

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE**



**DAÑO AL ADN EN SANGRE DE POBLADORES
AMBIENTALMENTE EXPUESTOS A PLOMO EN LA
REGIÓN TULA-APAXCO**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

PRESENTA

BIÓL. DIANET MORALES TECUAPACHO

REALIZADO BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DRA. LIBERTAD JUÁREZ SANTACRUZ
DRA. ELVIA ORTIZ ORTIZ

TUTORAS:

DRA. WENDY ARGELIA GARCÍA SUASTEGUI
DRA. MARIBEL MÉNDEZ TEPEPA



IXTACUIXTLA, TLAX, JULIO 2024



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRIA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE

AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Código: 505-RGE-04
Publicación: Diciembre 2020
Revisión: 9001:2015 04

C. DIANET MORALES TECUAPACHO

P R E S E N T E

En cumplimiento al artículo 52 fracción "d" del Reglamento General de Evaluación Académica, el comité de evaluación de examen de grado ha revisado el trabajo de investigación titulado: "Daño al ADN en sangre de pobladores ambientalmente expuestos a plomo en la región Tula-Apaxco", realizado bajo la dirección de la Dra. Elvia Ortiz Ortiz y la Dra. Libertad Juárez Santacruz. No habiendo encontrado objeción alguna, se autoriza su impresión:

Dra. Elvia Ortiz Ortiz

Dra. Wendy Argelia García Suastegui

Dra. Libertad Juárez Santacruz

Dra. Edelmira García Nieto

Dr. Ángel Netzahual Lopantzi

[Handwritten signatures in blue ink over horizontal lines]

Sin otro particular, reciba un cordial saludo.

"POR LA CULTURA A LA JUSTICIA SOCIAL"

Ixtacuixtla, Tlax., 10 de julio de 2024.

[Handwritten signature in blue ink over a stamp]

DR. HÉCTOR SANTOS LUNA ZENDEJAS
COORDINADOR GENERAL DEL CIGYA Y POSGRADO

c.c.p. Expediente



Documento exclusivo para uso de la dependencia responsable o autoridad correspondiente

AGRADECIMIENTOS

CONAHCyT

Por la Beca otorgada No. 807787 para estudios de Maestría

Las personas de los municipios de:

Atotonilco. Atitalaquia y Tula de Allende, Hgo.

Apaxco de Ocampo, Estado de Mex.

Por su participación.

Dra. Brisa Violeta Carrasco Gallegos

MC. Eber Martínez Jiménez

Lic. Berenice Monserrat Mares Flores

Por su apoyo durante el muestreo

Dra. Brisa Violeta Carrasco Gallegos

Dra. Edelmira García Nieto

Por su apoyo a través del proyecto

Evaluación de riesgo para la salud humana por agentes tóxicos de origen antrópico

como herramienta de empoderamiento social. Región Estratégica Ambiental:

Norte del Estado de México y Zona Tula, Hidalgo. CONAHCyT-PRONAI 318998

AGRADECIMIENTOS

En estas líneas quiero expresar mis más sinceros agradecimientos a todas aquellas personas que de alguna manera han contribuido en el desarrollo y culminación de este proyecto.

A la Dra. Liber por cada enseñanza, apoyo, consejo, orientación y paciencia, estoy muy agradecida, la admiro mucho, sin usted este proyecto no hubiera sido posible.

A la Dra. Wendy por abrirme las puertas en su laboratorio, así como también en cada enseñanza.

A la Dra. Maribel por su disponibilidad y comentarios que retroalimentaron esta investigación.

A las Dras. Edelmira y Areli, por su apoyo incondicional en el proyecto compartiéndome sus valiosas críticas y conocimientos.

A la Dra. Miriam y la MC. Elia por su apoyo incondicional en la fase metodológica.

A mis sinodales: La Dra. Elvia Ortiz Ortiz, Dra. Edelmira García Nieto, Dra. Wendy Argelia García Suastegui y al Dr. Angel Netzahual Lopantzi quienes me apoyaron con sus valiosos comentarios y sugerencias para mejorar este trabajo.

A mi familia

A mis padres José Morales Vega y Raquel Tecuapacho Tzompantzi

a mis hermanos Efrén y José

por el apoyo incondicional motivándome para alcanzar mis metas,

ustedes me enseñaron a ser fuerte y a ver con optimismo la vida,

la cual constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir.

Sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer una vida de sacrificios y esfuerzos constantes,

solo deseo que entiendan que este logro es también suyo y que mi esfuerzo es inspirado en ustedes.



ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN	3
I.1 MARCO TEÓRICO	3
I.1.1 Regiones de emergencia sanitaria y ambiental (RESA)	3
I.1.2 Región Tula-Apaxco	4
I.1.2.1. Principales fuentes de contaminación de la región Tula-Apaxco	8
I.1.3. El plomo	11
I.1.3.1. Exposición ambiental al plomo	15
I.1.3.2. Vías de exposición	17
I.1.4. Biomarcadores	19
I.1.5. Ensayo de micronúcleos (MN)	21
I.1.6. Ensayo cometa	23
I.2. ANTECEDENTES	25
I.3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	29
I.4. HIPÓTESIS	29
I.5. JUSTIFICACIÓN	29
I.6. OBJETIVOS	30
I.6.1. General	30
I.6.2. Específicos	30
I.7. METODOLOGÍA	31
I.7.1 Sitio de estudio	31
I.7.2 Evaluación de la exposición	31
I.7.2.1. Selección de la población	31
I.7.2.2. Obtención de las muestras sanguíneas	32
I.7.2.3. Cuantificación de plomo a través del sistema LeadCare® II	32
I.7.3. Evaluación de los efectos	33
I.7.3.1. Ensayo de micronúcleos (MN) con bloqueo de la citocinesis	33
I.7.3.1.1. Análisis al microscopio de laminillas	34

I.7.3.2. Ensayo cometa en sangre total	37
I.7.4. Análisis estadístico.....	39
II. RESULTADOS	40
II.1 Caracterización de la población de estudio.....	40
II.2 Biomarcador de exposición	43
II.2.1. Concentración de plomo en sangre	43
II.3 Biomarcadores de efecto.....	44
II.3.1 Ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis.....	44
II.3.2. Ensayo cometa	47
II.3.3. Correlación de concentración de Pb en sangre variables de efectos genotóxicos	49
III. DISCUSIÓN	51
IV. CONCLUSIONES	58
V. REFERENCIAS	59
VI. ANEXOS	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fuentes documentadas de emisión de plomo en los municipios de Apaxco, Atitalaquia, Atotonilco y Tula.	13
Tabla 2. Datos antropométricos del grupo de estudio	40
Tabla 3. Actividad productiva del grupo de estudio en porcentaje	41
Tabla 4. Hábitos domésticos y alimenticios por grupo de alimentos	43
Tabla 5. Frecuencia de división nuclear de población de estudio por municipio	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Municipios que integran la región Tula-Apaxco, en color verde se identifican aquellos en los que se trabajó para llevar a cabo esta investigación (Elaboración propia en Q-GIS 3.16; INEGI 2019; Ortiz-Espejel, 2019).....	5
Figura 2. Ubicación en los municipios de Atotonilco de Tula, Atitalaquia y Tula de Allende del estado de Hidalgo y Apaxco de Ocampo del estado de México y fuentes de contaminación industrial en diferentes giros.....	6
Figura 3. Toxicocinética del plomo en el organismo humano (Tomado de Rodríguez, 2016). 18	
Figura 4. Células y anormalidades nucleares evaluadas con el ensayo de MN. Células: A) mononucleada, B) binucleada, C) trinucleada, D) tetranucleada; E) binucleada con un micronúcleo, f) binucleada con dos micronúcleos, G) núcleo lobulado, H) puente de cromatina, I) célula en apoptosis y J) célula en necrosis. (Fuente propia: Cámara ultra gran angular-13 mm f2.4 12 MP (Iphone12) y microscopio óptico Marca Leica modelo DM2000, aumento de 100X).....	36
Figura 5. Porcentaje de la población de estudio que habita cerca de las	41
Figura 6. Porcentaje de la población de estudio que consumieron medicamentos y sustancias psicoactivas	42
Figura 7. Concentración de plomo ($\mu\text{g/dL}$) en sangre de la población de estudio	44
Figura 8. Índice de división nuclear de la población de estudio por municipio.....	45
Figura 9. Frecuencia de MN en sangre de la población de estudio por municipio.....	46
Figura 10. Frecuencia de anormalidades nucleares en sangre de la población de estudio por municipio.....	47
Figura 11. Frecuencia de citotoxicidad en población de estudio por municipio.	48
Figura 12. Índice de daño al ADN por ensayo cometa de la población de estudio por municipio	49
Figura 13. Regresión lineal entre la concentración de Pb en sangre y las variables de genotoxicidad evaluadas con el ensayo de MN y cometa.....	50

RESUMEN

La problemática ambiental que se presenta en la región Tula-Apaxco ha llevado a su declaración como una región de emergencia sanitaria y ambiental. Esta problemática se debe al establecimiento de numerosas empresas de diferentes sectores, lo que ha resultado en un incremento de la contaminación y, por ende, en el deterioro de los ecosistemas y efectos adversos sobre la salud humana. Entre los contaminantes ambientales que pueden estar emitiéndose en la región se encuentra el plomo, el cual por su alto nivel de toxicidad, requiere ser biomonitoriado para conocer el riesgo potencial en la población potencialmente expuesta.

En la presente investigación se evaluó el riesgo potencial por la exposición ambiental a plomo mediante la cuantificación en sangre de este metal y la evaluación de los efectos al ADN a través del ensayo de micronúcleos y cometa. Los resultados de la concentración de plomo en sangre fueron de 9.7 ± 5.5 , 8.4 ± 5.3 , 7.1 ± 5.3 , y 6.7 ± 5.1 $\mu\text{g/dL}$, en la población de Atotonilco, Atitalaquia, Apaxco de Ocampo y Tula de Allende, respectivamente. Estos valores se ubican por debajo de la NOM-199-SSA1-2000-2017 de Salud ambiental. Con respecto al daño al ADN se encontró un incremento significativo en las variables analizadas, pero no se obtuvo una correlación positiva con la plumbemia.

Aún cuando los resultados de plomo en sangre son relativamente bajos, los resultados demuestran un daño significativo al DNA dejando de manifiesto el riesgo que representa la exposición a contaminantes ambientales para la salud humana. Es importante identificar la presencia de contaminantes y evaluar sus efectos sobre los organismos, con el fin de buscar estrategias de intervención para disminuir los riesgos para la salud.

ABSTRACT

The environmental problems that occur in the Tula-Apaxco region have led to its declaration as a region of sanitary and environmental emergency. This problem is due to the establishment of numerous companies from different sectors, which has resulted in an increase in pollution and, therefore, in the deterioration of ecosystems and adverse effects on human health. Among the environmental pollutants that may be emitted in the region is lead, which due to its high level of toxicity, requires biomonitoring to determine the potential risk in the potentially exposed population.

In this research, the potential risk of environmental exposure to lead was evaluated by quantifying this metal in blood and evaluating the effects on DNA through the micronucleus and comet test. The results of the blood lead concentration were 9.7 ± 5.5 , 8.4 ± 5.3 , 7.1 ± 5.3 , and 6.7 ± 5.1 $\mu\text{g/dL}$, in the population of Atotonilco, Atitalaquia, Apaxco de Ocampo and Tula de Allende, respectively. These values are below the NOM-199-SSA1-2000-2017 Environmental Health Regulation. Regarding DNA damage, a significant increase was found in the variables analyzed, but a positive correlation with lead levels was not obtained.

Even though the blood lead results are relatively low, the results show significant damage to DNA, revealing the risk that exposure to environmental contaminants represents for human health. It is important to identify the presence of contaminants and evaluate their effects on organisms, in order to seek intervention strategies to reduce health risks.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 MARCO TEÓRICO

I.1.1 Regiones de emergencia sanitaria y ambiental (RESA)

Estas regiones del territorio mexicano se caracterizan por presentar diversas afectaciones ambientales y de salud pública generadas por las actividades extractivas y de manufactura. En esta área se concentran y superponen diversos procesos de emisiones y vertidos de todo tipo de contaminantes: descargas sólidas, líquidas y aéreas provenientes de grandes ciudades, corredores turísticos e industriales, agroindustriales y emplazamientos extractivos. Hasta el año 2019, se consideraban en México seis Regiones de Emergencia Sanitaria y Ambiental (RESA), las cuales tienen en común la pobreza y la pérdida del patrimonio natural debido a la depredación causada por actividades industriales. Además, enfrentan una extrema contaminación de ambientes acuáticos, bosques, aire y suelos fértiles. En estas zonas, se ha incrementado la prevalencia de enfermedades como cáncer, leucemia, insuficiencia renal, fluorosis dental y esquelética, deficiencia plaquetaria, abortos espontáneos, mutaciones genéticas e incluso casos de retraso mental infantil (Azamar y Téllez, 2021, 2023).

Las primeras RESA también denominadas “infiernos ambientales” o zonas de sacrificio se ubican en: 1) El Salto-Juanacatlán, Jalisco; 2) Dolores Hidalgo, Guanajuato; 3) Ríos Atoyac y Zahuapan, en Puebla y Tlaxcala; 4) el Istmo Norte; 5) Coatzacoalcos, Veracruz y 6) Tula-Apaxco, en Hidalgo y Estado de México. En la actualidad el CONAHCyT con base en diversas investigaciones ha identificado aproximadamente 50 RESA, donde además de los problemas graves de contaminación se incrementa la explotación social y laboral. En estas regiones se encuentran asentadas empresas canadienses, estadounidenses, europeas, entre otras, las cuales han modificado el ambiente con el incremento de la contaminación de tal manera que la población vive y tiene que realizar sus actividades bajo un riesgo latente (Vera-Herrera, 2019; CONAHCYT, 2021; Azamar y Téllez, 2023).

Al respecto la SEMARNAT, junto con la Secretaría de Salud y el CONAHCYT, suscribieron en 2021, un Convenio con el objetivo de formular y conducir políticas participativas de salud ambiental y restauración ecológica y ambiental, con el fin de proteger la salud humana y restablecer el equilibrio ecológico en las RESAs. Por ejemplo, una de las regiones que actualmente se están atendiendo es la Tolteca, Cuenca del Río Tula, (Hidalgo y norte del Estado de México); (SEMARNAT, 2022).

I.1.2 Región Tula-Apaxco

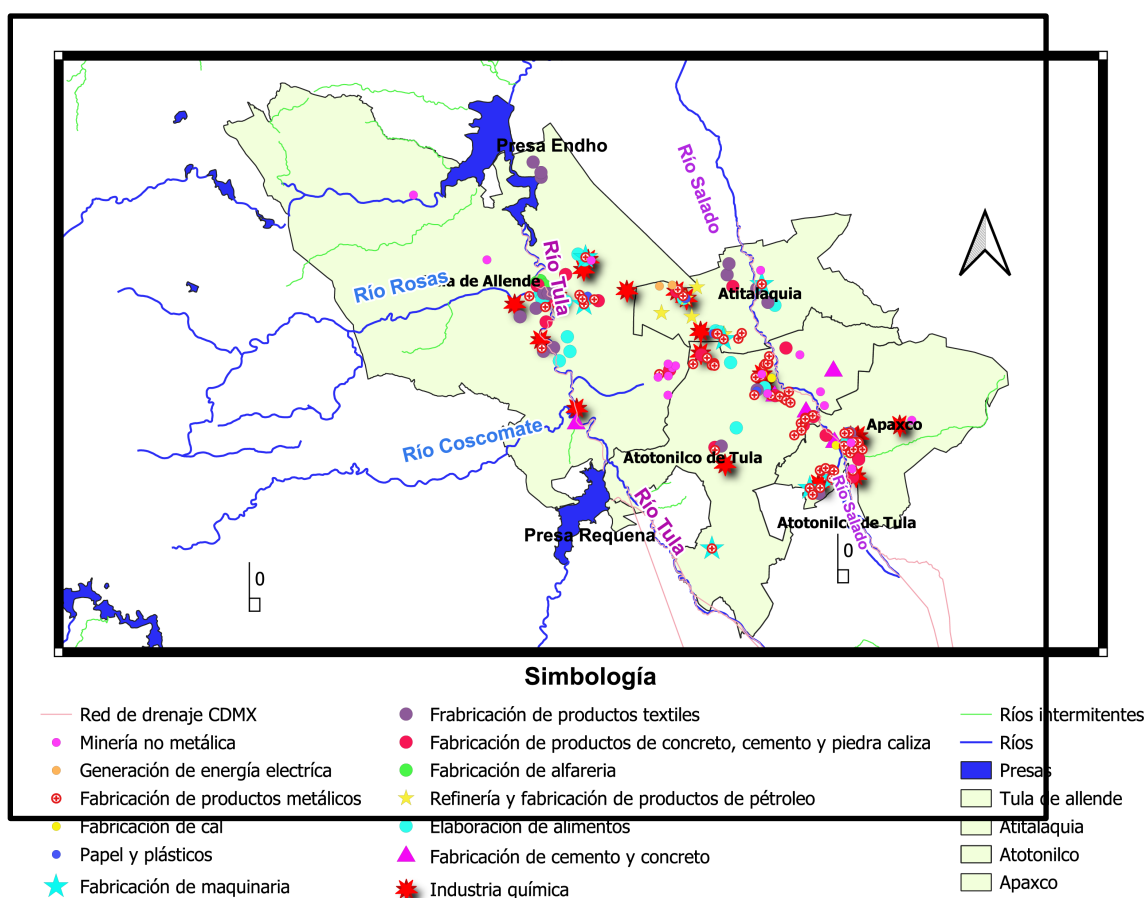
Esta región está ubicada al suroeste del estado de Hidalgo y norte del estado de México, está conformada por 12 municipios de Hidalgo los cuales incluyen a Atitalaquia, Atotonilco de Tula, Tula de Allende, Chilcuautla, Tezontepec de Aldama, Tepetitlán, Tlahuelilpan, Tlaxcoapan, Tepeji del Río de Ocampo, Mixquiahuala de Juárez, Progreso de Obregón y Tetepango y Apaxco de Ocampo, perteneciente al Estado de México (Figura 1) (Ortiz-Espejel, 2019).

La región Tolteca, a la cual pertenecen estos municipios, fue declarada en 2005 como una de las zonas más contaminadas del mundo según la Organización de las Naciones Unidas (ONU). Esta situación es consecuencia del establecimiento desmedido de industrias de diferentes actividades económicas, de tal manera que se sobrepasan actividades industriales de dos o más núcleos económicos. Las plantas cementeras y caleras predominan en la región, seguidas de empresas dedicadas a la producción de alimentos, plásticos, productos agroquímicos, así como una refinería y una termoeléctrica, que son las más destacadas. Debido a la gran conglomeración de agentes tóxicos, se han presentado incidentes fulminantes con frecuencia. Una de las principales industrias de verter desechos de agua es la termoeléctrica, que libera anualmente aproximadamente 18 millones de m³, seguida de la refinería Miguel Hidalgo con 9 millones de m³ (Carrasco y Vargas 2015). A esto se suma la presa Endhó, que recibe aguas negras procedentes de la Ciudad de México, lo que incrementa la concentración de agentes tóxicos que se generan y contribuye al deterioro de la calidad ambiental (Martínez, 2018).



1. *Journal of the American Medical Association*, 2000; 283: 2689-2696.

La presente investigación se deriva del proyecto “Evaluación de riesgo para la salud humana por agentes tóxicos de origen antrópico como herramienta de empoderamiento social. Región estratégica ambiental: Norte del Estado de México y zona Tula, Hidalgo” (Proyecto 318998 PRONACE-CONACYT). En este proyecto se consideraron los municipios de Atotonilco, Atitalaquia, Tula de Allende y Apaxco de Ocampo como zona prioritaria para su atención debido a la convergencia de un gran número de industrias de diversos giros en el área (Figura 2).



