorescencia IVFL Filtro de 450 a 490 Nanómetros, Objetivo Planacromático 100x/125 oil. cámara AxioCam Icc 1, Imágenes capturadas a 400 y a 1000 aumentos reales.

The image features a decorative background with various sizes of overlapping circles in shades of orange and yellow. A prominent horizontal bar in a darker orange color spans the width of the page, with a thin white line above it and a thin orange line below it. The text is positioned in the upper right quadrant of the page.

DISCUSIÓN

CONCLUSIONES

X. DISCUSIÓN

Los plaguicidas son ampliamente utilizados alrededor del mundo, estos productos contienen numerosos compuestos genotóxicos⁸⁶, la exposición a agroquímicos es un problema importante de salud ambiental²⁶, la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC) y la Agencia de Protección Ambiental (EPA) clasifican a estos químicos como carcinógenos o mutágenos²⁵.

La comunidad de San José, Villa Guerrero es una zona florícola, que se caracteriza por la presencia de invernaderos para el cultivo de flores, la diversidad en los cultivos requiere del uso de diferentes plaguicidas para su mantenimiento, el periodo de fumigación en cada invernadero está programado semanalmente de acuerdo al tipo de flor y plaga que puedan presentar, no obstante, la fumigación es constante, estas condiciones de exposición ambiental han sido descritas previamente⁴⁵.

La población de esta comunidad se encuentra en continua exposición, debido a que los invernaderos se hallan aproximadamente a 100 metros de distancia de los hogares y escuelas (Figura 1), lo que resulta un peligro para los niños, debido a que están sujetos a una exposición acumulativa de residuos de plaguicidas⁸⁷, el riesgo potencial de intoxicación crónica por la exposición a plaguicidas en niños esta descrito que condiciona la aparición de trastornos en el desarrollo⁴⁶, neurodesarrollo^{88, 28}, déficit de atención⁸⁹, tumores y cáncer^{90, 88, 91}. Los niños a diferencia de los adultos son más sensibles a los efectos tóxicos de los plaguicidas a causa de la inmadurez de su cuerpo⁶⁰, de su metabolismo y las funciones del hígado²⁷, de su frecuencia respiratoria y ritmo cardíaco⁸⁷. También la exposición directa o indirecta a plaguicidas un mes antes y durante los tres primeros del embarazo⁹², condicionan incremento de abortos, niños con bajo peso, anencefalia⁹³ y desarrollo de fisuras orofaciales⁹⁴ problemas de salud que están bien identificados en Villa Guerrero. Además, está demostrado que el contacto con plaguicidas inhibe la absorción del ácido fólico, cuya deficiencia se asocia con malformaciones⁹². El

monitoreo de poblaciones con exposición ocupacional o ambiental para estimar el riesgo de daño a la salud, es ineludible²⁶, al igual que el establecimiento de parámetros predictivos de cáncer y otras enfermedades degenerativas²⁹.

Para evaluar el daño en el ADN existen diversas técnicas: el ensayo cometa⁹⁵, aberraciones cromosómicas, intercambio entre cromátidas hermanas, micronúcleos en linfocitos de sangre periférica y en células exfoliadas². El estudio de micronúcleos en células de la mucosa bucal es una técnica para estudios de biomonitoreo, mínimamente invasiva^{96, 11} y adecuada para poblaciones pediátricas, por lo que se decidió utilizar esta técnica para este estudio, las muestras fueron tomadas dentro del periodo de posible exposición, como lo propone Bonassi *et al.* (2011).

*** Análisis de micronúcleos y anormalidades nucleares entre grupo expuesto y no expuesto**

En este estudio la frecuencia de micronúcleos en el grupo expuesto y el grupo no expuesto, se encontró dentro de los parámetros normales referidos por Martínez-Valenzuela (2009), en poblaciones sanas, la frecuencia de MN en células del epitelio bucal esta dentro del rango de 0 a 4 por 1000 células. Mientras Benítez *et al.*, (2010) reportaron frecuencia alta de MN en niños con historia de seis años de exposición a plaguicidas, debido a la presencia de una fábrica productora de estos químicos en la cercanía de su escuela, las células analizadas se tiñeron con Giemsa; resultados similares los describió Moura *et al.*, (2009), en trabajadores agrícolas expuestos a mezclas de plaguicidas, con la misma técnica de tinción. Bonassi *et al.* (2011) explican que la alta frecuencia de MN puede deberse a falsos-negativos, ya que se utilizó Giemsa y esta no es específica para ADN, por lo que los MN se pudieron confundirse con bacterias o fragmentos no nucleares como los gránulos de queratohialina.

Por su parte Gómez-Arroyo *et al.*, (2013), en niños de 1-13 años de edad del estado de Sinaloa, que viven cerca de campos agrícolas donde se realizan intensas aplicaciones de plaguicidas por vía aérea, señalan frecuencia significativa de MN empleando la tinción Feulgen, que es específica para ADN, de acuerdo a Ergene *et al.*, (2007) esta tinción permite la identificación de MN en células de la mucosa bucal con valores significativos en individuos expuestos a plaguicidas en comparación con el grupo control, y Gómez-Arroyo *et al.*, (2013) en niños y Holland *et al.*, (2008) en adultos, marcan resultados similares.

Este estudio, las células fueron teñidas con naranja de acridina, como lo sugiere Jyoti *et al.*, (2013.) se trata de una técnica selectiva para ácidos nucleicos, tiñe de color naranja el ADN y de verde fluorescente el ARN, es de bajo costo y fácil manejo. La baja frecuencia de micronúcleos en los niños evaluados en este estudio, al compararla con los resultados de Benitez *et al.* (2010) y Moura *et al.*, (2009), y con los resultados obtenidos por Gómez-Arroyo *et al.* (2013) y Ergene *et al.* (2007) puede deberse al método de tinción elegido. Sin embargo, Pértile *et al.*, (2009); Lucero *et al.*, 2000); Pastor *et al.*, (2001); Piperakis *et al.*, (2006), no identificaron MN en células bucales epiteliales, en trabajadores expuestos a plaguicidas, los autores explican que la intensidad, la frecuencia de la exposición, el tipo de plaguicida, tipo de cultivo, factores ambientales o el uso de ensayos que tienen diferentes sensibilidades y especificidades, pueden influir en el desarrollo de MN.

Una posible explicación a este fenómeno es que en el caso de los niños de San José Villa Guerrero y su condición de vida y la continua exposición a plaguicidas manifiesten efecto citotóxico lo que puede repercutir en baja división celular en la mucosa bucal, y por tanto esto disminuye la posibilidad de la formación de MN.

Esta hipótesis se ve reforzada por la alta frecuencia de células BN en los niños expuestos, ya que en este estudio, se observaron valores estadísticamente significativos. Estos cambios fueron observados por Benítez *et al.* (2010), en un grupo de niños potencialmente expuestos a plaguicidas en comparación con los

controles. Se ha considerado que las células BN son indicadoras de fallas en la citocinesis y susceptibilidad a aneuploidía que está asociada a incremento en el riesgo de cáncer y enfermedades neurodegenerativas^{12, 20, 99}.

Mientras que en el grupo control se observaron valores estadísticamente significativos de células con CR en comparación con el grupo expuesto, la CR está relacionada con citotoxicidad, que según Bolognesi *et al.* (2013), se deben a la exposición a genotóxicos desconocidos, acitotoxinas presentes en el ambiente, a la existencia de defectos genéticos capaces de inducir daño en el genoma y en la morfología celular.