Fuente: Q-GIS 3.16; INEGI 2019

Figura 2. Ubicación en los municipios de Atotonilco de Tula, Atitalaquia y Tula de Allende del estado de Hidalgo y Apaxco de Ocampo del estado de México y fuentes de contaminación industrial de diferentes giros (Elaboración propia en Q-Gis 3.16 con datos de INEGI 2019).

El municipio de Atotonilco de Tula se localiza al noroeste del estado de Hidalgo, sus coordenadas geográficas son; 20° 00' 26" latitud norte y 99° 13' 14" longitud oeste a una altitud de 2175 msnm, limita al norte con el municipio de Atitalaquia, al sur con Huehuetoca, al oeste con Tula de Allende y Tepeji del Río y al este con el Estado de México (Cabrera, 2003).

Atitalaquia se localiza al sur del territorio hidalguense entre los paralelos 20° 01' y 20° 06 de latitud norte; los meridianos 99° 08' y 99° 18' de longitud oeste y con una altitud entre 2000 y 2700 msnm. Colinda al norte con los municipios de Tlaxcoapan y Tetepango; al este con el municipio de Ajacuba; al sur con los municipios de Atotonilco de Tula y Tula de Allende; al oeste con el municipio de Tula de Allende y Tlaxcoapan. Este municipio representa el 0.30 % de la superficie del estado dentro de la región geográfica denominada como Valle del Mezquital (Cabrera, 2003).

El municipio Tula de Allende se localiza al sur poniente del territorio hidalguense entre los paralelos 19° 55' y 20° 11' de latitud norte; los meridianos 99° 15' y 99° 32' de longitud oeste; con una altitud de entre 2100 y 2700 msnm. Colinda al norte con los municipios de Chapantongo, Tepetitlán y Tezontepec de Aldama; al este con Tezontepec de Aldama, Tlaxcoapan, Atitalaquia y Atotonilco de Tula; al sur con el municipio de Tepeji del Río de Ocampo y al oeste con el estado de México. Este municipio cuenta con una superficie de 336.11 kilómetros cuadrados (km²), y representa el 1.61 % de la superficie del estado, dentro de la región geográfica denominada como Valle del Mezquital. También es el municipio central de la zona metropolitana de Tula, integrada por los municipios de Atitalaquia, Atotonilco de Tula, Tlahuelilpan y Tlaxcoapan (Cabrera,2003).

El municipio de Apaxco de Ocampo se localiza en el extremo meridional del Valle de México, con coordenadas céntricas de 19° 58'11" latitud norte y 99° 58' 11" longitud oeste y una altura media de 2200 msnm, donde limita al norte con el estado de Hidalgo, al sur con el municipio de Tequixquiac, al oeste con el Estado de Hidalgo y al este con los municipios de Hueypoxtla y Tequixquiac (Cabrera,2003).

Estos municipios se localizan dentro de dos cuencas hidrológicas: Presa Endhó y Río Salado. La primera tiene una superficie de aportación de 1,356 km², se ubica en el centro del país, se encuentra delimitada al Norte por la cuenca hidrológica Río Tula, al este por la cuenca hidrológica Río Salado, al oeste por la cuenca hidrológica del Río San Juan, y al sur por la cuenca hidrológica Presa Requena.

Entre las fuentes de contaminación que se concentran en esta región se encuentran diversas industrias como la refinería Miguel Hidalgo de Petróleos Mexicanos (PEMEX), una termoeléctrica Comisión Federal de Electricidad (CFE), diversas cementeras y caleras, la planta tratadora de aguas residuales (PTAR), la presa Endhó la cual recibe las aguas residuales de la ciudad de México, colocándola en una situación alarmante de degradación no solo ecológica sino también social (Ortiz-Espejel, 2019).

I.1.2.1. Principales fuentes de contaminación de la región Tula-Apaxco

Desde los años ochenta, esta región ha concentrado diversas fuentes de contaminación debido al establecimiento de industrias. En 1976, Petróleos Mexicanos (PEMEX) construyó la refinería Miguel Hidalgo, qu se cataloga como una de las empresas con la mayor emisión de dióxido de azufre. Posteriormente, la Comisión Federal de Electricidad (CFE) estableció la Central Termoeléctrica Francisco Pérez Ríos, considerada una de las más contaminantes debido a sus emisiones, que representan aproximadamente el 75 % de óxidos de azufre y el 56 % de partículas inhalables de 2.5 PM, ambas empresas emiten enormes columnas de humo de distintas tonalidades como rojo, negro y gris (Cabrera *et al.*, 2003; Carrasco y Vargas 2015).

Con respecto a la minería no metálica, el Servicio Geológico Mexicano (SGM) reporta cuatro distritos, entre los cuales se encuentran Tepeji del Río de Ocampo, Tlaxcoapan, Tula y Atotonilco, donde se extrae la roca caliza, materia prima para la fabricación del cemento. Además, en esta región se encuentran plantas cementeras

y caleras, así como empresas de agroquímicos e industrias de alimentos y productos plásticos (Azamar y Téllez, 2021). Según la Cámara Nacional del Cemento (CANACEM, 2015), en la región Tolteca están establecidas siete plantas cementeras entre ellas Cementos de México (CEMEX, México S.A). (planta Atotonilco y Huichapan) que es la más grande de México y la cuarta a nivel mundial, seguida de Cementos APASCO S.A. de C.V. (Actualmente Holcim), Cementos LAFARGE S.A. de C.V. (planta Vito y Tula), Cementos CRUZ AZUL S.C.L. (planta Tula), y Cementos FORTALEZA (planta el Palmar, Hidalgo), conformando un corredor que va de Tula de Allende a Apaxco de Ocampo (Martínez, 2018).

La contribución de este giro industrial al aumento de la contaminación radica en las malas prácticas durante el proceso de elaboración del cemento. Una de estas prácticas es la incineración de residuos sólidos como residuos hospitalarios, industriales, sólidos urbanos, lodos de depuradoras, biomasa, llantas, PET (Polietileno Tereftalato), automóviles y coque de petróleo. Esta actividad libera una gran cantidad de sustancias peligrosas que pueden ser cancerígenas, entre ellas dioxinas y furanos, hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), hexaclorobenceno, tetracloroetano, óxidos de nitrógeno (NO_x), dióxido de azufre (SO₂), partículas finas y metales pesados como talio (Tl), arsénico (As), cadmio (Cd), plomo (Pb) mercurio (Hg), aluminio (Al), cobalto (Co), zinc (Zn), cromo (Cr), además de gases de efecto invernadero. Estas sustancias son extremadamente perjudiciales para la salud humana (Murillo *et al.*, 2012; Carrasco y Vargas 2015; Martínez, 2018). Uno de los mayores problemas es la falta de equipos de filtración; las industrias se ubican aproximadamente a 500 m a la redonda de la población, el polvo liberado se convierte en un peligro para la flora, la fauna, los cuerpos de agua y la población humana que habita cerca de la zona (Martínez, 2018).

El sector eléctrico también se destaca como una de las principales fuentes de contaminación, especialmente las plantas termoeléctricas. Estas instalaciones generan electricidad utilizando agua extremadamente caliente para producir vapor, lo cual eleva la temperatura y la presión necesarias para mover las hélices de una

turbina. Para calentar el agua, se utilizan combustible fósil, lo que contribuye a la liberación de compuestos contaminantes como dióxido de carbono (CO₂), óxidos de azufre (SO_x) y óxidos de nitrógeno (Nox) (Romo-Gómez *et al.*, 2019).

La refinería Miguel Hidalgo es una fuente significativa de contaminación debido a las grandes cantidades de calor requeridas para dividir el petróleo, lo cual implica la utilización de temperaturas muy elevadas. Este proceso genera una mayor emisión de contaminantes, poniendo en riesgo a la población y generando diversos problemas sociales, económicos, ambientales y de salud pública. Asimismo, otra planta con alta emisión de contaminantes es Geocycle México, encargada de recolectar todos los residuos industriales y distribuirlos a las plantas cementeras, lo que contribuye significativamente a la contaminación ambiental (Romo-Gómez *et al.*, 2019).

Además de las industrias mencionadas, existen otras actividades económicas como la industria textil, alimentaria, agroquímica, plásticos y fabricación de maquinaria y equipo, en la región también existen más de 149 industrias con diversas actividades productivas. Estas industrias pueden emitir altas concentraciones de compuestos tóxicos como metales pesados, dioxinas y furanos, los cuales son altamente tóxicos y carcinogénicos

Por otra parte, el río Tula que descarga sus aguas en la presa Endhó está catalogado como el principal colector de aguas residuales del Valle de México. La presa Endhó inicio su construcción desde 1947 y se terminó hasta 1953, y fue a partir del año de 1975 que empezó a recibir las aguas del río Tula y con ello se empezaron a acumular compuestos tóxicos en los sedimentos, esto ha afectado principalmente los mantos freáticos, resultando en la contaminación de los pozos de agua potable. Algunas investigaciones han detectado la presencia de metales pesados como Pb, As, Hg y Mn, cuyos niveles exceden los límites máximos permitidos según la normatividad mexicana (Ortiz-Espejel, 2019).

El Instituto Nacional de Ecología y Cambio Climático (INECC, 2022) menciona que la calidad del aire en la región Tolteca es preocupante, los contaminantes que se encuentran en mayor concentración son las partículas suspendidas PM10, generadas por la termoeléctrica en un 41 %, seguido del dióxido de azufre que es generado por la misma fuente en un 59 %, mientras que la refinería y petroquímica proporcionan el 41%; el monóxido de carbono generado por las diversas cementeras ocupa el 26% y la combustión doméstica el 23%. Además del monóxido de carbono están los óxidos de nitrógeno que las cementeras emiten al aire en un 31% y la termoeléctrica con 26%. Finalmente, la concentración de los compuestos orgánicos volátiles (COVs) pueden estarse generando por las aguas residuales ocupando en un 39% y las biogénicas en 18%.

Tula de Allende es el municipio que genera mayor emisión de contaminantes representando el 60% de emisiones totales de partículas suspendidas PM2.5; el 59% de dióxido de azufre, 55% de partículas suspendidas PM10, el 51% de emisiones de óxidos de nitrógeno y el 41% de monóxido de carbono. Este municipio es la zona donde se generan las mayores emisiones de contaminantes, seguido de Atotonilco de Tula con un 45% de emisiones totales de COVs y Atitalaquia con un 41% de las emisiones de dióxido de azufre (PROAIRE 2021-2030 del Estado de Hidalgo). Estos datos sin duda son altamente alarmantes para la región tolteca ya que representan un serio problema relacionado con la calidad de aire.

En 2010, se edificó la planta tratadora de aguas residuales (PTAR) en Atotonilco, catalogada como una de las más grandes de América Latina. Sin embargo, paradójicamente, esta planta no cumple ni siquiera con el 50 % del tratamiento requerido (Ortiz-Espejel, 2019).

I.1.3. El plomo

Uno de los temas prioritarios a nivel mundial es la elevada contaminación ambiental, debido principalmente a los efectos adversos que genera sobre la salud pública.

Entre la infinidad de sustancias tóxicas que se emiten al ambiente se encuentran los Elementos Potencialmente Tóxicos (EPT), como cadmio, bario, mercurio, flúor, arsénico, níquel, aluminio y plomo, siendo este último uno de los más analizados por el riesgo que representa para la salud humana (Rodríguez *et al.*, 2016).

Desde hace ya varias décadas, la contaminación por Pb figura como uno de los principales problemas laborales y en la población abierta. El Pb es un metal pesado de color gris plateado, maleable y ubicuo, esta distribuido en el ambiente por fuentes naturales y antrópicas, es considerado el principal contaminante del planeta entre los metales (ATSDR, 2020). De forma natural se encuentra en la corteza terrestre, es persistente en el ambiente, se encuentra asociado o adherido a algunos minerales, siendo la galena (sulfuro de plomo) el mineral con mayor riqueza de plomo y la fuente principal de su producción comercial. Las fuentes antropogénicas son responsables de la mayor cantidad de liberación de plomo al ambiente. Estas fuentes incluyen la extracción y procesamiento de minerales de Pb, fundiciones de hierro y acero, fabricación de baterías, productos químicos, producción de gasolina, emisiones vehiculares, producción de cemento, fabricación y revestimiento de cables, así como la fabricación de pinturas, barnices, esmaltes, alfarería, vidrios y cristales (Cifuentes, 2000; ATSDR, 2020).

Desde los años 90, se han implementado diversas acciones para eliminar el uso del óxido de plomo en el vidriado de la cerámica. A pesar de los esfuerzos, la Norma Oficial Mexicana NOM-004-SSA1-2013 establece que se debe evitar el uso de plomo en productos como plaguicidas, pinturas, esmaltes, alfarería, cerámica, porcelana, cosméticos, juguetes y plomería que transporta agua potable, entre otros. Sin embargo, la producción de cerámica artesanal sigue siendo una fuente significativa de exposición ocupacional al plomo (Flores *et al.*, 2012; Ortiz-Ortiz, 2017; Téllez *et al.*, 2019, Obeng-Gyasi, 2019).

Este elemento es persistente en el ambiente y con baja movilidad, tiende a dispersarse por el aire en forma de partículas, las cuales pueden ser depositadas

por la lluvia o efecto gravitacional. En el suelo, el Pb generalmente se encuentra en las capas superficiales y su movilidad limitada reduce la filtración hacia el subsuelo, la interacción del plomo con el suelo es mayor en presencia de materia orgánica y coloides. Un aumento en el pH del suelo puede disminuir esta interacción, haciendo que el plomo sea más móvil, sin embargo, debido a estas características, es más común encontrarlo en sedimentos que en el agua misma (ATSDR, 2020).

Aunque el plomo no es esencial para la vida, lamentablemente ha sido muy utilizado en numerosos procesos industriales para la fabricación de diversos productos, lo cual ha generado graves problemas de contaminación ambiental y de salud debido a su alta toxicidad. Este elemento tiene la capacidad de bioacumularse y biomagnificarse en la cadena alimentaria, lo que agrava aún más su impacto ambiental y en la salud humana (Rodríguez, 2016; ATSDR, 2020; WHO, 2021b).

Con respecto a las fuentes de contaminación por Pb en el sitio de estudio, en la Tabla 1 se enlistan diversas empresas que en alguna etapa de sus procesos generan residuos de este metal.

Tabla 1. Fuentes documentadas de emisión de plomo en los municipios de Apaxco, Atitalaquia, Atotonilco y Tula.

Unidad Económica	Tipo de Actividad	Municipio	Localidad
Cal de Apasco	Cal	Apaxco	Apaxco
Cementos Apasco (Holcim)	Cemento	Apaxco	Apaxco
Artículos de limpieza	Química	Apaxco	Apaxco
Procesadora de minerales para el campo	Química	Apaxco	Santa María
Cargill	Alimentos	Atitalaquia	P. Ind. Atitalaquia
Sigma Alimentos	Alimentos	Atitalaquia	P. Ind. Tula
Barcel	Botanas	Atitalaquia	P. Ind. Atitalaquia
Cerillera La Central	Cerillos	Atitalaquia	P. Ind. Atitalaquia

Tabla 1.....Continuación

Unidad Económica	Tipo de Actividad	Municipio	Localidad
CFE Central Termoeléctrica	Generación de electricidad	Atitalaquia	P. Ind. Tula
Pemex Terminal de Gas Licuado Tula	Hidrocarburos	Atitalaquia	P. Ind. Tula
Pemex C.P.Q. Tula	Hidrocarburos	Atitalaquia	La Loma
Pemex Refinería Tula	Hidrocarburos	Atitalaquia	La Loma
Clarimex	Química	Atitalaquia	P. Ind. Tula
Industrias de Hule Galgo	Química	Atitalaquia	P. Ind. Tula
Pisa Agropecuaria	Química	Atitalaquia	P. Ind. Tula
Agromaquilas	Química	Atitalaquia	P. Ind. Atitalaquia
Aguas Tratadas del Valle de México	Aguas negras	Atotonilco de Tula	San Antonio
Cooperativa Cal El Tigre	Cal	Atotonilco de Tula	Atotonilco
Caleras Beltrán	Cal	Atotonilco de Tula	Atotonilco
Procal 2000	Cal	Atotonilco de Tula	Progreso
Cemex	Cemento	Atotonilco de Tula	Vito
Fortaleza	Cemento	Atotonilco de Tula	El Refugio
Fortaleza Vito	Cemento	Atotonilco de Tula	Vito
Procesos agroquímicos	Química	Atotonilco de Tula	Progreso
Pemex Aguas Tratadas de Tula	Aguas negras	Tula de Allende	El Llano
Cooperativa Cruz Azul	Cemento	Tula de Allende	San Miguel Vindho
Cosméticos biocosméticos	Química	Tula de Allende	San Miguel Vindho
Alfa Químicos	Química	Tula de Allende	El Llano
Productos para limpieza Gómez	Química	Tula de Allende	Tula
Productos de limpieza Sin Nombre	Química	Tula de Allende	El Llano
Procesadora industrial petroquímica	Química	Tula de Allende	Tula
Sayer Lack	Química	Tula de Allende	Tula
Sifatec	Química	Tula de Allende	El Llano

Comunicación personal Carrasco-Gallegos, 2021 (INEGI 2019, SEMARNAT 2011-2020)

I.1.3.1. Exposición ambiental al plomo

Derivado de los usos del plomo y y propiedades fisicoquímicas, existen diversas fuentes y vías de exposición, entre ellas destaca las pinturas, las emisiones industriales, las tuberías y accesorios de agua con Pb, los cosméticos y las ollas de barro vidriado etc. El medio ambiente se puede contaminar con Pb a través de las minas, las fundiciones y las fábricas cuando la regulación de emisiones no es adecuada, ya que este metal puede ser liberado en forma de vapores y partículas que estas pueden llegar a ser depositadas en el suelo y en el agua, afectando la agricultura y la ganadería y de esta manera entrar en la cadena alimenticia. Las pequeñas industrias como el reciclaje de baterías, representan una fuente de exposición tanto ocupacional como ambiental. Otra fuente de contaminación ambiental es la pintura con Pb, esto ocurre cuando la pintura se deteriora y se desprende de las paredes incorporandose al polvo doméstico, además del decapado de la pintura por acción de la quema o de métodos abrasivos. El repintado de estructuras metálicas y la demolición de edificios antiguos, resulta ser una fuente importante de liberación de partículas de Pb en el aire y en el suelo, y de esta manera llegar a las viviendas (Charkiewicz, 2020, WHO, 2022).

La exposición de un organismo a un xenobiótico, su transcurso temporal dentro del organismo hasta su eliminación y los efectos tóxicos en los órganos blanco puede dividirse en tres fases: a) de exposición: involucra las transformaciones químicas, biodegradación por microorganismos y desintegración que sufren los agentes tóxicos en el ambiente hasta que el organismo está en contacto con dicho agente o sus metabolitos, b) toxicocinética: comprende la absorción, transporte a través de fluidos corporales, distribución y acumulación en tejidos y órganos, biotransformación y eliminación del organismo y c) toxicodinámica: incluye la interacción de los tóxicos con sitios de acción dentro de las células o en la superficie, lo que resulta en un efecto tóxico observable (Rodríguez, 2016).

Como parte de la toxicocinética, la absorción de plomo por vía digestiva puede afectarse por factores como la alimentación, la edad, el estado nutricional, la

genética, entre otros, la deficiencia de hierro o calcio en los alimentos incrementan la absorción, los niños son los que mayor porcentaje de plomo absorben por vía digestiva (40 a 50 %). La absorción por inhalación depende del tamaño de las partículas, la concentración y la tasa de ventilación. Las partículas pequeñas de Pb ($<1\ \mu\text{m}$) se depositan en las vías respiratorias bajas, donde se absorbe casi por completo, mientras que las partículas más grandes ($1\text{-}10\ \mu\text{m}$) posiblemente se depositan en las vías respiratorias altas, transfiriéndose al sistema respiratorio para ser ingeridas. A través de la piel la absorción es mínima (WHO, 2022).

El Pb en el organismo se distribuye mediante su unión con los eritrocitos de la sangre quien lo lleva a los tejidos blandos y huesos, de tal manera que la sangre y los tejidos blandos se convierten en la reserva activa mientras que los huesos en almacén. El depósito en hueso, se produce como fosfato tricálcico de Pb. El 95% de la carga corporal total del Pb se encuentra en el hueso. Los humanos contienen un 80% de hueso cortical y un 20% de hueso trabecular. El intercambio de Pb entre la sangre y el hueso se produce a través del hueso trabecular. Hay dos vidas medias diferentes entre los dos tipos de hueso, siendo el hueso trabecular el que realiza mayor recambio de Pb en menor tiempo. La vida media del Pb en el hueso cortical es de aproximadamente veinte años, mientras que en el hueso trabecular es de un año. El Pb puede expulsarse de sangre mediante procedimientos normales o a través de una terapia de quelación, cuando esto pasa puede reponerse del que se encuentra acumulado en los huesos. Éste puede liberarse de los huesos a través de procesos metabólicos que incrementan el recambio óseo, como pasa durante el embarazo, la lactancia, la menopausia, el hipertiroidismo, el cáncer óseo y la inmovilización debido a fracturas óseas (WHO, 2022).

El metabolismo del plomo en el organismo es casi nulo, un mecanismo que realiza el plomo inorgánico es unirse a los aminoácidos, las proteínas y los compuestos de sulfhidrilo de manera reversible. Por su parte los compuestos orgánicos de Pb se metabolizan hasta convertirse en Pb inorgánico. Los compuestos alquílicos, como el tetraetilo de plomo y el tetrametilo de plomo, sufren una desalquilación oxidativa

para formar los compuestos de alta neurotoxicidad trietilo y trimetilo de Pb, respectivamente (WHO, 2022).

Finalmente el Pb de la sangre y los tejidos blandos se puede eliminar rápidamente, en sangre entre 30 y 40 días se llega a eliminar del 50 a 60 % . De lo acumulado en hueso se elimina poco a poco, y el promedio de vida depende de la edad así como de la exposición. Cuando las dosis son altas la cantidad que se elimina por materia fecal es menor. Existe un ritmo circadiano de eliminación por vía renal, este a su vez presenta una menor eliminación por la noche. Mediante el tracto gastrointestinal la eliminación se da por bilis, en forma de complejo glutatión-plomo (WHO, 2022).

El Pb tiene gran afinidad con los grupos sulfhidrilos y puede simular a otros metales esenciales como el Zn, el Fe y, en particular, el Ca. Derivado de estas propiedades la toxicidad del Pb depende de la dosis así como del órgano afectado. La acción tóxica implica diversos cambios entre los que destaca el estado iónico y la comunicación celular, en la unión a proteínas, estrés oxidativo, inflamación, alteración endocrina, muerte celular y genotoxicidad (WHO, 2022).

1.1.3.2. Vías de exposición

El Pb es uno de los metales pesados más perjudiciales para la salud humana, puede ingresar al organismo por tres vías: respiratoria, digestiva, dérmica o cutánea (Figura 3). El plomo inorgánico solo puede acceder por las dos primeras, mientras que el orgánico puede entrar por cualquiera. A través de la piel atraviesa los folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas para llegar directamente al torrente sanguíneo (Rubio *et al.*, 2004).

La cantidad de este metal que se absorbe por vía respiratoria es cercano al 40 %, aunque un porcentaje de la absorción puede llevarse a cabo en las vías aéreas superiores el mayor porcentaje tiene lugar en las vías respiratorias inferiores, a nivel de alvéolo, a través de la circulación pulmonar. En cuanto a la vía digestiva puede

ingresar al cuerpo humano a través de la comida (65%), agua (20%) y aire (15%) una vez dentro se fija en la saliva y se ingiere. Los adultos absorben el 10 % de plomo ingerido, mientras en los niños la absorción puede ser significativamente más alta, del 30% hasta el 50%. Por la vía digestiva la absorción se ve mediada por factores como el tránsito gastrointestinal, el estado nutricional, la edad, tamaño de la partícula del metal, deficiencia de hierro y calcio, dieta rica en grasa, ingesta inadecuada de calorías, presencia de estómago vacío o ayuno prolongado (ATSDR, 2020).

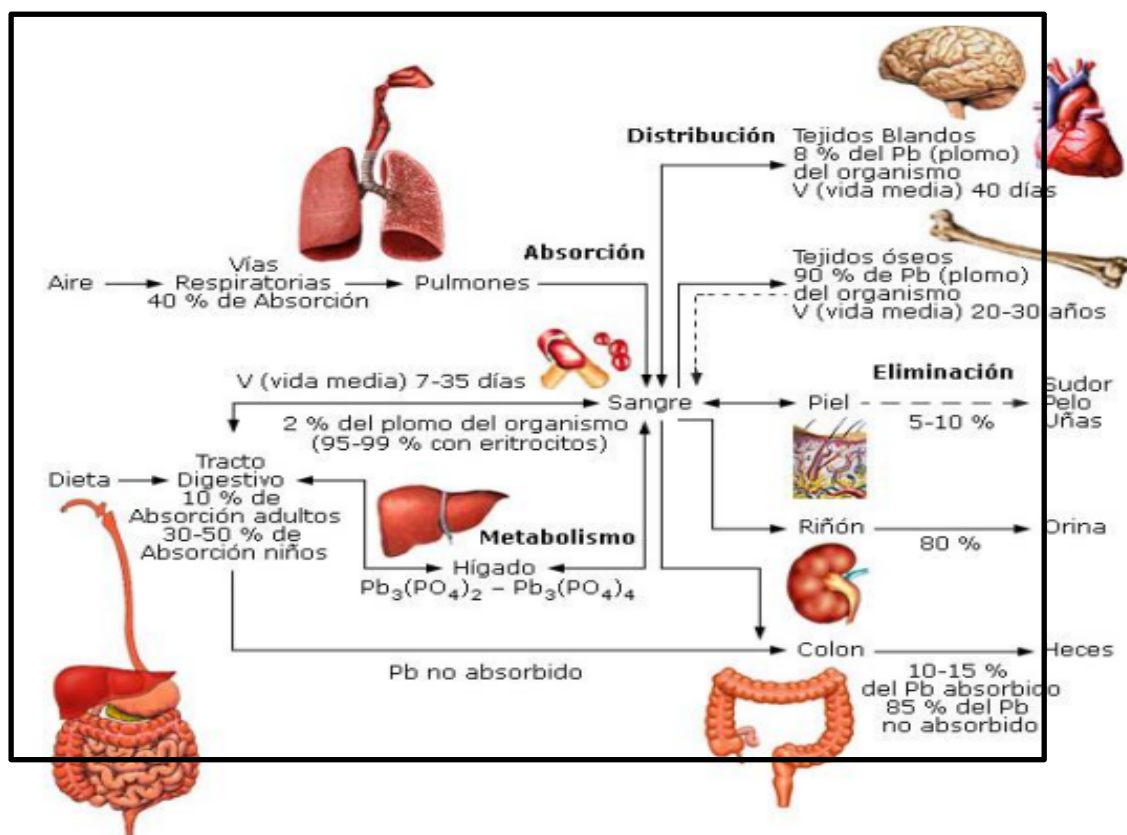


Figura 3. Toxicocinética del plomo en el organismo humano (Tomado de Rodríguez, 2016).

La ingesta de alimentos cocinados con ollas de barro vidriado y barnizados con óxido de plomo, es una forma más de exposición a plomo, lamentablemente este hecho en muchas ocasiones pasa desapercibido para el resto de la población (Ortiz-

Ortiz *et al.*, 2017). Aunado a lo anterior, la disposición inadecuada y la combustión accidental o intencional de basura donde se encuentran baterías, pilas, desechos electrónicos y diversos materiales que contienen plomo contribuyen a la liberación de éste y otros metales al aire, con la consecuente deposición atmosférica y acumulación en superficies terrestres y cuerpos de agua. Las comunidades que viven cerca de sitios potencialmente emisores de plomo presentan un mayor riesgo de exposición y de padecer enfermedades asociadas a este metal.

Una vez dentro del organismo el Pb se acumula en los huesos a lo largo de la vida, pero al mismo tiempo, es movilizado hacia la sangre,

Esta capacidad de movilización es especialmente preocupante en las madres gestantes, ya que el plomo puede atravesar fácilmente la barrera placentaria y acumularse en los huesos del feto. De hecho, la concentración de plomo en el cordón umbilical puede representar entre el 85% y el 90% de la concentración presente en la sangre materna, lo que pone al feto en constante riesgo potencial; la exposición prenatal al plomo puede resultar en abortos espontáneos, partos prematuros, y bajo peso al nacer, además, puede causar daños significativos al sistema nervioso y al cerebro. (Rodríguez *et al.*, 2016; ATSDR, 2020).

I.1.4. Biomarcadores

Los marcadores biológicos son cambios bioquímicos, fisiológicos o morfológicos que pueden ser medibles y pueden ser un reflejo de la exposición a un agente tóxico. Los biomarcadores son observaciones que sustituyen y predicen idealmente un resultado intermedio de valoración clínica relevante o intermedio difícil de observar, frecuentemente son utilizados como indicadores del estado de salud o del riesgo a enfermedades y se emplean en estudios tanto *in vitro* como *in vivo* incluyendo seres humanos. El uso de biomarcadores para evaluar los efectos de diversos contaminantes es más fácil y menos costoso además los resultados se obtienen en menor tiempo. Son utilizados en la detección, diagnóstico, caracterización y

seguimiento de enfermedades, como indicadores de pronóstico; para estudios farmacodinámicos y de dosis-respuesta, entre otros (Aronson y Ferner, 2017; Gajski *et al.*, 2020).

Pueden clasificarse en de exposición, efecto y susceptibilidad, convirtiéndose en una herramienta útil para evaluar el riesgo potencial por exposición a contaminantes ambientales. A nivel individual pueden emplearse para apoyar o rechazar el diagnóstico por intoxicación o de otros efectos adversos inducidos por sustancias químicas (Koppen, 2017).

Los biomarcadores de exposición implican la evaluación de compuestos exógenos o sus metabolitos en un organismo que indica la exposición a un xenobiótico, el análisis se realiza en tejidos y/o fluidos corporales. Estos biomarcadores pueden ser selectivos cuando realizan la cuantificación directa del tóxico, o sus metabolitos en fluidos biológicos, por ejemplo PbS, mientras que los no selectivos implican un grupo de indicadores inespecíficos de exposición como el análisis de tioéteres en orina como indicadores de exposición a sustancias electrófilas que a la vez reflejan la absorción de sustancias mutagénicas y cancerígenas (Ramírez, 2006).

Un biomarcador de efecto es el parámetro biológico que refleja la interacción del químico con los receptores biológicos. Como estas alteraciones anteceden al daño estructural, su detección permite la identificación precoz de exposiciones excesivas o peligrosas y tomar medidas preventivas (Ramírez, 2006). Éste tipo de marcador por lo general son indicadores preclínicos de anomalías. Pueden ser específicos cuando indican un efecto biológico a partir de una exposición particular, proporcionando evidencias con fines preventivos, y no específicos cuando no apuntan a una causa individual del efecto, pero reflejan el efecto total integrado debido a una exposición mixta.

Los biomarcadores de efectos suelen indicar cambios en las funciones de las células, que pueden relacionarse con los efectos genotóxicos. El daño a los

cromosomas puede ser evaluado como aberraciones cromosómicas o formación de micronúcleos, entre otros (Ramírez, 2006). Ambos tipos de biomarcadores pueden tener un uso considerable en la salud ocupacional.

I.1.5. Ensayo de micronúcleos (MN)

Es un biomarcador que evalúa el daño a nivel cromosómico. Se ha aplicado en estudios ecotoxicológicos empleando diversas especies de vegetales (Juárez *et al.*, 2013) y animales silvestres o cultivados en el laboratorio (García *et al.*, 2014) expuestas a agentes clastógenicos y aneugénicos. Los MN son cuerpos de cromatina rodeados por una membrana y visibles en las células en interfase, se originan con fragmentos de cromosomas acéntricos y/o de cromosomas enteros retardados que no se incorporan al núcleo de la nueva célula. Un segundo origen son los fragmentos inducidos por rompimiento de puentes nucleoplasmáticos durante la etapa de anafase. Su origen además puede estar asociado a la aparición de mutaciones cromosómicas tanto estructurales como numéricas. Los MN se forman en la telofase donde una envoltura nuclear envuelve a los fragmentos o cromosomas no incorporados que quedaron en el citoplasma de las células hijas y se transforman en núcleos secundarios, de forma redonda o almendrada, mucho más pequeños que los núcleos verdaderos. Estos eventos pueden ocurrir espontáneamente, por efecto de ciertos agentes endógenos o exógenos, ocasionando la formación de MN. Además de los MN están las anomalías nucleares (AN) y citoplasmáticas que indican daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular. Estas se pueden distinguir en células normales por sus alteraciones en el citoplasma o en la morfología del núcleo, como núcleo lobulado (NL), puentes de cromatina (PC). El mecanismo de formación o su significado biológico de las AN no está muy bien esclarecido, sin embargo, se han reportado altas frecuencias bajo condiciones patológicas o por exposición (Fenech, 2000; Russo y Degraasi, 2018).

El ensayo de MN se ha propuesto para las pruebas de genotoxicidad debido a que los MN pueden calificarse y enumerarse fácilmente, esta prueba obtuvo consenso

y validación inmediata y rápidamente se convirtió en el principal método de detección *in vivo* utilizado para las pruebas de genotoxicidad (Russo y Degrossi, 2018). Fenech y Morley (1985) desarrollaron un método basado en la inhibición de la citocinesis inducida por citocalasina B, que demostró ser preciso y sensible y ha sido aceptado como una alternativa validada al laborioso ensayo de aberración cromosómica *in vitro*.

El ensayo de MN ha surgido como un marcador de pronóstico en pacientes con cáncer y como un posible predictor de respuesta terapéutica. Es un marcador bastante fiable de la inestabilidad cromosómica, debido a que este ensayo puede detectar altos niveles de MN, los cuales se asocian con un mayor riesgo de desarrollar cáncer por lo tanto facilitan su detección temprana.

Los MN actúan en las células normales como desencadenantes de la activación y el aclaramiento inmunológico, además de funcionar como señales de respuesta al estrés. En las células cancerosas los MN han demostrado promover inflamación protumoral, inducir alteraciones epigenéticas y catalizar el genoma a gran escala. La ruptura micronuclear se ha asociado con la progresión del cáncer, ya que este evento puede acelerar la rápida evolución del genoma, la reprogramación epigenética y activar vías de señalización inmune, aunado a esto también se ha vinculado con la progresión metastásica favoreciendo la supervivencia de las células tumorales y la rápida adquisición de la heterogeneidad genómica (Di Bona y Bakhoun 2024).

Los MN son fundamentales durante la evolución del cáncer y la progresión metastásica. Por lo tanto, las terapias dirigidas a los procesos micronucleares pueden ser extremadamente selectivas para las células cancerosas cromosómicamente inestables, con una toxicidad limitada para las células no transformadas. Además varios de los mecanismos desregulados por la ruptura micronuclear podrían representar una vulnerabilidad para las células cancerosas (Di Bona y Bakhoun 2024).

Un estudio de Tang, (2022) demuestra que el daño al ADN en los MN es el resultado de la activación de vías específicas que están inactivas en los núcleos primarios, de hecho, los MN tienen una alta tasa de híbridos de ARN-ADN llamados bucles R, cuya presencia también está relacionada con la inestabilidad genómica. En los MN, los bucles R actúan como andamio para la deaminasa (ADAR), que edita la desoxinosina (DL) que produce ADN, después la DL es reconocida por el ADN glicosilado MPG que forma sitios abásicos, que a su vez son cortados por la endonucleasa APE1. Este mecanismo es uno de los principales contribuyentes con la fragmentación del ADN en MN (Di Bona y Bakhoun 2024).

I.1.6. Ensayo cometa

La electroforesis alcalina en células individuales (por sus siglas en inglés SCGE) o ensayo cometa, se encuentra ampliamente difundida para la evaluación de daño al material genético. Este ensayo es utilizado para identificar rupturas de cadena simple y doble, sitios débiles al álcali, sitios de reparación incompleta y ligamientos cruzados en la molécula. Es un ensayo de alta sensibilidad, rápido, capaz de detectar bajos niveles de daño al ADN, que puede ser aplicado a todo tipo celular. Por tanto, es considerado una herramienta eficiente para su utilización en biomonitorio de poblaciones expuestas (Tonina *et al.*, 2017).

El ADN está organizado en el núcleo alrededor de las proteínas de tono, que ayudan en su superenrollamiento y empaque. La interacción del ADN con genotóxicos puede causar roturas de la cadena de ADN. El ensayo Cometa se basa en el principio de que las roturas de las cadenas reducen el tamaño de la molécula de ADN dúplex, a un pH=13 las cadenas relajadas se extraen durante la electroforesis. La alta concentración de sal en la etapa de lisis del ensayo (pH=10) elimina las membranas celulares, las histonas, el citoplasma y el nucleoplasma, y altera los nucleosomas, dejando atrás el nucleoide, que consiste en el ADN superenrollado negativamente. Durante la electroforesis, este ADN dañado se extrae hacia el ánodo, formando así el "cometa" distinto, con una cabeza (ADN intacto) y una cauda

(ADN dañado), visualizada después de la tinción fluorescente (Dhawan, 2013). En los estudios de monitoreo humano esta técnica puede ser utilizada con células proliferantes y no proliferantes, en células de tejidos que son los primeros sitios de contacto con sustancias mutagénicas y carcinogénicas, aunque también puede ser evaluada en todo tipo de células eucariotas (Collins, 2015).

El ensayo cometa es un marcador importante para evaluar el daño y la reparación del ADN, proceso importante en la carcinogénesis. La mayoría de las alteraciones afectan la estructura primaria de la doble hélice; es decir, las bases sufren modificaciones químicas que pueden interrumpir la estructura helicoidal al introducir enlaces químicos no nativos o aductos voluminosos que no encajan en la doble hélice estándar. Estas lesiones generan rotura de hebras de ADN, ya sea de cadena simple o doble, mutaciones y reordenamientos cromosómicos. El daño en el ADN suele ocurrir principalmente en varias posiciones de purinas. La respuesta del daño al ADN implica el arresto del ciclo celular, la apoptosis y la activación directa de la reparación del ADN. Sin embargo cuando el daño no es reparado adecuadamente, se produce una alteración en la respuesta celular, lo que genera inestabilidad genómica, una de las características del cáncer que impulsa a la tumorigénesis y la progresión del tumor (Vodicka *et al.*, 2019).

I.2. ANTECEDENTES

La región Tula-Apaxco catalogada como una región de emergencia sanitaria y ambiental presenta una problemática ambiental delicada, orillándola hacia una constante degradación ecológica, social y primordialmente de salud pública, ante este hecho, y lo suscitado en esta región son pocos los estudios realizados.

Romo *et al.*, (2019) analizaron la problemática ambiental del corredor industrial Tula-Apaxco, con el objetivo de identificar la contribución de la industria química como principal sector de emisiones de gases de efecto invernadero (GEI) y sus efectos en la población. Entre las fuentes de contaminación de la zona se ubica la industria cementera, debido a la incineración de llantas y de residuos hospitalarios, entre otros, generando gases como CO₂, óxidos de nitrógeno (NO_x), óxidos de azufre (SO_x), metales y otros como las dioxinas y furanos. Éstos son considerados altamente tóxicos que están contribuyendo a la mala calidad del aire afectando la salud humana. Otro sector que contribuye con las emisiones de GEI, es la refinería Miguel Hidalgo que se ubica en el corredor industrial de Atitalaquia formando parte de las 115 industrias que conforman el corredor: Tula-Tepeji-Apaxco. Asimismo, es importante mencionar que en el municipio de Apaxco se encuentra la planta Geocycle México (antes ECOLTEC), ya que esta se dedicada a la recolección de residuos industriales los cuales son utilizados como combustible alternativo en los hornos cementeros. La generación de GEI ubican a la población aledaña bajo un constante riesgo.