*** Análisis de micronúcleos y alteraciones nucleares en relación a la exposición**

Los niños cuyos padres se dedican a la floricultura mostraron valores estadísticamente significativos de células con CL y el TAN. Angerer *et al.* (2007), mencionan que estas anomalías nucleares indican efectos citotóxicos y han sido asociadas con el incremento de inestabilidad genética y procesos carcinogénicos. Sin embargo, en el grupo expuesto las madres dedicadas al hogar en comparación con las madres floricultoras mostraron diferencias significativas. Los niños que realizan actividades dentro del invernadero tales como desbotonamiento, acarreo de flor o limpieza, no mostraron valores estadísticamente significativos, así como aquellos que llevan a cabo estas actividades frecuentemente, no obstante aquellos niños que asisten una vez al mes al invernadero presentaron diferencias estadísticamente significativas. Los niños de este estudio señalan que tanto ellos como su padre y/o madre que se dedican al floricultura no manejan ninguna medida de protección, únicamente si sus padres realizan aplicación de plaguicidas, refirieron utilizar un cubrebocas y botas, sin embargo, estas medidas de protección son insuficientes. Es por esto que se considera que toda la población de esta comunidad está expuesta, ya sea de manera directa o indirecta, con diferente frecuencia e intensidad.

Aun cuando las fumigaciones de plantíos a cielo abierto ofrecen un menor riesgo que los ambientes cerrados, los niños por sus actividades al aire libre pueden tener contacto con las gotitas del aerosol suspendidas en el aire y expliquen la presencia de AN, por ello podría ser que los niños cuyos padres se dedican a la floricultura presenten mayor frecuencia de CL, en este sentido Ergene *et al.* (2007) describen hallazgos similares, que sugieren la posibilidad de exposición indirecta, puesto que los padres llevan la ropa de trabajo al hogar, el mecanismo de formación de la CL, no se ha clarificado, es posible que se asocie con un efecto acumulativo de factores de riesgo.

Factores de variabilidad

Los resultados descritos en la literatura, acerca de la influencia de factores de variabilidad que pueden intervenir en el aumento o disminución de la frecuencia de MN y AN no son concluyentes⁹⁵.

*** Grupo expuesto**

La correlación entre el IMC y el incremento de las CB se vio reflejada en este grupo. Cervantes-Ríos *et al.* (2012) mencionan que el estado nutricional afecta cada aspecto de la vida y salud de los niños, así como en el ADN, ya que un desbalance en el IMC trae como consecuencia una falta de elementos esenciales para su formación por lo que se debilita y se fractura resultando en inestabilidad génica¹³.

En el grupo expuesto se notaron valores estadísticamente significativos: de células con micronúcleos en los niños que se les ha realizado un tratamiento con resina y/o amalgama. Rezende *et al.* (2011), sugieren que la combinación de iónomero de vidrio, óxido de cinc y eugenol con resina incrementa la frecuencia de MN y CB en células exfoliadas de los niños.

Por otro lado, en los hábitos alimenticios se observaron valores significativos de células con cariólisis en el consumo de alimentos enlatados. Esto puede deberse a que diversos envases de alimentos y bebidas se fabrican en plástico o tienen un revestimiento protector de plástico que contiene Bisfenol-A (BPA), este es conocido como un disruptor endocrino ¹⁰¹. Estudios como el de Tiwari *et al.* (2012) *in vivo* e *in vitro* en ratones, observaron que la exposición a BPA causó aumento significativo en la frecuencia de MN, lo que representa un daño al ADN.

Se considera que fumar es un factor de confusión en la aparición de MN y AN, debido a los componentes carcinógenos del cigarro, que pueden influir en la frecuencia de daño genético¹⁰³. Los niños de este estudio no fuman, sin embargo, estuvieron expuestos al humo del tabaco a través de sus padres, los resultados mostraron un aumento estadísticamente significativo en la frecuencia de MN. La exposición frecuente a estos agentes a largo plazo puede traer efectos de salud en los niños que se ven usualmente durante la adultez⁴⁴.

Las madres de los niños del grupo expuesto refirieron familiares con cáncer, se observaron valores estadísticamente significativos de MN en comparación con niños que no tienen familiares con ese tipo de antecedentes. La evidencia epidemiológica menciona que la influencia genética puede contribuir a desarrollar un riesgo de padecer cáncer debido a inestabilidad cromosómica¹⁰⁴.

Factores como el género, edad, dieta y problemas en el nacimiento no mostraron valores significativos.

*** Grupo no expuesto**

En el grupo control, los factores de variabilidad que se observaron con anomalías nucleares fue en los niños que no utilizan cepillo y pasta dental (BN), asimismo aquellos que no usan enjuague bucal (CL) y que no han asistido a consulta

dental (NL y TAN). Bastos-Aires *et al.* (2013) en un estudio en pacientes con periodontitis mencionan que una mala higiene bucal pueden inducir cambios en los niveles de MN y AN; por lo que la mala higiene del grupo podría estar contribuyendo a la aparición de las anomalías nucleares.

El consumo de frutas y verduras en el grupo control mostro valores significativos de PC, CR, TAN. Bonassi *et al.* (2011) evaluaron en el proyecto HUMN_{XL} el impacto de diversos factores respecto a la frecuencia de MN en células exfoliadas, uno de estos factores es la dieta, mencionan que los sujetos con una dieta diaria que incluía frutas y verduras tenían baja frecuencia de MN. Esto se debe al efecto antioxidante del consumo de estos alimentos que están asociados a una disminución del daño al ADN. Sin embargo, los resultados de este estudio mostraron lo contrario, esto puede deberse a la presencia de plaguicidas en las frutas y verduras que posiblemente no se lavaron apropiadamente, como lo mencionan Mantovani *et al.* (2008) la dieta es una vía de exposición a agroquímicos, en su estudio mencionan que a través del Programa de Monitoreo de Residuos en Alimentos en 2005 reportaron en Estados Unidos de América la presencia de más de un plaguicida en un 26.7% de sus muestras comparado a años anteriores. Posiblemente la presencia de residuos plaguicidas en las frutas y verduras, además de un lavado deficiente de estas en el grupo en estudio haya inducido daño genotóxico.

Ogura, *et al.* (2008) mencionan que el té en cualquiera de sus variedades contiene catequinas, son sustancias que aportan efectos beneficiosos para la salud, tales como actividad antioxidante, antiviral y anti-cancerígeno. Además, las catequinas específicamente del té verde demostraron suprimir la actividad genotóxica de diferentes agentes carcinógenos, ya que disminuye la frecuencia de MN. En este estudio los niños refirieron consumo té (no especificando el tipo) y se observó presencia de NL y TAN, puede ser que el consumo de esta bebida aunque no se cuenta con información sobre el efecto de otros tipos de té no esté generando ningún factor protector del daño genotóxico para estos niños.

El papel de la edad y el género en el aumento de la frecuencia de micronúcleos no es tan clara, sin embargo, Fenech *et al.* (2011) mencionan que el incremento de MN con la edad se debe a la combinación de factores que incluye el efecto acumulativo de mutaciones en genes implicados en la reparación de ADN. Benítez *et al.* (2010) en una revisión en niños de 0-18 años expuestos a mutágenos, mostraron que la influencia de la edad sobre la frecuencia de MN era irrelevante, similar a lo notado en este estudio. En cuanto al género, se ha reportado que el incremento de MN en mujeres se debe a la tendencia de la pérdida del cromosoma X. En los adultos, se ha encontrado que las mujeres tienen un nivel mayor de frecuencia de MN. Sin embargo, en un metanálisis no se encontraron diferencias en la frecuencia basal de MN en niños²², el género en ambos grupo de este estudio no fue relevante.

XI. CONCLUSIONES

Se concluye que La frecuencia de CMN fue similar al grupo control. Que no bien, no se detecto daño genotóxico mediante la prueba de micronúcleos en células exfoliadas de la mucosa bucal.


Esta misma exposición induce daño al ADN y citotoxicidad identificado por la presencia de anomalías nucleares.

Los factores en la población expuesta como hábitos higiénico-dentales, dieta, antecedentes heredofamiliares de cáncer y fumador pasivo influyeron en la aparición de MN y AN.

En la población no expuesta, los factores de variabilidad indujeron daño genotóxico, citotoxicidad y muerte celular, por la presencia de MN y AN. Por lo que factores como la edad, sexo, IMC, dieta, higiene dental, problemas de nacimiento, pueden influir en la aparición de alteraciones nucleares, por lo que deben ser tomados en cuenta a la hora de realizar una evaluación citogenética.

1. Recomendaciones

Una manera eficaz de controlar el daño es una monitorización constante de la población general (adolescentes, jóvenes, adultos y adultos mayores) y de los individuos expuestos de la comunidad de San José, para evaluar si la exposición prolongada se relaciona con la formación de MN y AN, e ir observando posibles efectos sobre la salud, debidos a la genotoxicidad.



RESUMEN
BIBLIOGRAFÍA

XII. RESUMEN

San José, Villa Guerrero es una comunidad dedicada al cultivo de flores, que requiere de fumigaciones con mezclas de plaguicidas. El efecto de la exposición directa e indirecta a plaguicidas en los niños debe ser monitoreado. El objetivo del estudio fue identificar la presencia de micronúcleos (MN) y anormalidades nucleares (AN) en células exfoliadas de la mucosa bucal de niños expuestos y no expuestos a plaguicidas. Frotis de la mucosa bucal, teñidos con naranja de acridina, fueron observados en un microscopio con inmunofluorescencia. Los valores de MN se encontraron dentro de parámetros normales en ambos grupos, las células binucleadas (CB) ($p=0.001$) prevalecieron en niños expuestos y en el grupo control la cariorrexis (CR) ($p=0.006$). En el grupo expuesto se observaron valores significativos de CB ($p=0.01$) en el Índice de Masa Corporal; MN ($p=0.04$) en niños con tratamiento dental; cariólisis (CL) ($p=0.03$) en niños con consumo de alimentos enlatados; MN ($p=0.05$) en niños con familiares con antecedentes de cáncer al igual que en fumadores pasivos ($p=0.05$). En el grupo control se observaron CB ($p=0.04$) en niños que no tienen higiene dental adecuada y sin uso de enjuague bucal CL ($p=0.05$); los niños que no acuden al dentista presentaron núcleos lobulados (NL) ($p=0.01$) y total de anormalidades nucleares (TAN) ($p=0.05$); mientras que en los niños con consumo de frutas y verduras presentaron picnosis ($p=0.05$), CR ($p=0.05$) y TAN ($p=0.05$) y por consumo de té NL ($p=0.04$) y TAN ($p=0.03$). La presencia de AN en los niños expuestos a plaguicidas sugiere daño citogenético.

ABSTRACT

San Jose, Villa Guerrero is a community dedicated to the cultivation of flowers that require spraying with pesticide mixtures. The effect of direct and indirect exposure to pesticides in children should be monitored. The objective of the study was to identify the presence of micronuclei (MN) and nuclear abnormalities (AN) in exfoliated cells of oral mucosa of children exposed and not exposed to pesticides. The buccal mucosa smears, stained with acridine orange, were observed in a microscope with immunofluorescence. The values of MN were found within normal parameters in both groups, the binucleate cells (CB) ($p=0.001$) prevailed karyorrhexis (CR) in exposed children and the control group ($p=0.006$). CB significant values were observed in the exposed group ($p=0.01$) and body mass index; MN ($p=0.04$) in children with dental treatment; (CL) karyolysis ($p=0.03$) in children with consumption of canned foods; MN ($p=0.05$) in children with a family with a history of cancer to passive smoking ($p=0.05$). CB were observed in the group control ($p=0.04$) in children who do not have an adequate dental hygiene and without use mouthwash CL ($p=0.05$); children who do not attend the dentist had buds nuclei (NL) ($p=0.01$) and total nuclear abnormalities (TNA) ($p=0.05$); While children with consumption of fruits and vegetables had; pyknosis ($p=0.05$), CR ($p=0.05$) and TNA ($p=0.05$); NL ($p=0.04$) tea consumption and TNA ($p=0.03$). The presence of AN in children exposed to pesticides suggests cytogenetic damage.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) (2012). La floricultura en México. Estadísticas del Sector Agroalimentario y Pesquero. *DISEMINA*. No. 89.
2. Ergene, S., Çelik, A., Çavaş, T. & Kaya, F. (2007). Genotoxic biomonitoring study of population residing in pesticide contaminated regions in Göksu Delta: Micronucleus, chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges. *Environ. Int.* 33: 877–885.
3. Eastmond, D. A. & Balakrishnan, S. (2010). Genotoxicity of Pesticides. *Hayes' Handbook of Pesticide Toxicology. Chapter 11.* 357.
4. World Health Organization (WHO) (2006). Principles for evaluating health risks in children associated with exposure to chemicals. (Environmental Health Criteria; 237).
5. Sanborn, M., Cole, D., Kerr, K., Vakil, C., Sanin, L. H. & Bassil, K. (2004). Pesticide Literature Review. The Ontario College of Family Physicians. 1-181.
6. Fenech, M. (2008). The Micronucleus Assay Determination of Chromosomal Level DNA Damage. *Environmental Genomics.* 185-216.
7. Benedetti, D., Nunes, E., Sarmiento, M., Porto, C., Iochims, S. C. E., Ferraz, D. J., & Silva, J. (2013). Genetic damage in soybean workers exposed to pesticides: Evaluation with the comet and buccal micronucleus cytome assays. *Mutation Research.* 752: 28– 33.
8. Iarmarcovai, G., Bonassi, S., Botta A., Baan R.A. & Orsiere T. (2008). Genetic polymorphisms and micronucleus formation: A review of the literature. *Mutation Research;* 658: 215-233.
9. Ceretti, E., Feretti, D., Viola, G. C. V., Zerbini, I., Limina, R M., Zani, C.... (2014). DNA Damage in Buccal Mucosa Cells of Pre-School Children Exposed to High Levels of Urban Air Pollutants. *PLoS ONE* 9(5): e96524. doi:10.1371/journal.pone.0096524
10. Jyoti, S., Khan, S., Afzal, M., Naz, F., & Siddique, Y. H. (2013). Evaluation of micronucleus frequency by acridine orange fluorescent staining in buccal

- epithelial cells of oral submucosus fibrosis (OSMF) patients. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics*. 14: 189–193.
11. Torres-Bugarín, O. & Ramos-Ibarra, M. L. (2013). Utility Micronucleus Test and Nuclear Abnormalities in Exfoliated Cells of Oral Mucosa in the Evaluation of Genotoxic and Cytotoxic Damage. *Int. J. Morphol.*; 31(2): 650-657.
 12. Thomas, P., Harvey, S., Gruner, T., & Fenech, M. (2008). The buccal cytome and micronucleus frequency is substantially altered in Down's syndrome and normal ageing compared to young healthy controls. *Mutation Research*. 638: 37-47.
 13. Torres-Bugarín, O., Zavala-Cerna, M. G., Nava, A., Flores-García, A., & Ramos-Ibarra, M. L. (2014). Potential uses, limitations, and basic procedures of micronuclei and nuclear abnormalities in buccal cells. *Disease Markers*. 13 pages
 14. Mantovani, A., Maranghi, F., La C. R., Tiboni G. M., Clementi, M. (2008). The role of toxicology to characterize biomarkers for agrochemicals with potential endocrine activities. *Reproductive Toxicology*; 26: 1–7.
 15. Aiassa, D., Mañas, F., Bosch, B., Gentile, N., Bernardi, N. & Gorla, N. (2012). Biomarcadores de daño genético en poblaciones humanas expuestas a plaguicidas. *Acta Biológica Colombiana*. 17 (3): 485-509.
 16. Angerer, J., Ewers, U. & Wilhelm, M. (2007). Human biomonitoring: State of the art. *Int. J. Hyg. Environ.-Health*. 210: 201–228.
 17. Martínez-Valenzuela, C., Gómez-Arroyo, S., Villalobos-Pietrini, R., Waliszewski, S., Calderón-Segura, M. E., Félix-Gastélum, R. & Álvarez-Torres, A. (2009). Genotoxic biomonitoring of agricultural workers exposed to pesticides in the north of Sinaloa State, Mexico. *Environmental International*; 35: 1155-1159.
 18. Holland, N., Fucic, A., Franco, M. D., Sram, R. & Kirsch-Volders, M. (2011) Micronuclei in neonates and children; effects of environmental, genetic, demographic and disease variables. *Mutagenesis*; 26 (1): 51-56.