Cifuentes *et al.*, (2000) analizaron la probable intervención del uso de aguas residuales en la agricultura y además de otros factores de riesgo, que se asociaban con niveles elevados de Pb en el Valle del Mezquital. Aplicaron una encuesta referente a los hábitos alimenticios y la ingesta dietética, los niveles de Pb en sangre venosa, arrojaron un promedio de 7.8 µg/dL. El 23 % de la población de estudio presentó niveles superiores a 10 µg/dL, mientras que el uso de cerámica vidriada

con Pb presentó una asociación significativa con las concentraciones de Pb ($p = < 0.001$). Las concentraciones más altas se detectaron en los individuos de mayor edad, en comparación con los grupos más jóvenes ($p = < 0.05$); por género los hombres arrojaron valores más altos que las mujeres ($p = < 0.05$). Finalmente, cuando estratificaron el análisis por el uso de cerámica con esmalte a base de Pb para la preparación de alimentos, detectaron una relación inversa entre la mayor ingesta diaria de calcio y el nivel de plomo en sangre ($\beta = - 0.040$, $p = < 0.05$). Las concentraciones de plomo en sangre (PbS) se asociaron positivamente con el uso de cerámica con esmalte de Pb, y la ingesta de calcio tuvo un efecto protector, participando en la disminución de la absorción de plomo en el tracto gastrointestinal. Aproximadamente el 80 % de los trabajadores agrícolas y sus familias tenían niveles de plomo por debajo de 10 $\mu\text{g/dL}$ valor considerado como aceptable.

Gómez *et al.*, (2005) evaluaron el efecto genotóxico de la exposición ocupacional a productos petroquímicos, mediante la inducción de intercambio de cromátidas hermanas (ICH), la cinética de proliferación celular y el índice mitótico. La población de estudio estuvo conformada por 42 voluntarios, 21 trabajadores de la Refinería “Miguel Hidalgo” en Tula, Hidalgo y 21 individuos de la comunidad considerados como controles. Los individuos ocupacionalmente expuestos presentaron un incremento significativo en las frecuencias de ICH con respecto al grupo control. La frecuencia no presentó asociación con el hábito de fumar, el consumo de alcohol, así como tampoco con la edad y el tiempo de exposición. Sin embargo, la cinética de proliferación celular evaluada a través de la frecuencia de metafases en primera (M1), segunda (M2) y tercera (M3) división, se incrementó significativamente en el grupo expuesto con respecto al grupo control. Así como también no hubo diferencias significativas en los índices de replicación y mitótico del grupo expuesto comparado con el control. Los resultados indican el riesgo a la salud de los trabajadores por exposición a la mezcla de vapores tóxicos.

Carrasco *et al.*, (2016), menciona que las comunidades de El Refugio, Vito, Texas y Atotonilco del Estado de Hidalgo, se presenta un amplio historial de cuadros

clínicos de intoxicación aguda generados por la emisión de contaminantes de las diferentes industrias presentes en esa zona, los habitantes de la comunidad asumen que las empresas son las responsables de estos sucesos, cuyas actividades han generado gran impacto sobre la salud humana y el ambiente. Y ante el cúmulo de accidentes provocados y los daños en la salud, nace el Movimiento Ambientalista Pro-Salud Apaxco-Atotonilco, donde aquellas comunidades o grupo de personas luchan por el respeto a su salud, así como por la conservación de los recursos naturales.

En un estudio realizado en niños residentes del área industrial de Tula de Allende, Hidalgo, determinaron niveles de Pb en sangre reportando un promedio de $4.57 \pm 1.97 \mu\text{g/dL}$, además evaluaron alteraciones hematológicas de relevancia clínica, así como retraso en la memoria espacial, sin embargo, no presentaron correlación con la concentración de PbS (Rodríguez, 2017).

Polanco, (2022), realizó un estudio en pacientes diagnosticados con enfermedad renal crónica residentes de la zona sur de Hidalgo, México, para conocer la prevalencia y epidemiología como principal factor de causa ambiental. El corredor industrial en la zona está constituido con empresas dedicadas a la producción de electricidad, plásticos, textiles, refinería de petróleo, cementeras, etc. Consideradas como las principales fuentes de contaminación. Es por ello que en esta investigación midieron creatinina sérica, obteniendo un valor promedio de $4.0 \pm 4.7 \text{ mg/dL}$, con una tasa de filtrado glomerular por modificación de la dieta en la enfermedad renal (MDRD) de $39 \pm 29.4 \text{ ml/min/m}^2$, albuminuria de $1291 \pm 346 \text{ mg/24 horas}$. Según KDOQI (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative), así como también los pacientes los clasificaron en estadios 1 (6%), 2 (15.5%), 3 (33.5%), 4 (21.5%) y 5 (23.5%). Dichos resultados indican datos sumamente significativos, y uno de los principales factores de riesgo de la enfermedad renal crónica, es la exposición crónica a contaminantes ambientales, destacando los metales pesados, como el plomo, derivados de los procesos industriales en la zona, ya que actúan como factores desencadenantes y de progresión contra la enfermedad renal crónica.

Hasta el momento no se han llevado a cabo investigaciones que documenten el estado de salud de la población pese a las reiteradas llamadas de atención de las personas que habitan cerca de esa región, esto va desde intoxicaciones agudas, enfermedades respiratorias, renales, dermatológicas, cardíacas, oncológicas, presencia de metales pesados en la sangre provocando neurotoxicidad (Hernández, 2020). Ante la gravedad de esta situación, es importante conocer el riesgo que está presentando la población, y la mejor manera de hacerlo es a través de un monitoreo de la población ambientalmente expuesta, a través de biomarcadores de exposición, de efecto y de susceptibilidad, como lo es la cuantificación de Pb en sangre (PbS), así como evaluar el daño que para el material genético representa.

I.3. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

1. ¿Los pobladores de la región Tula-Apaxco presentarán plomo en sangre?
2. ¿Los pobladores de la región Tula-Apaxco presentarán alteraciones en el ADN y estarán asociadas a la exposición a plomo?

I.4. HIPÓTESIS

Los habitantes de la región Tula-Apaxco están ambientalmente expuestos a plomo por lo que presentarán plumbemia y alteraciones en el ADN las cuales estarán asociadas a la exposición a este metal.

I.5. JUSTIFICACIÓN

La región Tula-Apaxco ha sido declarada como región de emergencia sanitaria y ambiental (RESA) debido a que se sobreponen diversas actividades industriales de dos o más núcleos económicos, generando una gran cantidad y diversidad de contaminantes, los cuales representan un riesgo potencial para la salud humana y el ambiente. Sin embargo, existe poca evidencia científica de la magnitud de la exposición a las sustancias tóxicas que se emiten al ambiente en este escenario y de los efectos en salud humana asociados a dichas sustancias. En cuanto a la exposición a plomo, no existe un programa de biomonitorio en población abierta o potencialmente expuesta a este metal, tampoco se tienen registros en el sector salud, o están poco documentados los síntomas, daños a la salud o muertes asociadas a la exposición a Pb. Así mismo, no hay estudios epidemiológicos que permitan detectar cambios de los indicadores de morbilidad y mortalidad. Es por ello que, es importante llevar a cabo este estudio el cual indicará el nivel de exposición

a plomo y la magnitud de las alteraciones en el ADN asociadas a la exposición a sustancias genotóxicas, lo que generará información que puede contribuir a la creación de conciencia ciudadana y de propuestas en búsqueda de estrategias que minimicen la exposición, además de, priorizar acciones y desarrollar proyectos encaminados a la salud integral y a la prevención de enfermedades medioambientales.

I.6. OBJETIVOS

I.6.1. General

- Evaluar el estado de salud ambiental en pobladores de la región Tula-Apaxco mediante biomarcadores de exposición y de efecto para analizar el riesgo potencial por exposición ambiental a plomo y a sustancias genotóxicas.

I.6.2. Específicos

- Cuantificar las concentraciones de plomo en sangre de pobladores de la región Tula-Apaxco mediante el equipo LeadCare® II para conocer la magnitud de la exposición ambiental a este metal.
- Medir el daño al ADN en células sanguíneas mediante el ensayo de MN y cometa para establecer el riesgo genotóxico de los pobladores de la región Tula-Apaxco.
- Evaluar la asociación de la plumbemia con las variables genotóxicas para determinar el riesgo en la salud de pobladores de la región Tula-Apaxco.

I.7. METODOLOGÍA

I.7.1 Sitio de estudio

La zona de estudio abarcó los municipios de Atotonilco de Tula, Atitalaquia y Tula de Allende del Estado de Hidalgo y Apaxco de Ocampo del Estado de México. Estas áreas comparten características de industrialización y urbanización, además de la contaminación hídrica, atmosférica y de suelos por sustancias tóxicas (Carrasco-Gallegos, 2022). En esta zona se encuentran cinco fábricas cementeras, una refinería, una termoeléctrica, la planta de tratamiento de aguas residuales de Atotonilco (PTAR), cuatro caleras y otras industrias manufactureras de diversos giros como la extracción minera de materiales no metálicos de forma intensiva (Figura 2) (INEGI, 2019).

I.7.2 Evaluación de la exposición

1.7.2.1. Selección de la población

El proyecto fue aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Odontología de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (Anexo 1). Se consideraron personas de ambos sexos que estuvieran directa o indirectamente expuestas a fuentes de contaminación por Pb. Los criterios de inclusión fueron: a) edad de 20 a 40 años, b) residencia mínima de 2 años en la zona, c) que laboren o habiten como máximo a 5 km de distancia de las fuentes de contaminación, d) de preferencia no fumar y no consumir bebidas alcohólicas, e) que no tengan antecedentes de alguna enfermedad degenerativa (diabetes, hipertensión, nefropatía, insuficiencia renal, epilepsia, toxemia gravídica o alguna enfermedad de transmisión sexual (ETS), etc.) y f) no encontrarse bajo tratamiento médico, quimioterapia o radioterapia.

Carta de consentimiento informado

Cada participante asistió de forma voluntaria y firmó una carta de consentimiento informado (Anexo 2), previa explicación del proyecto y antes de la toma de muestra

sanguínea. A cada participante se le aplicó un cuestionario para conocer el sitio de residencia, las probables fuentes de contaminación, hábitos domésticos y personales, así como el tipo de alimentación (Anexo 3). Además, se midieron los parámetros antropométricos de talla y peso.

I.7.2.2. Obtención de las muestras sanguíneas

La muestra sanguínea se obtuvo mediante una flebotomía en el área antecubital, empleando tubos Vacutainer^{MR} con heparina de sodio, (Ref.367878, Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA) para realizar el ensayo de MN y cometa y tubos con EDTA (Ref. 368171) para la cuantificación de PbS. Las muestras se guardaron en hieleras a 4°C para su traslado y procesamiento en el Laboratorio de Toxicología y Química Ambiental (TyQA) del Centro de Investigación en Genética y Ambiente-UATx.

1.7.2.3. Cuantificación de plomo a través del sistema LeadCare[®] II

La cuantificación de PbS se realizó con el equipo portátil LeadCare[®] II, utilizando un Kit de prueba de Pb en sangre marca meridian BIOSCIENCETM que contiene tubos capilares heparinizados, tubo de reactivos, tiras reactivas, así como reactivos para calibración. Se llenó el tubo capilar hasta la marca de 50 µL con cada una de las muestras de sangre recolectadas en los tubos vacutainer, evitando la formación de burbujas, enseguida se depositó en el tubo del reactivo y se agitó por inversión, cuando adquirió un color marrón se realizó el análisis en el equipo LeadCare[®] previamente calibrado. Para ello, se colocó una tira reactiva en el equipo una vez detectada se adicionó una gota de la mezcla de sangre, y después de 3 min se registra el resultado del análisis que arroja el equipo. El intervalo de cuantificación es de 3.3 a 65 µg/dL.

I.7.3. Evaluación de los efectos

I.7.3.1. Ensayo de micronúcleos (MN) con bloqueo de la citocinesis

Para realizar este ensayo se siguió la metodología propuestas por Fenech, (2007). En tubos Falcón de 15 ml estériles, se colocó: 6.3 ml de medio RPMI 1640 (SIGMA 25 #R6504) suplementado con L-Glutamina (SIGMA, #R6504) y bicarbonato de sodio al 2 % (J.T. Baker), 200 µl de fitohemaglutinina (PHA) (SIGMA #L8902, 1 mg/ml), 10 µl de antibiótico (Penicilina 5,000 U, Estreptomicina 5 mg y Neomicina 10 mg/ml, SIGMA) y 0.5 ml de sangre, los tubos se agitaron suavemente por inversión, esto se realizó bajo condiciones de esterilidad en una campana de flujo laminar. Posteriormente los tubos se incubaron a 37°C por 48 h. Transcurrido el tiempo se agregó 10 µl de citocalasina-B (3 mg/ml, SIGMA) a cada tubo para el bloqueo de la citocinesis, se volvieron a incubar a 37°C por 24 h.

Transcurrido el tiempo de cultivo, los tubos se centrifugaron a 1500 rpm por 10 min, se retiró el sobrenadante, dejando aproximadamente 1 ml del precipitado, el cual se resuspendió mediante agitación en vórtex, al mismo tiempo se agregó 5 ml del fijador frio (metano ácido acético 3:1 v/v (JT Baker) previamente preparado y enfriado por al menos una hora a 4°C.), posteriormente se volvió a centrifugar bajo las mismas condiciones, este procedimiento se repitió 3 veces hasta obtener precipitados claros, en el último enjuague se dejó 1 ml de la suspensión celular.

Se rotularon los portaobjetos para así tener una identificación para cada tubo, posteriormente se vertieron en metanol hasta cubrirse completamente y se guardaron en el refrigerador a 4°C, hasta el proceso de fijación.

Con una pipeta Pasteur se resuspendió y absorbió completamente la suspensión celular para posteriormente dejar caer por goteo desde aproximadamente 30 cm de altura sobre portaobjetos previamente lavados con metanol y enfriados a 4 °C, cuidando de cubrir completamente la superficie, se dejaron secar a temperatura ambiente durante 24 h. La tinción de las laminillas se realizó con Eosina B (SIGMA), colocando las laminillas en una caja Coplin durante 1 min, se dejaron escurrir sobre

papel absorbente para después introducirlas en otro Coplin con azul de metileno (SIGMA) por 1 min, finalmente se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar a temperatura ambiente.

I.7.3.1.1. Análisis al microscopio de laminillas

El análisis se realizó en un microscopio óptico de capo claro (MARCA Leica) con objetivo de 100x. Se consideraron los registros propuestos por Fenech, (2007).

Índice de división nuclear (IDN)

Se contaron 1000 células mono, bi, tri y tetranucleadas (Figura 4 A, B, C y D) para calcular el índice de división nuclear mediante la siguiente ecuación

$$IDN = (M1 + 2M2 + 3M3 + 4M4)/N$$

Donde:

M1 a M4 = número de células con 1 a 4 núcleos

N = número total de células viables evaluadas.

Las células mono, bi, tri y tetranucleadas son células viables con el citoplasma intacto y núcleo morfológicamente normal. Solo las binucleadas pueden contener micronúcleos, núcleos lobulados o puentes de cromatina.

Genotoxicidad

Para evaluar la genotoxicidad se determinó la frecuencia de micronúcleos (MN) (Figura 4E y 4F) y anomalías nucleares (AN) que incluyó núcleos lobulados (NL) (Figura 4G) y puentes de cromatina (PC) (Figura 4H). El análisis se realizó en 1000 células binucleadas (BI) por duplicado, las cuales debieron cumplir con las siguientes características:

- La membrana de una célula BI debe estar intacta y claramente distinguible del límite citoplásmico de células adyacentes.

- Los dos núcleos en una célula BI deben:
 - Tener membranas nucleares intactas y encontrarse dentro del mismo límite citoplasmático.
 - Ser aproximadamente iguales en tamaño, intensidad y tinción.
 - Pueden tocarse, pero idealmente no deben superponerse entre sí.

Criterios para identificar MN

- El diámetro del MN oscila entre 1/16 - 1/3 de la media del diámetro del núcleo principal.
- Los MN son no refractarios.
- La intensidad de tinción debe ser similar a los núcleos principales.
- Los MN no están conectados con los núcleos principales, pueden tocarse, pero no solaparse.

Anormalidades nucleares

Criterios para NL

- Son similares a los MN con la excepción de que están conectados con el núcleo principal a través de un puente que puede ser ligeramente más estrecho que el diámetro del brote o por un puente mucho más delgado dependiendo de la etapa del proceso de extrusión y presentan la misma intensidad de tinción que los MN.

Criterios para PC

- La anchura del PC puede variar, pero usualmente no excede 1/4 del diámetro de los núcleos principales de la célula y presenta la misma tonalidad de tinción que el núcleo principal.
- Puede observarse varios PC dentro de una célula binucleada.

Citotóxicidad

Para evaluar la citotoxicidad se contabilizaron células en apoptosis y necrosis (Figura 4I y J) cada una en 500 células totales (Fenech, 2007).

Para identificar las células en apoptosis se considerando los siguientes criterios:

- Las apoptóticas tempranas presentan condensación de la cromatina dentro del núcleo, y los límites citoplasmáticos y nucleares se encuentran intactos.
- Mientras que las apoptóticas tardías tienen fragmentación nuclear en cuerpos nucleares más pequeños dentro de un citoplasma y membrana citoplasmática intactos.
- Los fragmentos nucleares y el citoplasma presentan mayor intensidad de la tinción que las células viables.

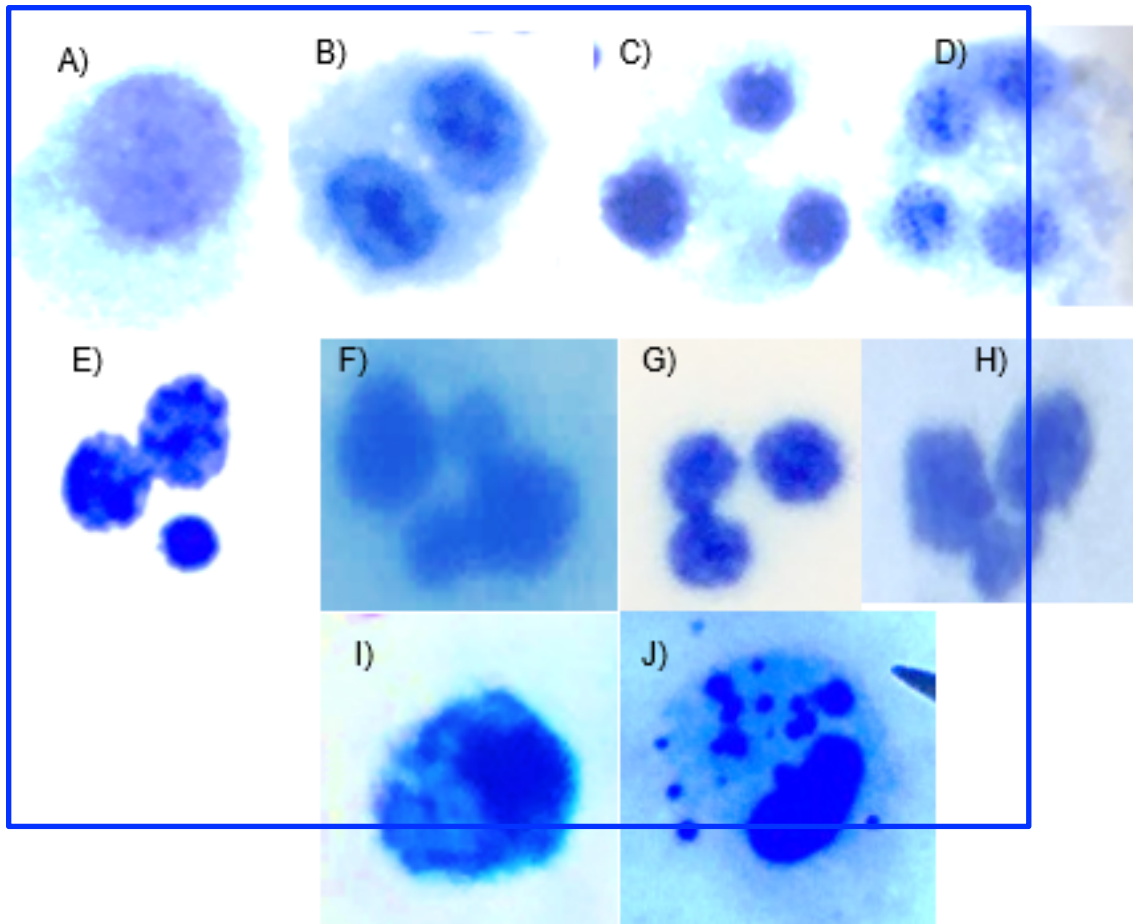


Figura 4. Células y anormalidades nucleares evaluadas con el ensayo de MN. Células: A) mononucleada, B) binucleada, C) trinucleada, D) tetranucleada; E) binucleada con un micronúcleo, f) binucleada con dos micronúcleos, G) núcleo lobulado, H) puente de cromatina, I) célula en apoptosis y J) célula en necrosis. (Fuente propia: Cámara ultra gran angular-13 mm $f2.4$ 12 MP (Iphone12) y microscopio óptico Marca Leica modelo DM2000, aumento de 100X).