19. Ceppi, M., Biasotti, B., Fenech, M. & Bonassi, S. (2010). Human population studies with the exfoliated buccal micronucleus assay: Statistical and epidemiological issues. *Mutation Research*. 705: 11–19.
20. Bonassi, S., Coskun, E., Ceppi, M., Lando, C., Bolognesi, C., Burgaz, S.,...Fenech, M. (2011). The HUman Micronucleus Project on exfoliated buccal cells (HUMNXL): the role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutatation Research*. 728(3): 88-97.
21. Mergener, M., Rhoden, C. R., & Amantéa, S. L. (2014). Nuclear abnormalities in cells from nasal epithelium: a promising assay to evaluate DNA damage related to air pollution in infants. *J. Pediatr. (Rio J)*. 90 (6): 632-636.
22. Benitez, L. S., Macchi, M. L., Fernández, V., Franco, D., Ferro, E., Mojoli, A.,... Sales, L. (2010). Daño celular en una población infantil potencialmente expuesta a pesticidas. *BASE investigaciones sociales*. 131: 1-25.
23. Bernardi, N., Gentile, N., Mañas, F., Méndez, A., Gorla N. & Aiassa, D. (2015). Assessment of the level of damage to the genetic material of children exposed to pesticides in the province of Córdoba. *Arch Argent Pediatr*. 113 (2):126-132
24. Coskun, M., Coskun, M, Cayir, A., & Ozdemir, O. (2011). Frequencies of micronuclei (MNi), nucleoplasmic bridges (NPBs), and nuclear buds (NBUDs) in farmer exposed to pesticides in Canakkale, Turkey. *Environmental International*. 37: 93-96.
25. Costa, C., Silva, S., Coelho, P., Roma-Torres, J., Teixeira, J. P., & Mayan, O. (2007). Micronucleus analysis in a Portuguese population exposed to pesticides: Preliminary survey. *Int. J. Hyg. Environ.-Health.*; 210: 415–418.
26. Moura, B. G., Barbieri, A. M., & Basso, S. L. (2009). Cytogenetic biomonitoring of Brazilian workers exposed to pesticides: Micronucleus analysis in buccal epithelial cells of soybean growers. *Mutation Research*. 675: 1-4.
27. Gómez-Arroyo, S., Martínez-Valenzuela, C., Calvo. González S., Villalobos-Pietrini, R., Waliszewski, S. M., Calderon-Segura, M. E.,...Lagarda-Escarrega, A. (2013). Assessing the genotoxic risk for mexican children who are in

- residential proximity to agricultural areas with intense aerial pesticide applications. *Rev. Int. Contam. Ambie.* 29: 217-225.
28. Roberts, R. J., & Karr, C. J. (2012). Pesticide exposure in children. *Pediatrics.* 130: 6:e1765-e1788.
29. Bolognesi, C., Creus, A., Ostrosky-Wegman, P., & Marcos, R. (2011). Micronuclei and pesticide exposure. *Mutagenesis*; 26: 19-26.
30. Comisión Intersecretarial para el Control del Proceso y Uso de Plaguicidas, Fertilizantes y Sustancias Tóxicas (CICOPLAFEST) (2004). Catalogo de Plaguicidas. I-L.
31. Zacharia, J. T. (2011). Identity, Physical and Chemical Properties of Pesticides, Pesticides in the Modern World - Trends in Pesticides Analysis, Dr. Margarita Stoytcheva (Ed.), ISBN: 978-953-307-437-5, InTech, Disponible en: <http://www.intechopen.com/books/pesticides-in-the-modern-world-trends-in-pesticides-analysis/identity-physical-and-chemical-properties-of-pesticides>
32. Cejudo E. A. L., Meza M. M. M., Balderas C. J. J., Mondaca H. I., Rodríguez R. R., Renteria M. A. M., Félix F. A. (2012). Exposición a plaguicidas organoclorados en niños indígenas de Potam, Sonora, México. *Ra Xim hai*; 2 (8): 121-127.
33. Pastor, B. S. (2002). Biomonitorización citogenética de cuatro poblaciones agrícolas europeas, expuestas a plaguicidas mediante el ensayo de micronúcleos. Tesis Doctoral.
34. Prieto, G. F., Cortés, A. S. Y., Gaytan O. J. C., Ceruelo, H. A. & Vazquez A. P. (2012) Pesticides: classification, uses and toxicity. Measures of exposure and genotoxic risks. *J. Res. Environ. Sci. Toxicol.* 11 (1): 279-293.
35. El-Sheikh, E.A. & Ashour, M-B.A. (2010). Biodegradation Technology for Pesticide Toxicity Elimination. M.H. Fulekar (ed.), *Bioremediation Technology: Recent Advances*.
36. The Health and Environment Linkages Initiative (HELI) (2014). Toxic hazards. World Health Organization.
37. Plan de Manejo y Recolección de Envases Vacíos de Plaguicidas (PLAMREVP) (2012). Conservemos un Campo Limpio.

38. Martínez-Valenzuela, M. C. (2009). Evaluación del daño genotóxico en personas ocupacionalmente expuestas a plaguicidas en las Grullas, municipio de Ahome, Sinaloa. Tesis Doctoral.
39. Castillo, C. J. (2005). Análisis genotóxico, inmunotóxico y de los polimorfismos de la glutatión S-Transferasa en floricultores expuestos a plaguicidas. Tesis Doctoral.
40. Martínez, C. V., Gómez, S. A. (2007). Riesgo genotóxico por exposición a plaguicidas en trabajadores agrícolas. *Rev. Int. Contam. Ambient.*; 23 (4): 1-25.
41. Red de Acción en Plaguicidas y sus Alternativas para América Latina (RAP-AL). (2010). Disponible en: rap-al@terra.cl
42. Mostafalou, S. & Abdollahi, M. (2013). Pesticides and human chronic diseases: Evidences, mechanisms, and perspectives. *Toxicology and Applied Pharmacology*; 268: 157–177.
43. López, G. O. (2005). Influencia de la exposición crónica a plaguicidas sobre diversos marcadores bioquímicos (esterasas y enzimas antioxidantes) en trabajadores de invernadero de la Costa Oriental de Andalucía. Tesis Doctoral.
44. Carroquino, M. J., Posada, M. & Landrigan, P.J. (2013). Environmental Toxicology: Children at Risk. Chapter 11. E.A. Laws (ed.), *Environmental Toxicology: Selected Entries from the Encyclopedia of Sustainability Science and Technology*, DOI 10.1007/978-1-4614-5764-0_11.
45. Antonio, K. R. M., Blanco, J. M., Escamilla, M. C. N., Juárez, C. A. P., & Shilman, A. H. (2013). Predictores ocupacionales de las concentraciones de Dialquifosfatos (DAPs) en floricultores de Morelos y Estado de México. *Instituto Nacional de Salud Pública*. 2-25.
46. Pesticide Exposure in Children. (2012). *Council on Environmental Health Pediatrics*. E1757.
47. COUNCIL ON ENVIRONMENTAL HEALTH (2012). Pesticide Exposure in Children. *Pediatrics*. 130, e1757. Disponible en: <http://pediatrics.aappublications.org/content/130/6/e1757.full.html>

48. Lewandowski, T. A. (2013). Factors Influencing Pesticide Risks for Children. Chapter 17. L.I. Simeonov et al. (eds.), *Environmental Security Assessment and Management of Obsolete Pesticides in Southeast Europe*, NATO Science for Peace and Security.
49. González, S. C. (2010). *Manual Básico: Diseño y Manejo de Proyectos Florícolas*.
50. Ribeiro, M. G., Colasso, C. G., Monteiro, P. P., Pedreira, F. W. R. & Yonamine, M. (2011). Occupational safety and health practices among flower greenhouses workers from Alto Tietê region (Brazil). *Science of the Total Environment*; 416: 121–126.
51. Ceballos, G., List, R., Garduño, G., López, c. R., Muñozcano, Q. M. J., Collado, E. & San, R. J. E. (2009). *La diversidad biológica del Estado de México. Estudio de Estado. Primera Edición*.
52. SAGARPA. 2006. 6° Informe de Labores. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. México.
53. FAO. 2007. *Global Aquaculture Production 1950-2005*. Disponible en: www.fao.org
54. Jurewicz, J., Kouimintzis, D., Burdorf, A., Hanke, W., Chatzis, Ch. & Linos, A. (2007). Occupational risk factors for work-related disorders in greenhouse workers. *J. Public. Health*. 15: 265–277.
55. Sánchez-Meza J.C. 2006. *Desarrollo de estrategias ambientales para una floricultura sustentable en el Estado de México*. Proyecto 15-2005-2676 Convocatoria de proyectos de investigación de la Fundación Produce-ICAMEX, 2005. Informe Final.
56. Posada, M. (2015). Encabezan municipios floristas lista de niños con problemas oncológicos. QUADRATIN, Estado de México. Disponible en: <https://edomex.quadratin.com.mx/Encabezan-municipios-floristas-lista-de-ninos-con-problemas-oncologicos/>
57. Romero, T. L. (2008). Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS). *Presentación de Registro de plaguicidas en México*.

58. Garry, V. F. (2004). Pesticides and Children. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*; 198: 152-163.
59. Domínguez-Cortinas, G., Díaz-Barriga, F., Martínez-Salinas, R. I., Cossío, P. & Pérez-Maldonado, I. N. (2013). Exposure to chemical mixtures in Mexican children: high-risk scenarios. *Environ. Sci. Pollut. Res.*; 20: 351–357.
60. Gebara, A. B., Ciscato, C. H. P. Monteiro, S. H. & Souza, G. S. (2011). Pesticide Residues in some Commodities: Dietary Risk for Children. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*; 86: 506–510
61. Landrigan, P. J. & Goldman, I. R. (2011). Protecting Children from Pesticides and Other Toxic Chemicals. *Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*; 119-120.
62. Ding, G. & Bao, Y. (2014). Revisiting pesticide exposure and children's health: Focus on China. *Science of the Total Environment*; 472: 289–295.
63. Badii, M. H. & Landeros, J. (2007). Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT*; 19 (4): 21-34.
64. Der, P. S. (2008). Plaguicidas organoclorados en leche materna. *Revista del Hospital Materno Infantil Ramón Sardá*; 27 (2): 70-78.
65. Childhood Pesticide Poisoning Information for Advocacy and Action. (2004). United Nations Environment Programme (UNEP).
66. Gómez, F. M. E. & Campos, M. A. (2000). Histología Bucal. Capítulo 5: Cavidad Bucal.
67. Silbergeld, E. K. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el Trabajo. Toxicología.
68. Bagci, E. Z., Vodovotz, Y., Billiar, T. R., Ermentrout, G. B. & Bahar, I. (2006). Bistability in apoptosis: roles of bax, bcl-2 and mitochondrial permeability transition pores. *Biophysical Journal*; 90 (5): 1546-1559
69. Sisman, T. & Türkez, H. (2010). Toxicologic evaluation of imazalil with particular reference to genotoxic and teratogenic potentials. *Toxicologic and Industrial Health*; 26 (10): 641-648.
70. Arellano, G. M. E., Camarena, O. L., Von-Glascoe, Ch. A., Ruiz, R. B., Zúñiga, V. E. & Montaña, S. T. (2012). Daño genotóxico en mujeres y hombres

- expuestos a plaguicidas en cuatro localidades de Baja California. *Rev. salud ambient.*; 12 (2): 93-101.
71. Bolognesi, C. Carrasquilla, G. Volpi, S., Solomon, K. R. & Marshall, E. J. P. (2009). Biomonitorización del riesgo genotóxico en agricultores de cinco regiones colombianas: asociación con la exposición ocupacional al glifosato. Disponible en: <http://www.odc.gov.co/Portals/1/Docs/pesig/PS06012013-biomonitorizacion-riesgo-genotoxic-agricultores-cinco-regione-colombianas-glifosato.pdf>
72. Silins, I. & Högberg, J. (2011) Combined Toxic Exposures and Human Health: Biomarkers of Exposure and Effect. *Int. J. Environ. Res. Public Health*; 8: 629-647.
73. Hernandez, F. G. (2011). El papel de los biomarcadores en Toxicología Humana. Departamento de Medicina Legal y Toxicología. 1-26. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/73793708/biomarcadores-en-Toxicologia-Humana>
74. Palanikumar, L. & Panneerselvam, N. (2011). Micronuclei Assay: A Potential Biomonitoring Protocol in Occupational Exposure Studies. *Russian Journal of Genetics*; 47 (9): 1033–1038.
75. Collins, A. R. & Azqueta, A. (2012). DNA repair as a biomarker in human biomonitoring studies; further applications of the comet assay. *Mutation Research*; 736: 122– 129.
76. Bonassi, S. & Au, W. (2002). Biomarkers in molecular epidemiology studies for health risk prediction. *Mutat. Res.*; 511: 73–86.
77. Martins, R. A., da Silva, G. G. A, Aguiar, Jr. O. & Ribeiro, D. A. (2009). Biomonitoring of oral epithelial cells in petrol station attendants: Comparison between buccal mucosa and lateral border of the tongue. *Environment International*; 35: 1062–1065.
78. Boa-Alma, A. S., Ramalhinho, G., Dias, D., Mathias, M. L., Carvalho, P. A. & Alves de Matos, A. P. (2012). Genotoxic effect of inhaled ambient particulate matter. *Microsc. Microanal.*; 18 (Suppl 5): 25-26.
79. Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S., & Fenech, M. (2008). The micronucleus assay in human

- buccal cells as tool biomonitoring DNA damage: The HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation research*; 659: 93-108.
80. Mosesso, P., Cinelli, S., Natarajan, A. T. & Palitti, P. (2013). In Vitro Cytogenetic Assays: Chromosomal Aberrations and Micronucleus Tests. Chapter 6. Alok Dhawan and Mahima Bajpayee (eds.), *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, vol. 1044.
 81. Morán-Martínez, J., Monreal-de Luna, K.D., Betancourt-Martínez, N.D., Carranza-Rosales, P., Contreras-Martínez, J.G., López-Meza M.C. & Rodríguez-Villarreal, O. (2013). Genotoxicity in oral epithelial cells in children caused by nickel in metal crowns. *Genet. Mol. Res.*; 12 (3): 3178-3185.
 82. Nersesyan, A. K. & Ilin, A. I. (2007). The Micronucleus Assay in Exfoliated Human Cells: A Mini-Review of Papers from the CIS. *Cytology and Genetics*; 41 (2): 115–124.
 83. Kaur G. H. (2013). Alteration in buccal mucosal cells due to the effect of tobacco and alcohol by assessing the silver-stained nucleolar organiser regions and micronuclei. *J. Cytol.*; 30 (3): 174-178.
 84. World Medical Association (WMA) (2014). Declaración de Helsinki de la AMM - Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos. Disponible en: <http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/>
 85. Gordon, R. Y., Bocharova, L. S., Kruman, I. I., Popov, V. I: Kazantsev, A. P., Khutzian, S. S. & Karnaukhov, V. N. (1997). Acridine Orange as an Indicator of the Cytoplasmic Ribosome State. *Cytometry*; 29: 215–221.
 86. Piperakis, S. M., Kontogianni, K., Piperakis, M. M., Marcos, R., & Tsilimigaki, S. (2006). Effects of pesticides on occupationally exposed humans. *TheScientificWorldJOURNAL*; 6: 1211-1220.
 87. Vida, P. & Moretto, A. (2007). Pesticide exposure pathways among children of agricultural workers. *Public. Health*: 15: 289–299.
 88. Ding, G. & Tian, Y. (2013). Organophosphate pesticide exposure and child health in China. *Environ. Sci. Pollut. Res.*; 2117-8.