Las células en necrosis se identificaron de la siguiente manera:

- Las necróticas tempranas presentan un citoplasma pálido, numerosas vacuolas (principalmente en el citoplasma y en ocasiones en el núcleo), la membrana citoplasmática dañada y un núcleo casi intacto.
- Las necróticas tardías muestran pérdida y daño de citoplasma, membrana nuclear irregular con sólo una estructura nuclear parcialmente intacta a menudo con escape de material nuclear desde el límite nuclear.
- La intensidad de la tinción del núcleo y el citoplasma es generalmente menor que la observada en las células viables.

I.7.3.2. Ensayo cometa en sangre total

Preparación de laminillas con agarosa

En portaobjetos previamente lavados con metanol se agregó 150 µl de Agarosa Regular (AR) (SIGMA) al 0.5%, extendiéndose con el dedo índice libre de grasa, se dejó solidificar a temperatura ambiente y se almacenaron hasta su uso.

Colocación de la muestra de sangre sobre las laminillas

En un tubo eppendorf se colocó 15 µl de sangre total y 225 µl de Agarosa de Bajo Punto de Fusión (ABPF) (SIGMA) al 0.5%, se mezclaron con ayuda de un vortex, se agregó 75 µl de la mezcla sobre los portaobjetos previamente preparados con AR, se cubrió con un cubreobjetos y se dejó solidificar a 4 °C, una vez gelificado se retiró el cubreobjetos y se aplicó una segunda capa de 75 µl de ABPF y se dejó solidificar a 4°C. Se retiró el cubreobjetos y las laminillas se colocaron en una caja Coplin que contenía solución de lisis (NaCl 2.5 M, Trizma base 10 mM, EDTA 100 mM, NaOH 0.3 M, DMSO 10 % y Tritón X-100 1%, pH 10), se mantuvieron a 4°C durante 24 h.

Desenrollamiento y Electroforesis

Las laminillas se colocaron horizontalmente en una cámara de electroforesis marca Thermo OWL EASYCAST B2, se cubrieron con el amortiguador de electroforesis

(NaOH 300 mM y EDTA 1 mM, pH 13, a 4°C) durante 20 min para permitir el desenrollamiento del ADN, se aplicó una corriente de 25 V y 300 mA durante 20 min con una fuente de poder marca Bio-Rad modelo PowerPac Basic. Se enjuagaron las laminillas con solución de neutralización (trizma base 0.4 M, pH 7.5) en tres repeticiones de 5 min cada una, posteriormente fueron colocadas en metanol absoluto durante 5 min, se dejaron secar a temperatura ambiente y se guardaron para su posterior análisis.

I.7.3.2.1. Análisis de laminillas

Las laminillas se tiñeron justo antes del análisis al microscopio agregando 30 µl de bromuro de etidio (SIGMA) al 0.02%. El análisis se realizó en un microscopio de epifluorescencia marca Leica Modelo DM2000, se contaron 100 células a 40X. Se realizó el conteo y clasificación visual en categorías o clases de daño, según Collins, (2004) tomando en cuentas las siguientes consideraciones:

- a) Clase 0: ADN no fragmentado, sin cola.
- b) Clase 1: Longitud de la cauda menor al diámetro de la cabeza.
- c) Clase 2: Longitud de la cauda entre una y dos veces el diámetro de la cabeza.
- d) Clase 3: Longitud de la cauda mayor al doble del diámetro de la cabeza.

Finalmente se obtuvo el índice de daño por ensayo cometa (DICA) mediante la siguiente expresión:

$$DICA = (0Xn0) + (1Xn1) + (2Xn2) + (3Xn3)$$

Donde

n = número de células en cada clase de daño

1 a 3 = números de cada clase

Los resultados se expresaron en unidades arbitrarias (ua).

I.7.4. Análisis estadístico

El estudio es una investigación observacional analítica de corte transversal que analiza la genotoxicidad y citotoxicidad en linfocitos humanos y busca explicar los factores ambientales que describen la magnitud de este daño, así como la correlación con la exposición al Pb.

Se comprobó la normalidad y homocedasticidad para las variables de genotoxicidad (micronúcleos, anormalidades nucleares e índice de daño al ADN), citotoxicidad (apoptosis y necrosis) e índice de división nuclear, aplicando la prueba de Shapiro Wilk y de Levene, respectivamente.

Los datos siguieron una distribución no paramétrica por lo que la comparación de cada una de las variables entre municipios se realizó con la prueba de Kruskal-Wallis y la prueba de contraste de Mann Whitney con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Los resultados se representan con diagramas de caja y bigotes.

Para analizar la asociación entre las variables dependientes (genotoxicidad y citotoxicidad) con la variable independiente (niveles de plomo sanguíneo) se aplicó una correlación de Pearson ($p < 0.05$), representado las asociaciones con diagramas de dispersión.

La elaboración de gráficos se llevó a cabo en el programa de Excel y para el análisis estadístico se empleó el programa de IBM SPSS Statistics 23.

II. RESULTADOS

II.1 Caracterización de la población de estudio

La población de estudio estuvo conformada por 58 personas (38 hombres y 20 mujeres) de éstos el 30% correspondieron al municipio de Atotonilco, el 24% a Atitalaquia, el 22% a Tula de Allende y el 24% al municipio de Apaxco de Ocampo. El rango de edad fue de 20 a 40 años, con un promedio de 32.5 ± 8.4 años, el valor medio del Índice de Masa Corporal (IMC) para mujeres fue de 24.88 ± 4.20 kg/m², mientras que para hombres de 26.73 ± 3.49 kg/m². Según la OMS (2022) el 39.6% de la población de estudio presenta sobrepeso, el 22.4% obesidad y solo el 37.9% se encuentran en condiciones óptimas de salud (Tabla 2). Debido a que la evaluación es por exposición ambiental se consideraron personas con diferentes actividades productivas las cuales se agrupan en la tabla 3.

Tabla 2. Datos antropométricos del grupo de estudio

	n	Edad (años)	Talla (m)	Peso (kg)	IMC (kg/m ²)
Mujeres	20	32.45 ± 8.09	1.61 ± 0.06	66.91 ± 10.72	24.88 ± 4.20
Hombres	38	32.53 ± 8.73	1.73 ± 0.06	80.51 ± 12.91	26.73 ± 3.49

IMC = Índice de masa corporal

La distancia de las viviendas con respecto a las fuentes de contaminación indica que el 70.6% de la población de estudio vive cerca de una zona agrícola e industrial a una distancia aproximada entre 500 y 3000 m y el 25.8% de la población de estudio vive cerca solo de la zona industrial, y solo del 1.7% su vivienda se ubica cerca de campos agrícolas (Figura 5).

Tabla 3. Actividad productiva del grupo de estudio en porcentaje

	Porcentaje (%)		Porcentaje (%)
Diversos oficios (plomero, electricista, albañil, etc.)	22.4	Profesionistas	15.5
Trabajo en la industria	20.6	Sin trabajo (amas de casa, estudiantes)	20.6
Trabajo de oficina	20.6		

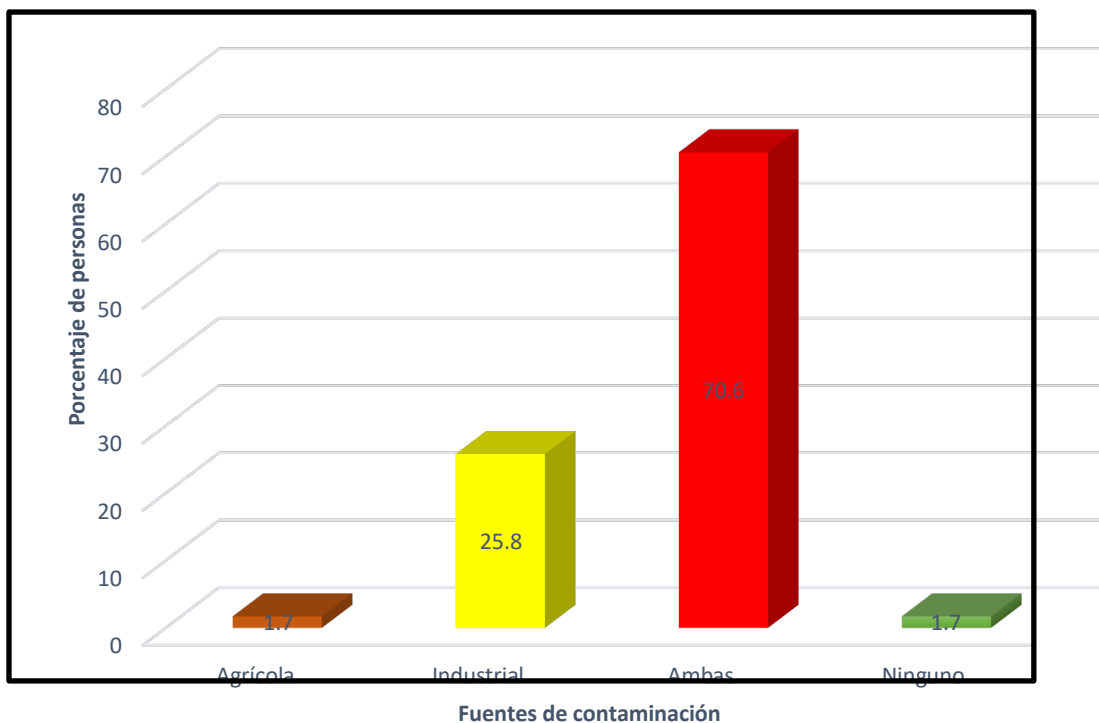


Figura 5. Porcentaje de la población de estudio que habita cerca de las zonas agrícolas e industriales como fuentes de contaminación.

De acuerdo con la información obtenida de la población de estudio el 34.4% consumió algún tipo de medicamento para combatir ligeros malestares como dolores de cabeza, enfermedades gripales, entro otras, la medicación fue esporádica en algún momento de los 3 meses anteriores al muestreo. Con respecto al consumo de sustancias psicoactivas, el 13% tiene el hábito de fumar, de uno a

dos cigarrillos al mes. El 65% de la población ingiere bebidas alcohólicas, con una frecuencia de una vez al mes y solo el 6.8% consume drogas con muy poca frecuencia (Figura 6).

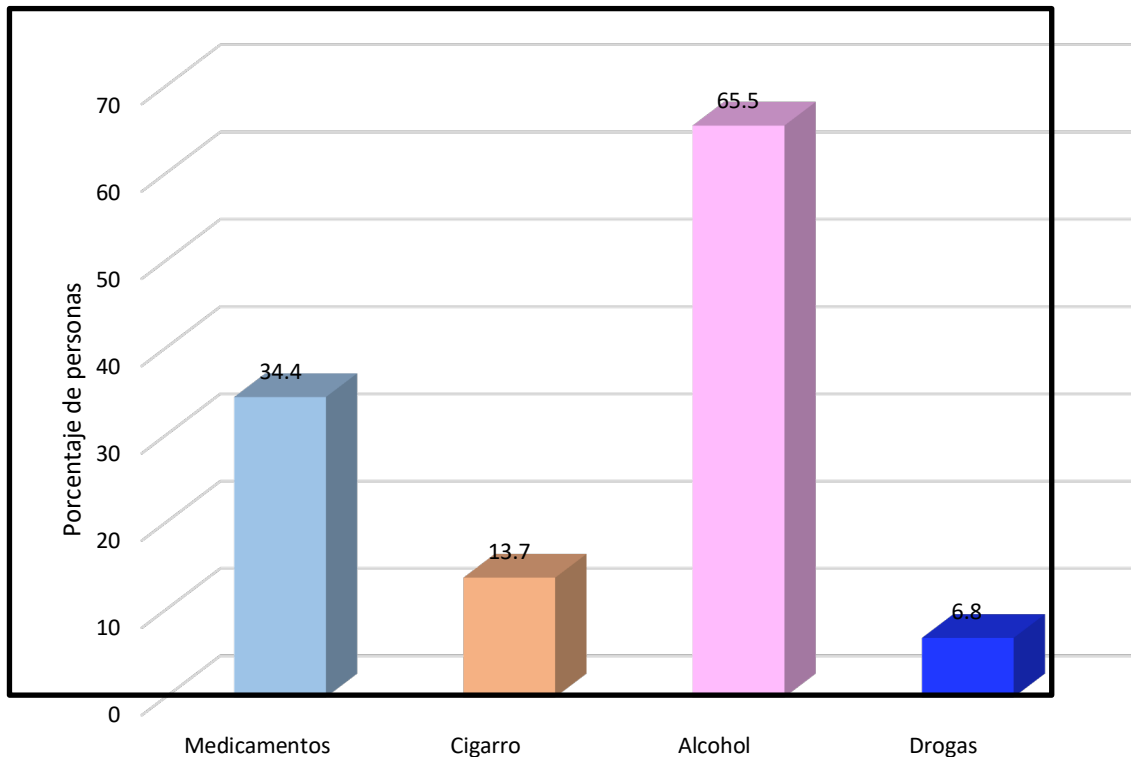


Figura 6. Porcentaje de la población de estudio que consumieron medicamentos y sustancias psicoactivas

Con respecto a los hábitos domésticos y alimenticios por grupo de alimentos, el 94.8 % de los participantes consume verduras, legumbres, frutas y carnes la mayoría con una frecuencia de 3 a 5 veces por semana, mientras que los cereales son consumidos hasta 6 o 7 veces. El 84.4 % de la población de estudio y el 75.8 % respectivamente consume embutidos y comida enlatada con una frecuencia de 1 o 2 ocasiones por semana. Además, el 13% consume el agua directamente del grifo y el 52% de la población de estudio cocina con ollas de barro vidriado (Tabla 4).

II.2 Biomarcador de exposición

II.2.1. Concentración de plomo en sangre

En la figura 7 se presenta la concentración de Pb en sangre de la población de estudio por municipio, la caja representa el 50% de los datos, la línea central es la mediana, así como desviación cuartílica. X es el promedio y ° se refiere a valores atípicos. Los promedios detectados fueron de 9.7 ± 5.5 , 8.4 ± 5.3 , 7.1 ± 5.3 , y 6.7 ± 5.1 µg/dL, en Atotonilco, Atitalaquia, Apaxco de Ocampo y Tula de Allende, respectivamente. El municipio de Atotonilco, además de presentar el promedio más alto, mostró también la mayor variabilidad entre individuos con el mayor rango intercuartílico (RIC) de 9.85 con los percentiles 25 (4.83) y 75 (14.68), comparado a Atitalaquia con RIC de 4.4, y de 2.2 para los otros dos municipios, sin embargo, los individuos con las concentraciones más altas de plomo, se encontraron en Atitalaquia (20.5 µg/dL) y Apaxco de Ocampo (20.9 µg/dL).

Tabla 4. Hábitos domésticos y alimenticios por grupo de alimentos

Consumo	Población (%)	Frecuencia semanal		
		1-2	3-5	6-7
Verduras	94.8	10	35	10
Legumbres	94.8	18	29	8
Frutas	91.3	9	28	16
Embutidos	84.4	33	16	0
Carne	94.8	18	28	9
Cereales	94.8	3	16	36
Comida enlatada	75.8	32	12	0
Agua de grifo	13.7			
Uso de utensilios de barro vidriado	51.7			

II.3 Biomarcadores de efecto

II.3.1 Ensayo de micronúcleos con bloqueo de la citocinesis

El ensayo de MN con bloqueo de citocinesis permite evaluar tanto efectos genotóxicos como citotóxicos de forma relativamente fácil.

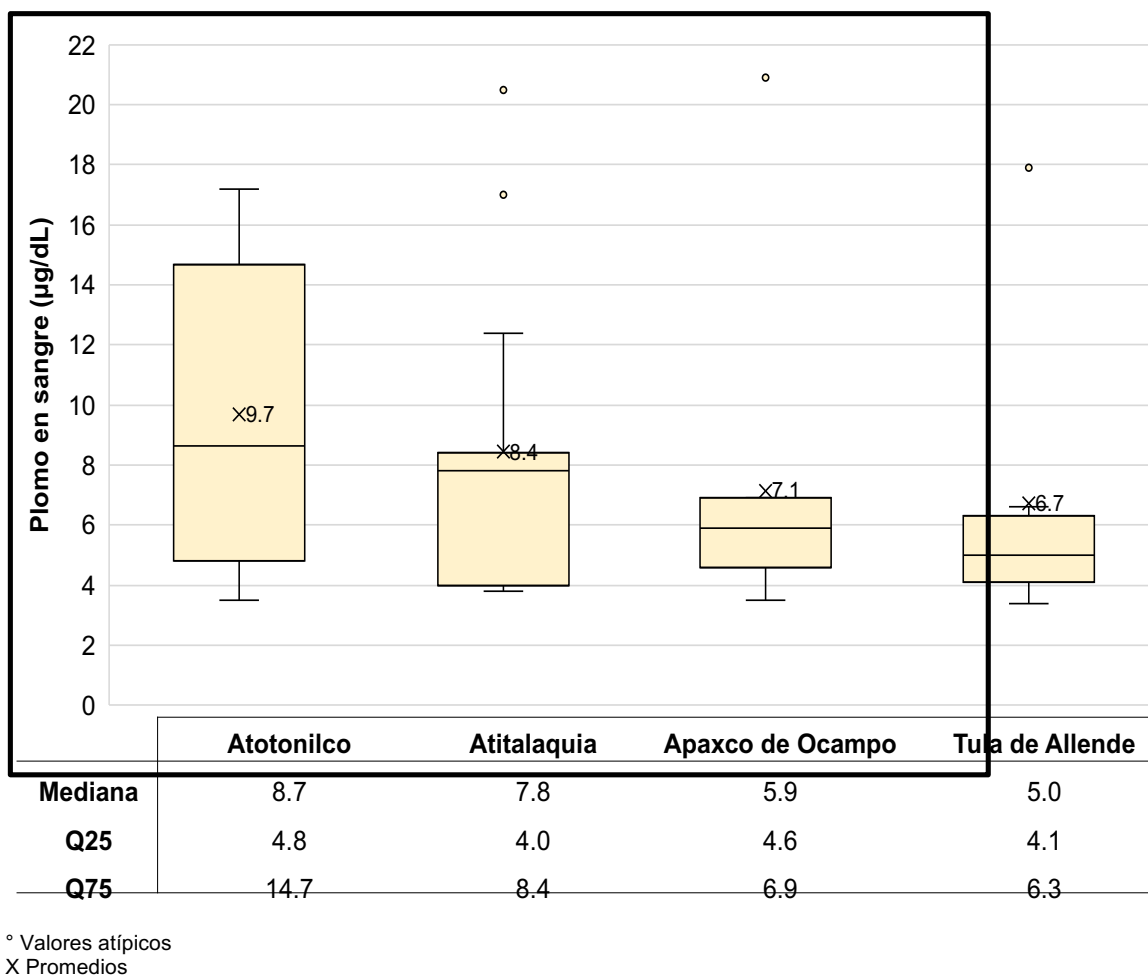


Figura 7. Concentración de plomo (µg/dL) en sangre de la población de estudio por municipio.