89. London, L., Beseler, Ch., Bouchard, M. F., & Bellinger, D. (2012). Neurobehavioral and neurodevelopmental effects of pesticide exposures. *NeuroToxicology*; 33: 887-896.
90. Cifuentes, E., Trasande, L., Ramirez, M., & Landrigan, P. J. (2010). A qualitative analysis of environmental policy and children's health in Mexico. *Environmental Health*; 9 (14): 1-11.
91. Greenop, K. R., Peters, S., Bailey, H. D., Fritschi, L., Attia, J., Rodeny, J.,...Milne, E. (2013). Exposure to pesticides and the risk of childhood brain tumors. *Cancer Causes Control*; 24: 1269-1278.
92. Chávez-Corral, D. V., Velazco-Campos, M. R., Sanin, L. H., Levario-Carrillo, M., Aguirre-Rodríguez, A. A., & Martínez, I. E. (2008). Relation Between Levels of Folic acid, Vitamin B12 and Maternal Homocysteine with Neural Tube Defects and Cleft Lip. *Int. J. Morphol.*; 26 (4): 905-914.
93. Oliva, M., Rodríguez, J. C., & Silva, G. (2005). Estudio exploratorio de los problemas de salud humana derivados del uso de plaguicidas en Bella Vista, Estado de México, México. *Manejo Integrado de Plagas y Agroecología (Costa Rica)*; 76: 71-80.
94. González, B. S., López, M. A., Rico, M. A., & Garduño, F. (2008). Oral clefts: a retrospective study of prevalence and predisposal factors in the State of Mexico. *Journal of Oral Science*; 2(50): 123-129.
95. Gajski, G., Geric, M, Orescanin, V., & Garaj-Vrhovac, V. (2013). Cytogenetic status of healthy Children assessed with the alkaline comet assay and the cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Mutation Research*; 750: 55-62.
96. Ros-Llor, I., & Lopez-Jornet, P. (2014). Cytogenetic analysis of oral mucosa cells induced by chlorhexidine, essential oils in ethanolic solution and triclosan mouthwashes. *Environmental Research*; 132: 140-145.
97. Lucero, L., Pastor, S., Durbán, R., Gómez, C., Parrón, T., Creus, A., & Marcos, R. (2000). Cytogenetic biomonitoring of Spanish greenhouses workers exposed to pesticides: micronuclei analysis in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells. *Mutation Research*; 464: 255-262.

98. Pastor, S., Gutiérrez, S., Creus, A., Cebuska-Wasilewska, A., & Marcos, R. (2001). Micronuclei in peripheral blood lymphocytes and buccal epithelial cells of Polish farmers exposed to pesticides. *Mutat. Res.*; 495: 147–156.
99. Rezende, E. F., Mendes-Costa, M. C., Campideli, F. J., & Oliveira, R. A. (2011). Nuclear anomalies in the buccal cells of children under dental treatment. *RSBO*; 8 (2): 182-8.
100. Cervantes-Ríos, E., Ortiz-Muñiz, R., Martínez-Hernández, A. L., Cabrera-Rojo, L., Graniel-Guerrero, J. & Rodríguez-Cruz, L. (2012). Malnutrition and infection influence the peripheral blood reticulocyte micronuclei frequency in children. *Mutation Research*; 731: 68– 74.
101. Xin, F., Jian, L., Liu, X., Geng, Ch., Wang, W., Zhong, L.,... Chen, M. (2014). Bisphenol A induces oxidative stress-associated DNA damage in INS-1 cells. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*; 769: 29-33.
102. Tiwari, D., Kamble, J., Chilgunde, S., Patil, P., Maru, G., Kawle, D.,... Vanage, G. (2012). Clastogenic and mutagenic effects of bisphenol A: An endocrine disruptor. *Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*; 743: 83-90.
103. Jindal, S., Chauhan, I., & Kaur, H. G. (2013). Alteration in buccal mucosal cells due to the effect of tobacco and alcohol by assessing the silver-stained nucleolar organizer regions and micronuclei. *J. Cytol.*; 30 (3): 174-178.
104. Weichenthal, M., Roser, M., Ehlert, U., Frenzer, S., Breitbart, E. & Riidiger, H.W. (1989). Increased numbers of spontaneous micronuclei in blood lymphocytes and cultures fibroblasts of individuals with familial cutaneous malignant melanoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*; 115: 2621~268.
105. Bastos-Aires, D., Azevedo, A., Pereira, M. L., Pérez-Mongioli, D. & Teixeira, A. (2013). Preliminary study of micronuclei levels in oral exfoliated cells from patients with periodontitis. *Journal of Dental Sciences*; 8: 200-204.
106. Ogura, R. Ikeda, N. Yuki, K. Morita, O. Saigo, K. Blackstock, C. Nishiyama, N. Kasamatsu, T. (2008). Genotoxicity studies on green tea catechin. *Food and Chemical Toxicology*; 46: 2190–2200.

107. Fenech, M., & Bonassi, S. (2011). The effect of age, gender, diet and lifestyle on DNA damage measured using micronucleus frequency in human peripheral blood lymphocytes. *Mutagenesis*; 26: 43-49.



ANEXOS

XIV. ANEXOS

Anexo 1. Cuestionario

Folio:

CUESTIONARIO

Proyecto: Identificación de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Mucosa Bucal de Niños Expuestos y No Expuestos a Plaguicidas

Responsable: _____ Fecha: ____/____/20____

DATOS PERSONALES

Edad: _____ Sexo: F M

Estudia: No Si Grado _____ Observaciones _____

Estatura: _____ cm Peso: _____ Kg

Lugar de residencia: _____

Ocupación del padre y madre:

Profesionista P M Empleado P M Obrero P M

Comerciante P M Floricultor P M Ama de casa P M

HÁBITOS HIGIÉNICOS DENTALES

Uso: Cepillo y pasta No Si Enjuague bucal: No Si con alcohol sin alcohol

Ha acudido a consulta dental en este último mes: No Si

Tratamiento realizado

Limpieza dental o ninguno

Obturación amalgama/resina

HABITOS ALIMENTICIOS

En esta última semana ha consumido

Alimentos:

Enlatados: No Si

Embutidos: No Si

Frutas y verduras: No Si

Pescado: No Si

Carne: No Si

Cocción de la carne

<input type="checkbox"/> Término medio	<input type="checkbox"/> Bien cocida
--	--------------------------------------

Bebidas:

Té: No Si

Café: No Si

Café con leche: No Si

Consumo de tabaco: No Si

Fumador pasivo: No Si

Donde bebe agua

<input type="checkbox"/> Agua potable	<input type="checkbox"/> Deposito cerrado herméticamente	<input type="checkbox"/> Embotellada	<input type="checkbox"/> Pozo
---------------------------------------	--	--------------------------------------	-------------------------------

¿Lava frutas y verduras para consumirlas con

<input type="checkbox"/> Agua + jabón	<input type="checkbox"/> Agua
---------------------------------------	-------------------------------

ANTECEDENTES PATOLÓGICOS

Consumo de medicamentos en el último mes: No Si

Consumo de vitaminas o suplementos alimenticios: No Si

En su familia han tenido problemas de cáncer: No Si

Usted ha presentado un aborto, niño prematuro, bajo peso o muerto al nacer: No Si

EXPOSICIÓN

Años viviendo en su comunidad

<input type="checkbox"/> 1 año	<input type="checkbox"/> 2 años	<input type="checkbox"/> 5 años	<input type="checkbox"/> Toda su vida
--------------------------------	---------------------------------	---------------------------------	---------------------------------------

¿Vive en una zona florícola? No Si

¿Existe un invernadero cerca de su casa? No Si

¿Qué distancia?	30 mts, 50 mts, 100 mts	2 km o +
-----------------	-------------------------	----------

¿Ha trabajado en un invernadero? No Si

Con que frecuencia:	Diario 3 v. x sem	1 v. x mes 1 x año
---------------------	----------------------	-----------------------

Trabaja:	Dentro del invernadero	Fuera del invernadero
----------	------------------------	-----------------------

¿Qué actividad realiza? _____

¿Ha aplicado algún plaguicida? No Si

¿Usa alguna protección cuando aplica el plaguicida? No Si

¿Donde coloca la ropa que usa en el invernadero?

Fuera de su casa	Dentro de su casa
------------------	-------------------

¿Se baña después de realizar alguna actividad dentro del invernadero? No Si

La ropa que se usa en el invernadero, ¿la lava junto con la de toda la familia? No Si

¿Qué hace con el (los) envase (es) vacío (s)?