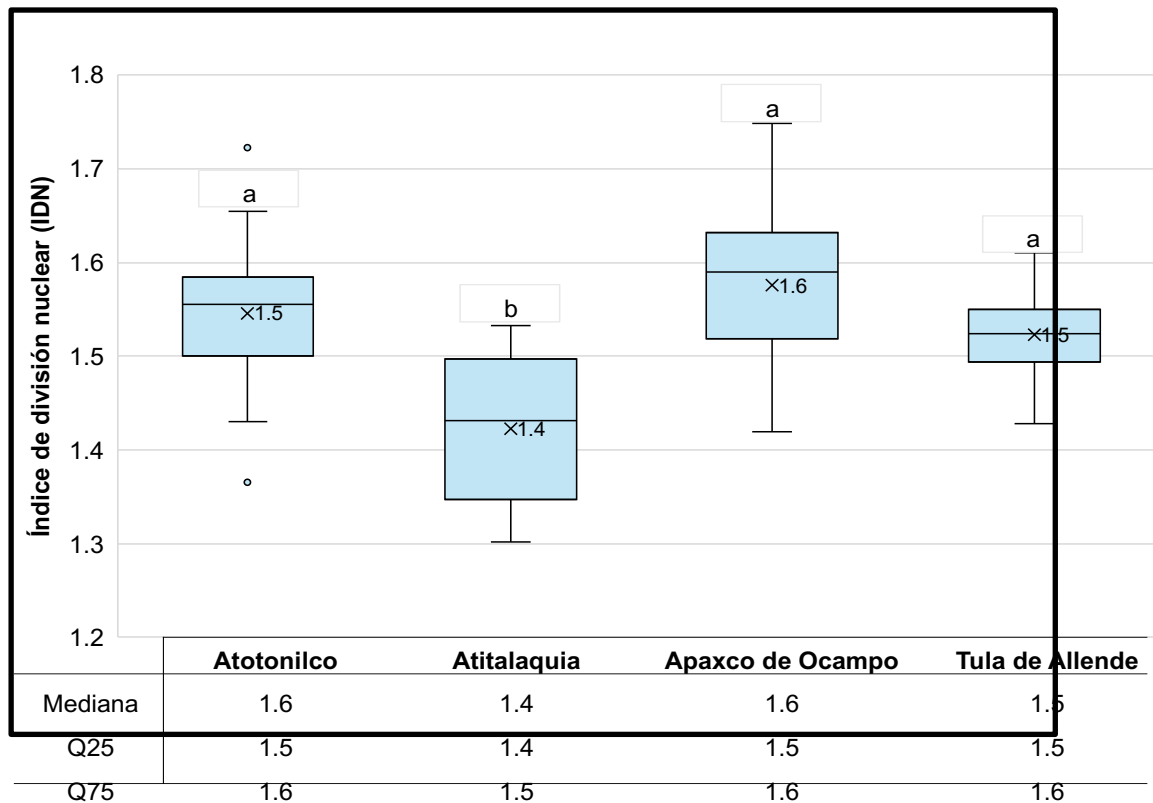
Con respecto a la citotoxicidad medida a través de la división celular, se muestra el promedio de células en cada nivel de división observándose una disminución en el promedio conforme las células se dividen (Tabla 5). En Atitalaquia se observan los valores más bajos en 3 categorías (BI, TRI y TETRA nucleadas), esto se refleja en

el índice de división nuclear (IDN) mostrando el promedio más bajo (1.4 ± 0.4 DN/1000 CT) y una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$) con respecto a los otros municipios (Figura 8).

Tabla 5. Frecuencia de división nuclear de población de estudio por municipio

	MONO	BI	TRI	TETRA
Atotonilco	566.2 ± 62	338.6 ± 47	78.7 ± 30.6	16.5 ± 6.7
Atitalaquia	637.0 ± 68.2	316.7 ± 67.2	33.3 ± 15.4	13.0 ± 7.2
Apaxco de Ocampo	544.1 ± 56.7	354.3 ± 48.6	83.8 ± 29.3	17.9 ± 8.6
Tula de Allende	559.8 ± 38.5	367.1 ± 29.8	63.5 ± 10.1	9.5 ± 3.2

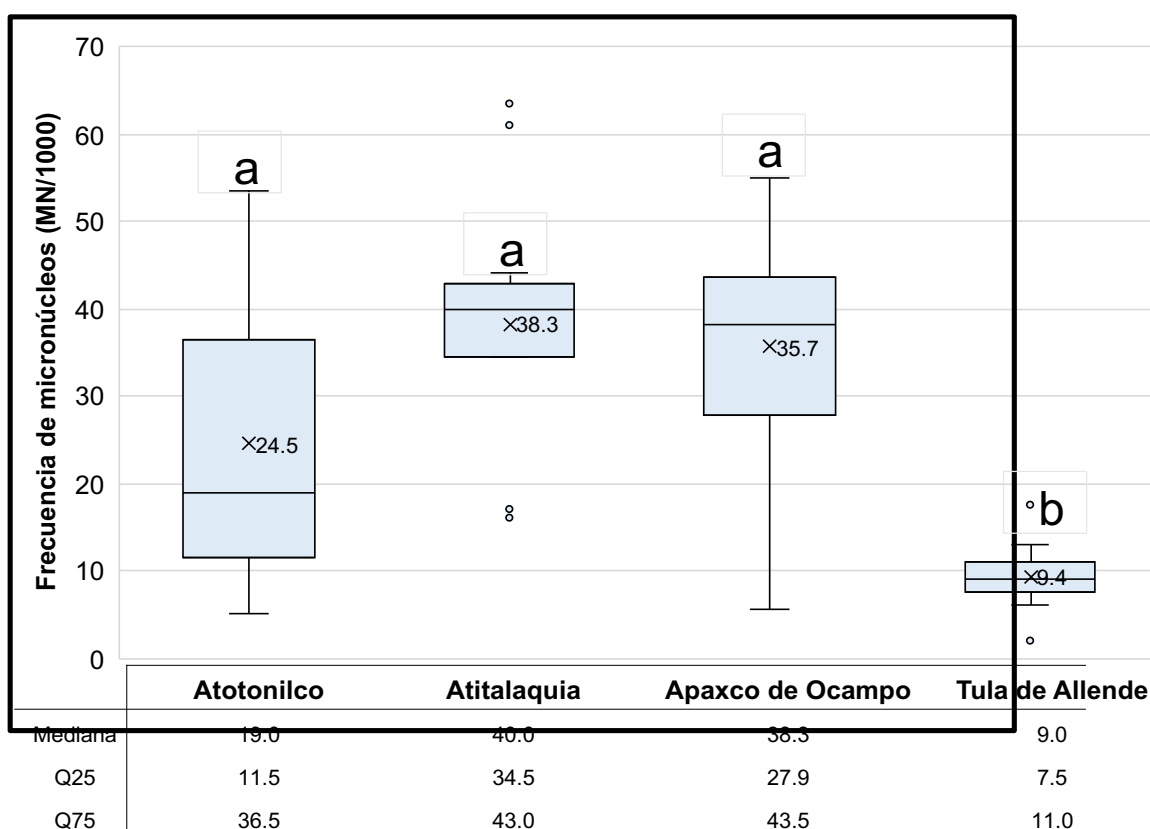
Mononucleadas (MONO), Binucleadas (BI), Trinucleadas (TRI), Tetranucleadas (TETRA)



Letras diferentes muestran diferencia significativa ($p < 0.05$) prueba de Kruskal-Wallis y contraste de Mann Whitney
 ° Valores atípicos; X Promedios

Figura 8. Índice de división nuclear de la población de estudio por municipio

Los efectos sobre genotoxicidad se evaluaron a través de la frecuencia de MN y AN. Los resultados de MN muestran al municipio de Tula de Allende con el valor más bajo de mediana $\pm$ desviación cuartílica (DC) (9.0 ± 1.75 MN/1000 CT) presentando diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) con respecto al resto de los municipios donde la frecuencia de MN (mediana $\pm$ DC) es de 19.0 ± 12.50 , 40.0 ± 4.25 y 38.5 ± 7.81 para Atotonilco, Atitalaquia y Apaxco de Ocampo, respectivamente (Figura 9).

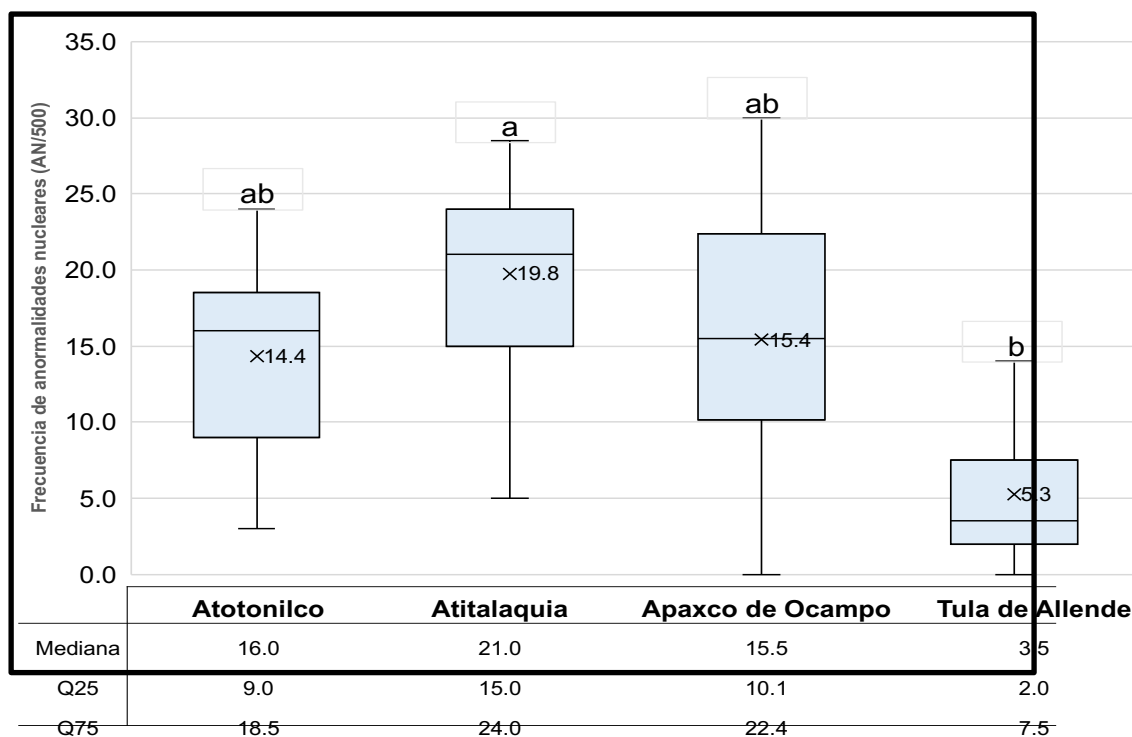


Letras diferentes presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) prueba de Kruskal- Wallis y contraste de Mann Whitney
 ° Valores atípicos; X Promedios

Figura 9. Frecuencia de MN en sangre de la población de estudio por municipio

En la figura 10 se muestra la frecuencia de AN (NL y PC) con este parámetro se observa nuevamente un comportamiento similar a la frecuencia de MN donde Atitalaquia es el municipio que presenta el valor mediano más alto (21.0 ± 4.50

AN/1000 CT) mostrando diferencias significativas ($p < 0.05$) con Tula de Allende donde la mediana fue hasta 6 veces más baja (3.5 ± 2.75 AN/1000 CT).



Letras diferentes presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) prueba de Kruskal- Wallis y contraste de Mann Whitney

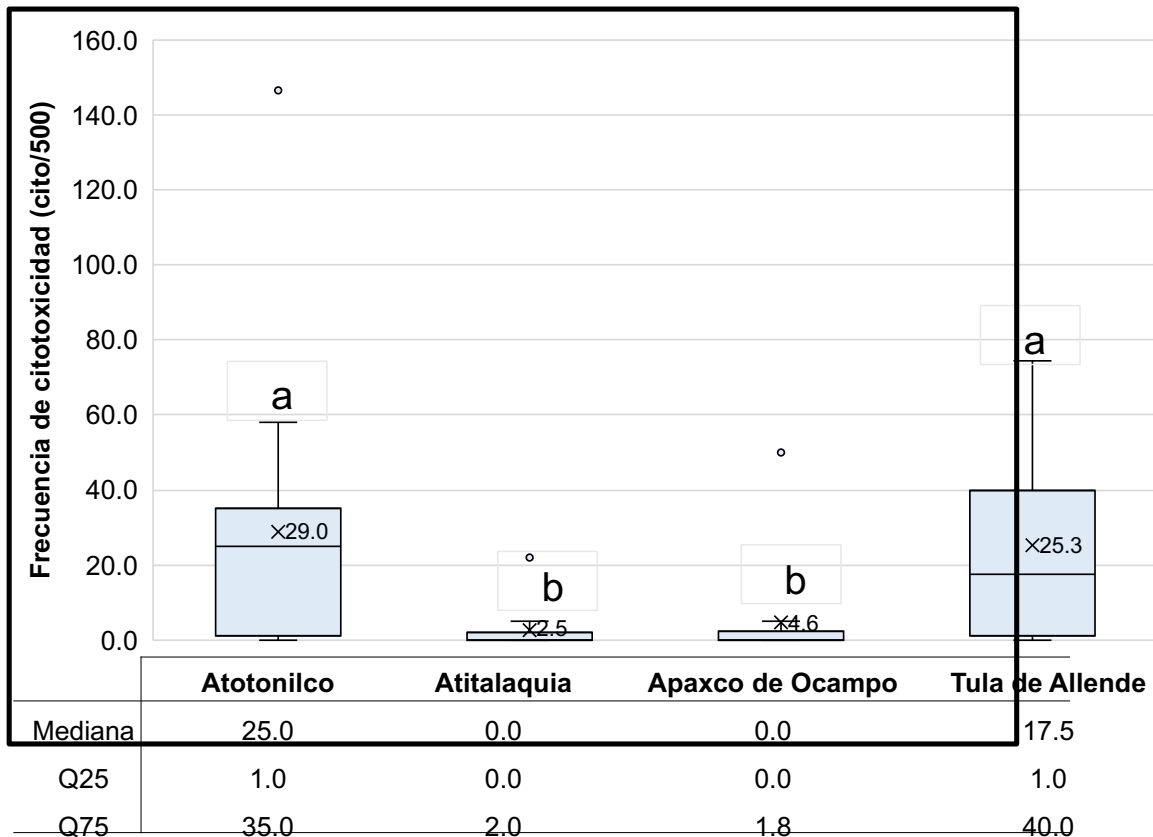
Figura 10. Frecuencia de anomalías nucleares en sangre de la población de estudio por municipio

Con respecto a la citotoxicidad se cuantificaron células en apoptosis y necrosis los resultados demuestran un incremento estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en los municipios de Atotonilco y Tula de Allende con respecto a Atitalaquia y Apaxco de Ocampo (Figura 11).

II.3.2. Ensayo cometa

Los resultados obtenidos del DICA en cada uno de los municipios de estudio se muestran en la figura 12, la puntuación es un valor que se obtuvo al sumar el producto del número de moléculas de ADN en cada clase por el número de la clase,

de tal manera que entre más alto sea el número de moléculas que se encuentren en la clase 3 la puntuación y el daño se incrementarán hasta un máximo de 300 unidades arbitrarias (ua). Como se puede observar el DICA (mediana $\pm$ DC) en las personas que viven en Atitalaquia fue de 179.0 ± 37.0 ua, de los 4 municipios de estudio fue el que presentó el valor hasta dos veces más alto que lo obtenido para Tula de Allende (81.5 ± 33.0 ua), valor más bajo reportado. Sin embargo, para este parámetro no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre municipios.

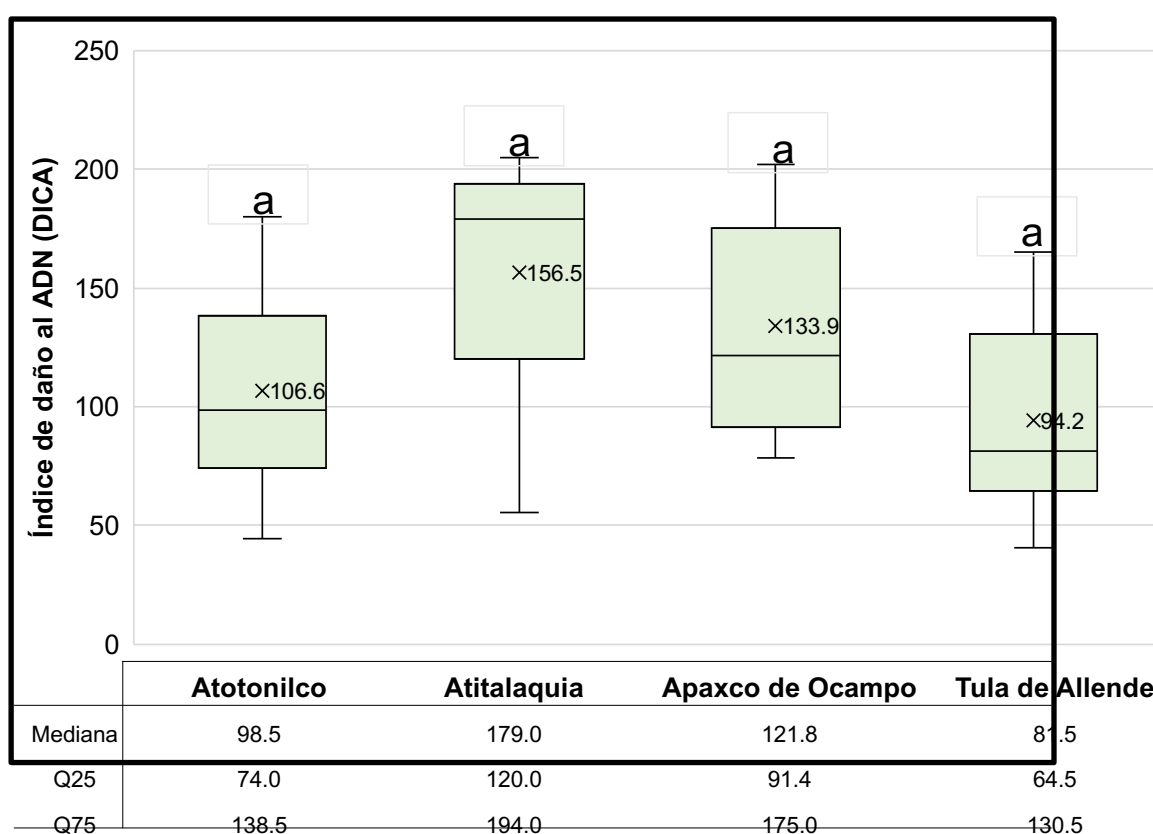


Letras diferentes presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) prueba de Kruskal- Wallis y contraste de Mann Whitney
 ° Valores atípicos; X Promedios

Figura 11. Frecuencia de citotoxicidad en población de estudio por municipio.

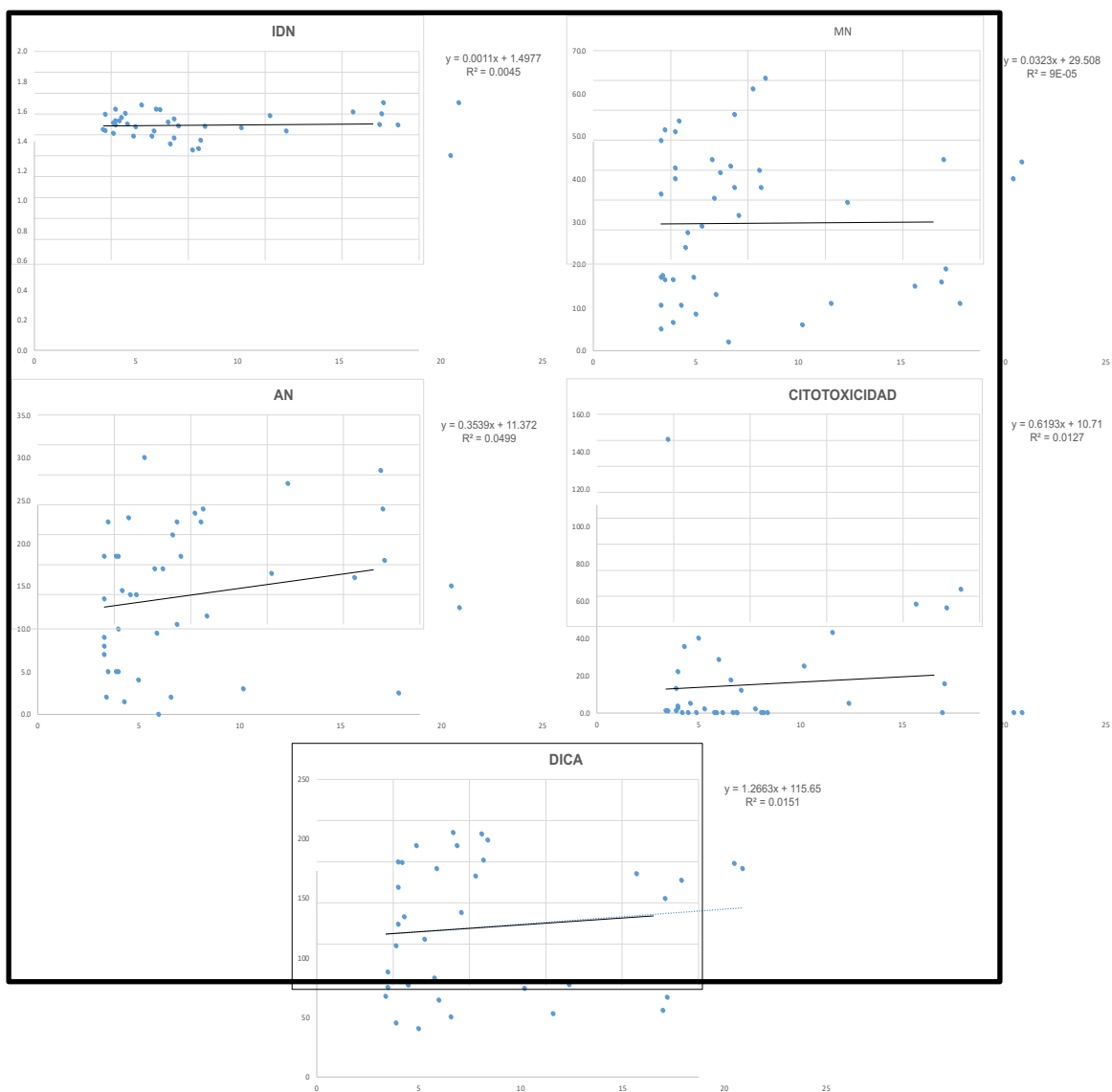
II.3.3. Correlación de concentración de Pb en sangre variables de efectos genotóxicos

Para determinar la asociación entre la concentración de Pb en sangre de la población de estudio con cada una de las variables de genotoxicidad (IDN, MN, AN, citotoxicidad y DICA) evaluadas como marcadores de efecto se realizaron correlaciones lineales de Pearson. Los resultados no mostraron asociación significativa para ninguna de ellas (Figura 13).



Letras diferentes presentan diferencia significativa ($p < 0.05$) prueba de Kruskal- Wallis y contraste de Mann Whitney

Figura 12. Índice de daño al ADN por ensayo cometa de la población de estudio por municipio



IDN (índice de división nuclear) MN (micronúcleos) AN (anormalidades nucleares) DICA (índice de división por ensayo cometa)

Figura 13. Regresión lineal entre la concentración de Pb en sangre y las variables de genotoxicidad evaluadas con el ensayo de MN y cometa.

III. DISCUSIÓN

Los seres humanos están constantemente expuestos a una variedad de agentes xenobióticos a través de los alimentos, medicamentos, y el estilo de vida, así como por habitar cerca de fuentes de contaminación como complejos industriales y tiraderos de desechos peligrosos. Estas exposiciones contribuyen significativamente al riesgo de enfermedades complejas, ya que la contaminación ambiental es uno de los principales factores de enfermedades no transmisibles, después del tabaquismo; esto resulta en una creciente pandemia de enfermedades respiratorias, cardiovasculares, neurodegenerativas y cánceres. Por ello, la importancia de identificar los factores ambientales que influyen en la salud humana y de dilucidar cómo las exposiciones a diversos xenobióticos inducen efectos nocivos (Wu *et al.*, 2023).

La población de estudio involucró hombres y mujeres de los municipios de Atotonilco, Atitalaquia y Tula de Allende del estado de Hidalgo, así como Apaxco de Ocampo del estado de México. De acuerdo con Hwang y Bowen (2007), la edad es un factor importante que debe considerarse en estudios de monitoreo donde se evalúa el daño al ADN, se estima que puede ser un factor de confusión debido a que a mayor edad los mecanismos de división y reparación del daño en el ADN disminuyen. Otro factor importante son los estilos de vida como la ingesta de una dieta saludable, el consumo de sustancias psicoactivas como tabaco, alcohol y drogas, debido a que estos últimos se han considerado agentes genotóxicos, que pueden incrementar la frecuencia de MN, el intercambio de cromátidas hermanas y la migración del ADN (Moller, 2006). En los criterios de inclusión de la población de estudio se cuidaron estas recomendaciones (Tablas 2 y 4 y Figura 6), los resultados muestran una población homogénea en edad de 20 a 40 años, con muy bajo porcentaje de consumo de sustancias psicoactivas y con una dieta balanceada.

La contaminación ambiental es un problema global con implicaciones diversas y sustanciales para la salud pública. Es factible que la exposición a diversas sustancias tóxicas como metales pesados (plomo y cadmio), compuestos orgánicos (plaguicidas) entre muchas otras sustancias, han afectado severamente el medio ambiente, la seguridad alimentaria y hasta la salud pública, generando una variedad de enfermedades graves, incluidos efectos neurológicos y de comportamiento (Reyes *et al.*, 2016; Potter *et al.*, 2021)

El Pb se encuentra en la corteza terrestre, parte de él se libera al ambiente por la erosión de las rocas y las actividades volcánicas. Sin embargo, las actividades humanas de extracción, procesamiento y utilización de este metal representan la mayor fuente de contaminación. Dadas las características fisicoquímicas del plomo y su persistencia en el ambiente, la biota se enfrenta a múltiples fuentes y vías de exposición (WHO, 2021a).

Algunos estudios demuestran concentraciones altas de Pb en matrices ambientales como agua y suelo (Montes de Oca-Jiménez, *et al.*, 2022), en alimentos como leche y carne (Reyes *et al.*, 2016) y en plantas comestibles (Montes de Oca-Jiménez, *et al.*, 2022). Además, en muestras ambientales cerca de zonas industriales, la población humana que habita cerca de estos complejos está directa o indirectamente expuestas a una gran cantidad de sustancias tóxicas, entre ellas el plomo.

En el Valle del Mezquital, área que abarca los municipios de estudio, se han identificado diversas fuentes de exposición a Pb. Entre ellas, se encuentran las aguas residuales provenientes de la Ciudad de México, utilizadas para el riego de cultivos (Lesser-Carrillo *et al.*, 2011), y la industria cementera que incinera residuos peligrosos, incrementando entre un 55 y un 107 % los residuos de Pb en el ambiente (Padilla-González, 2019). Además, la CONAGUA ha realizado estudios en la región Tula-Apaxco sobre contaminación de pozos de uso público urbano, identificando siete pozos con presencia de plomo, arsénico, mercurio y manganeso que rebasan

los límites de las normas oficiales, convirtiéndolos en una fuente importante de exposición.

La mediana más alta de la concentración de Pb en la población de Atotonilco fue de 8.65 µg/dL con un rango intercuartílico (RIC) de 4.93, estos valores fueron más bajos que los reportados para una población de alfareros, pero similares a una población adulta (8.3 µg/dL, RIC = 2.7) considerada como de bajo riesgo (Ortiz-Ortiz *et al.*, 2017). Aun cuando las concentraciones obtenidas están por debajo de lo mencionado en la NOM-199-SSA1-2000 para personas laboralmente no expuestas (25 µg/dL), debe considerarse que la OMS, (2021a) menciona que, en personas adultas, las concentraciones de Pb mayores a 10 µg/dL están asociadas a diversos efectos subclínicos. Entre estos efectos se incluyen la reducción de la síntesis de deshidratasa del ácido 5-aminolevulínico, lo que contribuye a la anemia, disminución de la función cognitiva, alteraciones en el estado de ánimo y comportamiento, posible aumento de la mortalidad relacionada con enfermedades cardiovasculares como hipertensión, posible aumento de abortos espontáneos y nacimientos prematuros (basado en la concentración de Pb en sangre materna).

En general, el 43.1 % de la población total de estudio presentó concentraciones entre 5 y 20.9 µg/dL, estos valores se encuentran por debajo del límite de 25 µg/dL para personas adultas expuestas no ocupacionalmente recomendado por la NOM-199-SSA1-2000 Salud ambiental (modificación 2017), donde además se muestra como valor criterio de 5 µg/dl en niños, mujeres embarazadas y en periodo de lactancia. Sin embargo, aunque los valores obtenidos no entran dentro de los límites mencionados en la normatividad mexicana debe considerarse que la OMS menciona que personas adultas con concentraciones de plomo en sangre ≥ 5 µg/dl, presentan diversos efectos asociados a la salud (WHO, 2021a).

Niños que habitan cerca de una zona industrial del giro automotriz, una refinería y una planta termoeléctrica en Salamanca México, presentaron una media aritmética de PbS de 3.78 µg/dL; solo el 24.5% de los participantes superó el valor de seguridad de 5 µg/dL indicado por la normatividad mexicana, sin embargo, a

concentraciones desde 2.5 µg/dL se evidenció el efecto al ADN sobre el contenido de ADN mitocondrial y la longitud de los telómeros asociados con la exposición al Pb (Alegria-Torres *et al.*, 2020).

El promedio de PbS en una población masculina fue de 3.15 µg/dL. El total de los participantes se dividió en 3 grupos según la concentración obtenida (5 -10 µg/dL; 2.5 - 5 µg/dL y de 0.0 - 2.5 µg/dL), simultáneamente, se evaluaron muestras de semen en términos de motilidad progresiva rápida, lenta y no progresiva, concentración de espermatozoides, viabilidad y volumen testicular. Los resultados demostraron que en los hombres con una concentración de PbS de 5 -10 µg/dL, la motilidad no progresiva (incapacidad de los espermatozoides para nadar eficientemente hacia el óvulo) disminuyó significativamente. Por lo tanto, las concentraciones de plomo en la población estudiada representan un factor de riesgo ambiental para la mala calidad del espermatozoides (Zhang, *et al.*, 2021).

En este estudio el 63 % de la población fueron hombres y en ellos se encontraron las concentraciones más altas de PbS, alcanzando hasta 20.9 µg/dL; por su edad se considera que están en riesgo potencial por exposición ambiental a Pb. En el caso de las mujeres, el promedio de PbS cuantificado fue de 5.97 ± 1.9 µg/dL con un valor máximo de 10.2 µg/dL, estos valores superan lo establecido en la normatividad mexicana para mujeres embarazadas y en periodo de lactancia. Las participantes del estudio se encontraban en una edad biológicamente reproductiva y, aunque no estaban embarazadas ni lactando, debe considerarse que a estos niveles de PbS se han reportado abortos espontáneos, partos prematuros y bajo peso en los recién nacidos. Además, es importante tener en cuenta que el PbS de la madre se transfiere al feto a través de la placenta y la leche materna (Charkiewicz y Backstrand, 2020).

Por otra parte, Polanco (2022) menciona que la exposición crónica a bajas concentraciones de Pb está asociada con la enfermedad renal crónica y la hipertensión en la población general. La patogenia de estas enfermedades incluye

daño del túbulo-intersticial, pérdida de capilares peritubulares y vasculopatía arteriolar intrarrenal.

El promedio de PbS en una población agrícola en el Valle del Mezquital fue de $7.8 \pm 4.66 \mu\text{g/dL}$, presentando una asociación positiva con el uso de barro vidriado (Cifuentes *et al.*, 2000). Estas concentraciones son similares a lo encontrado en el presente estudio ($8.2 \pm 5.13 \mu\text{g/dL}$), donde el 51.7 % de la población elabora sus alimentos en utensilios de barro vidriado. Por su parte, Ortiz-Ortiz *et al.*, (2017) cuantificaron concentraciones de Pb en alimentos cocinados en cazuelas de barro vidriado, reportando valores superiores al nivel máximo establecido en el Codex Alimentarius, lo que refuerza la hipótesis de que el consumo de alimentos en ollas de barro vidriado es una fuente importante de exposición al plomo (WHO y FAO, 2015).

A pesar de conocerse las múltiples fuentes de exposición a Pb y sus efectos en la salud humana, la cuantificación de este metal en la población no se realiza de manera rutinaria. Esto lleva a que, en repetidas ocasiones, se realicen diagnósticos erróneos de enfermedades (Polanco, 2022).

Existen evidencias de que aún por debajo de los niveles considerados aceptables por la normatividad mexicana, la OMS considera que no existe ningún nivel por el cual se pueda afirmar que la exposición al Pb no tenga efectos nocivos (WHO, 2021a). Por lo tanto, no debe ignorarse que la exposición a bajas concentraciones de sustancias peligrosas puede conducir a efectos negativos en los organismos, aunado a que las sustancias que se bioacumulan, como el plomo, pueden alcanzar mayores concentraciones en los tejidos e incrementar su toxicidad.

La mayoría de los estudios sobre los efectos de la exposición a Pb se realizan en niños, lo cual puede llevar a subestimar los efectos que esta exposición puede tener en adultos. Si bien las concentraciones cuantificadas se encuentran dentro de los límites establecidos por la normatividad mexicana, existen estudios que indican que

incluso a dosis bajas, la exposición al Pb puede causar enfermedades cardiovasculares, asociarse con el estrés oxidativo y la deficiencia de la enzima catalasa y, contribuir a la hipertensión. Además, se ha descrito que la exposición al Pb puede estar asociada con el cáncer y se sugiere que actúa como un disruptor endocrino (Charkiewicz y Backstrand, 2020).

Los contaminantes ambientales afectan nuestras células de maneras que resultan perjudiciales para la salud, lo que ha impulsado avances significativos en nuestra comprensión sobre los mecanismos moleculares subyacentes a la patogénesis de las enfermedades crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y respiratorias (Wu *et al.*, 2023).

Según Hwang y Bowen (2007), la calidad de la alimentación, determinada por la frecuencia y cantidad de grasas, proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales, influye en el daño al ADN. Se ha observado que los antioxidantes están asociados con una reducción de la genotoxicidad, mientras que el consumo de alimentos enlatados y conservados tiende a aumentar el daño en el ADN. En el presente estudio, la población reporta un consumo adecuado de frutas y verduras, pero también refiere el consumo de enlatados, aunque con menor frecuencia; la alimentación podría representar un factor de riesgo para el nivel de genotoxicidad encontrado.

Diversos estudios han demostrado que el ensayo de micronúcleos por bloqueo de citocinesis es una técnica sensible y confiable para evaluar la exposición genotóxica a contaminantes ambientales (Bonassi *et al.*, 2016). Los efectos genotóxicos en linfocitos humanos evaluados mediante esta técnica, permiten observar un incremento en la frecuencia de MN que puede estar relacionada con la aparición de una destrucción cromosómica extensa y localizada denominada “cromotripsis” o “cromoanagénesis” y han revelado que el ADN dañado en forma de MN puede ser reconocido y activado por el sistema inmunológico (Russo y Degraasi, 2016).

Como se menciona anteriormente, la exposición a Pb puede estar asociada con el cáncer y con un incremento en la frecuencia de MN. Se ha demostrado que la ruptura de la envoltura micronuclear en las células cancerosas, puede estar asociado con una pérdida de compartimentalización y un daño extenso en el ADN. Esta ruptura representa una primera etapa para la pulverización de los cromosomas (Russo y Degraasi, 2016; Charkiewicz y Backstrand, 2020).

Los resultados de este estudio demuestran la importancia del biomonitorio humano para identificar la presencia de contaminantes en tejidos y evaluar los efectos adversos, con el fin de buscar estrategias de intervención para disminuir los riesgos potenciales para la salud humana.

IV. CONCLUSIONES

La población de Atotonilco fue la que presentó mayor concentración de plomo en sangre con un promedio de 9.7 µg/dL. El 50% de los habitantes de la región de estudio presentaron concentraciones por arriba de 5 µg/dL lo cual representa un riesgo potencial para la salud (NOM-199-SSA1-2000).

Los habitantes de la región de estudio presentaron daño considerable al ADN evidenciado por el incremento en la frecuencia de micronúcleos y las anormalidades nucleares. La población de Atitalaquia fue la que presentó los promedios más altos en las variables de genotoxicidad, mientras que los pobladores de Atotonilco y Tula de Allende resultaron con una mayor toxicidad celular representada por el incremento de células en apoptosis y necrosis.

Aún cuando no se encontraron asociaciones entre la concentración de plomo sanguíneo con las variables de genotoxicidad, la elevada frecuencia de micronúcleos y anormalidades nucleares indican la presencia en el ambiente de otros contaminantes con capacidad genotóxica.

Se recomienda crear programas de biomonitoreo en la población potencialmente expuesta aplicando biomarcadores de exposición y efecto para identificar las sustancias prioritarias y caracterizar el riesgo potencial de enfermedades asociadas a los contaminantes ambientales.