Los utiliza para guardar cosas	Almacena en su casa	Tira en el camión de la basura	Tira en un contenedor especial	Quema
--------------------------------	---------------------	--------------------------------	--------------------------------	-------

OBSERVACIONES

Anexo 2. Conteo individual de micronúcleos y alteraciones nucleares de niños expuestos

Niño	MN	ALTERACIONES NUCLEARES						TAN
		BN	NL	PC	CC	CR	CL	
1	0	2	8	8	5	0	7	30
2	0	1	21	5	3	5	4	39
3	1	3	4	2	7	0	0	16
4	1	5	8	2	2	1	2	20
5	0	2	24	7	3	0	6	42
6	1	7	8	11	15	5	15	61
7	1	7	6	0	1	0	2	16
8	0	3	1	17	3	1	22	47
9	0	3	6	1	13	0	12	35
10	0	3	21	10	10	0	11	55
11	0	1	11	18	7	0	3	40
12	0	4	10	2	10	0	5	31
13	0	0	35	3	1	0	14	53
14	0	3	8	18	2	0	9	40
15	1	1	10	11	0	2	25	49
16	0	3	40	8	1	0	0	52
17	0	2	35	17	0	1	8	63
18	1	2	3	0	0	0	27	32
19	0	8	45	13	3	0	1	70
20	0	5	19	8	0	0	19	51
21	0	1	7	5	10	0	4	27

22	1	0	14	4	30	2	37	87
23	0	0	51	6	51	3	8	119
24	1	4	38	7	8	0	11	68
25	0	3	35	8	27	1	7	81
26	0	4	25	11	27	0	16	83
27	2	3	21	10	9	8	29	80
28	1	6	11	10	5	7	25	64
29	0	3	12	8	1	0	19	43
30	0	7	25	20	10	1	10	73
31	0	2	0	4	0	2	7	15
32	0	1	2	10	0	0	17	30
33	0	8	15	9	8	1	17	58
34	0	1	29	22	2	1	2	57
35	0	0	10	7	0	0	1	18
36	0	3	14	7	5	0	17	46
37	0	12	3	0	0	0	0	15
38	1	3	1	0	0	0	0	4
39	1	2	5	1	14	0	18	40
40	0	6	16	9	6	0	5	42
41	0	1	30	23	11	2	32	99
42	0	1	11	24	9	4	7	56
43	0	7	19	21	15	1	14	77
44	0	5	5	15	2	0	1	28
45	0	1	8	1	15	0	5	30

46	1	5	10	10	1	0	10	36
47	1	6	2	15	2	1	12	38
48	2	9	12	19	2	1	0	43
49	2	2	3	2	0	3	7	17
50	0	0	21	10	2	3	6	42
51	0	2	18	0	3	0	5	28
52	0	4	20	11	0	0	1	36
53	0	1	3	5	5	2	5	21
54	0	1	13	2	5	0	1	22
55	0	1	36	7	4	1	9	58
56	0	0	2	5	4	0	9	20
57	1	5	48	20	43	6	31	153
58	1	0	60	10	10	0	9	89
59	0	1	16	15	11	1	43	87
60	0	6	46	19	20	1	5	97
61	0	4	45	20	13	2	3	87
62	0	0	23	12	15	5	11	66
63	1	0	7	1	6	0	41	55
Suma	22	196	1,115	586	498	74	709	3,178
ME ± DE	0.3 ± 0.5	3.1 ± 2.6	17.7 ± 14.5	9.3 ± 6.7	7.8 ± 9.9	1.1 ± 1.8	11.2 ± 10.4	50.4 ± 28

Datos expresados en media y desviación estándar

Micronúcleos (MN); Binucleada (BN); Núcleo Lobulado (NL); Picnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorrexis (CR); Cariolisis (CL); Total de Alteraciones Nucleares (TAN)

Anexo 3. Conteo individual de micronúcleos y alteraciones nucleares de niños no expuestos

NIÑO	MN	ALTERACIONES NUCLEARES						ANT
		BN	NL	PC	CC	CR	CL	
1	1	2	25	12	1	3	30	73
2	0	0	8	8	0	1	2	19
3	0	1	8	14	1	0	3	27
4	1	1	10	9	1	2	37	60
5	1	0	7	8	6	2	16	39
6	0	1	15	4	3	0	4	27
7	3	2	25	25	5	10	10	77
8	0	1	4	14	1	1	10	31
9	0	3	10	10	3	2	8	36
10	0	1	23	6	15	1	5	51
11	1	2	24	5	6	3	3	43
12	0	1	2	1	1	3	13	21
13	0	2	14	1	2	1	7	27
14	1	2	22	16	12	1	16	69
15	1	8	25	22	9	1	9	74
16	0	5	30	1	5	4	16	61
17	1	3	3	0	1	0	1	8
18	0	0	8	8	0	1	2	19
19	0	0	4	2	0	1	6	13
20	0	1	22	8	1	1	3	36
21	0	1	27	11	0	0	0	39

22	0	1	15	20	1	0	8	45
23	0	4	14	24	0	4	14	60
24	1	2	15	11	11	5	36	80
25	1	3	7	10	16	6	14	56
26	0	6	16	9	6	0	5	48
27	0	0	15	10	3	0	10	38
28	1	2	22	6	1	5	8	44
29	0	0	8	2	0	0	13	23
30	0	2	17	14	3	2	10	48
31	0	1	2	10	0	0	17	30
32	1	3	21	7	11	8	8	58
33	0	1	2	0	0	1	3	7
34	0	3	24	6	2	1	3	39
35	1	5	10	13	0	0	6	34
36	1	0	32	20	3	5	13	73
37	0	2	23	6	3	1	13	48
38	0	0	19	9	14	3	6	51
39	0	0	20	6	10	2	45	83
40	0	0	14	4	5	0	16	39
41	0	3	18	8	22	3	4	58
42	1	1	17	15	22	11	47	113
43	0	0	25	6	1	0	7	39
44	0	0	23	12	15	5	11	66
45	0	3	8	7	6	2	8	34

46	2	0	22	5	1	2	34	64
47	1	0	41	7	6	0	17	71
48	1	0	14	6	0	0	30	50
49	2	4	30	17	4	11	1	67
50	0	0	14	4	5	0	16	39
51	0	1	3	5	5	2	5	21
52	0	0	31	5	25	6	6	73
53	0	1	4	14	1	1	10	31
54	0	3	8	7	6	2	8	34
55	1	1	36	27	2	3	17	86
56	3	0	5	1	1	5	55	67
57	1	6	4	2	12	0	18	42
58	0	3	18	8	22	3	4	58
59	0	4	20	11	0	0	1	36
60	0	2	17	14	3	2	10	48
61	0	1	20	5	2	0	4	32
62	2	5	23	16	3	0	25	72
63	0	0	33	8	3	0	1	45
Suma	30	110	1,046	582	329	139	788	2,994
ME ± DE	0.4 ± 0.7	1.7 ± 1.8	16.6 ± 9.3	9.2 ± 6.2	5.2 ± 6.2	2.2 ± 2.6	12.5 ± 11.9	47.6 ± 21

Datos expresados en media y desviación estándar

Micronúcleos (MN); Binucleada (BN); Núcleo Lobulado (NL); Picnosis (PC); Cromatina Condensada (CC); Cariorrexis (CR); Cariolisis (CL); Total de Alteraciones Nucleares (TAN)

Anexo 4. Presentaciones en foros: modalidad cartel



UASLP
Universidad Autónoma
de San Luis Potosí



ESTOMATOLOGÍA



14 15 16 17
mayo 2014
ACAPULCO, GRUO, MÉXICO

FACULTAD DE ESTOMATOLOGÍA
A TRAVÉS DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS EN EL ÁREA
DE ODONTOLOGÍA INTEGRAL AVANZADA

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A: *Ayusi Alonso Zotea, Blanca Silvia González López, Olivia Torres Bugarrin,
Julio B. Robles Navarro.*

CONCURSO INVESTIGACION
E INVESTIGACIÓN
CLÍNICA EN ODONTOLOGÍA

XI congreso internacional
DE ODONTOLOGÍA MULTIDISCIPLINARIA



DR. JUAN PABLO LOYO RODRÍGUEZ
Coordinador General del Congreso
Universidad Autónoma de San Luis Potosí



DR. GUADALUPE ESPINOSA ITURRIAGA
Directora Unididat Académica de Odontología
Universidad Autónoma de Guerrero



DR. LUIS A. LEAL TORIÁS
Director Facultad de Estomatología
Universidad Autónoma de San Luis Potosí



El Instituto Mexicano del Seguro Social a través de la Delegación Estado de México Oriente, la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma del Estado de México y el Comité Interinstitucional para la Formación y Capacitación de Recursos Humanos e Investigación en Salud otorga la presente:

Constancia

al

AYUSI ALONSO ZOTEA

Por su participación en la presentación de su trabajo de investigación en la modalidad de cartel titulado:

IDENTIFICACIÓN DE MICRÓNÚCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES EN NIÑOS EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS Efectuado en Tlalnepantla de Báz, Estado de México, los días 29, 30 y 31 de octubre de 2014.

L.A.E. Fernando Luis Olimón Meraz
Titular de la Delegación Regional Estado de México Oriente

Dr. Luis Rafael López Ocaña
Titular de la Jefatura de Prestaciones Médicas

Dra. en C.S.P. Lilia Patricia Bustamante Montes
Directora de la Facultad de Medicina de la UAEM



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

a través de la Facultad de Odontología
otorga el presente



Reconocimiento

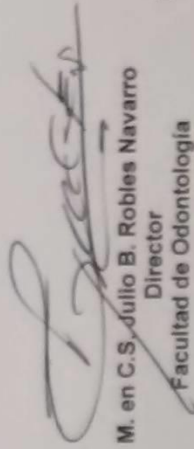
A: *Ayusi Alonso Zotea, Blanca Silvia González López, Julio B. Robles Navarro, Olivia Torres Bugarín*

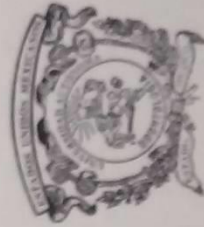
Por su valiosa participación con el trabajo de investigación titulado

**Identificación de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Mucosa Bucal de Niños
Expuestos y No Expuestos a Plaguicidas**

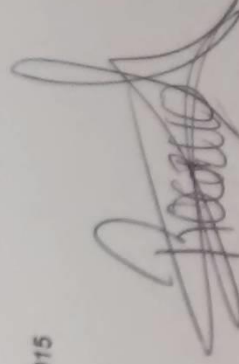
**VI Coloquio Nacional
de Investigación en Salud Bucal**

Toluca, Estado de México, 5 de Febrero de 2015


M. en C.S. Julio B. Robles Navarro
Director
Facultad de Odontología



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y ESTUDIOS
AVANZADOS EN ODONTOLÓGIA



Dr. en O. Rogelio J. Scougall Vilchis
Coordinador
CIEAO





Facultad de Medicina

Laboratorio de Investigación de Genotóxicos

Guadalajara, Jalisco a 4 de julio de 2013

Dra. en O. Norma M. Montiel Bastida

PRESENTE

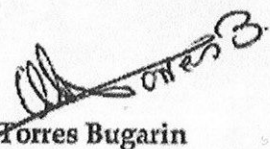
Por medio de la presente solicito a usted su autorización para que la alumna **Ayusi Alonso Zotea** realice una estancia bajo mi tutoría en el laboratorio de Investigación de Genotóxicos del Programa Internacional de la Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Guadalajara con el motivo de evaluar e identificar la frecuencia de micronúcleos en células exfoliadas de mucosa bucal, técnica involucrada en su proyecto de investigación "Identificación de micronúcleos y anomalías nucleares en mucosa bucal de niños expuestos y no expuestos a plaguicidas".

Se planea que dicha estancia inicie el 5 de agosto y concluya el 7 de octubre del 2013, por lo que sería muy bueno que contara con una beca de movilidad estudiantil para el mejor provecho de sus estudios.

Sin más por el momento y esperando su favorable respuesta me despido de usted.

Para cualquier aclaración al respecto, quedo a sus órdenes.

ATENTAMENTE


Dra. en C. Olivia Torres Bugarin

Profesor-Investigador

Programa Internacional, Facultad de Medicina,

Universidad Autónoma de Guadalajara

Investigador Nacional Nivel I

Tel. 36 48 88 24 ext. 33152 (laboratorio) ó 33052 (administración).

olviatorres@hotmail.com

Toluca, México a 08 de julio del 2015

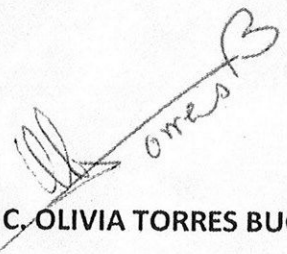
**M. EN C. S. SARA GABRIELA MARIA EUGENIA DEL REAL SÁNCHEZ
COORDINADORA DE POSGRADO
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA UAEM
P R E S E N T E**

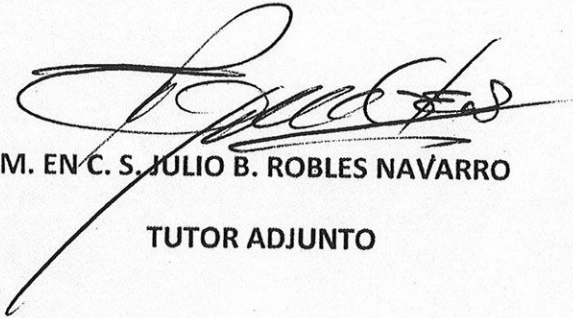
Anticipando a usted un cordial saludo, por este medio le informamos que la **C. D. AYUSI ALONSO ZOTEA**, estudiante de maestría concluyo satisfactoriamente el trabajo de tesis titulado "IDENTIFICACIÓN DE MICRONUCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES EN MUCOSA BUCAL DE NIÑOS EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS". Así mismo entregó constancias de participación en eventos y documentación relacionadas con el proyecto de investigación mencionado.

Sin otro particular por el momento, se despiden de usted.

ATENTAMENTE


**DRA. EN O. BLANCA SILVIA GONZÁLEZ LÓPEZ
TUTOR ACADÉMICO**


**DRA. EN C. OLIVIA TORRES BUGARÍN
TUTOR ADJUNTO**


**M. EN C. S. JULIO B. ROBLES NAVARRO
TUTOR ADJUNTO**

c.c.p. interesada
c.c.p. archivo



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México


Toluca, Méx., agosto 07 de 2015.

C.D. AYUSI ALONSO ZOTEA
ALUMNA EGRESADA DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

La que suscribe, M. EN C.S. Sara Gabriela María Eugenia del Real Sánchez, Coordinadora de Posgrado de la Facultad de Odontología por medio de la presente, manifiesto que la alumna egresada de la Maestría en Ciencias Odontológicas; **C.D. AYUSI ALONSO ZOTEA**, ha concluido su tesis titulada *"IDENTIFICACIÓN DE MICRONUCLEOS Y ANORMALIDADES NUCLEARES EN MUCOSA BUCAL DE NIÑOS EXPUESTOS Y NO EXPUESTOS A PLAGUICIDAS"*, por lo que puede continuar con los trámites correspondientes para su impresión y los administrativos de examen de grado correspondiente.

Sin más por el momento, me despido.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
"2015, Año del Bicentenario Luctuoso de José María Morelos y Pavón"


M. EN C.S. Sara Gabriela María Eugenia del Real Sánchez
Coordinadora de Posgrado
Facultad de Odontología

FACULTAD DE ODONTOLÓGIA

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

c.c.p. archivo

FO

FACULTAD ODONTOLÓGIA

50
ANIVERSARIO
Odontología
UAEM • 1964 - 2014



Jesús Carranza esq. Paseo Tollocan, C.P. 50130, Toluca, Estado de México
Tels. (722) 2 17 96 07 y 2 17 90 70. Ext. 5060