V. REFERENCIAS

- Alegría, T, J., Pérez, R, R., García, T, L., Costilla, S, R. y Rocha, A, D. (2020). Exposure to arsenic and lead in children from Salamanca México, effects on telomeric lengthening and mitochondrial DNA. *Environmental Science And Pollution Research*. 27(6), 6420-6428. <https://doi.org/10.1007/s11356-019-07108-4>
- Aronson, J, K. y Ferner, R, E. (2017). Biomarkers-A General Review. *Curr Protoc Pharmacol*. 17; 76:9.23.1-9.23.17. doi: 10.1002/cpph.19.
- ATSDR (2020). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for lead. U.S. Department of Health and Human Services. Atlanta, GE, EE.UU.
- Azamar, A, A. y Téllez, R, I. (2023). Regiones de Emergencia Ambiental y alternativas colectivas frente a la crisis socioambiental. *Estudios sociales. Revista de alimentación contemporánea y desarrollo regional*, 33(62) <https://doi.org/10.24836/es.v33i62.1357>
- Azamar, A, A. y Téllez, R, I. (2021). Las Regiones de Emergencia Ambiental: ¿una alternativa a los extractivismos y a la industrialización salvaje? *Economía ecológica latinoamericana frente a la crisis socioecológica*. CLACSO-Siglo XXI Editores (en prensa).
- Bonassi, C., Nersesyan, A., Fenech, M., Mišík, M., Setayesh, T., Wultsch, G. y Knasmüller, S. (2016). Use of the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay in occupational biomonitoring of genome damage caused by in vivo exposure to chemical genotoxins: Past, present and future. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 770, 1-11.
- Cabrera, C, R., Gordillo, M, A. y Cerón, B, Á. (2003). Inventario de contaminación emitida a suelo, agua y aire en 14 municipios del estado de Hidalgo, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. 19(4), 171-18. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=37019402>

- Carrasco, G, B. V., Martínez, R, R. y Antonio, N, X. (2022). Importancia de las áreas verdes en zonas urbanas con alta contaminación. El caso de Atitalaquia, Atotonilco de Tula y Apaxco, México. *Revista De La Facultad De Arquitectura De La Universidad Autónoma De Nuevo León*, 16(24), 40–53. <https://doi.org/10.29105/contexto16.24-349>
- Carrasco, G, B. y Tadeo, V, J. (2016). No en nuestro patio trasero: Experiencias comunitarias contra la industria del cemento. (Ed). Astillero. ISBN-13: 978-1539669876
- Carrasco, G, B. y Vargas J, J. T. (2015). Incineración de residuos en cementeras como una falsa solución inserta en los mercados de carbono. *Entre textos*, 6(18), 1-13. [http://entretextos.leon.uia.mx/num/18/PDF/ENT18-3. pdf](http://entretextos.leon.uia.mx/num/18/PDF/ENT18-3.pdf)
- Charkiewicz, A.E., Backstrand, J.R. (2020). Lead Toxicity and Pollution in Poland. *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 17:4385. <https://doi.org/10.3390/ijerph17124385>
- Cifuentes, E., Villanueva, J. y Sanin, L. H. (2000). Predictors of Blood Lead Levels in Agricultural Villages Practicing Wastewater Irrigation in Central Mexico. *International Journal of Occupational and Environmental Health*, 6(3),177–182. doi:10.1179/oeh.2000.6.3.177
- Collins, A, R. (2004). The comet assay for the DNA damage and repair. *Molecular Biotechnology*. 26:249-261.
- Collins, A. R. (2015). The comet assay: a heavenly method. *Mutagenesis* 30(1), 1-4. <https://doi.org/10.1093/mutage/geu079>
- CONAHCYT (2021). Webinario Científico "Las Regiones de Emergencia Ambiental: definición y localización en México". <https://www.youtube.com/watch?v=8tqzYRPhOIs>
- Dhawan, A. y Bajpayee, M. (2013). *Genotoxicity Assessment: Methods and Protocols*, Methods in Molecular Biology, © Springer Science Business Media New York. pp.325-362. <https://www.springer.com/gp/book/9781627035286>
- Di Bona, M. y Bakhoun, SF. (2024). Micronuclei and Cancer. *Cancer Discov.* 8;14(2):214-226. doi: 10.1158/2159-8290.CD-23-1073

- Fenech, M. (2000). The in vitro micronucleus technique. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 455(1), 81-95.
- Fenech, M. y Morley, A. A. (1985). Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res.* 147(1-2), 29-36. doi: 10.1016/0165-1161(85)90015-9. PMID: 3974610.
- Fenech, M., Chang, W., Kirsch, V, M., Holland, N., Bonassi, S. y Zeiger, E. (2003). HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 534(1-2), 65–75. doi:10.1016/s1383-5718(02)00249-8
- Flores, R, R., Rico, E, E., Nuñez, M, JE., García, N, E., Carrizales L, Ilizaliturri, H, C. y Díaz, B, F. (2012). *Salud Pública de México*, 54(4), 383-392.
- Gajski, G., Gerić, M., Živković, S, T., Tariba, L, B., Oreščanin, V. y Pizent, A. (2020). Application of the comet assay for the evaluation of DNA damage from frozen human whole blood samples: Implications for human biomonitoring. *Toxicol Lett.* 1(319), 58-65. doi: 10.1016/j.toxlet.2019.11.010.
- García-Nieto, E., Juárez-Santacruz, L., García-Gallegos, E., Tlalmis-Zempoalteca, J., Romo-Gómez, C., Torres-Dosal, A. (2014). Genotoxicological response of the common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to spring water in Tlaxcala, México. *Bull Environ Contam Toxicol* 93:393-398 **DOI:** 10.1007/s00128-014-1318-2. ISSN: 0007-4861.
- Gómez, A, S., López, C, S., Villalobos, P, R., De León, R, J., Calderón, S, M. E. y Calderón, E, C. (2005). Genotoxic analysis of cultured blood lymphocytes from petroleum refinery workers. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 21(1), 55-61.
- Hernández, A, M. (2020). Percepción social del riesgo por contaminación ambiental a causa de las cementeras y caleras, en Atotonilco de Tula, Hidalgo y Apaxco, Estado de México. [Tesis de licenciatura]. Universidad Autónoma del Estado de México. Repositorio institucional. <http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/109418>

- Hwang, E. y Bowen, P. (2007). DNA damage, a biomarker of carcinogenesis: its measurement and modulation by diet and environment. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 47(1), 27-50. doi: 10.1080/10408390600550299.
- INECC. (2022). Informe Nacional de Calidad del Aire, 2020. Disponible en: <https://sinaica.inecc.gob.mx/archivo/informes/Informe2020.pdf>
- INEGI. (2019). Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas (DENUE). Disponible en: <https://www.inegi.org.mx/app/mapa/denue/default.aspx>. Ultima consulta mayo 2024.
- Juárez, S, L., García, N, E., Costilla, S, R., García, G, E., Coronel, O, C., y Gómez, C, M. (2013). Evaluación del potencial genotóxico de sedimentos contaminados con COP y suelos agrícolas Utilizando Vicia faba Micronucleus Assay, *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 22: 3, 288-300, DOI: [10.1080 / 15320383.2013.726293](https://doi.org/10.1080/15320383.2013.726293)
- Koppen, G., Azqueta, A., Pourrut, B., Brunborg, G., Collins, A.R. y Langie, S.A.S. (2017). The next three decades of the comet assay: a report of the 11th International Comet Assay Workshop. *Mutagenesis* 32(3): 397-408. <https://doi.org/10.1093/mutage/gex002>
- Lesser, C, L.E., Lesser, L, J.M., Arellano, I, S. y González, P, D. (2011). Balance hídrico y calidad del agua subterránea en el acuífero del Valle Mezquital, México central: *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*, 28(3), 323-336.
- Martínez, J, E. (2018). Visualizador web de la incidencia de cáncer en el valle del mezquital, México y su relación con la contaminación de industrias cementeras. Tesis de licenciatura, Toluca de Lerdo, México.
- Moller P. (2006). Assessment of reference values for DNA damage detected by the comet assay in human blood cell DNA. *Mutation Research* 612: 84–104.
- Montes de Oca-Jiménez, R., Pérez-Rodríguez, J. E. y Rodríguez-Domínguez, M. C. (2022). Niveles de plomo en suelo, pasto y agua en localidades cercanas al río Lerma, del Estado de México, dedicada a la ganadería. *Terra Latinoamericana*, 40, 1-8. e949. <https://doi.org/10.28940/terra.v40i0.949>
- Murillo, T, R., Prado, B., Durán, A, J. y Jiménez, C, B. (2012). Retención de 4-nonilfenol y diftalato en suelos del Valle de Tula, Hidalgo, México.

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S200724222012000400007

- NOM-004-SSA1-2013. Norma Oficial Mexicana. Salud ambiental. Limitaciones y especificaciones sanitarias para el uso de los compuestos de plomo. Diario Oficial de la Federación. Mayo 2014. pp.
- NOM-199-SSA1-2000. Modificación de la Norma Oficial Mexicana. Salud ambiental. Niveles de plomo en sangre y acciones como criterios para proteger la salud de la población expuesta no ocupacionalmente. Diario Oficial de la Federación, 30 de agosto 2017.
- Obeng, G, E. (2019). Source of lead exposure in various countries. Review on Environmental Health, 34(1), 25-34.
- OMS (2022). Economic Impacts of Overweight and Obesity.” 2ª edición con estimaciones para 161 países. Federación Mundial de la Obesidad, 2022.
- Ortiz,E, B. (2019). Región Atitalaquia-Tula-Apaxco: Hacia un modelo de restauración ecológica. En: Diálogos ambientales Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales 1:79-82.
https://mia.semarnat.gob.mx:8443/dialogosAmbientales/documentos/DialogosAmbientales_Anio1_no1.pdf
- Ortiz,O, E., García, N, E., Juárez, S, L., Gómez, C, M.A., García, G, E. y Limón, H, P. (2017). Lead exposure: pottery impact in Tlaxcala, Mexico. Revista internacional de contaminación ambiental, 33(1), 57-64.
<https://doi.org/10.20937/rica.2017.33.01.05>
- Padilla, G, J. (2019). La cementera de Córdoba: las claves ciudadanas de un conflicto (III parte). Ediciones Don Folio. Córdoba. 274 p.
- Polanco, F, NA. (2022). Epidemiología de la enfermedad renal crónica en la zona Tula de Allende-Tepeji del Río, Hidalgo, México. Med Int Méx; 38 (2): 248-257.
- Potter, N, A., Meltzer, G, Y., Avenbuan, O, N., Raja, A. y Zelikoff JT. (2021). Particulate Matter and Associated Metals: A Link with Neurotoxicity and Mental Health. Atmosphere (Basel). 12(4),425. doi: 10.3390/atmos12040425.

- PROAIRE (2021-2030). Programa de Gestión para Mejorar la Calidad del Aire del Estado de Hidalgo 2021-2030. Disponible en: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/810373/39_ProAire_Hidalgo.pdf
- Ramírez, A, V. (2006). Biomarcadores en monitoreo de exposición a metales pesados en metalurgia. Anales de la Facultad de Medicina, 67(1), 49-58.
- Reyes, Y.C., Vergara, I., Torres, O.E., Díaz, L, M., y González, E.E. (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, ambiente y seguridad alimentaria. Revista Ingeniería Investigación y Desarrollo, 16 (2), 66-77
- Rodríguez, R, A., Cuéllar, L, L., y Maldonado, CG. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. Revista Cubana Investigación Biomédica. 35(3), 251-271
- Rodríguez, R, S. (2017). Evaluación del neuro-desarrollo en niños expuestos a plomo en la zona industrial de Tula de Allende, Hidalgo. Tesis de maestría. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 35 pp.
- Romo, G, C., Camacho, L, C., Otazo, S, M. y Marmolejo, S. (2019). Emisiones de GEI del corredor industrial Tula–Apaxco. Padi Boletín Científico De Ciencias Básicas E Ingenierías Del ICBI, 7(13), 12-16. <https://doi.org/10.29057/icbi.v7i13.3443>
- Rubio, C., Gutiérrez, A., Martín Izquierdo, R., Revert, C., Lozano, G., y Hardisson, A. (2004). El plomo como contaminante alimentario. Revista de Toxicología, 21(2-3), 72-80.
- Russo, A. y Degrossi, F. (2018). Molecular cytogenetics of the micronucleus: Still surprising. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 836(Pt A), 36-40. doi: 10.1016/j.mrgentox.2018.05.011.
- SEMARNAT. (2022). Informe de labores. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/756773/MEDIO-AMBIENTE_4to_InformeLabores_web.pdf

- Tang, S., Stokasimov, E., Cui, y Pellman, D. (2022). Breakage of cytoplasmic chromosomes by pathological DNA base excision repair. *Nature*:606(7916):930-936. doi: 10.1038/s41586-022-04767-1
- Téllez, R, M, M., Bautista, A, L, F., Trejo, V, B., Cantoral, A., Estrada, S, D., Kraiem R., Rosa, P, A., Gómez, A, LM., Romero, M, M., Cuevas, N, L., Shamah, Levy, T., Richard, F. y Tamayo, O, M. (2019). Reporte nacional de niveles de plomo en sangre y uso de barro vidriado en población infantil vulnerable. *Salud pública de México*. 61(6), 787-97.
- Tonina, E., Garcete, T., Samaniego, M.J., Aveiro, R., Aranda, A., Ortiz, J. y Widjaja, P. (2017). Test del cometa en sangre periférica de estudiantes fumadores de la Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica Nuestra Señora de la Asunción. *CIMEL* 22(1), 26-31. <https://doi.org/10.23961/cimel.v22i1.753>
- Vera, H, R. (2019). Una probadita del infierno. *Desinformémonos*. Recuperado de <https://desinformemonos.org/una-probadita-del-infierno/>
- Vodicka, P., Vodenkova, S., Opattova, A. y Vodickova, L. (2019). DNA damage and repair measured by comet assay in cancer patients. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*. doi:10.1016/j.mrgentox.2019.05.009
- WHO (2021a). Guideline for the clinical management of exposure to lead. Geneva: World Health Organization. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.
- WHO (2021b). Exposure to lead: a major public health concern. Second edition. Preventing disease through healthy environments. CC BY-NC-SA 3.0 IGO licence.
- WHO (2022). Directriz de la OMS para el tratamiento clínico de la exposición al plomo. Geneva: World Health Organization; 2022. 04, Antecedentes. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK581819/>
- WHO and FAO. (2015). Codex alimentarius international food standards. General Standard for Cotaminants and Toxins in Food and Feed (CODEX STAN 193-1995). World Health Organization and Food Aficulture Organization os the United Nations, USA, pp.59.

- Wu, H., Eckhardt, C, M. y Baccarelli, A, A. (2023). Molecular mechanisms of environmental exposures and human disease. *Nat Rev Genet.* 24(5), 332-344. doi: 10.1038/s41576-022-00569-3.
- Zhang, W, H., Dewolf, M, C., Hammadi, S., Fris, W., Noël, E., Lorenzo, R. y Alexander, S. (2012). Lead levels in umbilical cord blood in Belgium: A cross-sectional study in five maternity units. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 215(2), 202–205. doi: 10.1016/j.ijheh.2011.09.002

VI. ANEXOS

ANEXO 1

CARTA DE APROBACIÓN POR EL COMITÉ DE BIOÉTICA



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
FACULTAD DE ODONTOLOGIA

A quien corresponda:

A través de este conducto le envío un cordial saludo y sirva el mismo para hacer de su conocimiento que el Proyecto: Daño al DNA en sangre de pobladores ambientalmente expuestos a plomo en la región Tula-Apaxco bajo la dirección de la Dra. Elvia Ortiz Ortiz y la Dra. Libertad Juárez Santacruz ha sido aprobado por el comité de Bioética de la Facultad de Odontología. Agradeciendo de antemano la atención a la presente, quedo de usted.

ATENTAMENTE
"Por la Cultura a la Justicia Social"
Tlaxcala, Tlax. A 13 de marzo de 2022


M. en C. Aurora Lucero Reyes
DIRECTORA


LIRA Y ORTEGA S/N
COL. CENTRO TLAXCALA
TEL: 246 46 2 06 66

ANEXO 2
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN SISTEMAS DEL AMBIENTE



CONSENTIMIENTO INFORMADO

Folio _____

A QUIEN CORRESPONDA

Por este conducto solicito a usted su colaboración para participar en el estudio "Daño al DNA en sangre de pobladores ambientalmente expuestos a plomo en la región Tula-Apaxco", que será realizado por investigadores de la Universidad Autónoma del Estado de México y la Universidad Autónoma de Tlaxcala como parte del proyecto "Evaluación de riesgo para la salud humana por agentes tóxicos de origen antrópico como herramienta de empoderamiento social. Región Estratégica Ambiental: Norte del Estado de México y Zona Tula, Hidalgo" (Proyecto 318998. PRONACE-CONACYT).

El proyecto consistirá en una evaluación de la salud a partir de indicadores socioeconómicos, ambientales y de salud, para tal efecto el participante deberá contestar una encuesta que abordará aspectos sociales y ambientales, se registrarán los parámetros antropométricos (peso y talla) y se tomará una muestra de sangre para la cuantificación de plomo, así como de micronúcleos, e índice de daño al DNA. Los análisis y el manejo de las muestras serán realizados por personal capacitado. En todo momento se empleará material nuevo y esterilizado y la información y datos se manejarán de manera confidencial y anónima.

Agradeciendo su participación, quedo a sus órdenes.

ATENTAMENTE

Dra. Brisa Violeta Carrasco Gallegos
Responsable técnico del proyecto

Dra. Edelmira García Nieto
Coordinadora del grupo de trabajo de
la UATx

FIRMA DE CONSENTIMIENTO

Nombre y firma del participante

ANEXO 3 CUESTIONARIO

	UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN GENÉTICA Y AMBIENTE	
---	---	---

CUESTIONARIO

A. Control de cuestionarios Folio: _____ Fecha: _____

B.- Datos Generales del participante

Nombre: _____
 Edad: _____ Género M _____ F _____
 Estatura (m) _____ Peso (Kg) _____

C. Dirección de Vivienda

Estado: _____ Municipio: _____ Localidad: _____
 Calle _____ No. _____
 Colonia: _____
 Años de residencia _____

D. Descripción de residencia

1. Vive cerca de una zona con actividad agrícola _____

SI _____ ¿Cuál? _____
 No _____

2. Aproximadamente ¿Qué distancia existe entre su casa y la zona agrícola?

Menos de 500 metros _____
 500-1000 metros _____
 1000-3000 metros _____
 Más de 3000 metros _____

3. ¿Vive cerca de una zona industrial?

SI _____

¿Cuál? _____

No _____

4. Aproximadamente ¿Qué distancia existe entre su casa y la zona industrial?

Menos de 500 metros _____

500-1000 metros _____

1000-3000 metros _____

Más de 3000 metros _____

5. El techo de su vivienda es de:

_____ Lámina

_____ Cemento

Otro ¿Cuál? _____

6. El piso de su vivienda es de:

_____ Tierra

_____ Cemento

_____ Loseta

E. Salud y hábitos

7. ¿Sufre o sufrió de alguna enfermedad?

SI _____

¿Cuál? _____

¿Cuándo fue diagnosticada? _____

No _____

8. ¿Tiene algún familiar directo que padezca alguna enfermedad?

SI _____

¿Cuál? _____

No _____

9. ¿Ha consumido algún medicamento en los últimos 3 meses? ¿Consume multivitamínicos?

SI _____

¿Cuál? _____

No _____

10. ¿Fuma?

SI _____

No _____

_____ 1 cigarrillo al mes

_____ 3 cigarrillos semanales

_____ 4 cigarrillos diarios

_____ Más de 10 cigarrillos diarios

11. ¿Consume bebidas alcohólicas?

SI _____

No _____

_____ 1 vez a la semana

_____ 2-3 veces a la semana

_____ 1 vez al mes

_____ 2-3 veces al mes

Otro _____

12. ¿Consume drogas?

SI _____

No _____

_____ 1 vez a la semana

_____ 2-3 veces a la semana

_____ 1 vez al mes

_____ 2-3 veces al mes

Otro _____

13. ¿Cocina con ollas o cazuelas de barro?

SI _____

No _____

14. ¿Cocina o toma agua de grifo?

SI _____

No _____

F. Alimentación

15. ¿Consume verduras?

SI _____ ¿Cuántas veces por semana? _____

No _____

16. ¿Consume legumbres?

SI _____ ¿Cuántas veces por semana? _____

No _____

17. ¿Consume frutas?

SI _____ ¿Cuántas veces por semana? _____

No _____

18. ¿Consume embutidos?

SI _____ ¿Cuántas veces por semana? _____

No _____

19. ¿Consume carne?

SI _____ ¿Cuántas veces por semana? _____

No _____

20. ¿Consume cereales (tortilla, pan, arroz, avena)?

SI _____ ¿Cuántas veces por semana? _____

No _____

21. ¿Consume productos enlatados?

SI _____ ¿Cuántas veces por semana? _____

No _____

G. Datos laborales

22. ¿Trabaja actualmente?

SI _____

¿Donde? _____

No _____

23. ¿Cuáles son las actividades que realiza?

24. Tiempo de antigüedad en su trabajo

_____ Menos de 1 año

_____ 1-3 años

_____ 3-5 años

_____ 5-10 años

_____ Más de 10 años

25. ¿Tiene un trabajo adicional a su empleo principal?

SI _____

¿Cual? _____

No _____

COMENTARIOS: