

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA**

**ASOCIACIÓN ENTRE FUNCIÓN TIROIDEA Y EXPOSICIÓN A FLUORURO EN
NIÑOS DE LA CIUDAD DE CHIHUAHUA**

POR:

Q.F.B. OMAR LOYA FIERRO

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE
MAestrÍA EN CIENCIAS EN BIOTECNOLOGÍA**

CHIHUAHUA, CHIH., MÉXICO

JUNIO DE 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Chihuahua, Chih. 10 de junio de 2020.
Oficio: 33/CA/SIP/20

Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Autónoma de Chihuahua
Presente:

Los integrantes del comité, informamos a Usted que efectuamos la revisión de la Tesis intitulada: **Asociación entre función tiroidea y exposición a fluoruro en niños de la ciudad de Chihuahua**, presentada por el Q.F.B. Omar Loya Fierro, alumno del Programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología.

Después de la revisión, indicamos al tesista las correcciones que eran necesarias efectuar y habiéndolas realizado, manifestamos que la tesis, de la cual adjuntamos un ejemplar, ha cumplido con los objetivos señalados por el Comité de Tesis, por lo que puede ser considerada como adecuada para que se proceda con los trámites para la presentación de su Examen de Grado.

Atentamente
"Por la Ciencia para Bien del Hombre"


Dra. Blanca Estela Sánchez Ramírez
Asesora de tesis


Dra. María de Lourdes Ballinas Casarrubias
Asesora de tesis


Dra. María del Rocío Infante Ramírez
Asesora de tesis


Dra. Beatriz Adriana Rocha Gutiérrez
Asesora de tesis


Dra. María del Carmen González Horta
Directora de tesis


Dr. Ildebrando Pérez Reyes
Secretario de Investigación y Posgrado



FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICAS
SECRETARÍA
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

***El que suscribe certifica que las firmas que aparecen en esta acta, son auténticas, y las mismas que utilizan los Profesores mencionados.

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Circuito Universitario
Campus Universitario #2 C.P. 31125
Tel. +52 (614) 236 6000
Chihuahua, Chihuahua, Médco
<http://www.fcq.uach.mx>

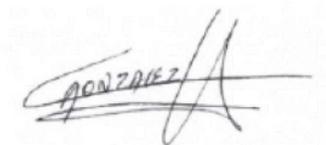
Chihuahua, Chihuahua a 8 de junio de 2020

**DR. ILDEBRANDO PÉREZ REYES
SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA
PRESENTE**

Por este conducto me permito hacer de su conocimiento que el estudiante del programa de Maestría en Ciencias en Biotecnología **QFB OMAR LOYA FIERRO** matrícula 334616, ha concluido satisfactoriamente la tesis: "Asociación entre función tiroidea y exposición a fluoruro en niños de la ciudad de Chihuahua".

Por lo anterior solicito de la manera más atenta turnarla al Comité de Tesis para su revisión y liberación.

ATENTAMENTE

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'GONZALEZ', with a large, stylized flourish extending to the right.

**DRA. MARÍA DEL CARMEN GONZÁLEZ HORTA
DIRECTORA DE TESIS
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CHIHUAHUA**

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a los pequeños de la casa:

Nahomi, Odalis, Gore, Lissa y Fer.

Que la tradición familiar del deber cumplido
sea fértil en ustedes



Ad maiorem Dei Gloriam

IN MEMORIAM

Julia Vázquez Torres †

Nicacia Salcido Alarcón †

AGRADECIMIENTOS

Te Deum laudamus: te Dominum confitemur.

(A ti Dios, te alabamos: a Ti, Señor, te damos gracias)

Son tantas las personas a las que les debo el poder concluir esta tesis de maestría, que temo ser ingrato con alguno. Intentaré recordarlos todos, y discúlpenme de antemano si omito alguno de sus nombres. Quiero comenzar agradeciendo a la DC María del Carmen González Horta, por depositar su confianza en mí para el desarrollo de este proyecto. Le agradezco aceptarme como tesista, a sabiendas del riesgo que entrañaba, y aceptarme en el laboratorio de Biotecnología III. Gracias por todas las enseñanzas, correcciones, disponibilidad y paciencia para conmigo. Deja usted en mí una huella imperecedera.

Un afectuoso agradecimiento a todo mi Comité de Tesis, por la extraordinaria ayuda prestada de tantas maneras a su servidor. Agradezco en gran manera todo el apoyo logístico y operativo para la realización de las fases muestrales desplegado por la D.C. Rocío Infante, quien incansablemente y con mucho optimismo supo empujarme para no ceder a la desesperanza. A la D.C. Luly Ballinas, por su grandísimo apoyo al permitirme trabajar en su laboratorio, así como por sus constantes consejos y palabras de aliento. A la D.C. Betty Rocha, por todo el apoyo en organizar el muestreo de agua en la ciudad de Chihuahua, por sus consejos en la escritura del marco teórico y sus útiles correcciones. A la D.C. Blanca Sánchez por sus acertados comentarios y sugerencias en cada seminario de avance, y por recibirme en su laboratorio, al igual que la Dra. Carmen. Muchas gracias por todo, doctoras.

Gracias al MC Jesús Ochoa, por su contribución en la realización de los mapas de riesgo, por las sesiones de capacitación en los sistemas de información geográfica, y por sus consejos en la realización del muestreo. A la QBP Vanesa Jáquez, por su apoyo en el muestreo y procesamiento de las muestras de agua, y por su actitud positiva y llena de entusiasmo. A las técnicas de laboratorio Letty y Paulita, por brindarme su experiencia y anécdotas con tanta paciencia, infinitas gracias. Al Q.B.P. Luis Villanueva “Güero”, muchas gracias por resolver con tanta paciencia todas mis dudas al comenzar este proyecto, me transmitiste seguridad y confianza cuando no sabía ni cómo empezar.

Agradezco a la M.C. Tania Siqueiros por el apoyo brindado al facilitarnos una grandiosa brigada de chicos de servicio social, quienes dieron gustosamente

tantas horas de su tiempo para colaborar en tantas y diversas actividades, que este proyecto no hubiera podido realizarse sin ellos. Agradezco especialmente a los alumnos de Q.BP. Cynthia Pacheco, Cinthia Novoa, Daniel Rubio, Zuleika Wolf y Samantha González por su disponibilidad y actitud de aprendizaje, fue un gusto trabajar con ustedes, y les auguro mucho éxito profesional. Así mismo, agradezco a todos los alumnos de la materia de Seminario de casos clínicos de la Dra. Rocío, por su invaluable apoyo en la aplicación de las entrevistas, sin las cuales hubiese sido complicadísima la recolección de la información.

Gracias a todos los compañeros del laboratorio de Biotecnología III por su orientación y consejos, especialmente a la C.D.C. Lory Híjar por ser una guía disponible y eficaz ante toda duda presentada en el trabajo dentro del laboratorio. Gracias a la Q.B.P. Jessy Cano, por su amabilidad y disposición para enseñarnos a los mismos compañeros de posgrado. Gracias a la M.C. Zaira Gómez por permitirme acompañarle en su experimental y brindarme parte de sus conocimientos. Y muchas gracias a la I. Q. Susy Perrusquía por su sincera y valiosa amistad, por acompañarme en tantas fases del trabajo experimental, escucharme, darme consejos, y animarme siempre a seguir adelante, fue muy divertido compartir experiencias juntos en el laboratorio.

Gracias a todos los profesores de la maestría en Biotecnología por transmitirnos sus conocimientos y experiencias como investigadores. Gracias a ayudarnos a pensar y hacer Ciencia para el bien de la sociedad. También agradezco a todo el personal de la UACH que día a día, gracias a su trabajo, hacen que la universidad sea lo que es actualmente, especialmente a la secretaria Inés Caro por su ayuda en todo lo relacionado a tramites y papeleo, quien siempre supo cómo ayudarnos, dando el extra.

A mis compañeros de generación: Q.B.P. Sayuri Nakamura, Ing. Carlos Trejo, Q.B.P. Jesús Ramos, Q.B.P. Eduardo Mata, Q.B.P. Benjamín Hernández y Q. Fernando Sepúlveda, gracias por regalarme con su amistad y hacer que la maestría fuera una divertida experiencia, con sus lágrimas y cansancios, pero que sin ustedes hubiera sido extremadamente difícil el sortear todos los retos y obstáculos que se presentaron a lo largo del posgrado. Gracias Chuy, por adoptarme en tu laboratorio y ser un gran amigo y confidente, por todas esas charlas vespertinas acompañadas de un cigarro. Gracia a Lalo y Benja por tantas risas y cafés, no creo encontrar en otro lado tanta diversión que la que tuve con ustedes. Agradezco a Carlos por su ejemplo de amor y pasión por la ciencia y a Fer por su paciencia y optimismo. De cada uno de ustedes me llevo un aprendizaje muy valioso. Estoy seguro que todos nos apoyamos de alguna manera para alcanzar juntos esta meta, ¡sí se pudo!

Gracias también a todos los amigos que constantemente se interesaron en saber cómo iba este trabajo, particularmente al M.V.Z. Joel Ortega, Ing. Edel Chávez y Q.F.B. Berenice Castañeda, gracias por su constante amistad y aliento.

Agradezco a la Fundación del Empresariado Chihuahuense (FECHAC A.C.) por su generosidad y altruismo en el financiamiento del presente trabajo y la construcción de la planta potabilizadora para beneficio de todas las familias de la Sec. 3049. Gracias por escuchar nuestro proyecto y apostar por él en beneficio de los chihuahuenses. De igual forma, agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca proporcionada para la realización de este proyecto.

Mi más sincero agradecimiento a todo el personal de la Secundaria 3049 por recibirnos con las puertas abiertas y apoyarnos en todo lo que necesitamos durante estos meses de trabajo, a los profesores, prefectos, personal de mantenimiento y muy especialmente al Director Prof. Jesús Francisco Madrid, por confiar desde el primer momento en nosotros. También agradezco con todo mi respeto al alumnado y los padres de familia, por soportar todas las molestias y brindarnos su confianza y colaboración: demostraron un excelente trabajo comunitario y una fuerte consciencia social. Gracias a su apoyo será posible tomar medidas adecuadas en los problemas de la calidad del agua en la ciudad de Chihuahua.

Agradezco de todo corazón a la Familia Flores Quiñónez, por adoptarme como un miembro más de su familia y hacer mi estadía en la ciudad sumamente alegre y cálida. Gracias a los señores José Luis y Leonor, por abrirme las puertas de su hogar y darme un asiento a la mesa. Gracias Leo, Abril y José Luis, por ser unos hermanos que llenaron mis días con risas, reflexiones, largas pláticas de sobremesa, y divertidos juegos con Hunter, Balto y Yeti. Agradezco especialmente a José Luis Juan por convertirse en un hermano mayor, siempre empujándome al amor al conocimiento, gracias por tu paciencia y consejos sinceros.

Finalmente, agradezco a mi familia por su inagotable apoyo, por confiar en mí y alentarme a superarme. Gracias infinitas a mis padres los señores Manuel Loya y María Elena Fierro, por enseñarme el valor del trabajo honrado, cueste lo que cueste, gracias padres por apoyarnos con tantos sacrificios y sin condición alguna. A mis hermanos Gorethy, Fernando e Iris, por las enseñanzas de vida que me impulsaron durante este posgrado: a Gore, por su incansable capacidad de trabajo, a Fernando por su pasión por servir a los demás a expensas de su misma vida, y a Iris, por levantarse de todos los obstáculos, sin darse jamás por vencida. Los amo, familia, siempre me acompañan a donde quiera que voy.



ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
ABREVIATURAS.....	xiv
RESUMEN.....	xvii
ABSTRACT.....	xix
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. ANTECEDENTES.....	8
2.1 Generalidades del flúor.....	8
2.2 Fuentes de exposición a F ⁻	9
2.2.1 Fuentes naturales.....	9
2.2.2 Fuentes antropogénicas.....	9
2.2.3 Otras fuentes.....	10
2.3 Hidrofluorosis.....	11
2.3.1 Legislación.....	13
2.3.2 Panorama mundial.....	14
2.3.3 México.....	15
2.3.4 Chihuahua.....	18
2.4 Toxicocinética del F ⁻	19
2.5 Biomarcadores de intoxicación con F ⁻	20
2.6 Valores de referencia.....	22
2.7 Mecanismos moleculares de toxicidad de F ⁻	24
2.7.1 Estrés oxidativo y apoptosis.....	24
2.7.2 Genotoxicidad.....	25
2.8 Efectos adversos a la salud.....	26
2.8.1 Fluorosis dental.....	26
2.8.2 Fluorosis esquelética.....	29
2.8.3 Daño hemático.....	29
2.8.4 Daño hepatorenal.....	30
2.8.5 Daño vascular.....	31
2.8.6 Daño cognitivo.....	31



2.8.7 Disrupción metabólica.....	32
2.8.8 Disrupción hormonal.....	34
2.8.8.1 Homeostasis normal de la tiroides.....	34
2.8.8.2 Disrupción de la función tiroidea.....	38
2.8.8.3 Hipotiroidismo subclínico.....	42
III. JUSTIFICACIÓN.....	45
IV. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	46
4.1 Hipótesis.....	46
4.2 Objetivos.....	46
4.2.1 Objetivo general.....	46
4.2.2 Objetivos particulares.....	46
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
5.1 Selección del área de estudio.....	47
5.1.1 Muestra de agua.....	47
5.1.2 Cuantificación de F ⁻	48
5.1.2.1 Cromatografía de iones.....	48
5.1.2.2 Electrodo ion selectivo.....	49
5.1.3 Elaboración de mapa de riesgo espacial.....	50
5.1.4 Verificación <i>in situ</i> de los niveles de F ⁻ y As de la zona de estudio.....	52
5.2 Primera fase del muestreo.....	52
5.2.1 Consideraciones éticas y presentación del proyecto.....	53
5.2.2 Inducción de padres de familia.....	53
5.2.3 Características de exposición de la población de estudio.....	54
5.2.3.1 Determinación de F ⁻ en muestras de agua y orina.....	54
5.2.3.2 Determinación de creatinina urinaria.....	55
5.2.4 Características somatométricas de la población de estudio.....	55
5.2.4.1 Diámetro de cintura y cadera.....	56
5.2.4.2 Presión arterial.....	56
5.2.4.3 Talla.....	57
5.2.4.4 Peso y composición corporal.....	57



5.2.5 Evaluación dental de la población de estudio.....	58
5.2.6 Conformación de los grupos de estudio.....	59
5.3 Segunda fase del muestreo.....	60
5.3.1 Toma de muestras sanguíneas.....	60
5.3.2 Aplicación del cuestionario.....	60
5.3.3 Criterios de selección.....	61
5.3.3.1 Criterios de inclusión.....	61
5.3.3.2 Criterios de exclusión.....	62
5.3.4 Determinación de los parámetros bioquímicos.....	62
5.3.4.1 Creatinina sérica.....	62
5.3.4.2 Glucosa.....	63
5.3.4.3 Colesterol total.....	63
5.3.4.4 Colesterol HDL.....	64
5.3.4.5 Colesterol LDL.....	65
5.3.4.6 Colesterol VLDL.....	65
5.3.4.7 Triglicéridos.....	66
5.3.4.8 TSH.....	67
5.3.4.9 FT4.....	68
5.3.4.10 FT3.....	69
5.4 Análisis estadístico.....	69
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	71
VII. CONCLUSIONES.....	100
VIII. BIBLIOGRAFÍA.....	102
IX. APÉNDICES.....	142
Apéndice I. Consentimiento informado.....	142
Apéndice II. Asentimiento informado.....	147
Apéndice III. Hoja de registro de parámetros clínicos.....	149
Apéndice IV. Cuestionario de exposición.....	150



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I. Estudios de casos y controles entre la exposición a F ⁻ y la función tiroidea.....	41
Tabla II. Criterios de clasificación de la tensión arterial de la población de estudio.....	57
Tabla III. Conformación de los grupos de estudio de la submuestra.....	60
Tabla IV. Parámetros somatométricos de acuerdo al sexo de la población de estudio.....	77
Tabla V. Regresión logística nominal entre las categorías de IMC y las variables de exposición en la población de estudio.....	83
Tabla VI. Regresión logística entre los estadios de hipertensión arterial y variables somatométricas y de exposición en la población de estudio.....	84
Tabla VII. Indicadores de exposición y parámetros somatométricos por nivel de fluorosis dental de la población de estudio.....	86
Tabla VIII. Hábitos de exposición crónica a F ⁻ por BE en la subpoblación de estudio.....	87
Tabla IX. Hábitos de exposición crónica a F ⁻ por fluorosis dental.....	87
Tabla X. Antecedentes patológicos de la subpoblación de estudio por BE.....	89
Tabla XI. Indicadores de exposición y parámetros somatométricos por grupo de estudio en la subpoblación de estudio.....	90
Tabla XII. Variables sociodemográficas de la subpoblación de estudio por grupo de estudio.....	92
Tabla XIII. Parámetros bioquímicos de la subpoblación de estudio por grupo de estudio.....	93
Tabla XIV. Parámetros bioquímicos de la submuestra por BE e IMC.....	93
Tabla XV. Regresión lineal múltiple de los niveles de las hormonas tiroideas.....	98

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biogénico del F^-	10
Figura 2. Mecanismos geogénicos de la disolución de F^- en las aguas subterráneas.....	12
Figura 3. Distribución de hidrofluorosis a nivel mundial.....	15
Figura 4. Distribución de hidrofluorosis en México (1993-2015).....	17
Figura 5. Co-ocurrencia de F^- y As en aguas subterráneas de México.....	18
Figura 6. Biosíntesis de las HTs y disrupción celular por F^-	36
Figura 7. Estructura e interrelaciones de las HTs.....	37
Figura 8. Tendencia histórica y países de origen de las investigaciones científicas sobre la toxicidad del F^- sobre componentes tiroideos.....	39
Figura 9. Distribución de los sitios de muestreo de los años 2018 y 2019.....	51
Figura 10. Correlación de Spearman entre las determinaciones de F^- realizadas con los métodos potenciométrico y cromatográfico.....	71
Figura 11. Mapa de riesgo espacial de la distribución de F^- del año 2018.....	73
Figura 12. Mapa de riesgo espacial de la distribución de F^- del año 2019.....	74
Figura 13. Concentración de F^- de las muestras de agua y orina de la población de estudio.....	78
Figura 14. Correlación de Spearman del contenido de F^- en las muestras de agua y orina de la población de estudio.....	79
Figura 15. Correlación de Spearman del contenido de F^- en las muestras de agua y orina con dilución ajustada de la población de estudio.....	79
Figura 16. Prevalencia de fluorosis dental por TFI en la población de estudio.....	81
Figura 17. Distribución de los NSE por categoría de peso en la subpoblación de estudio.....	91
Figura 18. Correlación de Spearman entre el F^- urinario ajustado a Cr y TSH.....	94
Figura 19. Correlación de Spearman entre $fT4$ y TSH.....	97



Figura 20. Correlación de Spearman entre FT3 y los parámetros de composición corporal.....98



ABREVIATURAS

4-AAP	4-aminoantipirina
ALT	Alanina-aminotransferasa
Al_xF	Fluoroaluminato
As	Arsénico
AST	Aspartato-aminotransferasa
ATSDR	Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades de Estados Unidos
BE	Bioequivalente de monitoreo
CHE	Colesterol esterasa
CHO	Colesterol oxidasa
Cr	Creatinina
CT	Colesterol total
D1	Yodotironina desyodinasa tipo I
D2	Yodotironina desyodinasa tipo II
D3	Yodotironina desyodinasa tipo III
DED	Dosis de exposición diaria
DIT	Diyodotirosina
EPA	Agencia de Protección Ambiental
F	Flúor
F⁻	Fluoruro
ft3	Fracción libre de triyodotironina
ft4	Fracción libre de tiroxina
G6P-DH	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa
HDL	Lipoproteínas de alta densidad
HF	Ácido fluorhídrico
HK	Hexoquinasa
HRP	Peroxidasa de rábano
HSC	Hipotiroidismo subclínico
HTs	Hormonas tiroideas



I⁻	Yoduro
IC	Intervalo de confianza
ICF	Índice comunitario de fluorosis
IMC	Índice de masa corporal
IQR	Rango intercuartílico
Kat	Katal
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LOAEL	Nivel más bajo de efecto adverso observado
\tilde{M}	Mediana
MCL	Máximo Nivel de Contaminante
mg/dL	Miligramo por decilitro
MIT	Monoyotirosina
MRL	Nivel de Riesgo Mínimo
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NaF	Fluoruro de sodio
NIS	Simportador sodio-yoduro
NOAEL	Nivel más alto de efecto adverso no observado
NSE	Nivel socioeconómico
OR	Relación de probabilidades
p	Valor de probabilidad
POD	Peroxidasa
ppb	Partes por billón
ppm	Partes por millón
r	Coeficiente de Pearson
R²	Coeficiente de determinación
RfD	Dosis de referencia
rpm	Revoluciones por minuto
rT3	T3 reversa
SIG	Sistema de información geográfica
T3	Triyodotironina
T4	Tiroxina



TDAH	Trastorno de déficit de atención e hiperactividad
TFG	Tasa de filtración glomerular
TFI	Índice de Thylstrup – Fejerskov
TG	Tiroglobulina
TG	Triglicéridos
TISAB	Tampón de ajuste de la fuerza iónica total
TPO	Tioyodoperoxidasa
TR	Receptor de hormona tiroidea
TRE	Elemento tiroideo de respuesta
TRH	Tirotropina
TSH	Hormona estimulante de la tiroides
Tyr	Tirosina
UI	Unidades internacionales
UTM	Unidad transversal Mercator
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad
YTD	Yodotironina desyodinasa
β	Coefficiente de regresión
ρ	Coefficiente de Spearman



RESUMEN

Introducción. En todo el mundo, más de 260 millones de personas se hallan expuestas a un agua de consumo con un contenido de F^- por encima de lo recomendado por la OMS (1.5 mg/L). La alta exposición se ha relacionado con diversos efectos adversos a la salud, tales como daño cognitivo, hemático, hepático, renal, vascular, esquelético y hormonal. Diversos estudios han asociado la alteración de la función tiroidea y la ganancia de peso con la exposición a altos niveles de F^- en el agua de consumo. En México, no existen estudios poblacionales sobre los efectos del F^- sobre la función tiroidea, con excepción del trabajo de Ruiz-Payan (2006) quien observó un decremento significativo ($p < 0.001$) de T3 respecto los valores de residentes de una comunidad no hidrofluorótica. Este antecedente excluyó a todos los individuos que presentaban algún grado de sobrepeso, debido a la compleja interrelación que hay entre función tiroidea – IMC – F^- . Por esta razón, resulta relevante investigar los efectos de la exposición a F^- en una población pediátrica vulnerable compuesta por individuos normopeso y con algún grado de sobrepeso.

Objetivo. Evaluar el efecto de la exposición de F^- en la función tiroidea en adolescentes con sobrepeso y obesidad de la Ciudad de Chihuahua.

Métodos. Se realizó un muestreo de agua de tipo no probabilístico en la ciudad de Chihuahua durante el año 2019. Las muestras fueron cuantificadas con dos de los métodos aprobados por la EPA, basados en cromatografía iónica y potenciometría. Con las concentraciones obtenidas de F^- , se realizó un mapa de riesgo espacial utilizando el sistema de información geográfica ArcMap® 10.4., con el fin de seleccionar la zona de estudio con el mayor riesgo a altos niveles de F^- en los últimos dos años. De esta manera, se seleccionó la Escuela Secundaria 3049 como la población de estudio. Previo consentimiento informado, se realizó la determinación de F^- en muestras de agua y orina, así como evaluación somatométrica y dental a los estudiantes. Se conformaron cuatro grupos de estudio según el nivel de exposición, determinado por la fluorosis dental, F^- urinario, y por el IMC. A un total de 140 estudiantes se les tomaron muestras de sangre para el análisis del perfil tiroideo, perfil de lípidos, glucosa y creatinina

sérica. Se les aplicó un cuestionario que incluyó variables de exposición crónica a F^- , variables sociodemográficas, antecedentes patológicos y datos relativos a actividad física y nutrición. El análisis estadístico se realizó mediante un análisis bivariado para determinar las variables significativas asociadas al perfil tiroideo, y un análisis de regresión lineal múltiple para evaluar la contribución de cada variable con los niveles de TSH, fT3 y fT4.

Resultados. La zona de estudio seleccionada mostró una concentración promedio de F^- de 3.48 ± 0.52 mg/L en el agua potable de consumo y no se detectó la presencia de As. Se observó una prevalencia de fluorosis dental del 83.2% en la población total, que refleja una exposición crónica a F^- y un ICF > 0.6 , que indica que la fluorosis dental es un problema de salud pública en la zona de estudio. Así mismo, un 83.4% de la población sobrepasó el valor del BE, lo cual está relacionada con exposición a corto plazo a F^- . Se estimó que el 70% de la población está expuesta a una dosis superior que la RfD de 0.08 mg/Kg/día. El análisis de regresión lineal múltiple mostró que el F^- urinario estuvo marginalmente asociado con el riesgo bajo peso/normopeso (OR = 1.40, 95% IC: 0.98 – 2.01), y asociado significativamente con la prehipertensión arterial (OR = 1.53, 1.06 – 2.21). Respecto al perfil tiroideo, el incremento de un mg F^- /g Cr predijo el aumento de 0.15 μ UI/mL de TSH. En cuando a los niveles de fT4, el grado de fluorosis dental, la frecuencia de cepillado y el uso de sal de mesa fueron predictores positivos para los niveles de fT4, mientras que la composición corporal fue un predictor negativo. En contraste, los niveles de fT3 no fueron predichos significativamente por ninguna variable de exposición, sino por variables somatométricas.

Conclusiones. La exposición crónica a altos niveles de F^- a través del agua de consumo está asociada con la alteración de los niveles de TSH y fT4 en niños de entre 12 – 15 años de edad de una zona hidrofluorótica de la ciudad de Chihuahua. Se recomienda realizar estudios de casos y controles que valoren la función tiroidea entre comunidades con diferentes grados de hidrofluorosis.



ABSTRACT

Introduction. More than 260 million people worldwide are exposed to drinking water with an F^- content above that recommended by the WHO (1.5 mg/L). High exposure has been linked to various adverse health effects, such as cognitive, blood, liver, kidney, vascular, skeletal and hormonal damage. Various studies have associated impaired thyroid function and weight gain with exposure to high levels of F^- in drinking water. In Mexico, there are no population studies on the effects of F^- on thyroid function, with the exception of the work by Ruiz-Payan (2006) who observed a significant decrease ($p < 0.001$) of T3 with respect to the values of residents of a non-community. hydrofluorotic. This antecedent excluded all the individuals who presented some degree of overweight, due to the complex interrelation that exists between thyroid function - BMI - F^- . For this reason, it is relevant to investigate the effects of exposure to F^- in a vulnerable pediatric population composed of individuals who are normal weight and with some degree of overweight.

Objective. To assess the effect of F^- exposure on thyroid function in overweight and obese adolescents from the City of Chihuahua.

Methods A non-probabilistic type of water sampling was carried out in the city of Chihuahua during the year 2019. The samples were quantified with two of the methods approved by the EPA, based on ion chromatography and potentiometry. With the concentrations of F^- obtained, a spatial risk map was made using the ArcMap® 10.4 geographic information system, in order to select the study area with the highest risk at high levels of F^- in the last two years. In this way, High School 3049 was selected as the study population. After informed consent, the determination of F^- was carried out in water and urine samples, as well as somatometric and dental evaluation of the students. Four study groups were formed according to the level of exposure, determined by dental fluorosis, urine, and BMI. A total of 140 students had blood samples taken for analysis of the thyroid profile, lipid profile, glucose, and serum creatinine. A questionnaire was applied that included variables of chronic exposure to F^- , sociodemographic variables, pathological history and data related to physical activity and nutrition.



Statistical analysis was performed using a bivariate analysis to determine the significant variables associated with the thyroid profile, and a multiple linear regression analysis to evaluate the contribution of each variable with TSH, fT3 and fT4 levels.

Results. The selected study area showed an average F^- concentration of 3.48 ± 0.52 mg/L in drinking water and the presence of As was not detected. A prevalence of 83.2% dental fluorosis was observed in the total population, which reflects chronic exposure to F^- and an $ICF > 0.6$, indicating that dental fluorosis is a public health problem in the study area. Likewise, 83.4% of the population exceeded the BE value, which is related to short-term exposure to F^- . It was estimated that 70% of the population is exposed to a higher dose than the RfD of 0.08 mg/Kg/day. Multiple linear regression analysis showed that urine was marginally associated with low weight / normal weight risk (OR = 1.40, 95% CI: 0.98 - 2.01), and significantly associated with arterial prehypertension (OR = 1.53, 1.06 - 2.21). Regarding the thyroid profile, the increase of one mg F^- /g Cr predicted the increase of 0.15 μ UI/mL of TSH. Regarding fT4 levels, the degree of dental fluorosis, brushing frequency and the use of table salt positively predicted fT4 levels, while body composition had significant negative predictions. In contrast, fT3 levels were not significantly predicted by any exposure variable, but somatometric variables.

Conclusions. Chronic exposure to high levels of F^- through drinking water is associated with altered TSH and fT4 levels in children between 12-15 years of age from a hydrofluorotic area of the city of Chihuahua. It is recommended to carry out case-control studies that assess thyroid function between communities with different degrees of hydrofluorosis.



I. INTRODUCCIÓN

La contaminación del agua por F^- es una de las preocupaciones ambientales más importantes desde hace un par de décadas (Ali *et al.*, 2016). En India, la hidrofluorosis comenzó a ser un problema de salud pública en 1937 (Adimalla & Venkatayogi, 2017). Hay regiones del mundo que presentan suelos con un alto contenido de minerales fluorados en donde existen pozos hídricos que exceden los 10 mg F^-/L . Prácticamente en cualquier parte del mundo se han detectado pozos con elevadas concentraciones de F^- (WHO, 2011). Sin embargo, existen amplias regiones en el mundo que, de manera endémica, se caracterizan por altas concentraciones de F^- en sus aguas subterráneas, como ocurre en amplias regiones del África, China, Oriente Medio, y el sureste asiático. Más de 260 millones de personas están expuestas al consumo de agua con una concentración de F^- por encima del límite superior indicado por la OMS (Banerjee, 2015) en más de 25 países (Kimambo *et al.*, 2019). Los países o regiones más afectadas son aquellos que disponen mayoritariamente de agua de origen subterráneo para abastecer a la población de agua potable (Alarcón-Herrera *et al.*, 2020).

El agua representa la principal vía de exposición de F^- para los seres humanos (Rafique *et al.*, 2015). La presencia de F^- en el medio ambiental hídrico se origina principalmente por diferentes procesos naturales: fenómenos atmosféricos, precipitación de partículas suspendidas, emisiones volcánicas, aguas termales y minerales presentes en el suelo (KheradPishen *et al.*, 2016). Generalmente, la concentración de F^- en las aguas superficiales, tales como lagos, ríos y estanques, es menor a 1.5 mg/L, y en muchos casos es menor que el propio límite de detección de las principales técnicas analíticas usadas en la determinación de F^- (Ali *et al.*, 2016). Por otro lado, la concentración de F^- de aguas subterráneas incluso no muy profundas, es generalmente mucho más alta y variable respecto a las aguas superficiales (Clark & Corbin, 1983; Huízar, Carrillo y Juárez, 2016).

En México, más del 70% del agua potable de consumo humano y más del 35% del agua utilizada con fines agrícolas tienen un origen subterráneo. En algunas regiones del país el agua subterránea llega incluso a cubrir la demanda total de los



cultivos (Armienta & Segovia, 2008), debido a que el territorio nacional se compone de un 70% de zonas áridas (INEGI, 2000) dependientes del bombeo de agua subterránea. Durante los últimos 40 años se han extraído de los acuíferos, a nivel nacional, más de 60,000 hm³ por año (Cortés *et al.*, 2010), y tan sólo en el 2017 se extrajeron 34,380 hm³, lo que representó un 39% del volumen total de agua concesionada para usos consuntivos, es decir el consumo de agua en el lugar de origen (CONAGUA, 2018).

No obstante que México ha sido clasificado como un país moderadamente afectado por la presencia de F⁻ en las aguas subterráneas (Ali *et al.*, 2016), en realidad la hidrofluorosis representa un problema de salud ambiental en gran parte no reconocido (Fawell *et al.*, 2006). A finales de los 90, se estimaba que más de 5 millones de personas principalmente de los estados de Aguascalientes, Chihuahua, Coahuila, Durango, Guanajuato, San Luis Potosí, Jalisco y Durango, estaban expuestas a elevados niveles de F⁻ en sus suministros de agua (Díaz-Barriga *et al.*, 1997). En el 2017, CONAGUA realizó uno de los estudios nacionales más amplios sobre la calidad del agua, recolectando más de 14,000 muestras de 3,951 sitios. Los resultados mostraron que más de tres millones de mexicanos viven dentro de un radio de 5 Km de algún sitio de muestreo con una concentración mayor a 1.5 mg F⁻/L, de lo que se infiere que más de 20 millones de mexicanos podrían estar expuestos a agua potable con una concentración por encima de la norma. Este trabajo encontró una correlación negativa entre la concentración de F⁻ y los mm de precipitación pluvial ($r = - 0.45$, $p < 0.01$) y una diferencia significativa en el grado de hidrofluorosis entre los estados húmedos y áridos ($p < 0.01$). De esta manera, los estados que presentaron los niveles más altos de F⁻ fueron Aguascalientes, Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Nuevo León, Querétaro, Sonora y Zacatecas (Alarcón-Herrera *et al.*, 2020).

La tiroides es particularmente vulnerable a tal cantidad de disruptores exógenos presentes naturalmente en el agua (Brucker-Davis, 1998) que resulta difícil clasificarlas de acuerdo con su mecanismo de acción (Sarne, 2016). Los



disruptores de las HTs se distinguen por afectar el metabolismo tiroideo ya sea por vía del eje hipotálamo-hipofisario o directamente a través de los receptores nucleares, lo que origina un incremento de los niveles séricos de TSH y/o una disminución de los niveles de T3 y T4 (Patrick, 2009). Aunque es cierto que los estudios epidemiológicos son cruciales para observar la prevalencia de desórdenes en la salud que pudieran estar vinculados a determinados contaminantes ambientales, en realidad es virtualmente imposible realizar asociaciones directas entre una observación epidemiológica y determinada sustancia química (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009). Sin embargo, una gran cantidad de estudios epidemiológicos han vinculado la exposición a F⁻ con alteración de algunos de los componentes del perfil tiroideo, mediante el uso de diferentes biomarcadores de exposición a F⁻ o directamente con la concentración de F⁻ del agua de consumo de la población estudiada.

En México a la fecha no existen suficientes estudios epidemiológicos que asocien función tiroidea e hidrofluorosis (Limón-Pacheco *et al.*, 2018), a pesar de que se reportan entre 1 – 25 mg/L de F⁻ en las aguas subterráneas (Huizar, Carrillo & Juárez, 2016). De hecho, el único estudio epidemiológico realizado en México sobre la asociación entre la ingesta de agua con altos niveles de F⁻ y el efecto disruptor sobre la tiroides es el de Ruiz-Payan (2006). En éste, fueron evaluados 201 adolescentes de entre 15 – 20 años, 70 de los cuales fueron reclutados de Villa Ahumada, Chihuahua, que tiene una concentración de F⁻ mayor a 5 mg/L; 65 participantes fueron seleccionados de la comunidad de Samalayuca, la cual tiene una concentración de F⁻ de 1.0 mg/L, y el resto de los adolescentes seleccionados fueron tomados de Ciudad Juárez, que tiene una concentración de F⁻ de 0.3 mg/L. Los resultados clínicos mostraron que los adolescentes de Villa Ahumada y Samalayuca mostraron niveles decrementados ($p < 0.001$) de T3.

El Instituto de Salud Pública de México publicó uno de los pocos trabajos en el mundo que describen los niveles de TSH sobre una muestra con representatividad nacional. Este trabajo aprovechó los datos obtenidos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2006. Los resultados indicaron que la prevalencia de HSC en

niños preescolares, niños de 6 – 12 años, adolescentes y población adulta fue de 9%, 10.3%, 8% y 8%, respectivamente. El estudio concluyó que los desórdenes tiroideos subclínicos, particularmente el hipotiroidismo subclínico (HSC), representan un problema poco detectado en México que necesita ser atendido, debido a que los niveles anormales de TSH incrementan el riesgo de HSC y obesidad abdominal (Sánchez-Romero *et al.*, 2012). En Chihuahua, más del 20% de los pacientes diagnosticados con síndrome metabólico en el Hospital del IMSS “Dr. Salvador Zubirán” presentaron niveles alterados de la TSH y fueron co-diagnosticados con HSC (Monárrez-Treviño *et al.*, 2014), lo que sugiere una importante relación entre obesidad e HSC en la entidad.

Estudios recientes reportan elevadas concentraciones de TSH sugerentes de HSC en individuos obesos. La ganancia de peso está asociada a ambas formas clínicas de hipotiroidismo y está correlacionada positivamente con el índice de masa corporal en niños, adolescentes y adultos obesos (Biondi, 2010). Se han propuesto dos hipótesis principales para explicar la relación entre función tiroidea y obesidad: 1. Pacientes obesos son más propensos a desarrollar anticuerpos-antitiroideos causantes de la disfunción tiroidea leve que contribuye a la progresiva ganancia de peso. 2. Pacientes obesos presentan elevados niveles de TSH como respuesta compensatoria del organismo para aumentar el gasto energético y perder peso, por lo que el incremento de la TSH no es una causa de la obesidad sino su consecuencia (Rotondi, Magri & Chiovato, 2011).

El Índice de Masa Corporal (IMC) es un parámetro que resume el estado nutricional de un individuo que permite comparar la masa corporal de individuos de diferentes estaturas, y es el parámetro más utilizado en los monitoreos de prevalencia de sobrepeso y obesidad (Das & Mondal, 2016). En adultos, el sobrepeso y la obesidad se definen como un $IMC > 25 \text{ Kg/m}^2$ e $IMC > 30 \text{ Kg/m}^2$, respectivamente. En adolescentes de 5 – 19 años, el sobrepeso se definen como un IMC una desviación arriba de la mediana establecida en los patrones de crecimiento; y la obesidad, como un IMC dos desviaciones estándar arriba de la mediana establecida para la edad (OMS, 2020). La obesidad infantil es uno de los



más grandes problemas de salud pública mundial del siglo XXI. Solamente en América Latina más del 20% de los niños menores de 19 años presentan sobrepeso u obesidad, aumentando el riesgo de enfermedades crónico-degenerativas, como síndrome metabólico, diabetes e hipertensión. México ocupa los primeros lugares de obesidad infantil en América Latina, lo que acarreará en un futuro inmediato un aumento en la prevalencia de las enfermedades asociadas a la obesidad (Shama-Levy *et al.*, 2018). El análisis de la actividad física de niños y adolescentes mexicanos muestra que ésta no ha aumentado en los últimos años, sino que el 80% de los niños y 35% de los adolescentes no cumplen con los mínimos criterios de actividad física (Medina *et al.*, 2018). El problema de la obesidad será un fenómeno persistente en México mientras un 90% de la población adulta siga tendiendo a subestimar su peso (Uribe-Carvajal *et al.*, 2018).

En el estado de Chihuahua, los resultados obtenidos de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición del 2012 determinaron que en los adolescentes de 12 – 19 años de edad ocurren una prevalencia estatal de obesidad y sobrepeso del 31.4%, siendo mayor en el entorno urbano y en el sexo femenino, mientras que en los niños de 5 – 11 años hay una prevalencia estatal de sobrepeso y obesidad del 30%, predominando en el entorno urbano, en el sexo masculino (Instituto Nacional de Salud Pública, 2013).

Los mecanismos que causan tal disfunción tiroidea en individuos obesos aún no se comprenden. Se ha visto que la secreción de leptina por parte de los adipocitos estimula en el hipocampo la secreción de TRH, la cual a su vez aumenta la secreción de TSH que a su vez estimula en los adipocitos la secreción de leptina (Menéndez *et al.*, 2003). La evidencia sugiere que la leptina es la hormona mediadora entre el IMC y la TSH (Lacobellis *et al.*, 2005; Witkowska-Sędek *et al.*, 2017). En niños obesos con HSC, los niveles de TSH pueden estar entre 5 – 7 mUI/L como resultado del excesivo peso corporal. En la mayoría de los niños obesos, la pérdida de peso normaliza la función tiroidea (Witkowska-Sędek *et al.*, 2017). Esta evidencia apoya las teorías de la respuesta adaptativa de la tiroides frente a la ganancia excesiva de peso.



Sin embargo, otras investigaciones sugieren que pequeñas variaciones en la función tiroidea, en la que las HTs se hallan aún dentro del rango de los valores de referencia, pueden contribuir a la ganancia de peso (Biondi, 2010). Un estudio transversal realizado en más de 4000 daneses encontró una correlación positiva entre el IMC y los niveles de TSH ($p < 0.001$) y una correlación negativa con los niveles de T4, lo cual evidencia una adecuada retroalimentación negativa del eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo. Estos datos sugieren que la alteración de los niveles de TSH es el evento primario, y la alteración del IMC causada por la alteración del gasto energético, el evento secundario. El modelo de regresión logística estima la contribución de la función tiroidea a la prevalencia de obesidad en un 1%, que, aunque parece ser una contribución modesta, es similar al impacto que la actividad física o el fumar tienen sobre la obesidad. El riesgo de obesidad aumentó un 200% con una TSH por encima de 3.6 mUI/L y se incrementa aún más en presencia de HSC (Knudsen *et al.*, 2005).

Un estudio transversal realizado en 74 niños y adolescentes de la Ciudad de México encontró una asociación entre un incremento de los niveles de TSH y el desarrollo de obesidad, encontrando una prevalencia de HSC de 11% en el grupo de menores con sobrepeso y obesidad. Este estudio es de las pocas investigaciones sobre disfunción tiroidea y obesidad que se han realizado en población pediátrica en México (Ayala-Moreno *et al.*, 2018). Un estudio en Querétaro halló que los niños obesos tienden a consumir yodo de manera excesiva, a través de la sal (García-Solís *et al.*, 2013), pero Méndez-Villa *et al.* (2016) no hallaron relación entre la función tiroidea y la obesidad y el consumo de sal en niños en edad escolar de Querétaro. Bastemir *et al.* (2007) advierten la dificultad para establecer relaciones causa – efecto entre los niveles de TSH y eventos metabólicos, como la obesidad, debido a que las relaciones con la función tiroidea son muy complejas (Rotondi, Magri & Chiovato, 2011).

Debido a que ya se ha comprobado el efecto disruptor del F^- sobre la función tiroidea, y a que la tiroides ejerce una acción importante sobre el equilibrio energético del organismo, algunos estudios han buscado relacionar el desarrollo



de obesidad con la exposición a F^- , aunque ningún estudio ha sido concluyente. Un estudio transversal realizado en una zona árida de la India con una presencia de F^- en el agua de los pozos de 0.25 – 9.40 mg/L mostró una asociación positiva entre la dosis de exposición a F^- y el IMC de niñas del grupo 6 – 8 años (Das & Mondal, 2016). En la India se observó que mujeres jóvenes con buen estado nutricional del grupo alto de IMC mostraban los más altos niveles de F^- urinario y los más bajos niveles de la hormona paratiroidea (Amarendra *et al.*, 2009), lo cual podría sugerir una disrupción endócrina del eje hipotálamo-hipofisario (Al-Raddadi, Bahijri & Khateeb, 2012). En contraste, Wang *et al.* (2007) encontraron una reducción del peso y la estatura en niños expuestos a altos niveles de F^- , mientras que Rębacz-Marón *et al.* (2013) no hallaron ninguna asociación entre el contenido de F^- en el cabello de hombres jóvenes con el IMC ni Khandare *et al.* (2017) encontraron diferencias en el IMC en un estudio de casos-control en niños de 8 – 15 años.

II. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del flúor

El flúor (F) es un elemento químico perteneciente al Grupo 17 (VIIA) de la tabla periódica. Posee un único isótopo estable, de número atómico 9 y una masa atómica de 18.9984 u. Con el Cl, Br, I y At conforma la familia de los halógenos (WHO, 2002). Su pequeño radio atómico de 72 pm (Chang, 2010) y su gran electronegatividad (Potencial estándar = +2.85 V) le otorgan la capacidad de formar una gran cantidad de fluoruros simples y complejos en los que el otro elemento reactante se halla en su estado de oxidación más alto. Estas dos propiedades periódicas hacen que el F sea el elemento más reactivo de los halógenos, capaz de reaccionar con todos los elementos químicos a temperatura ambiente o superiores, con excepción del O, N y el resto de los halógenos (ATSDR, 2003). Por esta razón, en la naturaleza es muy raro hallar al F en su estado elemental (F_2) como un gas verde-amarillento de fuerte olor irritante, sino más frecuentemente como ion fluoruro (F^-), correspondiente a la forma iónica presente en las disoluciones acuosas.

El F^- es una base de Lewis que aumenta el carácter básico de las soluciones en que se haya disuelto y se caracteriza por tener una alta afinidad por el Ca. De aquí que uno de los primeros compuestos fluorados conocidos fuera el fluoruro de calcio (CaF_2), mineral mejor conocido como fluorita. Ésta fue descrita por primera vez por Georgius Agricola en 1530 al utilizarla como un compuesto fundente en los procesos de metalurgia. De hecho, la etimología latina del F proviene de *fluere*, que significa “fluir”, debido a su uso en la fundición de metales. El F no pudo ser aislado de la fluorita hasta muchos años después de que fue descrito por Agricola, debido a su extrema reactividad. Henri Moissan reportó por primera vez el aislamiento de F_2 a partir de ácido fluorhídrico (HF), contribución por la cual fue galardonado en 1906 con el Premio Nobel de Química (Prystuppa, 2011).

2.2 Fuentes de exposición a F⁻

2.2.1 Fuentes naturales

El F es un elemento que se halla distribuido ampliamente sobre toda la corteza terrestre, ocupando la 13^o posición en cuanto a abundancia, presente en una proporción de 0.3 g/Kg (Gosh *et al.*, 2013). La presencia de F es detectable en la mayoría de los suelos, a menos que hayan sido fuertemente lixiviados (Liteplo *et al.*, 2002). Entre los principales minerales fluorados se cuentan la fluorita (CaF₂), sellaíta (MgF₂), fluoroapatita (Ca₅(PO₄)₃F), criolita (Na₃AlF₆), villiaumita (NaF), topacio (Al₂(SiO₄)F₂) y diferentes tipos de micas y anfíboles (Rafique *et al.*, 2015). El F⁻ puede estar presente en la atmósfera como polvo proveniente de los suelos compuestos por los minerales fluorados, y ser transportado largas distancias por el viento (WHO, 2019). La concentración de F⁻ en el aire es de aproximadamente 3 ng/m³ (KheradPishen *et al.*, 2016).

Otras fuentes naturales de F⁻ son las erupciones volcánicas. Las cenizas emitidas por erupciones volcánicas tienen una alta capacidad para transportar sobre su superficie tóxicos volátiles en forma de condensados solubles como el F⁻ (Armienta *et al.*, 2011). Se estima que entre 60,000 – 600,000 toneladas de F⁻ provenientes de la actividad volcánica, así como 20,000 toneladas provenientes de los aerosoles marinos, se incorporan directamente en la estratósfera cada año (Liteplo *et al.*, 2002).

2.2.2 Fuentes antropogénicas

La mayor parte del F⁻ que llega por vía aérea en las zonas urbanizadas proviene de fuentes industriales relacionadas con la fabricación de ladrillos, vidrio, cerámica, adhesivos y semiconductores eléctricos (WHO, 2019). Las emisiones industriales suelen ser gases de escape y aguas de desecho de diferentes procesos industriales, relacionadas principalmente con la producción de acero, Al, Cu y Ni (WHO, 2002). Se calcula que 46,600 toneladas de F⁻ fueron liberadas al medio ambiente provenientes de la producción de fertilizantes (48%), industria química

(20%), producción de aluminio (19%), acero (8%) y combustión de carbón (5%) (Liteplo *et al.*, 2002).

En entornos rurales, el uso de fertilizantes fosfatados es la principal fuente de contaminación de F^- , ya que estos fertilizantes se componen de hasta un 3.5% de F^- (WHO, 2002). También el uso de plaguicidas que contienen F^- contribuyen a la contaminación del suelo de uso agrícola (WHO, 2019). Sin embargo, la presencia de F^- en los diferentes medios ambientales es un proceso dinámico multifactorial, resultado de la suma de la contribución de los procesos naturales y la actividad humana, de manera que se puede hablar de un ciclo del F^- a través de la biogeósfera (WHO, 2002), como se representa en la Figura 1.

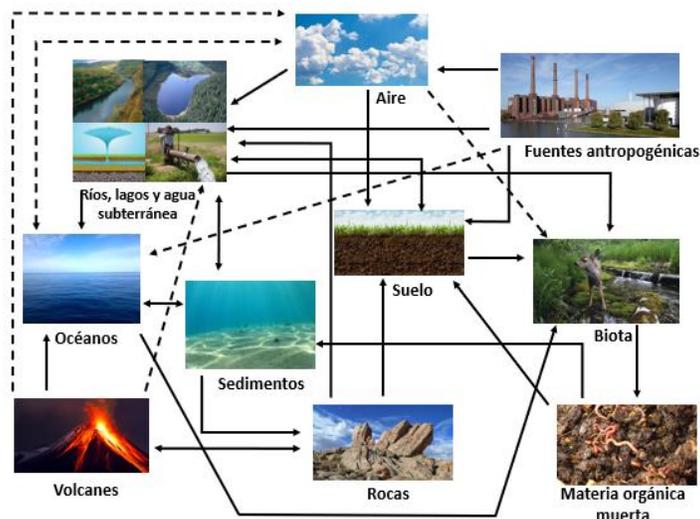


Figura 1. Ciclo biogénico del F^- . La presencia del F^- en el agua se debe a la suma de la actividad humana y los procesos naturales. Adaptado de Liteplo *et al.* (2002).

2.2.3 Otras fuentes

Prácticamente todos los alimentos contienen concentraciones variables de F^- . Generalmente, los niveles de F^- en carne, frutas y vegetales en estado seco son menores de 1 ppm, con dos importantes excepciones: té (60 ppm) y pescados y mariscos (30 ppm) (Trejo *et al.*, 1997). Las bebidas concentradas, como los jugos y refrescos carbonatados, representan la fuente que más contribuye en la ingesta diaria de F^- en los Estados Unidos, particularmente en niños (Nutrient Data Laboratory, 2005; Lodi *et al.*, 2007). Las principales fuentes alimenticias de F^-

varían acorde a la edad y cultura de los individuos. En infantes menores de 36 meses de edad se ha observado que los niveles del F^- excretado por la orina se correlacionan positivamente ($r = 0.41$, $p < 0.001$) con la concentración del F^- de la leche de vacas criadas en una región con hidrofluorosis endémica (Valdez *et al.*, 2018). En países con una larga tradición de beber té o infusiones se ha demostrado que una sola taza de té negro puede aportar hasta el 50% de la ingesta recomendada de F^- (Waugh *et al.*, 2016). En México, la sal de mesa representa una importante fuente de ingesta de F^- , debido a que existen marcas cuya concentración de F^- sobrepasa hasta un 200% los 200 – 250 mg F^-/Kg marcados por la NOM-040-SSA1-1993 (Hernández-Guerrero, 2008).

Los productos de cuidado dental, como dentríficos, enjuagues o geles, contienen entre 1,000 – 15,000 ppm de F^- debido a su efecto protector contra las caries. Aunque la contribución de F^- de estos productos a la ingesta total parece ser mínima (WHO, 2019), en niños menores de 12 años se ha demostrado que pueden contribuir con hasta el 20% del F^- ingerido (Prystupa, 2011), debido a que los infantes tienden a tragar entre 60 – 80% del dentífrico durante el lavado de dientes (Martínez-Mier *et al.*, 2003), por lo que es recomendable que los niños que usan dentríficos con una concentración de F^- mayor o igual a 1,000 ppm enjuaguen bien su boca después del cepillado dental, con el fin de evitar sobrepasar la ingesta diaria recomendada (Van Loveren *et al.*, 2004).

2.3 Hidrofluorosis

La presencia de F^- en las aguas subterráneas está relacionada con diferentes factores ambientales: suelos volcánicos y/o basamentos de rocas cristalinas, climas áridos o semiáridos, aguas subterráneas de tipo bicarbonatadas deficientes de Ca^{2+} y una recarga hídrica insuficiente (Rafique *et al.*, 2015), y está fuertemente condicionada por el tipo de minerales del suelo, el tiempo de residencia del agua con la roca, la temperatura debida a la profundidad de circulación, el pH, la solubilidad de los minerales fluorados (Huizar, Carrillo y Juárez, 2016), y especialmente la profundidad del pozo de extracción (Wen *et al.*, 2013).

Los mecanismos geoquímicos que explican la presencia del F^- en las aguas subterráneas (Figura 2) no se comprenden por completo, pero sí se sabe que están fundamentados en la disolución del F^- causada por el desgaste mineral de las rocas que están en contacto con el agua subterránea (Banerjee, 2014). Uno de los principales mecanismos de movilización de F^- es el desplazamiento o intercambio de iones F^- por iones OH^- , partiendo de compuestos minerales como la mica alumínica, reacción que se puede representar como: $KAl_3Si_3O_{10}(OH, F)_2 + CO_2 + 2.5H_2O \rightleftharpoons 1.5Al_2Si_2O_5 + K + HCO_3^- + 2F^-$. En este caso, una alta alcalinidad y la concentración de bicarbonatos son los principales factores responsables de la disolución del F^- (Ali *et al.*, 2016). Otros mecanismos geogénicos importantes son la hidrólisis de fluoroapatita y fluorita, los cuales son los principales minerales responsables de la contaminación de F^- en el agua (Banerjee, 2015). La hidrólisis de la fluoroapatita ocurre mediante un proceso interactivo entre las rocas minerales y el agua durante, por lo menos, 10^6 años descrito por la reacción $Ca_5(PO_4)_3F + 3H^+ \rightleftharpoons 5Ca^{2+} + 3HPO_4^- + F^-$, y la hidrólisis de la fluorita ocurre según la reacción $CaF_2 + Na_2CO_3 \rightleftharpoons CaCO_3 + 2F^- + 2Na^+$ y es acelerada por pH alcalino. Si no coexisten las condiciones fisicoquímicas favorables, estos mecanismos geogénicos no ocurren (Saxena & Ahmed, 2001).

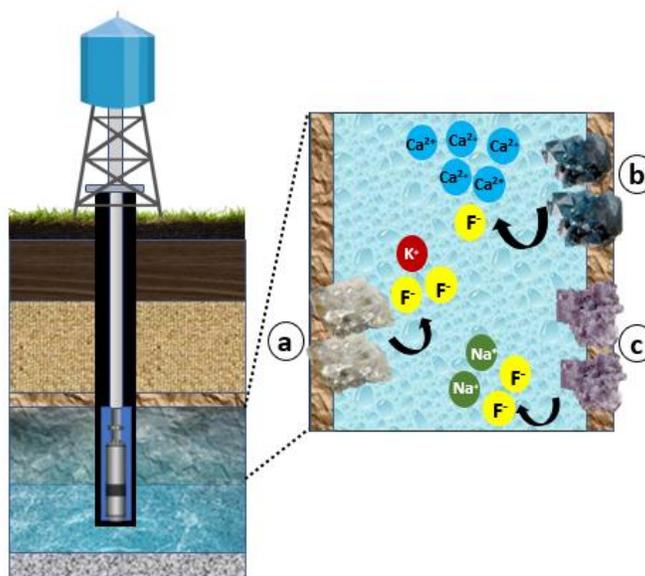


Figura 2. Mecanismos geogénicos de la disolución de F^- en las aguas subterráneas. a) Intercambio iónico $F^- - OH^-$ en una mica, b) hidrólisis de fluoroapatita y c) hidrólisis de fluorita. Elaboración propia.

2.3.1 Legislación

La legislación ambiental del F^- surgió a partir de los efectos observables del F^- sobre la apariencia dental. El F^- , al ser atraído fuertemente por el contenido cálcico de los dientes, ocasiona un cambio patológico que se caracteriza por un moteado marrón sobre el esmalte dental que comúnmente recibe el nombre de fluorosis dental (Singh, Gaur & Garg, 2007). En 1964, el Public Health Service de Estados Unidos estableció una concentración de 1.5 ppm de F^- como el estándar para las aguas con contenido natural de F^- que sirvieran para el consumo humano. Posteriormente, gracias al trabajo de Galagan, este límite máximo se adaptó a la temperatura de la región, ya que la prevalencia de la fluorosis dental estaba asociada con el consumo de agua dependiente de la temperatura de cada región (Clark & Corbin, 1983). En 1986, la Environmental Protection Agency (EPA) definió que 4 mg/L de F^- era el Máximo Nivel de Contaminante (MCL) que prevenía el riesgo de desarrollar fluorosis esquelética a lo largo de toda la vida, y que una concentración de 2 mg de F^- /L fungiría como estándar secundario recomendado para prevenir el desarrollo de fluorosis dental en niños (National Research Council, 2006; EPA, 2011).

Años más tarde, la Organización Mundial de la Salud estipuló que 1.5 mg/L de F^- sería el límite máximo permisible para el contenido natural o artificial de F^- para toda agua de consumo humano, y reconociendo que las diferencias climáticas podrían hacer necesario un reajuste local de dicho límite (Regional Committee for the Western Pacific, 1984). En países de climas áridos o tropicales se propone que el límite máximo de F^- sea de 0.6 mg F^- /L, en razón de la elevada ingesta de agua debido a las temperaturas cálidas (Singh, Gaur & Garg, 2007). A la fecha, no hay evidencia que sugiera que el límite de 1.5 mg F^- /L necesite ser revisado (WHO, 2004). Los países son libres de establecer para la concentración de F^- límites superiores menores a 1.5 mg/L, tal como sucede en China en donde dicho límite es de 1 mg F^- /L (Wen *et al.*, 2013).

En México, la legislación ambiental siguió la normatividad internacional, y en 1989 estableció que 1.5 mg de F^- /L era el criterio de calidad a cumplir por todos los

sistemas de abastecimiento que distribuyan agua para consumo humano en todo el territorio nacional mediante la Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994. En caso que la concentración de F^- del agua potable de consumo humano sea mayor a lo establecido en la Norma, el distribuidor del agua está obligado a someterla a un proceso adecuado de potabilización.

2.3.2 Panorama mundial

La hidrofluorosis en África es un fenómeno ampliamente extendido debido a la presencia de cinturones con alto contenido mineral de F^- , principalmente en el Gran Valle del Rift, desde Eritrea hasta Malawi (Msonda *et al.*, 2007), en donde se encuentran lagos con concentraciones superiores a los 2,000 mg F^-/L (Nair *et al.*, 1984; Jirsa *et al.*, 2013). En todo el continente africano se han detectado niveles superiores a la normativa internacional en las aguas subterráneas: de este a oeste, desde Yemén (Al-Amry, 2009) hasta Ghana (Apambire *et al.*, 1997); y de norte a sur, desde Argelia (Messaipta, 2008) hasta Sudáfrica (Thole, 2013).

Otro importante cinturón con alto contenido de F^- parte de Turquía, pasando por Palestina (Jabal *et al.*, 2014), Irak, Irán (Moghaddam & Fijani, 2008), Afganistán, Pakistán (Naseem *et al.*, 2012), India (Arif *et al.*, 2012), Tailandia (Chuckpaiwong *et al.*, 2000), Indonesia (Heikens *et al.*, 2005), China (Chen *et al.*, 2012) y Mongolia (Guo *et al.*, 2012). En América y Japón también existen cinturones minerales ricos en F^- . En el continente americano, los países que exhiben los más altos niveles de F^- son Estados Unidos (Reyes-Gómez *et al.*, 2015), Canadá (Boyle & Chagnon, 1995), Brasil (Fawell *et al.*, 2006), Argentina (Cabrera *et al.*, 2001), y México (Alarcón-Herrera, 2020). Los países con una problemática más grave a nivel mundial son India, China, Etiopía, Kenia y Argentina (Figura 3) En contraste, la hidrofluorosis parece no ser un problema generalizado en la mayoría de los países europeos, salvo algunas regiones (Ali *et al.*, 2016).

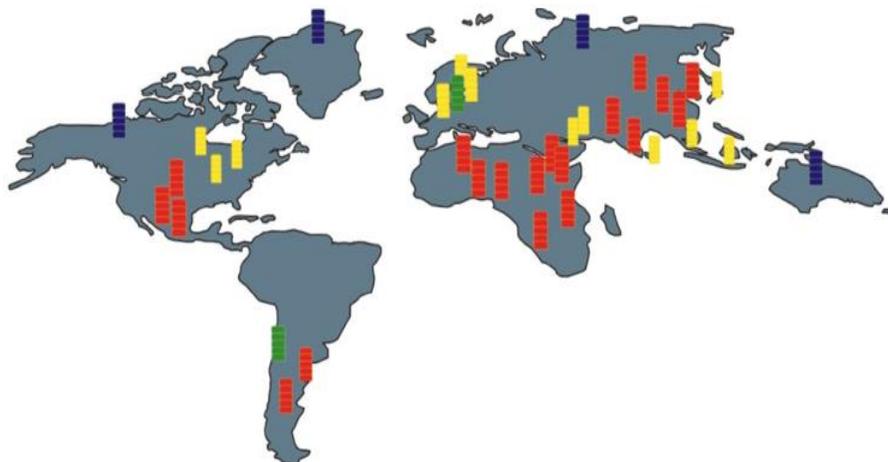


Figura 3. Distribución de hidrofluorosis a nivel mundial. Las barras rojas representan las zonas más afectadas por los altos niveles de F^- ; las barras amarillas, zonas con afectación moderada; barras verdes, zonas con menor afectación y las barras azules representan zonas con datos insuficientes (Ali *et al.*, 2016).

2.3.3 México

Las aguas subterráneas desempeñan un papel vital en el desarrollo socioeconómico de México por su disponibilidad todo el año, desde cualquier punto sobre la superficie de los acuíferos, los cuales funcionan como filtros purificadores que preservan la calidad del agua (CONAGUA, 2018). Generalmente, la calidad del agua subterránea es uno de los componentes que resulta más perturbado debido a la actividad humana. En cualquier ecosistema coexisten el clima, topografía, vegetación, suelo y balance de agua, bajo condiciones naturales, en un estado de equilibrio. Cuando la actividad humana altera el balance de alguno de estos factores, el equilibrio se ajusta a expensas de alguno de los componentes restantes (Carrillo-Rivera *et al.*, 2008).

Se ha demostrado que la sobreexplotación de los acuíferos es una de las principales causas del incremento de los niveles de F^- , Na^+ y As causado por flujo ascendente de aguas termales (Carrillo-Rivera *et al.*, 2008; Armienta & Segovia, 2008; Huízar *et al.*, 2016). Las extracciones de agua a una profundidad menor de 100 m son económicamente más factibles que las extracciones profundas, y el agua extraída se caracteriza por una mejor calidad que las aguas profundas por debajo de los 400 m. Estas aguas profundas son consideradas como “aguas

fósiles”, por el tiempo de interacción mineral-agua que es un factor directamente proporcional con la cantidad de F^- liberado al agua (Saxena & Ahmed, 2001). Una de las consecuencias de la sobreexplotación hídrica que se realizó en México durante el periodo 1960-1980 fue la contaminación del agua subterránea que satisface las necesidades de más de 55 millones de mexicanos (Cortés *et al.*, 2010).

El fenómeno de la sobreexplotación de los acuíferos se ha hecho particularmente patente sobre todo en los estados del norte y centro de México en los que desde el 2011, se han reportado acuíferos con una relación extracción/recarga < 0.10 hm^3 , lo cual les confiere el status de “sobreexplotados”. En el 2018, el 18% de los acuíferos mexicanos se encontraban sobreexplotados, lo cual representó un incremento del 3% con respecto al 2011 (CONAGUA, 2018). Los estudios realizados en las ciudades y localidades ubicados sobre los acuíferos sobreexplotados (Figura 4) muestran que efectivamente hay una relación entre la hidrofluorosis y el fenómeno humano de la sobreexplotación hídrica (Carrillo-Rivera *et al.*, 2008). En Hermosillo, Sonora, se determinó que la extracción de agua cada vez más profunda, con el fin de abastecer la creciente población, era la causa de que el F^- superase los 7 mg/L (Valenzuela-Vásquez *et al.*, 2006).

En México se ha reportado que el contenido natural de F^- en las aguas subterráneas puede llegar hasta los 25 mg/L (Huízar *et al.*, 2016). En los estados del norte del país se han determinado concentraciones de F^- en un rango de 2.5 – 9.7 mg/L., mientras que en la zona de El Bajío se ubican entre 4 – 17.7 mg/L. En ambas zonas se comparte un clima de tipo semiárido y una agricultura dependiente de pozos de extracción, aunque las concentraciones superiores de El Bajío podrían estar relacionadas con la intensa actividad agrícola y minera que caracteriza a la región desde tiempos de la Colonia (Peniche y Mireles, 2015). En el centro de la República, en los estados de Morelos y la Ciudad de México, la concentración de F^- en el agua subterránea fue de 1.3 – 1.9 mg F^-/L , e incluso algunos pozos de la Ciudad de México muestran una concentración de 0.7 ± 0.20 mg F^-/L , lo cual hace que en estas zonas, el uso de un suplemento de F^-

como, la sal fluorada, sea necesario para la prevención de las caries (Hernández-Guerrero *et al.*, 2005).

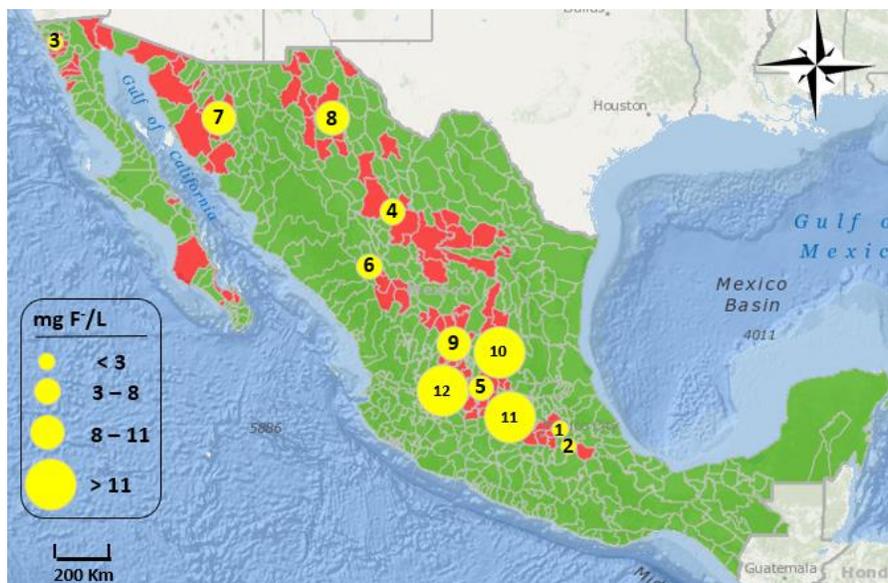


Figura 4. Distribución de hidrofluorosis en México (1993-2015). Las zonas de color rojo representan los acuíferos sobreexplotados (2018). 1. Ciudad de México (Galicia *et al.*, 2011), 2. Morelos (Huizar *et al.*, 2015), 3. Baja California (Daesslé *et al.*, 2009), 4. Coahuila (Del Razo *et al.*, 1993), 5. Guanajuato (ESF-DMAE. 2006), 6. Durango (Ortiz *et al.*, 1998), 7. Sonora (Valenzuela-Vázquez *et al.*, 2006), 8. Chihuahua (Mahlknecht *et al.*, 2008), 9. Aguascalientes (Trejo y Bonilla, 2001), 10. San Luis Potosí (Ortega y Guerrero, 2009), 11. Michoacán (Birkle *et al.*, 2000), 12. Jalisco (Hurtado y Gardea, 2005). Elaboración propia con datos del Sistema Nacional de Información del Agua (CONAGUA, 2018).

La problemática de la presencia de F^- en los áridos estados del noreste de México se ve agravada por la co-ocurrencia del As (Figura 5), fenómeno asociado con las particularidades hidrogeoquímicas de los acuíferos (Morales-Arredondo *et al.*, 2018). En al menos 36 acuíferos se han reportado niveles elevados de As y F^- , desde Baja California hasta Puebla (Reyes-Gómez *et al.*, 2013), pasando por la cuenca de la Comarca Lagunera (Armienta & Segovia, 2008; Ortega-Guerrero, 2009) en donde se observa una correlación ($r = 0.774$, $p < 0.001$) entre los niveles de As y F^- (Del Razo *et al.*, 1993).

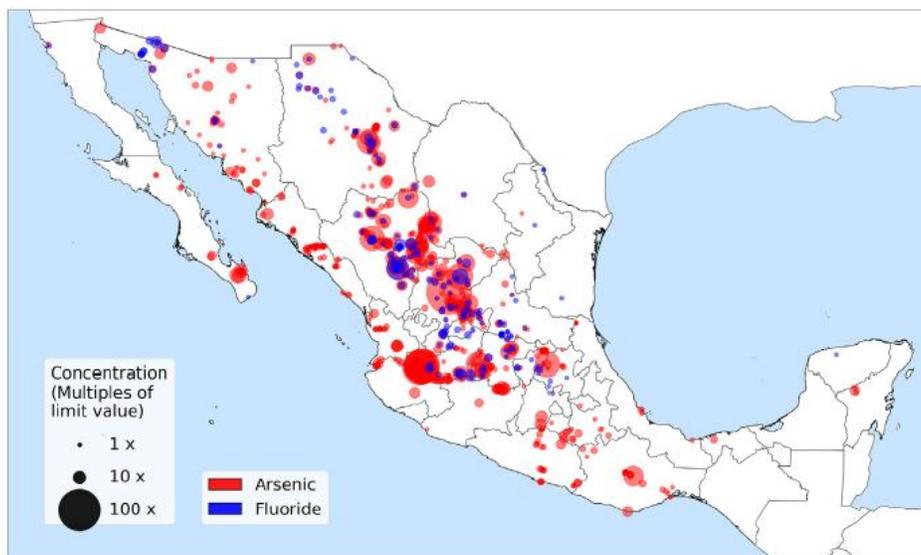


Figura 5. Co-ocurrencia de F^- y As en aguas subterráneas de México. El “Cinturón mexicano de estaño” corresponde al área mineralizada al oriente de la Sierra Madre Occidental y es rica en F^- y As (Alarcón-Herrera *et al.*, 2020).

2.3.4 Chihuahua

El agua subterránea de la región centro-sur del estado se caracteriza por niveles de hasta 5 – 5.9 mg/L y 40 – 134 $\mu\text{g/L}$ de F^- y As, respectivamente (Armienta & Segovia, 2008; Jiménez-Córdova *et al.*, 2018) e incluso algunos poblados superan los 8 mg F^- /L (Zacarías-Estrada, 2009). Las aguas de riego agrícola no están exentas de la presencia de As. El 10% de muestras de agua de riego del Distrito 005 presentan niveles de As superiores a 100 $\mu\text{g/L}$ (Prieto-Amparán *et al.*, 2018), lo cual representa una fuente de co-exposición a As para las personas de la región que consumen los cultivos de la zona (Hermosillo-Muñoz *et al.*, 2019). El norte del estado no es la excepción y también se observan niveles de F^- por encima de los 5 mg/L en el municipio de Villa Ahumada (Ruiz-Payán, Ortiz & Duarte-Gardea, 2005).

Un estudio realizado en comunidades de los municipios del centro-sur del estado: Aldama, Camargo, Chihuahua, Coronado, Delicias, Jiménez, Julimes, La Cruz, Meoqui, Rosales, San Francisco de Conchos, Saucillo y Satevó demostró la co-exposición ($r = 0.741$, $p < 0.001$) de F^- y As en las muestras de agua potable de los pozos, así como en las orinas de los más de 1,000 participantes en los cuales

se encontraron niveles de 0.5 – 467.9 ng As/mL y de 0.1 – 14.4 $\mu\text{g F}^-/\text{mL}$ (González-Horta *et al.*, 2015). El mismo fenómeno se observa específicamente en la Ciudad de Chihuahua, la cual se abastece de agua de acuíferos de los valles de Tabalaopa, Aldama y Dolores, los cuales se componen de suelos volcánicos altamente fracturados que promueven la infiltración, transporte y disolución de As y F^- . Esta característica del suelo explica el hecho de que más del 90% de los pozos analizados en esta zona superaran los 1.5 mg F^-/L , y presentaran una correlación positiva con el As ($r = 0.832$, $p < 0.001$) (Reyes-Gómez *et al.*, 2013).

2.4 Toxicocinética del F^-

El tracto gastrointestinal es la principal vía de absorción de F^- , captando un 70 – 90% del total de F^- ingerido (Prystuppa, 2011). La ingesta de alimentos y las altas concentraciones de cationes metálicos disminuyen la absorción del F^- al formar con compuestos pobremente absorbibles en el estómago (Institute of Medicine, 1997). En soluciones acuosas, el F^- se combina reversiblemente con el H^+ para formar HF (Barbier *et al.*, 2010). Los procesos fisiológicos relacionados con la ingesta de F^- están gobernados por la difusión del HF a través de la membrana celular (Institute of Medicine, 1997). El HF es una pequeña molécula neutra que posee un coeficiente de permeabilidad similar al agua y hasta 10^7 veces superior que el del F^- , el cual, no obstante, puede ser absorbido por el intestino delgado mediante un proceso de difusión facilitada, mientras que en las células del epitelio aéreo la permeabilidad del F^- ocurre a través de canales aniónicos. Aunque se desconoce si las membranas de otras células poseen proteínas transportadoras de F^- , parece que existen varios mecanismos acarreadores dependientes del pH, como el cotransporte F^-/H^+ o intercambiadores F^-/OH^- (Barbier *et al.*, 2010).

Una vez absorbido en la sangre, el F^- se distribuye rápidamente por el cuerpo y es retenido en los tejidos duros ricos en calcio. Los infantes han demostrado hasta un 25% de mayor retención de F^- en los tejidos duros que los adultos. El pico de concentración de F^- en plasma se alcanza a los 30 – 60 minutos de ingesta hasta alcanzar un estado de equilibrio con el líquido extracelular e intracelular (Ekstrand *et al.*, 1994). La concentración normal de F^- en plasma es de 0.4 – 2.4 $\mu\text{mol/L}$ y es



directamente proporcional a la concentración del agua potable consumida (WHO, 2002). La concentración de F^- del líquido intersticial de la mayoría de los tejidos es de un 40 – 90% de la concentración de F^- plasmático. Sin embargo, existen importantes excepciones, entre las que destaca la glándula pineal, que al ser un órgano calcificante también es un bioacumulador importante de F^- o el tejido adiposo que retiene solamente un 20% de la concentración de F^- plasmático (Prystuppa, 2011).

El aclaramiento del F^- plasmático ocurre a través de dos mecanismos primarios: la captación ósea y la excreción urinaria. Estos dos mecanismos remueven casi la misma proporción del F^- plasmático en adultos, mientras que en niños es mayor la remoción debida a la captación ósea debido por su sistema esquelético en crecimiento. El aclaramiento renal es dependiente del pH y de la tasa de filtración glomerular. (Prystuppa, 2011) y en adultos ocurre a una tasa de 30-40 mL/min. La dieta o la ingesta de fármacos son factores que pueden modificar el pH de la orina y afectar el aclaramiento y retención del F^- (Barbier *et al.*, 2010). Cuando estos factores disminuyen el pH de la orina, se promueve la formación de HF y la reabsorción de F^- (Institute of Medicine, 1997). Finalmente, el F^- que no es absorbido por el intestino puede ser detectado en las heces (Prystuppa, 2011).

2.5 Biomarcadores de intoxicación con F^-

Los biomarcadores se definen como indicadores medibles de la variación en los componentes o procesos celulares o bioquímicos, estructura o función de un sistema biológico (National Research Council, 2006). Existen tres categorías de biomarcadores: de exposición, de efecto y de susceptibilidad. El biomarcador de exposición es la sustancia en sí misma, sus metabolitos o el producto de la interacción del xenobiótico y una molécula blanco y que se obtienen fácilmente de fluidos corporales o excreciones. En el caso del F^- , el ion por sí mismo es el que se mide, ya que no produce ningún metabolito (ATSDR, 2003). La concentración de F^- en orina, plasma, suero y saliva es un indicador útil para la exposición reciente, aunque puede utilizarse también para estimar la ingesta crónica de F^- (National Research Council, 2006). Las tomas matutinas de muestras de orina han

demostrado ser una buena herramienta para estimar la excreción de F^- urinario de 24 horas ($r = 0.76$, $p < 0.05$) en estudios epidemiológicos a gran escala, en donde recolectar muestras de orina de 24 horas es técnicamente poco factible (Zohouri *et al.*, 2006). Por otra parte, la determinación de F^- en uñas es un método prometedor de naturaleza no invasiva que tiene la ventaja de no verse afectada por variables como el pH y la tasa de filtración glomerular, como sucede con las determinaciones urinarias (Linhares *et al.*, 2016). La estimación adecuada de los niveles de contaminantes a través del uso de los diferentes marcadores de exposición es una estrategia previa a las medidas de intervención, tales como campañas de educación en la población, remoción de las fuentes de contaminantes y monitoreo de los niños afectados (Flores-Ramírez *et al.*, 2018).

Por otro lado, los biomarcadores de efecto se definen como cualquier alteración bioquímica, fisiológica o de otro tipo que pueda ser reconocida como un potencial daño a la salud. Este tipo de biomarcadores no son específicos para una sustancia, y pueden ser magnitudes fisiológicas como la presión arterial, actividades enzimáticas, niveles hormonales, etc. (ATSDR, 2003). La fluorosis dental es uno de los principales biomarcadores de efecto que relaciona la exposición a F^- con el daño al esmalte dental, resultado de una exposición excesiva de F^- durante la edad previa de la calcificación dental. Existe controversia sobre la consideración de este biomarcador como un efecto tóxico o adverso a la salud, y se ha ponderado a la fluorosis dental de grado objetable (TFI = 1) como un efecto más bien estético (EPA, 1987).

En niños se ha observado la aparición de fluorosis dental a dosis tan bajas como 0.03 mg/kg sigue un comportamiento lineal dosis-dependiente, independientemente de la fuente de exposición. Se considera que la concentración óptima de F^- en el agua que combina la acción cariostática y previene la aparición de fluorosis dental es de 0.7 – 1.2 mg/L (DHHS, 1991). Antes de los 6 años de edad es la ventana de mayor riesgo de fluorosis dental debido a que los procesos celulares de maduración dental se desarrollan durante ese periodo, después del cual el F^- ya no puede afectar la amelogénesis (Pontigo-

Loyola *et al.*, 2008). En zonas óptimamente fluoradas se ha visto una prevalencia de fluorosis dental del 7 – 16%, lo que indica que no existe un umbral en la ingesta de F^- por debajo del cual no ocurra la fluorosis dental en absoluto, aunque sí se reporta una prevalencia significativamente mayor en comunidades de la Unión Europea que reciben suministros de agua fluorada artificialmente que respecto a las que no (Whelton *et al.*, 2004). Muchos factores influyen sobre el grado de fluorosis dental, como la altitud del lugar, metabolismo individual, predisposición genética, dieta y estado nutricional (Irigoyen-Camacho *et al.*, 2016). La severidad de la fluorosis dental es evaluada a través de diferentes metodologías estandarizadas con distintos requerimientos que les confieren diferentes sensibilidades (Nor, 2017).

Los biomarcadores de susceptibilidad indican una limitación adquirida o innata para responder ante la exposición de un xenobiótico, tal como una predisposición genética o una enfermedad preexistente que potencien un incremento en la absorción de F^- o que alteren la respuesta tisular. Las poblaciones más susceptibles a la exposición a F^- son los adultos mayores, personas con osteoporosis, con deficiencias de calcio, magnesio, vitamina C o proteínas (ATSDR, 2003).

2.6 Valores de referencia

Para determinar el nivel de exposición significativa a una sustancia química y asociarla a efectos adversos a la salud, la ATSDR elabora perfiles toxicológicos basados en estudios epidemiológicos. Un efecto adverso a la salud se define como todo cambio nocivo o potencialmente nocivo en la función fisiológica, el estado psicológico o la estructura de un órgano que pueda resultar en un resultado observado perjudicial para la salud (Chou, Holler & De Rosa, 1998).

De la observación de poblaciones expuestas a un contaminante se deriva el Nivel de Riesgo Mínimo (MRL, del Inglés *Minimal Risk Level*) que se define como un estimado de la exposición diaria a una sustancia que no produce en humanos un apreciable riesgo de efectos adversos no cancerígenos durante un determinado

periodo de exposición. Los MRL son derivados para exposición oral o inhalación, y para duración aguda (≤ 14 días), intermedia (1 – 364 días) o crónica (≥ 365 días). El MRL se estima preferentemente de datos obtenidos en seres humanos partiendo del punto de corte más sensible: el Nivel más Alto de Efecto Adverso No Observado (NOAEL, del inglés *No Observed Adverse Effect Level*) o en ausencia del NOAEL el MRL es derivado a partir del Nivel más Bajo de Efecto Adverso Observado (LOAEL, del inglés *Lowest Observed Adverse Effect Level*) considerando ciertos factores de modificación y de incertidumbre (Pohl & Abadin, 1995). El MRL del F^- , tomando como efecto observable a la fluorosis dental debida a una exposición crónica, es de 0.05 mg/Kg/día (ATSDR, 2003).

La EPA utiliza una metodología distinta que la ATSDR para la estimación del riesgo de la exposición a una sustancia. La RfD (Dosis de referencia, del inglés *Reference Dose*) estima la exposición diaria de los subgrupos vulnerables a una sustancia durante toda la vida que no genera efectos observables. La RfD de exposición oral se estimó a partir de la ingesta de 1 L de agua con una concentración de F^- de 1 mg/L sumado a una ingesta de 0.01 mg/Kg/día de F^- proveniente de la dieta en niños de 20 Kg, lo que suma una RfD de 0.06 mg/Kg/día (IRIS, 1987). Esta estimación se basa en un NOAEL de 1 mg/L de F^- en el agua potable, responsable de causar fluorosis dental objetable en niños (Hodge, 1950). La RfD más reciente para la exposición crónica a F^- calculada a partir la fluorosis dental objetable en niños es de 0.08 mg/Kg/Día (EPA, 2010).

El LOAEL para fluorosis dental en niños se estima en 0.11 mg/Kg/día, partiendo de un agua de ingesta con una concentración de F^- de 2 mg/L. El NOAEL de la fluorosis esquelética paralizante es de 0.28 mg/Kg/día, lo cual significa que un adulto de 70 Kg que consuma 2 L de agua con 4 mg F^- /L y 0.01 mg F^- /Kg/día estaría expuesto a 0.12 mg F^- /Kg/día, lo cual lo deja en un margen bastante seguro ante este severo padecimiento (IRIS, 1987). Aunque ambas metodologías son muy parecidas y toman en cuenta factores de incertidumbre, el MRL y RfD no son necesariamente iguales para una misma sustancia (Chou, Holler & De Rosa, 1998).

2.7 Mecanismos moleculares de toxicidad del F^-

El F^- ejerce diversos efectos celulares, dependientes del linaje celular, concentración y tiempo de exposición. Las vías intracelulares afectadas por la interacción con el F^- aún no se comprenden por completo. La evidencia sugiere que el F^- inhibe la secreción y síntesis de proteínas implicadas en la proliferación celular y apoptosis (Barbier *et al.*, 2010). Los principales efectos tóxicos se explican por su interacción con diferentes enzimas, principalmente por inhibición de las mismas. Los daños metabólicos, estructurales y funcionales causados por fluorosis crónica han sido reportados en muchos tejidos (Perumal *et al.*, 2013). La exposición crónica a bajas dosis de F^- disminuye la síntesis de ADN y proteínas, inhibe la proliferación celular y tiene un efecto citotóxico a altas dosis (Chouhan & Flora, 2010).

En general, los diferentes efectos fisiológicos de la exposición a F^- presentan una compleja respuesta conocida como efecto hormético: a concentraciones micromolares, el F^- estimula una gran cantidad de procesos celulares y enzimáticos, mientras que a concentraciones milimolares produce un efecto inhibitorio (Barbier *et al.*, 2010). No obstante que el mecanismo molecular de la toxicidad del F^- no se conoce con exactitud, se ha sugerido que el estrés oxidativo puede ser uno de los mecanismos principales de inducción de daño tisular (Chouhan & Flora, 2010; Perumal *et al.*, 2013).

2.7.1 Estrés oxidativo y apoptosis

La mitocondria es la mayor fuente de especies reactivas de oxígeno (ROS), y es uno de los principales blancos de la acción del F^- . Uno de los mecanismos del daño mitocondrial es a través de la pérdida del potencial de membrana celular que propicia una producción proporcional de ROS. La excesiva acumulación de ROS lleva a la oxidación macromolecular vía peroxidación lipídica, conduciendo a daño celular y apoptosis (Barbier *et al.*, 2010; Perumal *et al.*, 2013). Las ROS comienzan una cadena de reacciones de peroxidación radical atacando los ácidos grasos insaturados de la membrana celular. Este proceso genera una gran

cantidad de productos dañinos que actúan como segundos mensajeros con acción tóxica (Wadhwa *et al.*, 2012). En zonas de hidrofluorosis endémica del estado de Chihuahua se observó un aumento de la capacidad antioxidante total ($p < 0.05$) como resultado del incremento de ROS a causa de la exposición a F^- (Villarreal-Vega, 2017). En niños en edad escolar del estado de Morelos se asoció el grado de fluorosis dental con la actividad enzimática de la glutatión S-transferasa, como mecanismo de inactivación de los radicales libres formados (Bonola-Gallaro *et al.*, 2017). Lo anterior conduce a que el incremento del consumo de agua con altos niveles de F^- está asociado a un incremento del estrés oxidativo en la población infantil (Ailani *et al.*, 2009), lo cual puede aumentar el riesgo de desarrollar numerosas enfermedades crónicas como diabetes mellitus, aterosclerosis, artritis reumatoide y daño por isquemia-reperusión en la edad adulta (Wadhwa *et al.*, 2012).

La exposición a F^- también induce la expresión de genes codificantes de factores de respuesta al estrés, componentes transduccionales y proteínas relacionadas con la apoptosis. Mediante análisis de microarreglos de ADN en muestras de sangre periférica de niños de Jalisco co-expuestos a altas concentraciones de F^- y As se observó la expresión de más de 180 genes relacionados con la apoptosis e inflamación, y al menos la expresión diferencial de 19 genes entre los grupos expuestos a altos niveles de As, F^- y As – F^- (Salgado-Bustamante *et al.*, 2010).

2.7.2 Genotoxicidad

La genotoxicidad es la habilidad de un agente para producir daño en la molécula del ADN. Este evento está muy relacionado con diferentes enfermedades, incluyendo el cáncer. Los datos publicados a partir de experimentos *in vitro* y con animales de experimentación expuestos a F^- han mostrado que la genotoxicidad está relacionada con daño mitocondrial, estrés oxidativo, activación de la vía apoptótica de las caspasas o necrosis (Ribeiro *et al.*, 2017). Otros mecanismos implicados en la genotoxicidad del F^- son los fuertes puentes de hidrógeno que forma con los uracilos y los átomos de oxígeno de los carbonilos de los enlaces tipo amida del ADN (Flora, Mittal & Mishra, 2009), los enlaces covalentes que



puede formar directamente sobre estructura molecular del ADN y la inhibición sobre la ADN polimerasa (Chouhan & Flora, 2010). En cultivos celulares de sangre periférica, la exposición a F^- aumenta la frecuencia de aberraciones estructurales y numéricas e induce daño primario al ADN (Tiwari & Rao, 2010).

2.8 Efectos adversos a la salud

La relación entre el F^- ambiental y la salud humana ha sido estudiada desde hace más de 100 años (Ozsvath, 2009). Sin embargo, los efectos tóxicos del F^- sobre la salud humana permanecieron en buena parte inadvertidos hasta los años 90, debido al eficiente papel del F^- como un agente cariostático (Perumal *et al.*, 2013), que a fecha aún representa la enfermedad crónica más frecuente en niños nivel mundial (Dey & Giri, 2016). El F^- ejerce efectos predominantemente en sistema musculoesquelético y cerebro. Los síntomas de intoxicación aguda por F^- se han observado en casos de sobredosis por ingesta de plaguicidas y productos dentales, e incluyen náuseas, salivación, vómito, diarrea, dolor abdominal, espasmos musculares y arritmias (Chouhan & Flora, 2010) (Ozsvath, 2009), pero a la fecha no se ha estimado un MRL derivado de una exposición aguda a F^- en humanos (ATSDR, 2003). La exposición crónica a F^- tiene efectos dentales, esqueléticos, reproductivos, renales, neurológicos, endócrinos y hasta carcinogénicos en los seres humanos (Ozsvath, 2009). Las principales patologías asociadas son deterioro locomotor, disfunción diastólica, problemas respiratorios, calcificación de vasos sanguíneos, intolerancia a la glucosa, disminución de niveles hormonales, defectos de nacimiento, cáncer de hueso, pulmones y útero, disminución del coeficiente intelectual, entre otros. Se ha observado en experimentos con animales que los efectos nocivos de la exposición crónica de F^- pueden ser revertidos al suprimir la exposición (Perumal *et al.*, 2013).

2.8.1 Fluorosis dental

Las caries dentales son causadas por el metabolismo de carbohidratos de las bacterias acidogénicas presentes en la cavidad oral (Nakamoto & Rawls, 2018). Los ácidos orgánicos producidos se difunden a través de la porosidad de la

dentina, disolviendo a su paso la hidroxiapatita carbonatada de la que están formados los dientes. Normalmente, este proceso de desmineralización es seguido por un proceso de remineralización en la que la saliva provee de una solución saturada que aporta iones Ca^{2+} que difunden en el diente, construyendo nuevas estructuras cristalinas (Featherstone, 2008). El F^- puede participar durante el proceso de desmineralización al sustituir grupos hidroxilo de la red cristalina de hidroxiapatita, coadyuvando en la formación de fluoroapatita, una variación menos soluble de la hidroxiapatita (de Leeuw, 2004). Este material hace a la superficie dental más resistente a los productos ácidos de la fermentación microbiana. Además, el mecanismo anticariogénico del F^- se debe a la inhibición de la actividad microbiana (Featherstone, 1999). Si el saldo neto de la dinámica de la desmineralización-remineralización es negativo, entonces ocurre la formación una cavidad sobre la superficie del esmalte, llamada caries dental (Featherstone, 2008).

La fluorosis dental es el primer signo de la toxicidad del F^- (Peckham & Awofeo, 2014) y es resultado de una ingesta crónica y excesiva de F^- durante el proceso de formación del esmalte, denominado amelogénesis. Tal disrupción da por resultado una forma hipomineralizada del esmalte con un nivel variable de porosidad (Cavalheiro *et al.*, 2017). El incremento de la concentración de F^- en el plasma provoca una disrupción en alguna de las fases de los ameloblastos responsables de la secreción del esmalte (Castiblanco *et al.*, 2017), posiblemente por inhibición de la actividad de las proteasas implicadas en la remoción de la matriz extracelular secretada por los ameloblastos, por una alteración de la estructura cristalina a la cual se adhiere la matriz extracelular o por reducir el Ca^{2+} disponible para la actividad proteolítica (Bronckers, Lyaruu & DenBesten, 2009). El Dr. Stefano Chiaie fue el primero en describir la fluorosis dental como un defecto dental común entre los habitantes del litoral italiano, por lo que inicialmente se le conoció “denti di Chiaie”. Sería Eager (1901) quien posteriormente asociaría esta imperfección del desarrollo del esmalte dental con la exposición a “condiciones geológicas locales”, como las emanaciones de chimeneas volcánicas que debían formar una solución con el agua. En Estados Unidos, Dean (1936) fue el primero en

demostrar la asociación entre la fluorosis dental y el alto contenido de F^- en el agua mediante un estudio epidemiológico realizado en niños que habían bebido del agua del grifo durante toda la vida. En México, Kuhns reportó por primera vez la incidencia de lo que hoy denominamos fluorosis dental en una familia proveniente de Durango en 1888. El índice Thylstrup-Fejerskov es utilizado ampliamente en Europa, pondera del 0 al 9 la severidad de la fluorosis dental de acuerdo a los atributos clínicos del esmalte afectado (Cavalheiro *et al.*, 2017), lo que le otorga la suficiente precisión para distinguir diferentes grados de fluorosis (Nor, 2017).

En 1973 se identificaron que comunidades de los estados de Aguascalientes, Baja California, Chihuahua, Durango, Jalisco, Sonora, Tamaulipas, y más tarde, Guanajuato, San Luis Potosí y Zacatecas, presentaban altas prevalencias de fluorosis dental en la población (Soto-Rojas, Ureña-Cirett & Martínez-Mier, 2004). A pesar de que en México tradicionalmente se ha presentado la fluorosis dental en estados del centro y noreste, este fenómeno se ha ido presentando con una tendencia al alza en comunidades con aguas con bajos niveles de F^- , debido a que existen múltiples fuentes de exposición (Pontigo-Loyola *et al.*, 2008), tales como bebidas gaseosas embotelladas, té y aplicaciones periódicas de flúor (Azpeitia-Valadez *et al.*, 2009).

La prevalencia de fluorosis dental reportada en zonas de México con una concentración de F^- en sus aguas por debajo de 1.5 mg/L es de 15.5 – 81.7%, mientras que en zonas con niveles de F^- superiores a la norma es de 92 – 100% (Pérez *et al.*, 2007; Aguilar-Díaz *et al.*, 2017). En San Luis Potosí se han presentado casos de fluorosis en dientes temporales de niños menores de 6 años (Loyola-Rodríguez *et al.*, 2000) y se ha asociado con la concentración de F^- en agua ($p < 0.001$). En Morelos, se identificó la desnutrición infantil como un factor de riesgo para el desarrollo de fluorosis dental en niños expuestos a niveles óptimos de F^- (Irigoyen-Camacho *et al.*, 2016). En análisis bivariados, se ha observado que variables independientes, como los años de residencia (Jarquín-Yañez *et al.*, 2015), el inicio de uso de dentífrico y la escolaridad de la madre

(Beltrán-Valladares *et al.*, 2005) están asociadas a la presencia de fluorosis dental en los niños. En Chihuahua, un estudio realizado en 251 habitantes de 5 – 60 años de edad, con residencia permanente en alguna de las 33 comunidades rurales estudiadas, arrojó una prevalencia global de fluorosis dental del 81.7%. Los sujetos con los grados más altos de fluorosis dental fueron los habitantes con una baja ingesta de calcio de las comunidades con una concentración promedio de 3.7 mg F⁻/L (Rodríguez-Dozal *et al.*, 2005).

2.8.2 Fluorosis esquelética

Los huesos son el principal sitio de bioacumulación de F⁻ (Perumal *et al.*, 2013). Los efectos del F⁻ ocurren bajo un mecanismo hormético, ya que cierta exposición a F⁻ ejerce un fuerte efecto mitógeno en las células osteoblásticas, resultando en un aumento del volumen óseo con posibles aplicaciones terapéuticas (Caverzasio, Palmer & Bonjour, 1998), mientras que una exposición crónica a concentraciones elevadas se asocia con lesiones esqueléticas y cambios adversos en la estructura ósea en humanos (Perumal *et al.*, 2013). En Turquía, se encontró que la fluorosis endémica es el agente causal de un tercio de los casos de osteoesclerosis (Tamer *et al.*, 2007). En el estado de Durango, se halló una correlación positiva entre el grado de fluorosis dental y la prevalencia de fracturas en niños ($r = 0.96$) y adultos ($r = 0.98$) (Alarcón-Herrera *et al.*, 2001). La perturbación de los parámetros bioquímicos óseos es persistente en el tiempo (Khandare *et al.*, 2017). En las villas del sureste de China donde se aplicó una estrategia de intervención de cambio de suministro de agua fluorada artificialmente por agua con bajos niveles de F⁻ se observó que tomó por lo menos 6 años para que los niveles de osteocalcina, calcitonina y fosfatasa alcalina fueran tan bajos como los de la población control (Chen *et al.*, 2013).

2.8.3 Daño hemático

La exposición crónica a F⁻ se asocia con anomalías en los parámetros hematológicos. En ratas expuestas a más de 10 ppm de F⁻ se observa un decremento del hematocrito, del volumen corpuscular medio eritrocitario, así como

cambios morfológicos en los eritrocitos (Agalakova & Gusev, 2013). Los pacientes con alteraciones hematológicas y anemias por deficiencia de hierro de zonas de hidrofluorosis endémicas presentan mayores alteraciones de los parámetros hemáticos que los pacientes con los mismos desórdenes hemáticos que no están expuestos a altos niveles de F^- (Pornprasert *et al.*, 2017). En células mononucleares de sangre periférica de niños de una zona de Durango con altos niveles de F^- , se observó una mayor proporción de apoptosis que en las muestras de niños residentes de una zona con niveles de F^- menores a 1.5 mg/L (Rocha-Amador *et al.*, 2011). Las estrategias de intervención que proveen de agua con bajos niveles de F^- han mostrado una gran eficacia (Susheela *et al.*, 2014) para reducir una prevalencia del 97% de anemia moderada en niños a un 58%, a los seis meses de intervención (Susheela, Gupta & Mondal, 2016).

2.8.4 Daño hepatorenal

El hígado es un órgano especialmente sensible a la toxicidad del F^- en razón de la intensa actividad metabólica que lleva a cabo. Así mismo, los riñones también muestran una alta sensibilidad a los efectos tóxicos del F^- por ser responsable de la eliminación del 50 – 80% de F^- que ingresa al organismo (Xiong *et al.*, 2007). La excesiva ingesta de F^- lleva a daño de la función renal debido a la afectación de las células del epitelio de los túbulos renales, lo cual se manifiesta en una disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG), y en un aumento de los niveles de creatinina sérica. En India, niños de zonas de hidrofluorosis endémica presentan una disminución significativa ($p < 0.05$) de la TFG por debajo de 90 mL/min/1.73 m², que corresponde a la fase II de una enfermedad crónica renal (Khandare *et al.*, 2017).

La evidencia sugiere que niños expuestos a concentraciones de F^- mayores a 2 mg/L pueden presentar daños a nivel hepático y renal (Xiong *et al.*, 2007). Los niveles de F^- urinario muestran una asociación positiva ($\beta = 1.3$, $p = 0.015$) con la TFG de niños del estado de Chihuahua (Jiménez-Córdova *et al.*, 2019). En adultos de comunidades rurales del estado de Chihuahua, en donde hay co-ocurrencia de As a bajos niveles, se observó una asociación positiva entre el F^- urinario y los

niveles de los biomarcadores de daño renal temprano albúmina, cistatina-C, OPN, CLU, KIM-1 y TFF-3, los cuales no tuvieron ninguna asociación con As, fortaleciendo la hipótesis del rol nefrotóxico del F⁻ (Jiménez-Córdova *et al.*, 2018).

2.8.5 Daño vascular

La intoxicación por F⁻ causa isquemia crónica e incremento del ritmo cardíaco, aunque no existe evidencia suficientemente clara que asocie la exposición crónica de F⁻ con el aumento de la presión arterial. Un estudio transversal realizado en Irán halló que el F⁻ puede ser un factor de riesgo para el desarrollo de hipertensión (OR 2.3, 1.03 – 5.14) (Yousefi *et al.*, 2018). En niños del estado de Chihuahua se asoció positivamente el F⁻ urinario con los biomarcadores de daño vascular temprano VCAM-1, ICAM-1 y el grosor de la íntima-media carotídea, así como una relación inversa con la cistatina C. Estos hallazgos indican que la exposición a F⁻ está relacionada con alteraciones vasculares que podrían incrementar la susceptibilidad a enfermedades cardiovasculares en la vida adulta (Jiménez-Córdova *et al.*, 2019), como la pérdida de la plasticidad en la aorta ascendente (Susheela & Toteja, 2019).

2.8.6 Daño cognitivo

El F⁻ es capaz de penetrar rápidamente en el cerebro, acumularse en los tejidos cerebrales y producir efectos neurotóxicos (Perumal *et al.*, 2013). En animales experimentales, la administración de altas dosis de F⁻ han producido cambios histopatológicos, como desmielinización, adelgazamiento y desaparición de dendritas, decremento en el número de células de Purkinje, hinchazón de la sustancia de Nissl y picnosis neuronal. En ratas expuestas a diferentes dosis de F⁻ a través del agua, se observó una disminución significativa de los receptores nicotínicos de acetilcolina, localizados en la membrana neuronal y relacionados en los procesos cognitivos como el aprendizaje y la memoria (Long *et al.*, 2002). Experimentos en ratas han demostrado que el deterioro de las capacidades cognitivas es acumulable a lo largo de generaciones expuestas a F⁻ (Bash, Rai & Begum, 2011) y en modelos murinos, la exposición simple o combinada con el As

mostró una alteración de las aminos biógenas con una excesiva generación de ROS causantes de daño neuronal (Flora, Mittal & Mishra, 2009) y de envejecimiento neuronal (Wank, Markesbery & Lovell, 2006).

Diferentes estudios epidemiológicos han hallado evidencia de la neurotoxicidad del F^- en seres humanos. El decremento de las habilidades cognitivas son dosis-dependiente del F^- de las fuentes de agua (Choi *et al.*, 2015; Duan *et al.*, 2018) y proporcional a la severidad de la fluorosis dental (Yao *et al.*, 1996). En India, el F^- urinario mostró una correlación negativa ($r = -0.343$, $p < 0.01$) con el coeficiente intelectual en niños (Das & Kumar, 2016). En niños de San Luis Potosí se encontró que la exposición a F^- o As son factores de riesgo para puntajes bajos en las pruebas que ponderan el coeficiente intelectual (Rocha-Amador *et al.*, 2007).

En niños de la Ciudad de México expuestos prenatalmente a F^- se observó que la medición global del Trastorno de Déficit de Atención e Hiperactividad estuvo asociada con el nivel de F^- en el agua a la que estuvo expuesta la madre (Bashash *et al.*, 2018). Estudios en madres gestantes de las zonas de hidrofluorosis endémicas de Durango y Jalisco muestran que las alteraciones cognitivas de los infantes pudieron haber comenzado en tempranas etapas prenatales (Valdez-Jiménez *et al.*, 2017). Los efectos sobre el desarrollo cognitivo se pueden ver agravados por factores nutrimentales, especialmente por una ingesta insuficiente o excesiva de yodo (Fa-Fu *et al.*, 1991; Yang *et al.*, 2008). La revisión de la evidencia basada en animales y humanos concluye que el F^- es un peligro para el neurodesarrollo cognitivo de los seres humanos (National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine, 2020).

2.8.7 Disrupción metabólica

El síndrome metabólico es un conjunto de anormalidades metabólicas que se caracteriza por la coexistencia de hiperglicemia, dislipidemia e hipertensión en el mismo individuo (Anderson *et al.*, 2001; Furukawa *et al.*, 2004). El síndrome metabólico es resultado de múltiples factores vinculados con la adiposidad, y no tiene una única etiología (Anderson *et al.*, 2001), aunque se reconoce que la

obesidad es su factor central y causal (Furukawa *et al.*, 2004; Cedeño-Morales *et al.*, 2015). La hiperglicemia asociada a F^- se explica por varios mecanismos, como la inhibición de las enzimas glicolíticas, el incremento de la glucogenólisis mediada por aumento de cAMP y una alta liberación de epinefrina (Chiba *et al.*, 2012) que está asociada inversamente con los niveles de insulina y proporcionalmente con la esterificación de ácidos grasos (Bhardwaj & Shashi, 2013). Al parecer los efectos disruptores del F^- sobre la homeostasis lipídica hepática son más evidentes en ratas con una dieta hipercalórica, y podrían estar mediados por el aumento del estrés oxidativo del retículo endoplásmico (Pereira *et al.*, 2016). Los individuos con exposición crónica a F^- presentan daño en el tejido hepático, lo cual se manifiesta en cambios adversos en el metabolismo de lípidos, tales como alteración del perfil de colesterol total, lipoproteínas y triglicéridos, así como reducción de la actividad de la lipoproteínlipasa sérica (Bhardwaj & Shashi, 2013). En modelos animales se ha asociado la alteración del metabolismo de lípidos y carbohidratos al efecto inhibitorio del F^- sobre las enzimas hepáticas ALT y AST, así como sobre diferentes lipasas, fosfatasa, esterasas y de la acil-CoA sintetasa (Aziz *et al.*, 2013). En modelos animales expuestos a F^- se ha observado hipertriacilglicerolemia similar a la causada por diabetes o el ayuno prolongado (Grucka-Mamczar *et al.*, 2004), aumento del índice de resistencia a la insulina (Chiba *et al.* 2012) e hipercolesterolemia asociada a un aumento del estrés oxidativo (Afolabi *et al.*, 2013).

Individuos afectados con fluorosis esquelética de una zona con más de 6 mg F^- /L se encontraron asociaciones entre la dosis de F^- con el colesterol total ($r = -0.86$), HDL ($r = -0.90$), LDL ($r = -0.55$) y triglicéridos ($r = 0.92$). La disminución significativa del colesterol sérico puede deberse a la disminución de la síntesis de lípidos y la consecuente utilización de las reservas lipídicas (Bhardwaj & Shashi, 2013). En los habitantes de comunidades rurales del centro-sur del estado de Chihuahua se encontró una asociación entre la prevalencia de síndrome metabólico y la ingesta de F^- , en donde un 48% de los individuos mostraron riesgo cardiovascular, y un aumento de la presión arterial (Zacarías-Estrada, 2009).

La prevalencia del síndrome metabólico se incrementa con la severidad de la obesidad, alcanzando hasta un 50% en jóvenes con obesidad severa (Weiss *et al.* 2004). La obesidad abdominal es la forma más prevalente de síndrome metabólico, aunque aún son controvertidos los procesos fisiopatológicos que llevan a su desarrollo (Després, 2009). La evidencia señala que la acumulación de tejido adiposo en humanos y ratones obesos está correlacionada con el estrés oxidativo sistémico, el cual es incrementado por la generación de ROS en el tejido adiposo que lleva a una secreción desregulada a nivel local de adipocinas que participan en la patogénesis del síndrome metabólico asociado a obesidad (Furukawa *et al.*, 2004). Uno de los mecanismos de la toxicidad celular por la exposición crónica al F^- es la disrupción de la función mitocondrial (Barbier *et al.*, 2010), la cual es una probable razón de que la tasa metabólica y el consumo de oxígeno en adolescentes obesos con niveles elevados de TSH no se incrementen. Esta disminución del potencial de la membrana mitocondrial podría agravar el desbalance energético característico de la obesidad (Pacífico *et al.*, 2012). El potencial del F^- para influir sobre el peso corporal puede estar relacionado con alteraciones sobre las hormonas tiroideas, estrógenos, y andrógenos, la tolerancia a la glucosa y sensibilidad de la insulina (Ozsvath, 2009), así como metabolismo de lípidos.

2.8.8 Disrupción hormonal

Los disruptores endócrinos se definen como toda sustancia sintética que interfiere con cualquier aspecto de la acción hormonal (Gore *et al.*, 2014). La EPA amplía la definición a toda sustancia exógena que interfiera con la síntesis, secreción, transporte, metabolismo, unión o eliminación de hormonas naturales responsables de la homeostasis, reproducción y procesos de desarrollo del organismo (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009; Massart *et al.*, 2012). El análisis de la literatura realizado por la ATSDR concluyó que existen datos que sugieren que el F^- afecta adversamente algunas glándulas endócrinas (National Research Council, 2006).

Los disruptores endócrinos pueden causar una disfunción del eje hipotálamo-hipofisario por acción neurotóxica sobre diferentes neuronas del hipotálamo que

expresan receptores para hormonas mediadoras entre el sistema nervioso y el sistema endócrino, como la hormona liberadora de gonadotropina (Diamanti-Kandarakis *et al.*, 2009). El efecto disruptor del F^- específicamente sobre el eje hipotálamo-hipófiso-gonadal, se ha observado en zonas con hidrofluorosis endémica en donde se han hallado asociaciones entre los niveles de F^- y los niveles de diferentes hormonas reproductivas mujeres (Hou *et al.*, 2013), así como con niveles decrementados de testosterona en varones (Hao *et al.*, 2010). En México, trabajadores de la industria del HF de San Luis Potosí, expuestos simultáneamente a altos niveles de F^- en el agua, mostraron una reducción en los niveles séricos de testosterona, inhibina-B y prolactina, así como un incremento de la hormona folículo estimulante, lo cual fortalece el papel del F^- como un tóxico para la salud reproductiva (Ortiz-Pérez *et al.*, 2003).

2.8.8.1 Homeostasis normal de la tiroides

Las células epiteliales de la glándula tiroides son las encargadas de la síntesis y secreción de las hormonas tiroideas (HTs) tiroxina (T_4) y triyodotironina (T_3), que únicamente se diferencian entre sí por un átomo de yodo en la posición 3' del anillo exterior. La síntesis de las HTs implica un sistema de regulación de retroalimentación negativa que involucra el hipotálamo, la hipófisis y la glándula tiroides. El hipotálamo secreta la hormona liberadora de tirotrona (TRH) que se une a receptores específicos en la hipófisis, la cual secreta en respuesta la hormona estimulante de la tiroides (TSH). Ésta activa los receptores de la tiroides que estimulan la producción de tiroglobulina (TG), tiroperoxidasa (TPO), el transportador membranar $Na^+ - I^-$ (NIS) y T_4 (Patrick, 2009).

El proceso de biosíntesis de las HTs (Figura 6) comienza con la síntesis de la TG, la cual es secretada al lumen folicular del tirocito. Simultáneamente, el I^- es cotransportado hacia el interior de la célula por el simportador de membrana NIS, el cual concentra hasta 20-40 veces el I^- dentro del tirocito (Patrick, 2009). En el lumen folicular del tirocito, el I^- es oxidado a I_2 por acción de la TPO. Ésta también cataliza posteriormente la organificación del I_2 sobre los residuos aceptores de tirosina de la TG, formando residuos monoyodotirosina (MIT) y diyodotirosina

(DIT). Posteriormente, la TPO cataliza el acoplamiento de dos moléculas de MIT para formar una molécula de T4 y el acoplamiento de una molécula de MIT y una de DIT para formar una molécula de T3 (Costanzo, 2014). Al ser más rápida la primera reacción de acoplamiento, T4 es producida 11 veces más que T3 (Bianco *et al.*, 2002).

Una vez que el tirocito es estimulado por la TSH, la TG multiyodada es endocitada y dirigida hacia el lisosoma, en donde ocurre la proteólisis que escinde de la TG a las moléculas de T3 y T4, así como residuos MIT y DIT (Costanzo, 2014). El I⁻ de las DIT y MIT es reciclado mediante la intervención de una enzima yodotironina desyodinasa (YTD), la cual contiene un motivo estructural flavín mononucleótido que realiza la deshalogenación de los átomos de I dependiente de NADPH (Shimizu, 2014). Una isoforma de YTD también realiza la conversión local de T4 a T3 previa secreción al torrente circulatorio. Finalmente, la T4 secretada se une principalmente a tres proteínas transportadoras: globulina fijadora de tiroxina (75%), transtiretina (20%) y albúmina (5%). Solamente un 0.5% de T4 se encuentra como fracción libre biodisponible para los tejidos (Patrick, 2009).

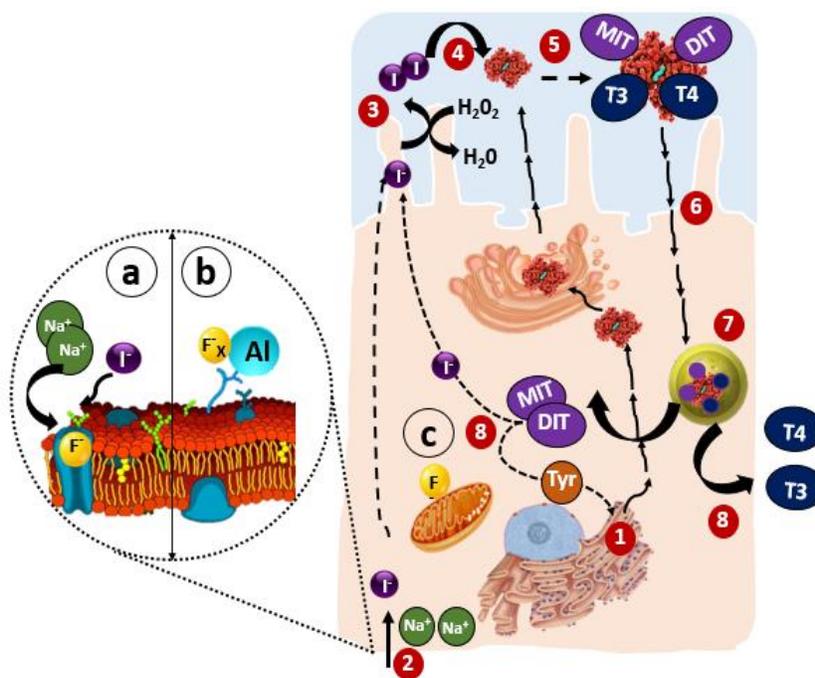


Figura 6. Biosíntesis de HTs y disrupción celular por F⁻. 1. Síntesis de TG y secreción al lumen folicular 2. Co-transporte de Na⁺- I⁻ 3. Oxidación de 2I⁻ → I₂ por acción de la TPO 4. Organización

del I₂ en MIT y DIT sobre los residuos Tyr de la TG 5. Acoplamiento de las moléculas MIT y DIT en T3 y T4 6. Endocitosis de TG organificada 7. Hidrólisis de T3 y T4 en el lisosoma 8. Liberación de T3 y T4 a circulación sistémica 8. Reutilización de I⁻ y residuos Tyr. El F⁻ puede causar en la célula a) inhibición de la captación de I⁻, b) mimetismo y activación de sistemas transduccionales y c) disminución del potencial de membrana mitocondrial. Elaboración propia.

Una vez en la circulación sistémica, T4 sufre un proceso de conversión enzimática (Figura 7) en los tejidos blanco por acción de alguna de las tres isoformas de YTD: YTD tipo 1 (D1), tipo 2 (D2) o tipo 3 (D3). Este mecanismo de conversión extratiroidea T4 → T3 (Fig. 7) es el responsable de proveer cerca del 80% de T3 que reciben los tejidos. D1 se produce principalmente en hígado, riñones y tiroides, y se ha hallado también expresada en la hipófisis y tejido cardiaco.

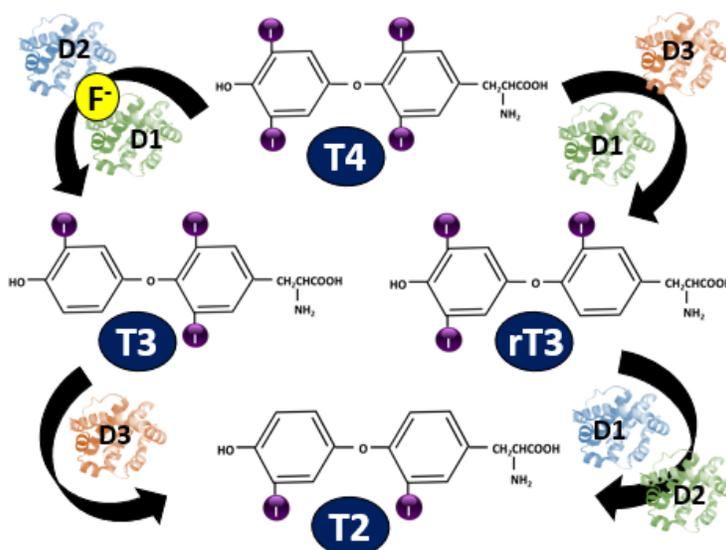


Figura 7. Estructura e interrelaciones de las HTs. Las desyododinasas D1 y D2 son las enzimas encargadas de la conversión extratiroidea de T4 en su forma bioactiva T3. La D3 tiene una función regulatoria de los volúmenes de T3 generando las formas biológicamente no activas T2 y rT3. Elaboración propia.

En hígado es la principal fuente de T3 y un 10% de T3 secretada por la tiroides es producida por la catálisis mediada por D1. D1 también participa en la reutilización del 70% de las moléculas de DIT y MIT unidas a la TG, lo cual representa una importante fuente de T4. Por otro lado, D2 se halla principalmente en el sistema nervioso central, músculo cardíaco y esquelético y tejido adiposo marrón con el fin de asegurar el adecuado suministro de T3 a dichos tejidos, incluyendo el suministro fetal de T3 (Patrick, 2009). La conversión catalizada por D1 aporta una fracción significativa de T3 en plasma de pacientes humanos eutiroideos, aunque

D2 podría ser la mayor fuente de T3 (Maia *et al.*, 2005). Por otro lado, D3 ejerce una acción regulatoria sobre los volúmenes de las HTs al generar las formas T2 y rT3 que carecen de acción biológica (Bianco *et al.*, 2002).

Los efectos de las HTs son mediados por tres isoformas de receptores nucleares (TRs): $\alpha 1$, $\beta 1$ $\beta 2$ expresados diferencialmente en los tejidos diana. La actividad transcripcional de los TRs está determinada por los diferentes elementos tiroideos de respuesta (TRE) en los genes blanco de T3 (Zhu & Cheng, 2016). Una vez que T3 penetra la membrana celular, ingresa dentro del núcleo y se une al TRE de doble cadena de ADN (AGGTCATGACCT:TCCAGTACTGGA), el cual se halla unido a un complejo correpresor. Cuando la hormona se une al TRE, este complejo correpresor se disocia y es reemplazado por un complejo coactivador que inicia la transcripción génica a través de la ARN polimerasa II (Litwack, 2018).

Las HTs son moléculas efectoras de prácticamente la totalidad de los sistemas del organismo: actúan sinérgicamente con las hormonas del crecimiento y las somatomedinas para promover la osteogénesis; aumentan el metabolismo basal, la producción de calor y el consumo de oxígeno, y alteran el sistema vascular y respiratorio para aumentar el flujo de sangre y la liberación de oxígeno a los tejidos (Costanzo, 2014), e intervienen en el desarrollo prenatal del sistema (Shimizu, 2014). Las HTs inducen la expresión de la $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPasa en la mayoría de los tejidos, lo que lleva a un incremento del consumo de oxígeno, del índice metabólico basal y de la producción de calor. El aumento de la contracción cardiaca se explica por la inducción de la expresión de la miosina, receptores $\beta 1$ adrenérgicos, y la Ca^{2+} ATPasa. En el hígado y tejido adiposo, las HTs induce la expresión de las enzimas lisosómicas, proteasas y demás enzimas clave del metabolismo de carbohidratos, grasas y proteínas (Costanzo, 2014).

2.8.8.2 Disrupción de la función tiroidea

En 1854, Maumené enunció por primera vez la hipótesis que atribuía al F^- presente en el agua potable un efecto antitiroideo. Las primeras evidencias sugirieron en 1923 cuando el sistema de salud de Idaho asoció el alargamiento de

tiroides en niños menores de 15 años con el uso de agua del grifo cuya concentración de F^- era superior a 6 mg/L (National Research Council, 2006). Las indagaciones científicas de la toxicidad del F^- sobre la tiroides comenzaron a inicios de 1930, y durante toda la década de los años setenta se mantuvieron al alza (Figura 8a) Durante el periodo 1970 – 1990 parece que hubo una pérdida de interés en la temática hasta que a partir de los noventa comienza nuevamente a repuntar la investigación científica del efecto antitiroideo del F^- . La producción científica neta está liderada por Estados Unidos, seguido de los países de Europa Occidental. Del continente asiático destacan China y Japón, seguido de India. En América Latina, Brasil es el principal productor de documentos científicos pertinentes, seguido de Argentina y México (Figura 8b).

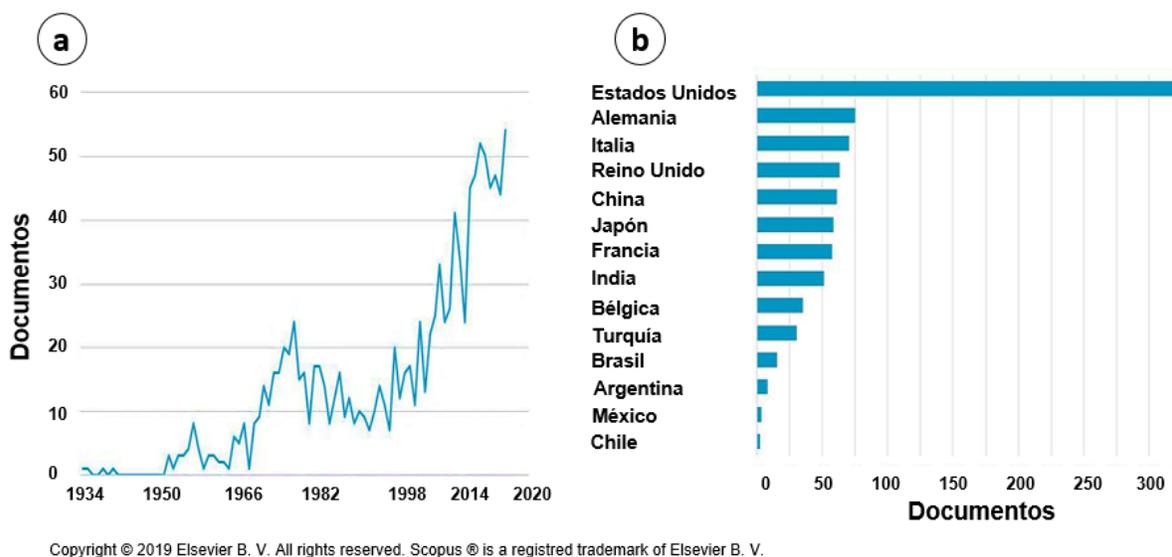


Figura 8. Tendencia histórica y países de origen de las investigaciones científicas sobre la toxicidad del F^- sobre componentes tiroideos. a) Tendencia histórica b) Documentos científicos por país. Ambas gráficas derivan del algoritmo de búsqueda (“Fluoride” OR “Fluorine”) AND “Thyroid”. Elaborada en Scopus®.

Los efectos antitiroideos del F^- se han observado en líneas celulares y modelos animales. En la línea celular tiroidea Nthy-ori-3-1 expuesta a más de 1 mM de F^- se observó un incremento de la expresión de genes implicados en el estrés del retículo endoplasmático y un aumento significativo del porcentaje de apoptosis (Liu *et al.*, 2014). En ratas expuestas a altas dosis de F^- se observó destrucción de los folículos tiroideos, disminución del área folicular, rompimiento de la capa epitelial e

incremento significativo del peso de la tiroides. El tratamiento con NaF causó un decremento dosis-dependiente de las hormonas T3, T4 y un incremento significativo de la TSH, a la par que disminuyó significativamente los niveles de las hormonas reproductivas, lo cual evidencia una amplia disrupción del eje hipotálamo-hipofisario (Dhurvey *et al.*, 2017). En peces zebra expuestos crónicamente a F⁻ también se han observado cambios microestructurales en el tejido tiroideo, así como disminución de los niveles de T3 y T4. El nivel transcripcional de los genes que codifican para la TSH, TG, D1, TR α y la proteína de membrana NIS se incrementó significativamente en los grupos expuestos a más de 0.9 M de F⁻, lo cual evidencia una amplia disrupción endócrina del eje hipotálamo-hipófiso-tiroideo (Jianjie *et al.*, 2016).

Los disruptores endócrinos pueden afectar la fisiología tiroidea en cada una de las fases de la biosíntesis de las HTs, comenzando desde la captación de I⁻ por parte del tirocito (Figura 6a). El F⁻ al ser un elemento más electronegativo que el I⁻ puede competir con éste por el NIS, de manera que la tiroides no logre captar la cantidad suficiente de I⁻ para las reacciones de organificación de la TG (Clinch, 2009; Sarne, 2016). La actividad enzimática de la TPO también puede verse afectada, perjudicando directamente la organificación de la TG, a pesar de que haya un almacenamiento suficiente de I⁻. En el torrente sanguíneo, los disruptores endócrinos pueden alterar el transporte de las HTs uniéndose a las proteínas transportadoras de T4 y alterando su biodisponibilidad (Patrick, 2009). Algunos tipos de fluoroaluminatos (Al_xF), debido a su geometría tetraédrica, pueden activar diversos sistemas transduccionales (Figura 6b) mediados por proteínas G asociadas a receptor (Caverzasio *et al.*, 1998) y actuar miméticamente como la hormona TSH, enviando falsas señales a los receptores de TSH, lo que conduce a una desensibilización de dichos receptores y una disminución en la producción de HTs (Clinch, 2009).

La inhibición de la actividad enzimática de las diferentes isoformas de YTD podría ser uno de los principales mecanismos de la disrupción de la homeostasis tiroidea. En un estudio realizado en una zona de hidrofluorosis endémica de la India se

observó que la actividad enzimática de D1 y D2 disminuyó de una manera dosis-dependiente del F⁻ del agua (1.0 – 16.0 mg/L). El F⁻ sérico tuvo una correlación negativa con la actividad de D1 ($r = 0.977$) y con D2 ($r = 0.923$). Este fenómeno de inhibición enzimática se vio acompañado del decremento absoluto de los niveles séricos de T3 y T4, así como un incremento de la TSH y rT3, conduciendo a un estado hipotiroideo en la población expuesta (Sashi & Singla, 2013).

La Tabla I muestra los principales estudios de casos y controles que evalúan la asociación de la función tiroidea con la exposición crónica a F⁻. La concentración de F⁻ de los grupos control fue menor a 1 mg/L en todos los casos, e incluso algunos estudios consideraron como grupo de casos a residentes de zonas con una concentración de F⁻ por debajo de los 1.5 mg/L.

Tabla I. Estudios de casos y controles entre la exposición a F⁻ y la función tiroidea

País	N	Edad (años)	Grupo control (mg F ⁻ /L)	Grupo expuesto (mg F ⁻ /L)	Efecto sobre HTs	Referencia
India	60	8 – 15	0.98 – 1.00	1.6 – 5.5	TSH↑ ($p < 0.06$)	Singh <i>et al.</i> , 2014
India	90	7 – 18	0.14 - 0.81	1.1 - 14.3	1. TSH↑ (46.9%) 2. T3↓ (32.7%) 3. TSH↑ y T3↑ (14.35) 4. TSH↑ y T4↓ (4.1%) 5. TSH↑ y T3↓ (2%)	Susheela <i>et al.</i> , 2005
India	100	8 – 15	0.94 – 1.08	1.5 – 5.8	TSH↑ ($p < 0.05$)	Kumar <i>et al.</i> , 2018
India	55	> 70	0.64	1 – 6.5	T4↑ ($p < 0.001$)	Michael <i>et al.</i> , 1996
India	139	22 – 47	< 1	1.01 – 16.0	TSH↑, T3↓, T4↓, rT3↑ ($p < 0.001$)	Sashi & Singla, 2013b
India	145	25 – 55	0.76 ± 0.11	2.5 ± 1.3	TSH↑ ($p < 0.01$)	Sachdeva <i>et al.</i> , 2015
China	82	8 – 13	0.23 – 0.76	0.62 – 4.00	TSH↑ ($p < 0.05$)	Xiang <i>et al.</i> , 2009
China	256	7 – 14	0.34	0.88	TSH↑, rT3↑ ($p < 0.01$)	Fa-Fu <i>et al.</i> , 1991
Irán	198	20 – 60	0.3 – 0.5	0.0 – 0.3	TSH↑ ($p < 0.001$)	Kheradpish eh <i>et al.</i> , 2018
México	70	15 – 20	± 0.3	1.0 – 5.3	T3↓ ($p < 0.001$)	Ruiz-Payan, 2006

Un estudio transversal realizado en el Reino Unido comparó la prevalencia de hipotiroidismo diagnosticado en una zona con prácticas de fluoración del agua con otra zona sin dicha práctica. Los resultados indicaron que las altas concentraciones de F^- contribuyeron a predecir la prevalencia de hipotiroidismo OR (1.9, 1.39 – 2.70). El modelo incluyó los predictores de elevado riesgo de hipotiroidismo, como sexo y edad y predijo un aumento de la prevalencia de hipotiroidismo de 0.03% por cada incremento de 0.1 mg F^-/L en el agua. El trabajo concluyó que limitar la ingesta de F^- es importante para reducir el riesgo de hipotiroidismo (Peckham, Lowery & Spencer, 2015). Grimes (2015) y Newton *et al.* (2017) criticaron que el trabajo anterior era estadísticamente débil por no considerar diversas variables confusoras, y que más que hablar de asociación estadística, los hallazgos debían referirse como “relación teórica”. Peckham, Lowery & Spencer (2015) reconocieron que la asociación entre hipotiroidismo e hidrofluorosis no significaba una relación causal debido a la naturaleza misma de la investigación epidemiológica basada en los casos ecológicos (Sutton *et al.*, 2015). Este debate académico sobre el efecto disruptor que puede ejercer el F^- sobre la función tiroidea suscitado en Inglaterra, en donde los niveles de F^- están muy por debajo de los 1.5 mg/L refleja la importancia del tema, principalmente en los países en que la hidrofluorosis sí es un problema severo.

2.8.8.3 Hipotiroidismo subclínico

La Tabla I muestra diferentes estudios de asociación entre la exposición crónica al F^- presente en el agua potable de origen subterráneo y el incremento de la TSH y/o niveles normales o decrementados de T3 y/o T4. Este desorden tiroideo se denomina hipotiroidismo subclínico (HSC), y por definición se caracteriza por niveles de TSH superiores a 4.5 mUI/L y menores que 10 mUI/L (Surks *et al.*, 2004). El HSC suele cursar asintóticamente, aunque se pueden presentar síntomas leves o inespecíficos como astenia, alteraciones del peso, estreñimiento, sequedad de piel, palpitaciones cardíacas. Respecto a la evolución del HSC en niños, no está claro su repercusión sobre el metabolismo lipídico, la función cognitiva y el riesgo cardiovascular, ya que 70% de los niños con HSC normalizan

sus valores de TSH con el tiempo (Chueca *et al.*, 2014). La disfunción tiroidea subclínica es un problema muy común que solamente se puede detectar a través de muestreos poblacionales a razón de su asintomaticidad. La importancia de la pronta detección del HSC radica en que es un desorden progresivo que por sí mismo es un predictor de desarrollar hipotiroidismo clínico (Cooper & Biondi, 2012).

Una ingesta inadecuada de yodo, ya sea deficiente o excesiva, puede llevar al incremento de la TSH como respuesta adaptativa de la tiroides con fin de incrementar la captación del I^- sérico, lo cual puede derivar en una disfunción hipotiroidea (Parce & Caldwell, 2016). Las poblaciones sin deficiencia crónica de yodo no ven perturbada su función tiroidea. Un amplio estudio transversal realizado en Estados Unidos en más de 11,000 individuos mayores de 21 años no encontró que hubiera una asociación entre la concentración de I^- excretado en la orina y los niveles de TSH y T4. Este trabajo destaca la falta de asociación aún en los primeros nueve percentiles de la concentración de I^- urinario (Hadow *et al.*, 2007), lo cual indica que la población estadounidense ingiere la cantidad suficiente de yodo para no desarrollar desórdenes tiroideos. Sin embargo, un extenso estudio transversal realizado en Canadá sobre una muestra representativa de casi siete millones de personas encontró que el F^- urinario no predijo significativamente los niveles de TSH. Sin embargo, en adultos con una ingesta deficiente de yodo, un incremento de 1 mg F^-/L estuvo asociado con un incremento de 0.35 mUI/L de TSH ($p = 0.01$), lo que concluye que la deficiencia de yodo en sinergia con la exposición a F^- incrementa el riesgo de hipoactividad de la tiroides (Malin *et al.*, 2018). En lugares donde la deficiencia de yodo es un problema crónico, la disfunción tiroidea es significativamente más acentuada, particularmente cuando se acompaña con exposición a F^- . Los niveles de TSH fueron significativamente mayores ($p < 0.01$) en niños expuestos a altos niveles de F^- y con deficiencia crónica de yodo respecto a niños de otra aldea también deficiente de yodo, pero con bajos niveles de F^- (Fa – Fu *et al.*, 1991). En humanos, la disfunción tiroidea por exposición a F^- se presenta con una dosis de 0.05 – 0.13 mg/Kg/día cuando la ingesta de yodo es adecuada, pero la misma disfunción tiroidea se presenta con



una dosis de F^- de 0.01 – 0.03 mg/Kg/día cuando hay una insuficiente ingesta de yodo (National Research Council, 2006).

En México, un estudio a gran escala en más de 1,300 niños menores de 12 años de todo el territorio nacional halló una prevalencia de deficiencia severa de yodo de tan sólo el 0.5% (Villalpando *et al.*, 2003), por lo que en México no se espera encontrar disfunción tiroidea causada por una ingesta inadecuada de yodo en la población pediátrica. Sin embargo, este mismo estudio reconoce que en México pueden existir microrregiones donde la prevalencia de la deficiencia de yodo aún puede ser elevada, como se reportó en niños de la Sierra Tarahumara de Chihuahua, en los que se observó una alta prevalencia de alargamiento de tiroides en los niños con mayor deficiencia de yodo a pesar del consumo de sal yodada, lo cual podría indicar que a la tiroides le puede tomar cierto tiempo normalizar su función (Monárrez-Espino & Greiner, 2005), como se ha observado en niños de Nepal que presentan una prevalencia de hipotiroidismo subclínico de hasta el 20% a pesar consumir sal yodada desde hace tiempo (Shakya *et al.*, 2015). En México, se ha demostrado una asociación negativa ($r = 0.36$, $p = 0.005$) entre los niveles del I^- urinario y el indicador SGI utilizado para evaluar el grado de desarrollo social (García-Solís *et al.*, 2013).

III. JUSTIFICACIÓN

El agua subterránea contiene de manera natural una variable concentración de F^- en función de diversos factores, como la composición mineral del suelo y el nivel de explotación de los acuíferos. En México, el agua subterránea abastece más del 70% de la población y el aumento de la demanda del recurso hídrico de los últimos años ha causado la sobreexplotación de los acuíferos, lo que ha llevado a un deterioro de la calidad del agua, caracterizado por el incremento de la concentración de F^- . En las poblaciones humanas, el agua representa la principal vía de exposición a F^- . Los efectos a la salud derivados de la exposición crónica a elevados niveles de F^- se reportaron desde inicios del s. XX. Entre éstos destacan la fluorosis dental, fluorosis esquelética, alteraciones hematológicas, aumento del estrés oxidativo, daño renal, hepático y vascular, así como una amplia disrupción del eje hipotálamo-hipofisario. En los países más afectados por la hidrofluorosis se han realizado estudios epidemiológicos que han asociado los niveles de F^- con una disrupción de la función tiroidea que se ha descrito como una forma de hipotiroidismo subclínico. El hipotiroidismo subclínico tiende a ser asintomático, pero se ha asociado al desarrollo de síndrome metabólico y ganancia de peso.

Chihuahua es uno de los estados más afectados por las altas concentraciones de F^- en el agua de consumo humano, y más específicamente la ciudad de Chihuahua, que se abastece de acuíferos sobreexplotados. Por esta razón, es pertinente un diseño experimental que evalúe diversos parámetros clínicos, como el perfil tiroideo, glucosa, perfil de lípidos, así como datos somatométricos de niños expuestos a una alta ingesta de F^- a través del agua de la red de abastecimiento público, por ser este grupo especialmente vulnerable a los efectos tóxicos del F^- que podrían aumentar el riesgo de enfermedades en la vida adulta.



IV. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

4.1 Hipótesis

Existe un incremento significativo en los niveles séricos de TSH y una disminución de T3 y T4 en adolescentes con sobrepeso y obesidad expuestos al F⁻ presente en el agua potable de la ciudad de Chihuahua.

4.2. Objetivos

4.2.1 Objetivo general

Evaluar el efecto de la exposición de F⁻ en la función tiroidea en adolescentes con sobrepeso y obesidad de la Ciudad de Chihuahua

4.2.2 Objetivos particulares

5.2.1 Realizar un muestreo no probabilístico de agua para determinar el riesgo espacial de la exposición a F⁻ en la Cd. de Chihuahua con fin a seleccionar el área de estudio

5.2.2 Determinar la correlación entre el F⁻ del agua y el biomarcador de exposición F⁻ urinario

5.2.3 Conformar los diferentes grupos de estudio en función de la exposición a F⁻ y el IMC en una población escolar de adolescentes del área de estudio

5.2.4 Analizar la antropometría y pruebas bioquímicas de los participantes

5.2.5 Analizar si existe una asociación entre la exposición a F⁻ con la función tiroidea en los grupos de estudio.

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Selección del área de estudio

Los estudios del control de la calidad del agua son un tipo especial de monitoreos ambientales que se caracterizan por requerir continuo monitoreo a través del tiempo (Gilbert, 1987). Ante la falta de estudios longitudinales y registros históricos de los niveles de F^- en la ciudad de Chihuahua, se planeó la realización de un muestreo de agua domiciliar que abarcara la totalidad de la ciudad de Chihuahua para la elaboración de un mapa de riesgo espacial mediante un Sistema de Información Geográfica (SIG). El mapa permitiría identificar, la zona con mayor riesgo de presentar altos niveles de F^- en la ciudad de Chihuahua para la selección de la población de estudio.

5.1.1 Muestreo de agua

El diseño de todo monitoreo de los parámetros de calidad ambiental contempla diversos factores, tales como el objetivo del estudio, factibilidad económica, los patrones de contaminación ambiental y diversas consideraciones prácticas (Gilbert, 1987). La distribución de los sitios de muestreo se realizó mediante la herramienta My Maps de Google®. Con esta herramienta se dividió empíricamente la ciudad de Chihuahua en 18 sectores, en los que se ubicaron cinco sitios de muestreo por sector, distribuidos uniformemente sobre el área de cada polígono y se tomaron en total 90 muestras de agua domiciliar.

Una vez en el sitio de muestreo preseleccionado, se dejó correr el agua del grifo durante diez segundos, se enjuagó tres veces el recipiente de polietileno, se llenó el volumen de 500 mL del recipiente y se cerró herméticamente con la tapa, como especifica la NOM-014-SSA1-1993. En aquellos casos en que no se pudo tener acceso al sitio de muestreo, se seleccionó *in situ* un nuevo punto lo más próximo posible, y siendo registradas las nuevas coordenadas geográficas mediante el sistema GPS integrado en la aplicación Maps de Google®. Las muestras fueron trasladadas al laboratorio y almacenadas a 4°C hasta su posterior análisis.

5.1.2 Cuantificación de F⁻

La cuantificación de F⁻ del total de las muestras de agua se realizó mediante dos métodos aprobados por la EPA para el análisis de aguas potables, por cromatografía de iones y por electrodo ion selectivo. Se verificó la intercalibración de los métodos mediante un análisis de correlación de Spearman de los resultados obtenidos por ambos métodos. La cuantificación de F⁻ en las muestras de orina se llevó a cabo por el método del electrodo ion selectivo.

5.1.2.1 Cromatografía de iones

Principio: el uso de técnicas cromatográficas para la separación y detección conductométrica de aniones y cationes comenzó en 1975, y desde entonces, la técnica de intercambio iónico prevalece sobre otras técnicas de separación. La resolución de los picos cromatográficos depende fundamentalmente de algunos factores, como el tipo de columna, composición del eluyente, tipos de detectores y preparación de la muestra (Michalski, 2018). Las especificaciones técnicas de la determinación de F⁻ por cromatografía de iones están recogidas en el método 300.1 de la EPA (1997).

Método: previo a la determinación de F⁻, a cada una de las muestras les fue determinada la conductividad eléctrica para verificar que este parámetro estuviera por debajo de los 500 $\mu\text{S}/\text{cm}$ con el propósito de prevenir daños en la columna cromatográfica. En caso de que alguna muestra presentara una alta conductividad, la muestra era diluida en agua desionizada. La curva de calibración se realizó utilizando diluciones de un estándar certificado multianiónico con un contenido de $10 \pm 0.2\%$ ppm de F⁻ (Merck©). Todas las determinaciones de F⁻ de las muestras problema fueron realizadas por duplicado en un cromatógrafo de iones Thermo Scientific, Dionex® ICS-1100 en una columna de intercambio aniónico Dionex IonPac® AS23, el cual cuenta con un sistema automatizado de inyección que toma un volumen de 25 μL de muestra. Como control de calidad, se introdujeron soluciones de concentraciones conocidas de F⁻ por cada diez determinaciones realizadas. En caso de que la linealidad del método presentara

una $r^2 < 0.9975$, se corrió una nueva curva de calibración. Se consideraron las pautas y los parámetros requeridos por el software Chromeleon® (Thermo Scientific®) para el correcto funcionamiento del equipo de acuerdo con el procedimiento de validación del método.

5.1.2.2 Electrodo ion selectivo

Principio: el F^- de todas las muestras también se determinó por duplicado siguiendo el método potenciométrico de electrodo selectivo de F^- (EPA, 1974). Esta técnica se basa en la selectividad del electrodo para registrar la actividad iónica del F^- a través de una membrana constituida por fluoruro de lantano, la cual es específicamente permeable a estos iones. La actividad se registra como una respuesta electroquímica proporcional al contenido de F^- de la muestra.

Método: Se elaboró una curva de calibración a partir de soluciones estándar de 0.1, 0.3, 1.0, 3.0 y 10 mg/L de F^- diluidas de una solución estándar de referencia 1000 ppm de F^- (Sigma-Aldrich®). Las soluciones estándar se diluyeron 1:1 con TISAB II (Orion ionplus®) en un volumen final de 2 mL. El TISAB II es una solución amortiguadora que mantiene una fuerza iónica y un pH adecuado que evitan la formación de complejos de F^- con iones como aluminio, hierro, silicio, fosfato, sulfato o cloruro, eliminando la posibilidad del secuestro de F^- por parte de estos iones que comúnmente están presentes en las aguas potables. El electrodo selectivo de F^- 9609BNWP (Orion®) se introdujo en cada dilución de los estándares y se registró la lectura en milivolts (mV) del potenciómetro A324 (OrionStar®).

Los mV obtenidos se graficaron en función del logaritmo de la concentración de cada solución estándar en una hoja de cálculo de Excel 2019, y para que la curva de calibración sea válida, el valor de la pendiente debe ser de -54 a -60 (EPA, 1974) y presentar una $R^2 > 0.997$. Los valores promedio de los duplicados de las muestras se interpolaron en la curva de calibración obtenida, y la concentración de F^- correspondiente equivalió al antilogaritmo del valor obtenido menos el antilogaritmo de la lectura promedio del blanco. La cuantificación de F^- en orina se



llevó a cabo siguiendo el mismo procedimiento y como control de calidad externo fueron utilizados los materiales de referencia de orinas con concentración conocida de F^- del Quebec Centre of Toxicologie, proporcionados por el Departamento de Toxicología del CINVESTAV-IPN. Las muestras almacenadas a $-20^{\circ}C$, fueron descongeladas hasta que hubieran alcanzado la temperatura del ambiente. La alícuota a analizar se tomó después de homogeneizar cuidadosamente el total del sedimento urinario y se procedió como se describió anteriormente.

5.1.3 Elaboración de mapa de riesgo espacial

Principio: un SIG es una poderosa herramienta computacional que permite el análisis de grandes cantidades de información dentro de un contexto geográfico, lo cual es especialmente útil en el área de la salud ambiental (Vine, Degnan & Hanchette, 1997). Las técnicas de interpolación de superficies son herramientas geoestadísticas integradas en los SIG que resultan muy útiles para la predicción de la concentración de contaminantes de las aguas subterráneas con base en los datos de monitoreos ambientales (Gong, Mattevada & O'Bryant, 2014) que permiten la descripción de fenómenos ambientales en formas de mapas de riesgo espacial y su progresión temporal en forma de mapas temporales, los cuales resultan muy útiles en la gestión de los recursos hídricos (Passarella *et al.*, 2001). La técnica de interpolación de inverso de la distancia ponderada (IDW) trabaja bajo el principio que los fenómenos más cercanos entre sí serán más similares a lo que ocurre más lejos (Simpson & Wu, 2014), y ha sido probada en monitoreos de contaminantes en aguas subterráneas (Gong, Mattevada & O'Bryant, 2014).

Método: las determinaciones de F^- del muestreo del 2019 obtenidas por el método de la EPA (1974) fueron utilizadas para la realización del mapa de distribución de F^- en el software ArcMap© 10.4. mediante la técnica de IDW. Este SIG necesita que los datos estén organizados en cuatro columnas de una hoja de cálculo de Excel: una columna identificadora (ID) de los sitios de muestreo, otras dos para las coordenadas (x) y (y) y una más que contenga las concentraciones de F^- . Sin embargo, el par de coordenadas (x,y) de los sitios de muestreo deben ser tipo

UTM y no decimales, que son las unidades que comúnmente aportan los diferentes GPS, por lo cual debieron ser transformadas mediante la aplicación en línea Transformación de coordenadas (TRANINV) del INEGI (<https://www.inegi.org.mx/app/geo2/traninv/>). Además del mapa del presente muestreo, se realizó un mapa utilizando los datos (No publicados) proporcionados por la Dra. Lourdes Ballinas (FCQ-UACH) de un muestreo realizado en mayo del 2018 en la Ciudad de Chihuahua, con el fin de observar los patrones de distribución del F^- a través del tiempo, en defecto de la ausencia de registros históricos. En la Figura 9 se muestran las distribuciones de los sitios de muestreo de los años 2018 y 2019 que fueron utilizadas para la realización de los mapas de riesgo espacial.

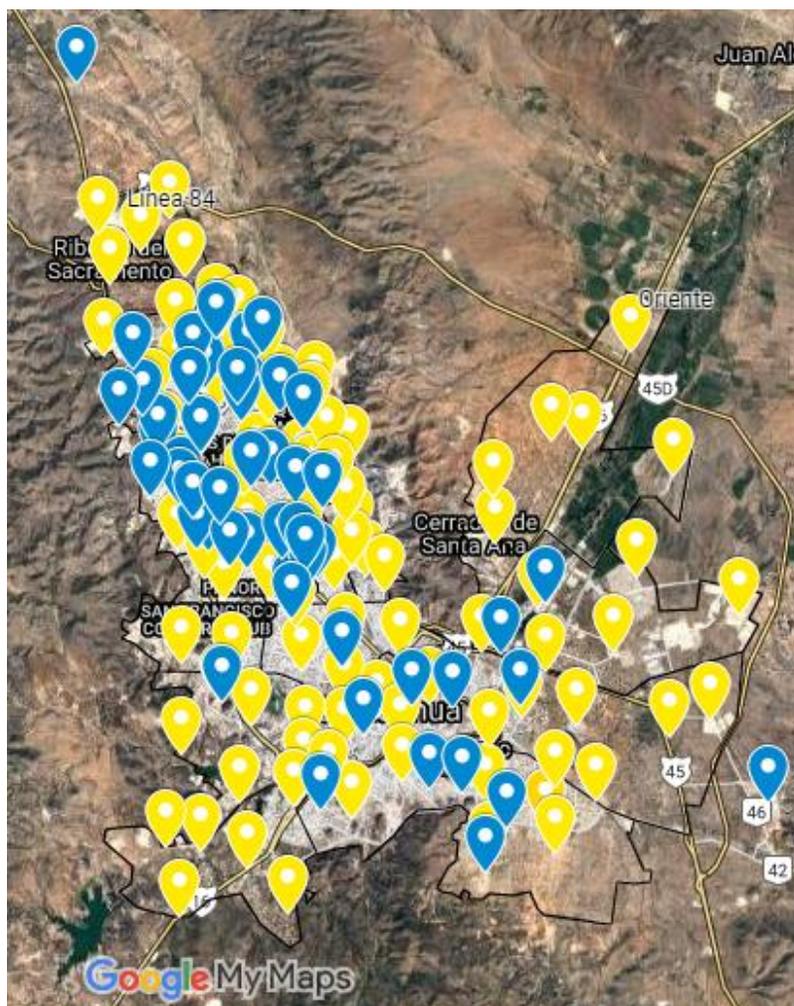


Figura 9 Distribución de los sitios de muestreo de los años 2018 y 2019. Datos del mapa ©2020 INEGI Imágenes ©2020 TerraMetrics

5.1.4 Verificación *in situ* de los niveles de F⁻ y As de la zona de estudio

Con base en los mapas de riesgo espacial de los niveles de F⁻ en la ciudad en los años 2018 y 2019, se determinó que la zona comprendida entre las colonias Robinson, Concordia y Aeropuerto, al sureste de la ciudad, era la zona más afectada por las elevadas concentraciones de F⁻. Se delimitó un cuadrante comprendido entre las colonias Robinson y Aeropuerto y se tomaron cuatro muestras a las cuales se les determinó el F⁻ por el método potenciométrico (EPA, 1974).

Así mismo, se cuantificó la concentración de As en las muestras, con el fin de conocer si existía una exposición conjunta de As y F⁻.

Principio: el método para la determinación de As por espectrofotometría de absorción atómica en aguas naturales y potables se basa en la generación de átomos en estado basal y en la medición de la cantidad de energía absorbida por éstos, la cual es directamente proporcional a la concentración de As en la muestra analizada.

Método: a partir de un estándar comercial de As 1000 ppm (Sigma-Aldrich®) se preparó una solución de 1 ppm ajustada al 0.2% v/v de HNO₃. A partir de esta solución se prepararon los estándares de calibración de 5, 10, 15, 20, 25 y 30 ppb. Al volumen respectivo de cada estándar se le añadió 1 mL de HCl concentrado y 1 mL de KI al 10% y finalmente se aforó con agua desionizada. La determinación de As se realizó con un equipo de espectrometría de absorción atómica Perkin Elmer A Analyst 700, al cual se acopló un generador de hidruros FIAS 100, siguiendo la norma NMX-AA-051-SCFI-2001 y dentro de un margen de dos minutos después de añadido el KI.

5.2 Primera fase del muestreo

Una vez verificado que los niveles de F⁻ sobrepasaron efectivamente la norma, y que no se detectó la presencia de As en el área de estudio preseleccionada, se procedió a considerar la zona comprendida al sureste la ciudad, entre las colonias



Robinson y Aeropuerto, como la zona de estudio, en donde fue seleccionada la Escuela Secundaria Estatal 3049 (C.C.T. 08EES0020V), debido a que se estableció un convenio de colaboración con la Fundación del Empresariado Chihuahuense A.C. (FECHAC), que dentro de sus programas sociales atiende diversas escuelas de la ciudad de Chihuahua con apoyo de infraestructura y en este caso con la instalación de una planta de ósmosis inversa para proveer de agua de calidad a los estudiantes y sus familias.

5.2.1 Consideraciones éticas y presentación del proyecto

El presente proyecto recibió la aprobación del Comité de Ética en Investigación de la Universidad Autónoma de Chihuahua, así como de la Secretaría de Educación, Cultura y Deporte del Estado de Chihuahua y de la Dirección del centro educativo. Posteriormente, mediante una sesión informativa con la planta docente, se comunicó el plan de actividades del proyecto con el fin de solicitar su mediación ante los padres de familia.

5.2.2 Inducción de padres de familia

Se contó con la participación de estudiantes de Servicio Social de la licenciatura de Q.B.P (FCQ-UACH) para colaborar en las fases de obtención de consentimiento y asentimiento informado y toma de medidas antropométricas, para lo cual recibieron una capacitación previa. A los profesores se les hizo entrega de trípticos informativos y se les solicitó su colaboración como asesores de grupo para entregarlos a los padres de familia y para que facilitaran la invitación a participar en el estudio en la junta programada para la entrega de boletas. En dicha junta se les dio a conocer el propósito del estudio, la metodología del proyecto y el beneficio de contar con una planta purificadora de agua con bebederos y tomas de agua para que tuvieran acceso a agua de calidad no solo en la escuela sino también en sus hogares. Se hizo énfasis en el carácter voluntario de la participación de los estudiantes y que, debido a la necesidad de tomar muestras de sangre y orina, se debería contar por escrito con su decisión de participar en el estudio. Se hizo entrega a los padres de familia de los



consentimientos informados (Apéndice I), los cuáles fueron entregados firmados al término de la junta y se aclararon dudas en lo particular. Así mismo, a los padres de familia interesados, se les hizo entrega de un instructivo para la toma de muestras del agua que consumen en el hogar y de la primera orina de la mañana proporcionándoles un tubo cónico de 50 mL para la muestra de agua y un recipiente estéril para la recolección de orina.

5.2.3 Características de exposición de la población de estudio

Esta fase consistió en la valoración somatométrica y dental de los alumnos cuyos padres de familia entregaron firmada la carta de consentimiento informado y que habían proporcionado las muestras de agua y de orina de sus hijos. El desarrollo de esta fase requirió el deseo expreso de los alumnos preseleccionados de participar en el estudio a través del asentimiento informado (Apéndice II). Los parámetros fueron capturados en una hoja de registro (Apéndice III) debidamente foliada con el ID único de cada alumno e integrada a su expediente confidencial bajo resguardo.

5.2.3.1 Determinación de F^- en muestras de agua y orina

Las muestras de agua y orina fueron analizadas con el método potenciométrico de la EPA (1974) descrito anteriormente en la sección 5.1.2.2, con las siguientes salvedades: las muestras de orina tuvieron que ser descongeladas previo a su análisis y esperar a que alcanzaran la temperatura del ambiente y se tomó una alícuota suficientemente homogeneizada de manera que no precipitara el sedimento urinario. La concentración de F^- urinario se expresó en relación a la concentración de creatinina (Cr), que es un producto de degradación de la fosfocreatina muscular, es producido en el organismo a una tasa relativamente constante en proporción a la masa muscular, ya que se filtra mayormente en los glomérulos y no es reabsorbida en los túbulos a una cantidad apreciable. El radio mg F^- /g Cr de orinas obtenidas en la mañana es un buen parámetro para estimar la excreción de F^- a las 24 horas, y dado que la excreción de creatinina es

relativamente constante en cada individuo, es un marcado útil para corregir la variación diaria de la dilución de la orina (Zohouri *et al.*, 2006).

5.2.3.2 Determinación de creatinina urinaria

Principio: La creatinina en orina se determinó mediante el método basado en la reacción de Jaffé, en la que el picrato alcalino reacciona con la creatinina produciendo un cromógeno rojo. La velocidad de esta reacción, bajo condiciones controladas, es una medida de la concentración de creatinina de la muestra puesto que se comporta como una reacción cinética de primer orden para la creatinina. Por otra parte, se ha demostrado que los cromógenos no-creatinina que interfieren en la mayor parte de las técnicas convencionales, reaccionan dentro de los 30 segundos de iniciada la reacción, de manera que, entre los 30 segundos y los 5 minutos posteriores al inicio de la reacción, el incremento de color se debe exclusivamente a la creatinina.

Método: la determinación de creatinina urinaria se realizó con el kit CREJ2 (Roche®) en un equipo Cobas Integra® 400 Plus (Roche©). El equipo tomó un volumen de orina de 10 μL y dispensó automáticamente 13 μL de KOH (900 mM; fosfato 135 mM; $\text{pH} \geq 13.5$) y 17 μL de ácido pícrico (38 mM; $\text{pH} = 6.5$) diluido en agua a un volumen total de 147 μL . La cinética de la reacción fue determinada fotométricamente por el aumento de la absorbancia a una longitud de onda de 512 nm. El límite de detección de la prueba es de 0.31 mg/dL. Los valores de referencia para la primera orina de la mañana para hombres y mujeres son 39 – 259 y 28 – 217 mg/dL, respectivamente.

5.2.4 Características somatométricas de la población de estudio

Los estudiantes de la brigada de Servicio Social que participaron en la recopilación de los datos somatométricos fueron debidamente capacitados en la ejecución adecuada de los protocolos antropométricos estandarizados, así como en el uso correcto de los equipos utilizados, ya que la falta de uniformidad reduce la sensibilidad de los resultados y puede conducir a conclusiones falsas (Secretaría



de Salud, 2002). En cada uno de los procedimientos se explicó a los menores participantes la manera de realización del mismo y se enunciaba verbalmente todo momento en que se hizo contacto corporal durante el desarrollo de las mediciones. La obtención de los percentiles y puntajes Z de las estaturas y pesos específicos para la edad y el sexo se realizó a través del software libre AnthroPlus v3.2.2 (WHO, 2011).

5.2.4.1 Diámetro de cintura y cadera

Se les pidió a los menores que se quitaran todo abrigo muy voluminoso, como suéteres o chamarras. Para medir la cintura, se pidió a los alumnos que levantaran la playera de su uniforme solamente un poco arriba del ombligo, permaneciendo de pie y con los brazos extendidos. El evaluador trazó una línea imaginaria que va del hueco de la axila hasta la cresta iliaca, sobre la cual se identificó la última costilla. En este punto, se colocó de manera horizontal una cinta métrica flexible y se registró después de que el individuo realizara una espiración normal. La medición de la cadera se realizó con la persona en la misma posición, registrando la medida de la cinta sobre el punto más ancho justo encima de los glúteos (Tapia-Conyer, 2016).

5.2.4.2 Presión arterial

Se pidió a los menores que tomaran asiento de manera confortable, apoyando la espalda sobre el respaldo de la silla. Se recogió la prenda que cubriera el brazo, cuidando de no constreñir demasiado el brazo y colocando el brazaletes de un baumanómetro digital un palmo encima del codo (Tapia-Conyer, 2016). Una de las características de la tensión arterial durante la infancia, es la amplia distribución de sus valores que aumentan conforme el crecimiento (Rosas-Peralta *et al.*, 2015). Se realizó la clasificación de los estadios de hipertensión de las mediciones de las presiones sistólicas y diastólicas obtenidas de los menores a través de los puntos de corte de presión arterial ajustados por estatura, género y edad publicados por la Nacional Health and Nutrition Examination Survey (2004). La Tabla II muestra los criterios de clasificación de la hipertensión arterial en menores de 18 años.

Tabla II. Criterios de clasificación de la tensión arterial de la población de estudio (Rosas-Peralta *et al.*, 2015)

Tipo	Descripción
Presión arterial normal	Presión arterial sistólica y diastólica por debajo del percentil 90 para edad, género y estatura
Prehipertensión	Presión arterial sistólica o diastólica \geq percentil 90, pero $<$ percentil 95 (presión arterial de 120/80 mm Hg)
Hipertensión arterial	Es la presión arterial sistólica o diastólica \geq percentil 95
Hipertensión arterial del estadio I	Es la presión arterial sistólica o diastólica cuyos valores van del percentil 95 al percentil 99
Hipertensión arterial del estadio II	Es la presión arterial sistólica o diastólica $>$ percentil 99

5.2.4.3 Talla

Se pidió a todos los alumnos que se descalzaran y se pararan contra una escala métrica vertical, solicitando la siguiente posición: talones juntos que toquen la pared, puntas formando un ángulo de 45°, rodillas rectas, mirada hacia el frente y no hacia arriba, con los brazos colgando naturalmente. La medición se registra mientras el individuo aguanta una inspiración normal (Tapia-Conyer, 2016).

6.2.4.4 Peso y composición corporal

Se pidió a los alumnos que colocaran sus pies descalzos sobre la superficie de los electrodos de la plataforma del analizador de composición corporal Tanita® modelo SC-331S. El examinador introdujo al equipo el ID único de cada alumno, tipo de cuerpo “Standard”, sexo, edad, estatura (cm) y peso de ropa configurado en 1 Kg. Tanita® es un dispositivo estimador de la grasa corporal basado en los principios de bioimpedancia eléctrica, cuyo uso se ha validado que no produce un decremento clínicamente significativo en el desempeño respecto a los dispositivos tradicionales de impedancia (Jebb *et al.*, 2000). Los parámetros registrados mediante el analizador de la composición corporal fueron el peso, IMC, porcentaje de grasa, masa de grasa, masa magra e impedancia.

5.2.5 Evaluación dental

Se contó con la valiosa colaboración de Odontólogos profesionales quienes realizaron la evaluación del grado de fluorosis dental utilizando el índice de Thylstrup-Fejerskov (TFI) recomendado por la Organización Mundial de la Salud, que pondera la severidad de la fluorosis dental en nueve categorías, de acuerdo con los siguientes criterios de graduación (Thylstrup & Fejerskov, 1978):

- Sano (TFI = 0): el esmalte del diente tiene su translucidez usual, la superficie es lisa y brillante, generalmente es de color crema pálida; se incluyen dientes con características de esmalte sano y se añaden las alteraciones del esmalte que no son originadas por fluorosis.
- Cuestionable (TFI = 1): pequeñas aberraciones en la translucidez de esmalte normal, que pueden ir desde unas sombras blanquecinas a manchas blancas de uno a dos milímetros de diámetro.
- Leve (TFI = 2): las líneas y áreas opacas del esmalte ocupan por lo menos la mitad de la superficie del diente. Las caras oclusales de los dientes afectados muestran una atrición marcada.
- Moderado (TFI = 3): todas las superficies de los dientes están afectadas, hay marcado desgaste de las superficies sujetas a atrición.
- Severo (TFI 4 – 5): se observan puntos hipoplásicos en la superficie dental y en algunos casos la forma del diente puede estar afectada. Un TFI ≥ 6 se utiliza solamente para evaluar el grado de daño estructural de la fluorosis dental de tipo severo.

La examinación se realizó sobre las superficies dentales secas y bajo luz natural, utilizando un abatelenguas y espejos para facilitar la visualización de todas superficies de cada pieza dental. La puntuación asignada a un individuo es la perteneciente a sus dos dientes más afectados. Todos los examinadores siguieron las medidas de protección para prevenir contaminación microbiológica. El grado de fluorosis dental de las piezas examinadas se anotó en el odontograma de la hoja de registro de parámetros (Apéndice III). Así mismo, se calculó el Índice

Comunitario de Fluorosis (ICF), que es un parámetro que representa el grado de severidad de fluorosis dentro de una comunidad de acuerdo a la fórmula $ICF = \sum(fw)/n$, en donde el factor (fw) es el producto de la frecuencia por la ponderación correspondiente de cada grado de fluorosis (Allibone *et al.*, 2012): para los TFI de 0, 1, 2, 3, 4 y 5 corresponde a una ponderación (w) de 0, 0.5, 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

5.2.6 Conformación de los grupos de estudio

Si bien, el cálculo del tamaño de muestra es un aspecto importante para poder estimar un parámetro determinado con el grado de confianza deseado en los estudios epidemiológicos, existen algunas consideraciones especiales al respecto. Es recomendable que los estudios tipo piloto incluyan por lo menos entre 30 – 50 participantes que posean los atributos que se desean medir en la población (García-García, Reding-Bernal & López-Alvarenga, 2013). El presente trabajo se alinea con las características de un estudio piloto en la que se definió una N = 150, de acuerdo a la conformación de los grupos de estudio, la cual fue realizada de acuerdo a dos criterios: 1) el IMC según las tablas de crecimiento infantil (WHO, 2011) como indicador nutricional y criterio de ponderación del grado de obesidad y 2) el grado de exposición de F⁻ de los menores, mediante el uso de un biomarcador de exposición y otro de efecto (ATSDR, 2003). El grupo de individuos “Expuestos” se integró por los menores con un TFI > 0 y que presentaban los más altos niveles de F⁻ urinario. Del mismo modo, el grupo de individuos “No Expuestos” fue integrado con menores con un TFI = 0. Los cuatro grupos de estudio se muestran en la Tabla III.

Tabla III. Conformación de los grupos de estudio de la submuestra

Fluorosis dental	TFI = 0		TFI > 0	
	Normopeso	Sobrepeso	Normopeso	Sobrepeso
IMC				
Grupo	NENO	NES	ENO	ES
Descripción	No expuesto normopeso	No expuesto sobrepeso	Expuesto normopeso	Expuesto sobrepeso

5.3. Segunda fase de muestreo

En colaboración con la Dirección de la Escuela, se notificó vía institucional y por comunicación personal a los padres de familia de los alumnos seleccionados los requisitos para la toma de muestras sanguíneas, así como la aplicación de un cuestionario estructurado.

5.3.1 Toma de muestras sanguíneas

Las muestras de sangre fueron tomadas por Químicos del Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Chihuahua, quienes colectaron las muestras de sangre venosa en tubos de gel separador mediante el sistema de BD Vacutainer® que cumple con la NOM-166-SSA1-1997 en lo relativo a los recursos materiales de la toma de muestras. El material contaminado por el contacto con sangre, como torundas y agujas, fueron desechados según la normativa vigente en la NOM-087-ECOL-SSA1-2002. Las muestras fueron transportadas al laboratorio a 4°C, en donde posteriormente fueron centrifugadas 15 minutos a 1500 rpm. Las alícuotas de suero fueron almacenadas a -80°C hasta la realización de las determinaciones bioquímicas.

5.3.2 Aplicación del cuestionario

Para una correcta aplicación del cuestionario bajo modalidad de entrevista se capacitó previamente a estudiantes de Servicio Social de Q.B.P. (FCQ-UACH) que fungieron como entrevistadores. En la capacitación se presentó la estructura del Cuestionario, los tipos de preguntas, el uso de material auxiliar y los principios generales de aplicación, indicados a través de un manual del entrevistador. El cuestionario (Apéndice IV) consta de seis secciones: datos personales, vivienda y características socioeconómicas, exposición a fluoruro, exposición a otros contaminantes, antecedentes patológicos y actividad física y nutrición, y ya ha sido validado en previos trabajos de campo (Jiménez-Córdova *et al.*, 2019). Para la evaluación del nivel socioeconómico, las preguntas de la sección tres fueron obtenidas directamente de la metodología revisada por la Asociación Mexicana de



Agencias de Inteligencia de Mercado y Opinión (AMAI) en el 2017. La dosis de exposición diaria (DED) se estimó mediante un cálculo conservador considerando el consumo de aguas y bebidas registrado en el Cuestionario de exposición. La estimación de la dosis diaria de exposición se realizó considerando una concentración promedio de F^- en agua de la llave de 3.5 mg/L, según el análisis realizado en el área de estudio; de 0.7 mg F^- /L, para agua potabilizada, según lo especificado por la NOM-041-SSA1-1993; de 3.3 mg F^- /L, para infusiones o tés, del promedio obtenido del trabajo de Waugh *et al.*, (2016); de 0.9 mg F^- /L, según el estudio realizado en vacas de regiones hidrofluoróticas (Valdez *et al.*, 2018); de 1.5 mg F^- /L, para jugos en general (Loyola-Rodríguez *et al.*, 1998) y considerando de fondo una ingesta independiente de F^- de 0.01 mg/Kg/día de los alimentos (EPA, 1986) y una dosis de 0.2 mg F^- /día proveniente del uso de pasta dental estimado para jóvenes de 13 – 19 años de edad (Levy, Kiritsy & Warren, 1995).

Las entrevistas fueron realizadas sentados frente a frente en un espacio cómodo para el menor, al que se le recordó la confidencialidad de la información proporcionada. Las horas de inicio y finalización de la entrevista fueron registradas con el fin de verificar que la entrevista se realizara dentro del tiempo estimado de 25 – 30 minutos.

5.3.3 Criterios de selección

5.3.3.1 Criterios de inclusión

- Edad entre 12 – 15 años
- Carta de consentimiento informado firmada por el tutor del menor
- Asentimiento de participación de los menores
- Ayuno de 12 horas, previo a la toma de muestra sanguínea
- Residencia de al menos 3 años en el área de estudio, de acuerdo a la información proporcionada en el cuestionario de exposición

5.3.3.2 Criterios de exclusión

- No haber proporcionado todas y cada una de las muestras de agua, orina y sangre
- No haber respondido el cuestionario de exposición
- Diabetes o desorden tiroideo declarado por el menor en el cuestionario de exposición

5.3.4. Determinación de los parámetros bioquímicos

5.3.4.1 Creatinina sérica

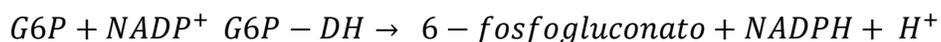
Principio: la creatinina sérica se determinó a través de la reacción colorimétrica de Jaffé mediante el método compensado para suero y plasma bajo el mismo principio de la determinación de la creatinina urinaria descrita en la sección 5.2.3.2

Método: la determinación de creatinina sérica se realizó con el kit CREJ2 (Roche®) en un equipo Cobas Integra® 400 Plus (Roche©). El equipo tomó un volumen de suero de 10 µL y dispensó automáticamente 13 µL de KOH (900 mM; fosfato 135 mM; pH ≥ 13.5) y 17 µL de ácido pícrico (38 mM; pH = 6.5) diluido en agua a un volumen total de 147 µL. La cinética de la reacción fue determinada fotométricamente por el aumento de la absorbancia a una longitud de onda de 512 nm. El límite de detección de la prueba es de 0.20 mg/dL. El valor de referencia para menores entre 11 – 13 y 13 – 15 años es de 0.53 – 0.79 y 0.57 – 0.87 mg/dL, respectivamente. La concentración de la creatinina sérica fue utilizada para la estimación de la tasa de filtración glomerular (TFG), que es el mejor indicador de la función renal en niños y adolescentes y es crítico para el diagnóstico temprano de insuficiencia renal aguda y crónica para prevenir fallo renal. La TFG se calculó según la fórmula modificada de Schwartz & Work (2009) para uso clínico en individuos menores de 18 años:

$$TFG = 0.413 \left[\frac{\text{Estatura (cm)}}{\text{Creatinina sérica } \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}}\right)} \right]$$

5.3.4.2 Glucosa

Principio: La hexoquinasa (HK) cataliza la fosforilación de la glucosa por ATP a glucosa-6-fosfato (G6P). La glucosa-6-fosfato originada es reducida a 6-fosfogluconato en presencia de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6P-DH) con reducción paralela de NADP^+ a NADH:



El aumento en la concentración de NADPH en el medio es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada.

Método: la determinación de glucosa sérica se realizó con el kit GLUC3 (Roche®) en un equipo Cobas Integra® 400 Plus (Roche©). El equipo tomó un volumen de suero de 2 μL y dispensó automáticamente 28 μL de la solución amortiguadora MES 5 mM (Mg^{2+} 24 mM; $\text{ATP} \geq 4.5$; $\text{NADP}^+ \geq 7$ mM; $\text{pH} = 6.0$) y 10 μL del amortiguador HEPES 200 mM ($\text{HK} \geq 300$ $\mu\text{kat/L}$; $\text{G6PDH} \geq 300$ $\mu\text{kat/L}$; Mg^{2+} 4 Mm; $\text{pH} = 8$) diluido en agua a un volumen total de 201 μL . Se determinó absorbancia de punto final a una longitud de onda de 340 nm. El límite de detección de la prueba es de 4.32 mg/dL. El valor de referencia en ayuno es de 74 – 109 mg/dL.

5.3.4.3 Colesterol total

Principio: los ésteres de colesterol se desdoblan por la acción de la enzima colesterol esterasa (CHE) a colesterol libre y ácidos grasos. Posteriormente, la colesterol oxidasa (CHO) cataliza la oxidación del colesterol a colest-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno. En presencia de la peroxidasa (POD), el peróxido de hidrógeno formado produce el acoplamiento oxidativo de fenol y 4-amino-antipirina (4-AAP) para formar un colorante rojo de quinoneimina, que es directamente proporcional a la concentración de colesterol:





Método: la determinación de colesterol total se realizó con el kit CHOL2 (Roche®) en un equipo Cobas Integra® 400 Plus (Roche®). El equipo tomó un volumen de suero de 2 µL y dispensó automáticamente 47 µL de la solución amortiguadora PIPES 225 mM (Mg²⁺ 10 mM; cloruro sódico 0.6 mM; 4-AAP ≥ 0.45 mM; CHE ≥ 25 µkat/L; CHO ≥ 7.5 µkat/L; POD ≥ 12.5 µkat/L; fenol ≥ 12.6 mM; éter poliglicólico de alcohol graso 3%; pH = 6.8) diluido en agua a un volumen total de 142 µL. La cinética de la reacción fue determinada fotométricamente por el aumento de la absorbancia a una longitud de onda de 512 nm. El límite de detección de la prueba es de 3.87 mg/dL. El nivel deseable de colesterol en adultos es < 200 mg/dL y se considera alto cuando es ≥ 240 mg/dL (NCEP, 2001).

5.3.4.4 Colesterol HDL

Principio: las lipoproteínas que transportan colesterol se clasifican como quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL – Very Low Density Lipoproteins), lipoproteínas de baja densidad (LDL - Low Density Lipoproteins) y lipoproteínas de alta densidad (HDL - High Density Lipoproteins). Los bajos niveles de HDL están asociados con un alto riesgo de enfermedad cardíaca. Por este motivo la determinación de HDL colesterol es una herramienta útil en la identificación de individuos de alto riesgo (Castelli *et al.*, 1977). Las lipoproteínas no HDL se combinan con polianiones y detergente para formar un complejo hidrosoluble que bloquea la acción enzimática de CHE y CHO, de manera que CHE y CHO sólo actúan sobre las partículas HDL.

Método: la determinación de colesterol HDL se realizó con el kit HDLC4 (Roche®) en un equipo Cobas Integra® 400 Plus (Roche®) a través de una reacción enzimática colorimétrica con dos puntos finales. El equipo tomó un volumen de suero de 2.4 µL y dispensó automáticamente 120 µL de la solución amortiguadora TAPSO 62.1 mM (EMSE 1.08 mM; Polianiones 1.25 g/L; BSA 2 g/L; ascorbato oxidasa ≥ 50 µkat/L; CHE ≥ 25 µkat/L; CHO ≥ 7.5 µkat/L; POD ≥ 166.7 µkat/L; detergente; pH = 7.77) y 40 µL de solución amortiguadora Bis-Tris 20.1 mM (CHE

$\geq 7.5 \mu\text{kat/L}$; CHO (recombinante E. coli) $\geq 7.17 \mu\text{kat/L}$; CHO (microorganismos) $\geq 76.7 \mu\text{kat/L}$; POD $\geq 333 \mu\text{kat/L}$; 4-AAP 1.48 mM; BSA 3 g/L; detergentes; pH = 6.70). La cinética de la reacción fue determinada fotométricamente por el aumento de la absorbancia a una longitud de onda de 583 nm. El límite de detección de la prueba es de 3.09 mg/dL. Los niveles de HDL libres de riesgo en adultos son > 65 y > 55 mg/dL, en mujeres y hombres, respectivamente (NCEP, 2001).

5.3.4.5 Colesterol LDL

Principio: se ha confirmado que el exceso de colesterol de LDL con respecto a un valor crítico (1.9 g/L) es un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedad cardíaca coronaria (NCEP, 2001). El colesterol libre en las LDL es medido con un método enzimático que utiliza CHE y CHO en presencia de agentes tensioactivos que solubilizan selectivamente las LDL e inhiben las reacciones enzimáticas con el resto de las lipoproteínas. La combinación de un azúcar y un detergente permite la determinación selectiva del colesterol LDL en suero.

Método: la determinación de colesterol LDL se realizó con el kit LDLC3 (Roche®) en un equipo Cobas Integra® 400 Plus (Roche©) a través de una reacción enzimática colorimétrica. El equipo tomó un volumen de suero de 2 μL y dispensó automáticamente 150 μL de solución amortiguadora Bis-Tris 20.1 mM (ascorbato oxidasa $\geq 66.7 \mu\text{kat/L}$; POD $\geq 166.7 \mu\text{kat/L}$; 4-AAP 0.98 mM; BSA 4 g/L; pH = 7.0) y 50 μL de la solución amortiguadora MOPS 20.1 mM (EMSE 2.16 mM;; CHE $\geq 33.3 \mu\text{kat/L}$; CHO $\geq 31.7 \mu\text{kat/L}$; POD $\geq 333.3 \mu\text{kat/L}$; BSA 4 g/L; detergentes; pH = 7.0) diluido en agua a un volumen total de 209 μL . La cinética de la reacción fue determinada fotométricamente por el aumento de la absorbancia a una longitud de onda de 512 nm. El límite de detección de la prueba es de 3.87 mg/dL. El nivel óptimo de HDL en adultos es de < 100 mg/dL (NCEP, 2001).

5.3.4.6 Colesterol VLDL

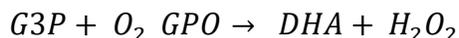
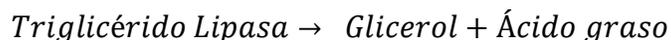
La determinación de los niveles de VLDL colesterol se obtuvo mediante sustitución de la fórmula de Friedewald, que establece que la mayor cantidad de los

triglicéridos séricos son transportados en forma de VLDL, las cuales también transportan colesterol en una proporción 1:5 con respecto a los triglicéridos (Friedewald, Levy & Fredrickson, 1972):

$$VLDL = \left[\frac{\text{Triglicéridos}}{5} \right]$$

5.3.4.7 Triglicéridos

Principio: la cuantificación de triglicéridos está basada en el trabajo de Wahlefeld (1974) que utiliza una lipasa que promueve la hidrólisis de los triglicéridos liberando glicerol, que es convertido por la acción de la glicerolquinasa (GK) en glicerol-3-fosfato (G3P). Posteriormente, el G3P es oxidado a dihidroxiacetona (DHA) y peróxido de hidrógeno en presencia de la glicerolfosfato oxidasa (GPO). A continuación, ocurre una reacción de ligazón entre peróxido de hidrógeno, 4-AAP y 4-clorofenol, catalizada por la peroxidasa y produciendo la quinoneimina:



Método: la determinación de triglicéridos se realizó con el kit TRIGL (Roche®) en un equipo Cobas Integra® 400 Plus (Roche©). El equipo tomó un volumen de suero de 2 µL y dispensó automáticamente 120 µL de la solución amortiguadora PIPES 50 mM (Mg²⁺ 40 M; colato sódico 0.2 mM; 4-AAP ≥ 0.13 mM; ATP ≥ 1.4 mM; 4-clorofenol 4.7 mM; lipasa(microbiana) ≥ 83 µkat/L; GK (microbiana) ≥ 3 µkat/L; GPO (microbiana) ≥ 41 µkat/L; POD (microbiana) ≥ 1.6 µkat/L; pH = 6.8) diluido en agua a un volumen total de 150 µL. La cinética de la reacción fue determinada fotométricamente por el aumento de la absorbancia a una longitud de onda de 512 nm. El límite de detección de la prueba es de 8.85 mg/dL. El nivel deseable de triglicéridos en adultos es < 200 mg/dL (NCEP, 2001).

5.3.4.8 TSH

Principio: la cuantificación de TSH se realizó mediante una técnica inmunométrica quimioluminiscente que implica la reacción de la TSH presente en la muestra con un anticuerpo biotinilado y un conjugado de anticuerpo marcado con peroxidasa de rábano (HRP). La HRP en el conjugado unido cataliza la oxidación del derivado de luminol y produce luz. La cantidad de conjugado HRP fijado es directamente proporcional a la concentración de TSH presente.

Método: el sistema automatizado de inmunodiagnóstico Vitros® ECi utiliza 80 μ L de suero y puede diluir hasta 10 veces las muestras altamente concentradas. La determinación de TSH se realizó incubando la muestra con el kit Vitros® Immunodiagnostic Products TSH Reagent Pack (anticuerpo biotinilado monoclonal de ratón anti-TSH biotinilado en tampón con gammaglobulina bovina, albúmina sérica bovina y un agente antimicrobiano) durante 29 minutos a 37°C en un pocillo recubierto de estreptavidina. Durante el tiempo de incubación se completa la captura del complejo antígeno-anticuerpo por la estreptavidina de los pocillos y los materiales no fijados se eliminan mediante lavado.

Posteriormente, se añade el reactivo anticuerpo secundario conjugado (anticuerpo monoclonal de ratón anti-subunidad β de TSH marcado con HRP, en tampón con gammaglobulina bovina, albúmina sérica bovina y un agente antimicrobiano). El equipo añade a los pocillos un reactivo que contiene sustratos luminógenos (un derivado de luminol y una sal perácida) y un agente de transferencia de electrones (una acetanilida sustituida). La HRP en el conjugado unido cataliza la oxidación del derivado de luminol y produce luz. El agente de transferencia de electrones, incrementa el nivel de luz producido y prolonga su emisión. Las señales luminosas son leídas por el sistema detector y mediante interpolación directa de la curva de calibración se determina la concentración de TSH (mUI/mL). Los límites de detección y cuantificación de esta prueba son 0.014 mUI/mL y 0.097 mUI/mL, respectivamente.

5.3.4.9 fT4

Principio: la fracción libre de T4 (fT4) representa el indicador más directo del estado tiroideo de una persona. En los casos de hipotiroidismo, las concentraciones de fT4 suelen aparecer deprimidas, mientras que en los casos de hipertiroidismo aparecen elevadas. Por consiguiente, la medición de fT4 sirve de ayuda en el diagnóstico diferencial de la enfermedad tiroidea. La cuantificación de fT4 se realizó mediante una técnica directa de inmunoensayo competitivo con anticuerpo marcado. La fT4 presente en la muestra compite con el ligando que se encuentra en la superficie modificada del pocillo por un número limitado de sitios de unión sobre un conjugado de anticuerpo marcado con HRP. El diseño de la prueba, con concentraciones óptimas de reactivo, garantiza que las alteraciones del equilibrio T4/proteína fijadora sean insignificantes. La cantidad de conjugado HRP fijado es indirectamente proporcional a la concentración de fT4 presente.

Método: el sistema automatizado de inmunodiagnóstico Vitros® ECi utiliza 25 µL de suero y no permite diluciones para no alterar el equilibrio el equilibrio normal que existe entre la hormona total y la libre presente en la muestra. La determinación de fT4 se realizó incubando la muestra con el kit Vitros® Immunodiagnostic Products Free T4 Reagent Pack (anticuerpo anti-T4 de oveja marcado con HRP en tampón con gammaglobulina bovina, gelatina bovina y agente antimicrobiano) durante 16 minutos a 37°C en un pocillo cuya superficie ha sido modificada para actuar como ligando para un conjugado no combinado. Los materiales no fijados se eliminan mediante lavado. La HRP en el conjugado unido cataliza la oxidación del derivado de luminol y produce luz. El agente de transferencia de electrones, incrementa el nivel de luz producido y prolonga su emisión. Las señales luminosas son leídas por el sistema detector y mediante interpolación directa de la curva de calibración se determina la concentración de fT4 (ng/dL). El límite de detección de esta prueba es de 0.07 ng/dL.



5.3.4.10 fT3

Principio: la fracción libre de T3 (fT3) tiende a ser más baja en los casos de hipotiroidismo. Sin embargo, este descenso resulta insuficiente para ofrecer información diagnóstica clara, por lo que se puede complementar con las determinaciones de TSH y fT4. La cuantificación de fT3 se realizó mediante una técnica directa de inmunoensayo competitivo con anticuerpo marcado. La fT3 presente en la muestra compite con el ligando que se encuentra en la superficie modificada del pocillo por un número limitado de sitios de unión sobre un conjugado de anticuerpo marcado con HRP. El diseño de la prueba, con concentraciones óptimas de reactivo, garantiza que las alteraciones del equilibrio fT3/proteína fijadora sean insignificantes. La cantidad de conjugado HRP fijado es indirectamente proporcional a la concentración de fT3 presente.

Método: el sistema automatizado de inmunodiagnóstico Vitros® ECi utiliza 25 µL de suero y no permite diluciones para no alterar el equilibrio el equilibrio normal que existe entre la hormona total y la libre presente en la muestra. La determinación de fT3 se realizó incubando la muestra con el kit Vitros® Immunodiagnostic Products Free T3 Reagent Pack (anticuerpo anti-T3 de oveja marcado con HRP en tampón con gammaglobulina bovina, gelatina bovina y agente antimicrobiano) durante 16 minutos a 37°C en un pocillo cuya superficie ha sido modificada para actuar como ligando para un conjugado no combinado. Los materiales no fijados se eliminan mediante lavado. La HRP en el conjugado unido cataliza la oxidación del derivado de luminol y produce luz. El agente de transferencia de electrones, incrementa el nivel de luz producido y prolonga su emisión. Las señales luminosas son leídas por el sistema detector y mediante interpolación directa de la curva de calibración se determina la concentración de fT3 (ng/dL). El límite de detección de esta prueba es de 0.50 ng/dL.

5.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa Minitab® 18 (Minitab Inc., State College, PA, USA). Para determinar el tratamiento estadístico de las

variables, se evaluó el comportamiento de la distribución de los datos mediante la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Las variables continuas que no presentaron una distribución normal fueron descritas con mediana y rangos intercuartílicos (IQR, del inglés *Interquartile range*), los cuales representan la distancia entre los valores de las variables posicionadas en los percentiles 75 y 25. Del mismo modo, las variables de distribución normal fueron descritas mediante medias y desviaciones estándar. Por otro lado, se describió la dirección e intensidad de la relación entre las diferentes variables mediante la correlación de Spearman, el cual soporta distribuciones no paramétricas de los datos.

Las variables de exposición, los parámetros somatométricos y las respuestas obtenidas del cuestionario se describieron de acuerdo a diferentes criterios de agrupación: sexo, nivel de exposición mediante el BE o fluorosis dental, por grupo de estudio o por IMC, con el fin de observar las diferencias debidas al efecto de la variable de agrupación y se evaluó mediante las pruebas de χ^2 o de Fisher, según el caso, la asociación de las variables descritas con los grupos de estudio. Las diferencias entre las medidas de tendencia central de las variables se analizaron mediante pruebas de t-Student o ANOVA de una vía para las variables cuantitativas paramétricas o pruebas de Mann-Whitney o Kruskal-Wallis para las variables cuantitativas no paramétricas. Las comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis se realizaron mediante la ejecución de la macro KrusMC.mac de Minitab, disponible en el sitio web de Minitab®

Para estudiar la asociación entre los niveles de las hormonas tiroideas y las variables independientes, tales como los niveles de F^- en agua u orina, así como las respuestas obtenidas a través del cuestionario, se recurrió a un análisis bivariado, mediante regresiones logísticas lineales, nominales u ordinales, según el caso. Finalmente, se llevó a cabo un análisis multivariado a través de regresión lineal múltiple de los niveles de hormonas tiroideas, fungiendo como variables independientes del modelo aquellas variables que resultaron significativas del análisis bivariado. El nivel de significancia para las pruebas de hipótesis se estableció en una $p < 0.05$

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Selección del área de estudio

6.1.1 Muestreo de agua y determinación de F⁻

Durante el mes de mayo del 2019 fueron recabadas 92 muestras de agua provenientes de la Ciudad de Chihuahua a las cuales se les determinó la concentración de F⁻ (mg/L) de acuerdo con el método potenciométrico. Las curvas de calibración utilizadas en las determinaciones obtuvieron un coeficiente de determinación (R^2) > 0.9970 y una pendiente comprendida entre - 54 y - 60, como especifican los requerimientos de EPA (1974). A modo de control de calidad externo se cuantificó la concentración de F⁻ en muestras de orina con concentraciones conocidas certificadas por el Quebec Centre of Toxicologie, obteniéndose una exactitud de $100 \pm 5\%$. Entre las determinaciones de F⁻ obtenidos con el electrodo selectivo de F⁻ y el cromatógrafo de iones (Figura 10) se obtuvo una correlación significativa mediante el coeficiente de Spearman ($\rho = 0.991$, $p < 0.001$). Estos resultados concuerdan con lo descrito por Oehme & Stray (1981) al comparar los resultados de ambas técnicas para la cuantificación de F⁻ en agua.

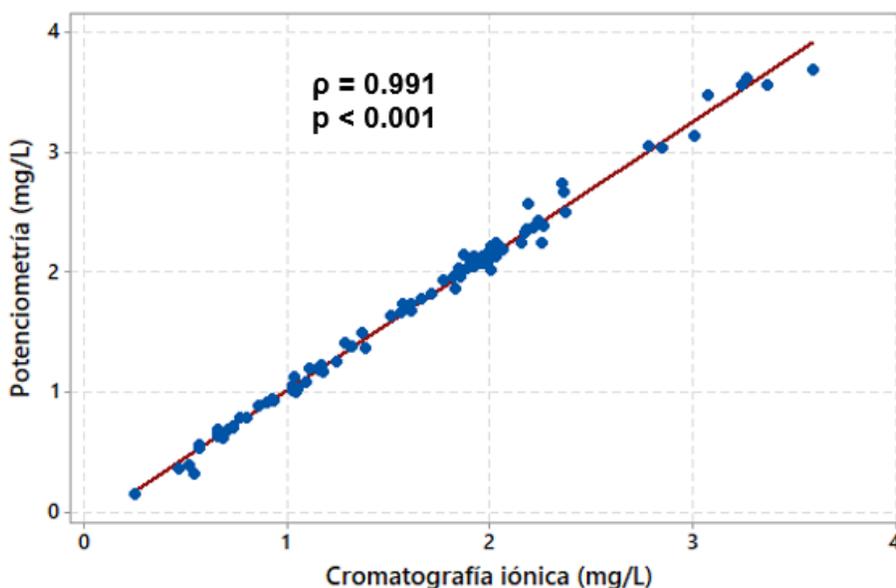


Figura 10. Correlación de Spearman entre las determinaciones de F⁻ realizadas con los métodos potenciométrico y cromatográfico.

La prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov de la distribución de las determinaciones potenciométricas de los muestreos de los años 2018 y 2019 indicó que los resultados de ambos años siguieron una distribución no normal ($p < 0.05$). Mediante la prueba de Mann-Whitney se determinó una diferencia significativa ($p < 0.01$) entre las medianas (\tilde{M}) de los valores de la concentración de F^- de los años 2018 [2.17 (2.40 – 1.74) mg/L] y 2019 [1.94 (2.20 – 1.02) mg/L], con una diferencia negativa de 0.32 mg/L (IC 99% 0.06 – 0.67) para el año 2019.

La diferencia de los niveles de F^- de ambos años puede ser explicada por el número de muestras (N) y el patrón de distribución heterogéneo de los sitios de muestreo. Una proporción importante de las muestras del año 2018 fueron tomadas de la zona norte de la ciudad, que presentan las concentraciones más altas (Figura 11), mientras que la distribución de los sitios de muestreo del 2019 (Figura 12) abarcó amplias zonas del sur de la ciudad que no fueron incluidos en el muestreo del 2018 y que presentan concentraciones de F^- por debajo de la Norma. En ambos años, el muestreo se llevó a cabo en el mes de mayo, por lo que es poco probable que la diferencia encontrada se deba a una variación estacional. Nájera-Haro (2016) encontró que durante todo el año predomina el agua de tipo bicarbonatada sódica en el acuífero de Tabalaopa, sin diferencias significativas entre verano y otoño con concentraciones promedio de 2.47 ± 0.3 y 2.31 ± 0.32 mg F^- /L, respectivamente, los cuales son muy similares a los valores encontrados en este trabajo.

6.1.2 Elaboración de mapa de riesgo espacial

Las Figuras 11 y 12 corresponden a los mapas de riesgo espacial obtenidos de los resultados de los años 2018 y 2019, respectivamente. La simbología temática en clave semáforo indica con los colores amarillo y rojo el mayor riesgo de altas concentraciones de F^- . En ambos mapas se aprecia un claro patrón en el que las más altas probabilidades de niveles elevados de F^- se observan en el norte de la ciudad y al sureste de la Sierra de Nombre de Dios.

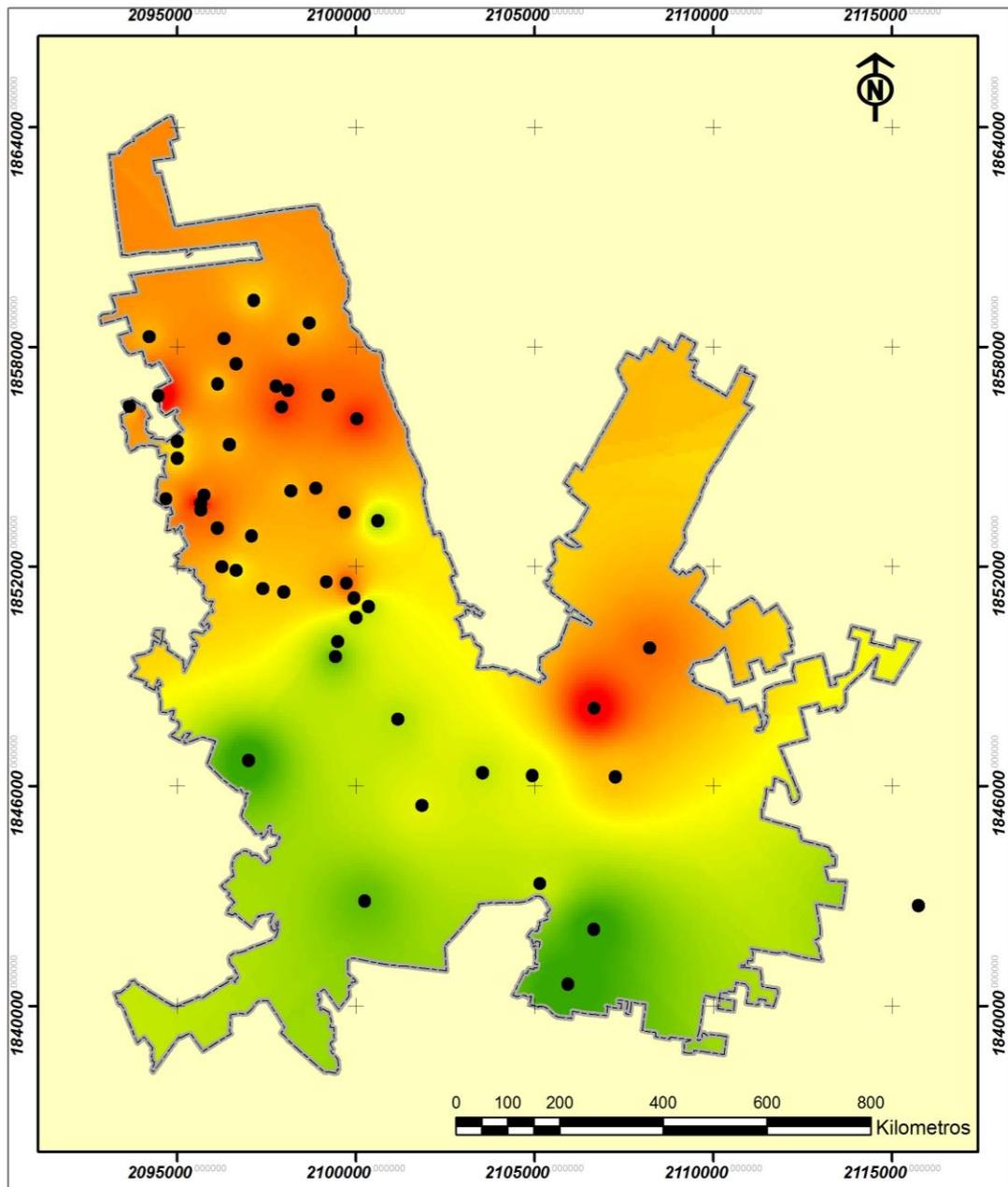


Figura 11. Mapa de riesgo espacial de la distribución de F^- del año 2018. Modelado geoespacial realizado en ArcMap© 10.4.

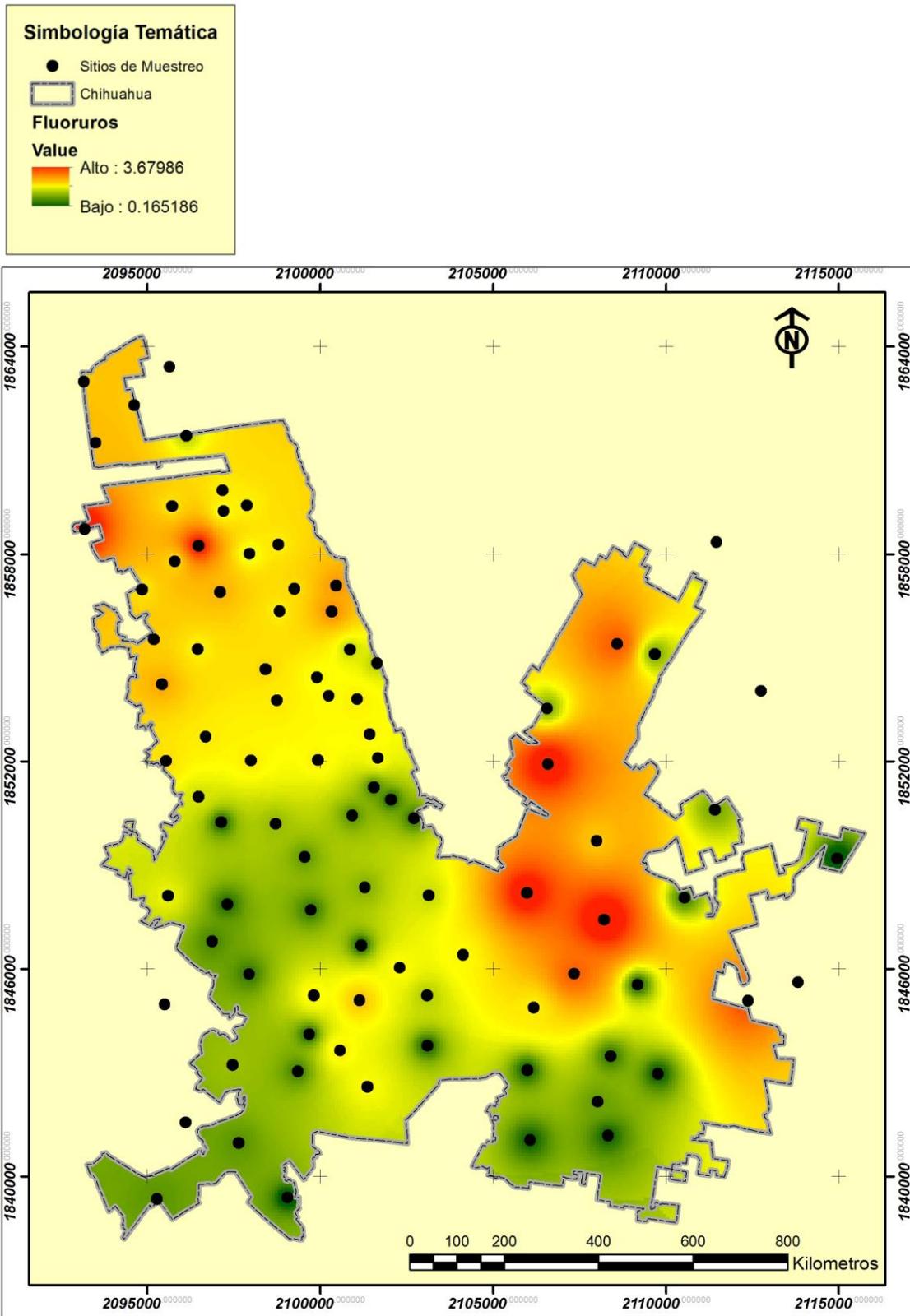


Figura 12. Mapa de riesgo espacial de la distribución de F^- del año 2019. Modelado geoespacial realizado en ArcMap© 10.4.

Generalmente, la precisión de los métodos de interpolación espacial se ven influenciados por el error del método en sí mismo y por factores externos, como el número y la distribución de las muestras (Zou *et al.*, 2010). En este caso, es factible deducir que el modelo espacial del muestreo del 2019 es más preciso por el mejor posicionamiento de los sitios de muestreo lo cual se ha observado que tiende a disminuir el error de la varianza del modelo (Brus & Heuvelink, 2007). En ambos modelados espaciales se aprecian zonas en color amarillo, que corresponden a las zonas interpoladas que sobrepasan los 1.5 mg F⁻/L, que podrían comprender por lo menos al 50% de la zona conurbada. Ahora bien, Alarcón-Herrera *et al.*, (2020) estimaron mediante representación visual de datos que aproximadamente 81,000 habitantes del estado de Chihuahua se hallan expuestas a dosis superiores a 0.06 mg F⁻/Kg/día. Sin embargo, los mapas de riesgo espacial a la exposición de F⁻ de tan sólo la ciudad de Chihuahua, sugiere que el número de personas expuestas a altas dosis de F⁻ podrían ser mayores de lo estimado previamente.

A partir de los mapas de riesgo anteriores, se seleccionó como área de estudio una zona al sureste de la ciudad, comprendida por las colonias Concordia, Robinson y Aeropuerto. Con la finalidad de evaluar la posible exposición conjunta de F⁻ y As, se determinó el contenido de F⁻ y As del área de estudio. La concentración promedio de F⁻ fue de 3.48 ± 0.52 mg/L, lo cual sobrepasa en más del doble el límite máximo permisible de 1.5 mg/L, y no se detectó presencia de As, por lo que quedó descartada la co-exposición As – F⁻. El presente proyecto contó con el apoyo financiero de la Fundación del Empresariado Chihuahuense (FECHAC) y de acuerdo a un convenio de colaboración con la UACH, se seleccionó la Escuela Secundaria 3049 clave C.C.T. 08EES0020V, con dirección en C. Juárez esq. Progreso s/n, como la población de estudio.

6.2 Muestreo de la población de estudio

6.2.1 Primera fase del muestreo

Se entregaron 552 consentimientos informados durante la charla de inducción a los padres de familia, de los que se recabó la autorización de 380 padres de familia, lo que representó una tasa de respuesta del 69%. Posteriormente, se citó a todos los alumnos que hubieran recibido el consentimiento de los padres para participar en el estudio, para la realización de las mediciones somatométricas y evaluaciones dentales. Se obtuvo la negación a participar de 39 estudiantes que no dieron su asentimiento informado, lo cual significó una tasa de rechazo del 13%. En total, se realizaron 300 somatometrías, 298 evaluaciones dentales, y Finalmente, se lograron integrar 275 expedientes completos, con sus correspondientes somatometría, evaluación dental y muestras de agua y orina, lo cual significa da una tasa de participación global del 50%

6.2.2 Características somatométricas de la población de estudio

La Tabla IV muestra el resumen de los parámetros somatométricos por sexo realizados sobre la población de estudio. Las variables significativas fueron aquellas relacionadas con las diferencias somáticas vinculadas al sexo, tales como peso, talla, grasa (%), masa magra, diámetro de cintura y presión arterial. Por lo menos un 55% de los participantes fue normopeso, y más de un 25% exhibió algún grado de sobrepeso, no encontrándose una diferencia significativa por sexo entre los diferentes grupos de acuerdo al IMC. En cuanto a la categorización de la presión arterial, por lo menos un 25% de los individuos mostró algún valor de presión sistólica o diastólica por encima del punto de corte ajustado para edad y talla (Rosas-Peralta *et al.*, 2015), y no se halló una asociación significativa entre los estadios de hipertensión y el sexo.

Tabla IV. Parámetros somatométricos de acuerdo al sexo de la población de estudio

Variable	Masculino	Femenino	p
Sexo [n (%)]	154 (51.3%)	146 (48.7%)	0.513 [‡]
Edad (meses) \tilde{M} (IQR)	160.8 (172.3 – 151.1)	157.8 (169.4 – 150.3)	0.144 [†]

Peso (Kg) \tilde{M} (IQR)	53.5 (64.7 – 43.4)	49.0 (58.10 – 42.6)	< 0.05 [†]
Talla (cm) [\bar{X} (s)]	161.3 (9.7)	157.0 (5.8)	< 0.001 [†]
IMC (Kg/m ²) \tilde{M} (IQR)	20.1 (23.9 – 17.8)	19.7 (23.4 – 17.6)	0.33 [†]
Bajo peso [n (%)]	12 (7.8%)	9 (6.2%)	0.58 [*]
Normopeso [n (%)]	87 (56.5%)	96 (65.8%)	0.10 [*]
Sobrepeso [n (%)]	26 (16.9%)	23 (15.8%)	0.79 [*]
Obesidad [n (%)]	29 (18.9%)	18 (12.3%)	0.12 [*]
Grasa (%) \tilde{M} (IQR)	17.2 (25.7 – 11.8)	25.3 (31.4 – 20.9)	< 0.001 [†]
Grasa (Kg) \tilde{M} (IQR)	9.3 (15.8 – 5.5)	12.1 (18.3 – 8.9)	< 0.001 [†]
Masa magra (Kg) \tilde{M} (IQR)	44.5 (51.1 – 36.5)	36.8 (40.1 – 33.8)	< 0.001 [†]
Cadera (cm) \tilde{M} (IQR)	89.0 (98.0 – 81.0)	89.0 (97.0 – 83.0)	0.69 [†]
Cintura (cm) \tilde{M} (IQR)	71 (80.0 – 65.0)	66.0 (73.0 – 62.0)	< 0.001 [†]
Cintura/Cadera \tilde{M} (IQR)	0.81 (0.83 – 0.78)	0.76 (0.79 – 0.72)	< 0.001 [†]
Presión sistólica (mmHg) \tilde{M} (IQR)	116.0 (124 – 106.8)	110.5 (117.5 – 103.0)	< 0.001 [†]
Presión diastólica (mmHg) \tilde{M} (IQR)	62.0 (68.2 – 55.8)	65.0 (70.0 – 59.0)	< 0.01 [†]
Estadios de hipertensión			0.76 [‡]
Normotenso [n (%)]	111 (72.1%)	109 (74.6%)	0.38 [*]
Pre-hipertensión [n (%)]	16 (10.4%)	11 (7.5%)	0.63 [*]
Hipertensión I [n (%)]	14 (9.1%)	11 (7.5%)	0.58 [*]
Hipertensión II [n (%)]	12 (7.8%)	9 (6.2%)	0.64 [*]

[†]Prueba de Kruskal-Wallis [‡] Prueba de χ^2 * Prueba de 2 proporciones
«Continuación»

6.2.3 Descripción de la exposición a F⁻ de la población de estudio

La Figura 13 muestra las diferencias entre las cuantificaciones de F⁻ de las muestras del agua de consumo y de la primera orina de la mañana de la población de estudio, con y sin ajuste de dilución de la muestra a través de la concentración de creatinina (Cr) mediante la prueba de Mann – Whitney.

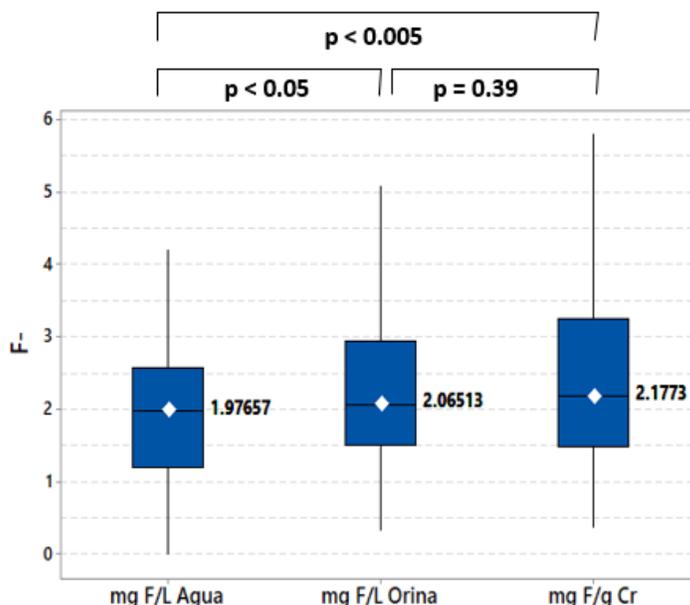


Figura 13. Concentración de F^- de las muestras de agua y orina de la población de estudio

El análisis de correlación de Spearman determinó una relación positiva ($p = 0.338$, $p < 0.001$) entre el contenido de F^- urinario y la concentración de F^- de las muestras de agua de consumo (Figura 14). Sin embargo, se obtuvo una correlación más fuerte ($p = 0.426$, $p < 0.001$) utilizando el F^- urinario ajustado a la (Cr) (Figura 15), no obstante que mediante la prueba de Mann – Whitney no se detectó una diferencia significativa ($p = 0.39$) entre las \tilde{M} de los valores de ambas concentraciones de F^- urinario. Diversos trabajos han determinado la correlación entre los niveles de F^- urinario y el F^- del agua como un indicador de la exposición a F^- a corto plazo. En niños de una zona volcánica del Archipiélago de Azores se observó una correlación positiva entre la ingesta diaria de F^- y el contenido de F^- en orina ($r = 0.475$, $p < 0.001$) y uñas ($r = 0.475$, $p < 0.001$) (Linhares *et al.*, 2016). En un estudio realizado en una de las zonas con mayor hidrofluorosis en África, se obtuvo una correlación positiva entre el F^- presente en el agua potable y el F^- contenido en la orina ($r = 0.74$, $p < 0.001$) y las uñas ($r = 0.6$, $p < 0.001$). La correlación observada entre el F^- contenido en agua y orina en la población de estudio es similar al reportado en otros trabajos, e indica que el agua de consumo contribuye importantemente con la ingesta total diaria de F^- . Cuando la concentración de F^- en el agua de consumo está en el intervalo de 0.5 – 4.0 mg/L, la concentración del F^- urinario es similar al nivel de F^- en el agua (Linhares *et al.*,

2016). En el presente trabajo, la concentración de F^- urinario fue significativamente mayor ($p < 0.05$) que el contenido de F^- del agua de ingesta, con una diferencia estimada de 0.2 mg/L (IC 95% 0.02 – 0.4 mg/L).

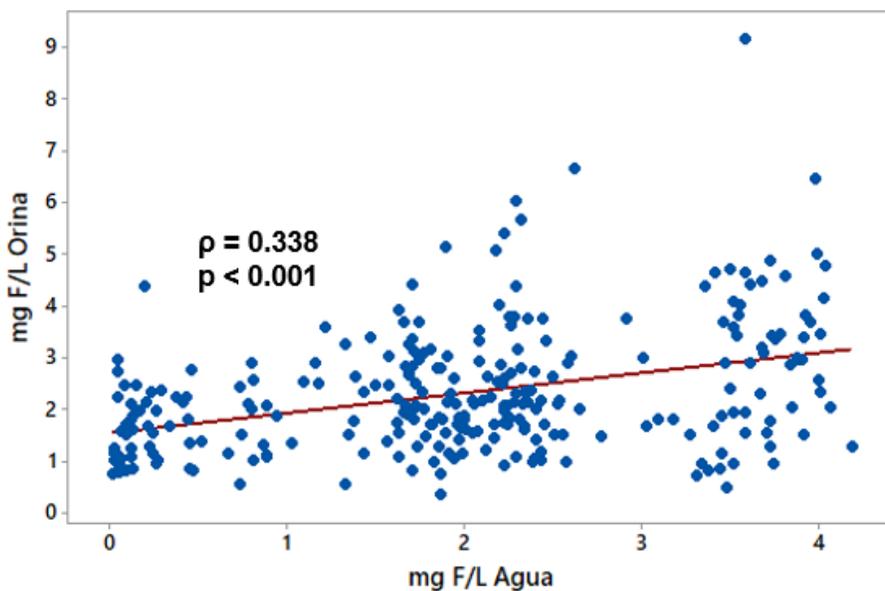


Figura 14. Correlación de Spearman del contenido de F^- en las muestras de agua y orina de la población de estudio.

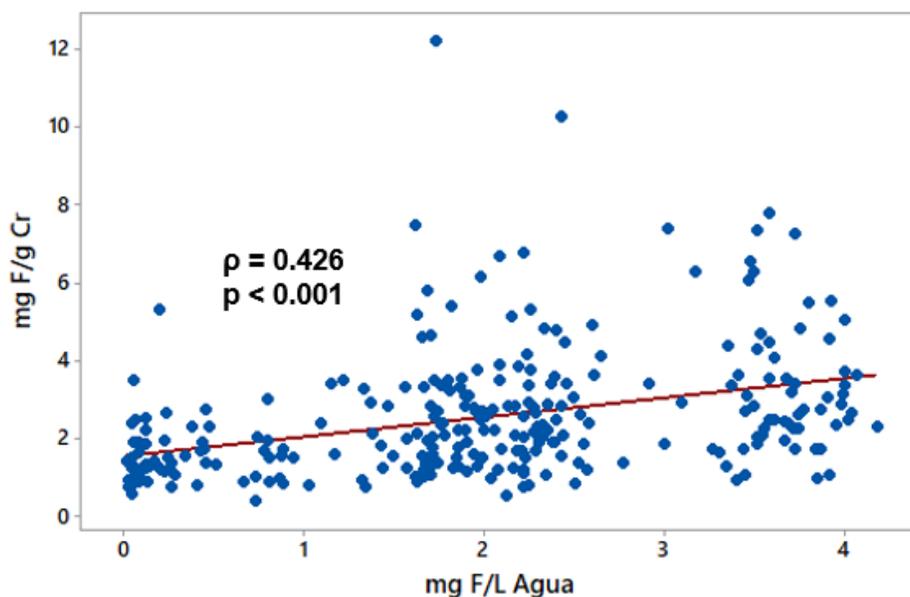


Figura 15. Correlación de Spearman del contenido de F^- en las muestras de agua y orina con dilución ajustada de la población de estudio

La concentración del F^- urinario debido a exposición crónica a F^- inicialmente incrementa abruptamente, hasta alcanzar una tasa de excreción constante. Por lo

general, la concentración del F^- urinario es menor que 1 mg/L cuando el agua de consumo contiene menos de 1 mg/L de F^- (ATSDR, 2003), aunque esto podría ser válido solamente para regiones con hidrofluorosis endémica. Por esta razón, se han propuesto la utilización de bioequivalentes de monitoreo (BE) como parámetro poblacional para estimar la exposición a F^- . El BE estima la concentración promedio de un biomarcador correspondiente a la dosis de referencia de F^- (Aylward *et al.*, 2015). En México se ha propuesto que una concentración de F^- urinario de 1.2 mg/L podría ser adoptado como un bioequivalente de monitoreo (BE) para evaluar la exposición a F^- en niños (Limón-Pacheco *et al.*, 2018). Un 83.4% de la población de estudio presentó una excreción de F^- por encima de un BE de 1.2 mg/L, lo cual habla de una alta exposición a nivel comunitario.

Un estudio realizado en niños de dos ciudades del estado de Chihuahua mostró que un 65% de los niños expuestos a concentraciones < 1 mg/L sobrepasaban el valor del BE, en contraste con el 89.9% de los niños expuestos a concentraciones > 1.5 mg F^- /L (Jiménez-Córdova *et al.*, 2019). En ambas ciudades se presentó una alta prevalencia de individuos por encima del BE, especialmente en las personas expuestas al agua con mayor contenido de F^- . Sin embargo, este resultado sugiere fuentes adicionales de F^- a las que la población estaría expuesta.

La prevalencia general de fluorosis dental fue del 83.2% (Figura 16) y cerca de un 17% presentó un esmalte dental considerado como sano. El grado de fluorosis dental con mayor representación fue la de fluorosis objetable (TFI = 1), la cual comienza a presentarse a partir de una dosis de exposición de 0.06 mg/Kg/día, consistente con el consumo de 1 L de agua con 1 mg F^- /L en niños de 20 Kg (EPA, 1987). La fluorosis leve (TFI = 2) se observó en casi un 30% de la población de estudio, y solamente un 12% y 6.7% presentaron fluorosis moderada (TFI = 3) y severa (TFI = 4 – 5), respectivamente. La elevada prevalencia de fluorosis dental en la población de estudio es un indicador de exposición crónica a F^- .

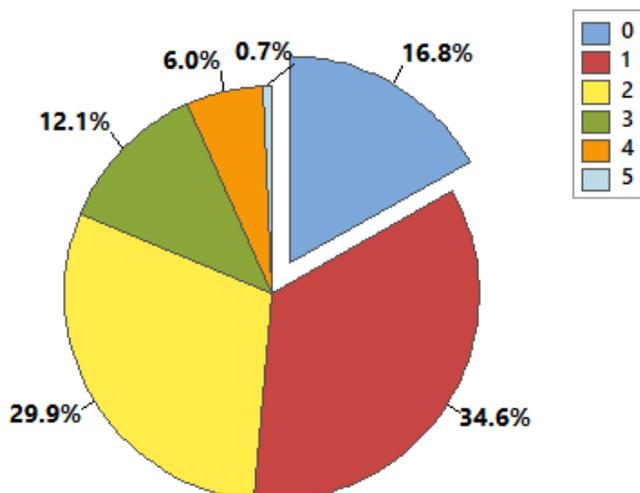


Figura 16. Prevalencia de fluorosis dental por TFI en la población de estudio

Considerando que concentraciones de F^- en orina mayores de 1.2 mg/L pueden promover el desarrollo de fluorosis dental hasta cumplidos los seis años de edad (Pontigo-Loyola *et al.*, 2008), y partiendo de que la \bar{M} de la edad de la población de estudio es de 13 años, y que en promedio han vivido en su domicilio actual 9 años, se infiere que la población de estudio ha estado expuesto crónicamente a niveles elevados de F^- , lo cual se confirma con la correlación positiva entre la edad y el grado de fluorosis dental ($\rho = 0.111$, $p < 0.06$), similar a la correlación reportada ($r = 0.126$) por Das & Mondal (2016). La correlación entre los niveles de F^- y la prevalencia de fluorosis dental es una medida de la fuerza y dirección del efecto dosis-respuesta del F^- .

En la población de estudio se observó una correlación positiva entre el grado de fluorosis dental y el F^- contenido en el agua ($\rho = 0.201$, $p < 0.05$), F^- en orina ($\rho = 0.199$, $p < 0.05$) y F^- en orina con ajuste a la dilución ($\rho = 0.366$, $p < 0.001$). Otros trabajos en los que se ha encontrado una correlación entre el F^- urinario y la fluorosis dental, presentaron mayores concentraciones de F^- en agua, como Rango *et al.* (2017) en comunidades de Etiopía con hasta 15 mg F^- /L ($r = 0.42$, $p < 0.001$) o el estudio de Jarquín-Yáñez (2015) realizado en niños de 6 – 12 años de una comunidad rural de San Luis Potosí que presentaba un promedio de 4.1 mg F^-



/L en agua, en donde observó una concentración positiva ($r = 0.99$, $p < 0.01$) entre el F^- urinario (1.1 – 5.9 mg/L) y una prevalencia de fluorosis dental severa del 95%.

El ICF de la población de estudio fue igual a 0.92, que al ser mayor que 0.6 ya representa un problema de salud pública (Dean, 1942). El ICF es un parámetro que sirve para comparar diferentes poblaciones y que debe ser monitoreado regularmente. En comunidades que recibían agua fluorada artificialmente se han reportado $ICF < 0.43$, en contraste con los $ICF < 0.16$ de comunidades que recibían agua no fluorada (Leverett, 1986). En comunidades rurales del estado de Hidalgo con niveles de F^- entre 1.42 – 3.07 mg/L se observó una prevalencia de fluorosis dental severa superior al 20% y un $ICF = 1.85$ (Pontigo-Loyola *et al.*, 2008).

En la población de estudio la evaluación dental mostró que el 67.1% de los estudiantes requiere algún tipo de atención dental, y se encontró una correlación positiva marginalmente significativa entre la fluorosis dental y las caries dentales ($p = 0.159$, $p = 0.06$), similar a la asociación de fluorosis dental y caries reportada por Do *et al.* (2014) en niños de 8 -12 años expuestos a F^- en el agua durante los primeros tres años de vida, lo cual se puede atribuir a que la alteración del esmalte dental que ocurre durante la fluorosis dental incrementa la susceptibilidad al desgaste y fractura de la superficie dental (ATSDR, 2003).

6.2.5 Asociación de exposición a F^- y características somatométricas de la población de estudio

En el presente trabajo, el análisis de regresión logística nominal entre el IMC y las variables de exposición (Tabla V) mostró que el contenido de F^- urinario (mg/L) predice con una significancia marginal ($p < 0.07$) el riesgo de bajo peso/normopeso ($OR = 1.40$, 95% IC: 0.98 – 2.01).

Tabla V. Regresión logística nominal entre las categorías de IMC y las variables de exposición en la población de estudio

Predictor	OR	IC de 95%	p
Logit 1: (Obesidad/Normopeso)			
Constante			0.004
mg F/g Cr	1.03	0.93 1.15	0.531
Fluorosis dental	0.92	0.68 1.26	0.613
mg F/L Orina	0.99	0.74 1.32	0.956
Logit 2: (Sobrepeso/Normopeso)			
Constante			0.010
mg F/g Cr	0.81	0.62 1.05	0.110
Fluorosis dental	1.06	0.79 1.43	0.697
mg F/L Orina	1.15	0.85 1.54	0.359
Logit 3: (Bajo peso/Normopeso)			
Constante			0.002
mg F/g Cr	0.97	0.79 1.20	0.794
Fluorosis dental	0.42	0.24 0.72	0.002
mg F/L Orina	1.40	0.98 2.01	0.068

Diversas investigaciones han indagado la asociación entre diferentes indicadores de exposición a F⁻ con características somatométricas, sin obtener resultados concluyentes hasta la fecha. En China fue realizado un estudio transversal a gran escala en una zona con una concentración media de 1 mg F⁻/L en más de 2400 niños de 9.8 ± 1.2 años. Se analizó la asociación entre las concentraciones de F⁻ y los valores estandarizados de estatura, peso e IMC, ajustado a las principales variables confusoras, a través de múltiples modelos de regresión lineal. Se observó una asociación lineal dosis-dependiente en la que cada incremento en un orden de magnitud de 10 de la concentración de F⁻ del agua estuvo asociado a un incremento de 0.129 unidades del puntaje Z de la estatura, pero ninguna asociación con el peso o IMC. En cambio, el último cuartil del F⁻ urinario sí estuvo asociado positivamente con los puntajes Z del peso ($\beta = 0.179$; 95% CI: 0.036, 0.321), IMC ($\beta = 0.247$; 95% CI: 0.059, 0.435) y el riesgo relativo de

sobrepeso/obesidad (OR = 1.472, 95% CI: 1.089, 1.990) y cada incremento en un orden de magnitud de 10 de la concentración de F⁻ urinario estuvo asociado con un incremento de 0.136 unidades del puntaje Z del peso. Además, se halló que el impacto del F⁻ urinario sobre el riesgo de sobrepeso/obesidad fue más fuerte en las niñas (OR = 1.672, 95% CI: 1.248, 2.239). Este estudio no fue diseñado para elucidar los mecanismos fisiológicos implicados en la ganancia de peso asociada a la exposición a F⁻, pero los autores especulan una disrupción del eje hipotálamo-hipofisario (Liu *et al.*, 2019).

El análisis de regresión logística multivariada (Tabla VI) no mostró que la hipertensión arterial fuera predicha por las variables de exposición a F⁻ sino por el porcentaje de grasa (OR = 1.21, 1.01 – 1.44). Sin embargo, el estadio de prehipertensión sí estuvo asociado significativamente al contenido de F⁻ en orina (mg/L) (OR = 1.53, 1.06 – 2.21) de la población de estudio.

Tabla VI. Regresión logística entre los estadios de hipertensión arterial y variables somatométricas y de exposición en la población de estudio

Predictor	OR	IC de 95%	p
Logit 1: (Hipertensión/Normotensión)			
Constante			0.321
% Grasa	1.21	1.01 1.44	0.04
Logit 2: (Pre-hipertensión/Normotensión)			
Constante			0.528
mg F/L Orina	1.53	1.06 2.21	0.022

Un estudio realizado en niños del estado de Chihuahua expuestos a altas concentraciones de F⁻ en el agua potable asoció mediante regresiones logísticas este indicador de exposición con biomarcadores de daño vascular temprano (Córdova-Jiménez *et al.*, 2019). Estudios transversales han asociado el riesgo de hipertensión con la concentración del F⁻ (OR = 2.3, 1.03 – 5.14) en zonas hidrofluoróticas de Irán (Yousefi *et al.*, 2018). En adultos residentes de comunidades con diferentes niveles de hidrofluorosis, se encontró que la alta concentración de F⁻ del agua estuvo asociado con la hipertensión (OR = 2.84, 1.38



– 5.83) asociado a un incremento de endotelina 1 en los sujetos expuestos (Sun *et al.*, 2013).

6.2.6 Subpoblación de estudio

6.2.6.1 Selección de la subpoblación de estudio

En la población de estudio se observó una asociación significativa entre las categorías del IMC con la fluorosis dental ($p < 0.001$). Sin embargo, a nivel poblacional no se encontró una asociación significativa ($p = 0.163$) entre el IMC y el BE mediante la prueba de χ^2 . La discrepancia encontrada sugiere que no todos los individuos considerados expuestos por el criterio de fluorosis dental estarían recientemente expuestos según el BE, ya que aproximadamente el 80% de la población agrupada por fluorosis dental se compone por individuos con un contenido de F^- urinario por encima del BE en ambos grupos, lo cual se confirmó mediante la prueba de χ^2 ($p = 0.505$).

Como se describió en la sección 5.2.4 de Materiales y Métodos, los grupos de estudio para la realización de las pruebas bioquímicas se clasificaron de acuerdo a la exposición a F^- medida por fluorosis dental y el IMC, por lo anterior se compararon los parámetros somatométricos en estudiantes no expuestos con un TFI = 0, con los expuestos con TFI de 1 – 5. La Tabla VII muestra que los niveles de F^- urinario ajustado a Cr fueron significativamente mayores ($p < 0.01$) en los individuos con algún grado de fluorosis dental, esto es, que los mismos individuos que durante la infancia estuvieron expuestos a altos niveles de F^- en el agua de manera que les causó el desarrollo de fluorosis dental, actualmente son los individuos con los mayores niveles de F^- urinario, lo cual sugiere persistencia en la exposición a altos niveles de F^- .

Tabla VII. Indicadores de exposición y parámetros somatométricos por nivel de fluorosis dental de la población de estudio

Variables	No expuestos TFI = 0 n = 50	Expuestos TFI ≥ 1 n = 248	p
F ⁻ (mg/L) en agua \bar{M} (IQR)	1.9 (2.5 – 0.9)	2.0 (2.6 – 1.3)	0.60 [†]
F ⁻ (mg/L) en orina \bar{M} (IQR)	2.1 (2.8 – 1.4)	2.1 (3.0 – 1.5)	0.80 [†]
F ⁻ (mg/g Cr) en orina \bar{M} (IQR)	1.7 (2.5 – 1.1)	2.3 (3.4 – 1.5)	< 0.01[‡]
Sexo n (%)			0.15 [‡]
Masculino	21 (42%)	132 (53.2%)	
Femenino	29 (58%)	116 (46.8%)	
IMC (Kg/m ²) \bar{M} (IQR)	19.5 (23.0 – 15.9)	20.0 (23.6 – 17.8)	0.16 [†]
Clasificación del IMC			< 0.001[‡]
Continuación			
Bajo peso	9 (18%)	12 (4.8%)	< 0.05*
Normopeso	28 (56%)	154 (62.1%)	0.43*
Sobrepeso	2 (4%)	46 (18.6%)	< 0.001*
Obesidad	11 (22%)	36 (14.5%)	0.23*
†Prueba de Kruskal-Wallis ‡Prueba de χ^2 * Prueba de 2 proporciones			

En relación a algunos hábitos relacionados con la exposición crónica a F⁻ la Tabla VIII muestra las diferencias entre los subgrupos expuestos y no expuestos de acuerdo a la fluorosis dental y se observa que la única variable que mostró una diferencia significativa fue el tipo de agua para cocinar, de manera que la proporción de individuos con un TFI > 0 estuvieron asociados al uso de agua del grifo, mientras que los individuos sin fluorosis dental lo estuvieron con el uso de agua potabilizada (Tabla IX)

Tabla VIII. Hábitos de exposición crónica a F⁻ por BE en la subpoblación de estudio

Parámetro	No expuestos BE < 1.2 mg/L n = 16	Expuestos BE ≥ 1.2 mg/L n = 124	p
Agua para cocinar			
Del grifo [n (%)]			0.25 [‡]
Sí	7 (43.8%)	73 (58.9%)	
No	9 (56.3%)	51 (41.1%)	
Potabilizada [n (%)]			0.65 [‡]
Sí	4 (25%)	25 (20.2%)	
No	12 (75%)	99 (79.9%)	
Ambas [n (%)]			0.89 [‡]
Sí	2 (12.5%)	17 (13.8%)	
No	14 (87.5%)	107 (86.3%)	
Hervir agua para beber [n (%)]			0.47 [‡]
Sí	3 (18.9%)	33 (26.6%)	
No	13 (81.3%)	88 (71.0%)	
Frecuencia de cepillado			0.19 [‡]
Tres veces/día [n (%)]	8 (50%)	37 (29.8%)	
Dos veces/día [n (%)]	4 (25%)	58 (46.8%)	
Una vez/día [n (%)]	4 (25%)	25 (20.2%)	
Cantidad de pasta dental			< 0.05 [‡]
≤ ½ de la cabeza del cepillo	5 (31.3%)	25 (20.2%)	
> ½ de la cabeza del cepillo	11 (68.8%)	95 (76.6%)	
Aplicación tópica de flúor [n (%)]			0.64 [‡]
Sí	1 (6.3%)	12 (9.7%)	
No	15 (93.7%)	109 (87.9%)	
Frecuencia de uso de enjuague bucal			0.29 [‡]
> 5 veces/semana	0 (0%)	23 (18.5%)	
3-5 veces/semana	1 (6.3%)	8 (6.5%)	
< 3 veces/semana	2 (12.6%)	16 (12.9%)	
Nunca	13 (81.3%)	77 (62.1%)	
Conocimiento de los efectos del F ⁻ en la salud			0.10 [‡]
Sí	0 (0%)	8 (14.5%)	
No	16 (100%)	106 (85.5%)	

[‡] Prueba de χ^2
Tabla IX. Hábitos de exposición crónica a F⁻ por fluorosis dental

Parámetro	TFI = 0 n = 30	TFI ≥ 1 n = 110	p
Agua para cocinar			
Del grifo [n (%)]			< 0.05 [‡]
Sí	12 (40%)	68 (61.8%)	
No	18 (60%)	42 (38.2%)	

Potabilizada [n (%)]			< 0.06[‡]
Sí	10 (33.3%)	19 (17.3%)	
No	20 (66.7%)	91 (82.7)	
Ambas [n (%)]			0.58 [‡]
Sí	5 (16.7%)	14 (12.7%)	
No	25 (83.3%)	96 (87.3%)	
Hervir agua para beber [n (%)]			0.38 [‡]
Sí	6 (20%)	30 (27.3%)	
No	24 (80%)	77 (70%)	
Frecuencia de cepillado			0.81 [‡]
Tres veces/día [n (%)]	11 (37.9%)	34 (31.8%)	
Dos veces/día [n (%)]	12 (40%)	50 (46.7%)	
Una vez/día [n (%)]	6 (20.7%)	23 (21.5%)	
Cantidad de pasta dental			0.48 [‡]
≤ ½ de la cabeza del cepillo	5 (17.2%)	25 (23.4%)	
> ½ del cabezal	24 (82.8%)	82 (76.6%)	
Aplicación tópica de flúor [n (%)]			0.19 [‡]
Sí	1(3.3%)	12 (11.2%)	
No	29 (96.7%)	95 (88.8%)	
Frecuencia de uso de enjuague bucal [n (%)]			0.77 [‡]
> 5 veces/semana	6 (20%)	17 (15.5%)	
3-5 veces/semana	1 (3.3%)	8 (7.3%)	
< 3 veces/semana	3 (10%)	15 (13.6%)	
Nunca	20 (66.7%)	70 (63.7%)	
Conocimiento de los efectos del F ⁻ en la salud			0.25 [‡]
Sí	2 (6.7%)	16 (14.6%)	
No	28 (93.3)	94 (85.4%)	
«Continuación» ‡ Prueba de χ^2			

En la Tabla X se registran los antecedentes patológicos de la subpoblación de estudio de acuerdo al nivel de exposición. Es importante señalar que los antecedentes patológicos fueron obtenidos mediante el cuestionario, a través de entrevista personal con los menores, y no mediante una historia clínica elaborado por algún facultativo profesional. Sin embargo, como mero indicio, es interesante el hecho de que todos los niños que afirmaron padecer TDAH pertenecen al grupo de alta exposición a F⁻, tal como se ha observado en niños de la ciudad de México expuestos prenatalmente a F⁻ que presentaron algunos síntomas del TDAH (Bashash *et al.*, 2018). No obstante que el rol neurotóxico está fuera del alcance del presente trabajo, sí podría representar un hallazgo para futuras investigaciones.

Tabla X. Antecedentes patológicos de la subpoblación de estudio por BE

Síntoma [n (%)]	No expuestos BE < 1.2 mg/L n = 16	Expuestos BE ≥ 1.2 mg/L n = 124	p
Antecedentes patológicos [n (%)]			
Diabetes	0 (0%)	3 (2.4%)	1.0 ^{††}
Desorden tiroideo	0 (0%)	1 (0%)	0.11 ^{††}
Hepatitis	1 (3.3%)	0 (0%)	0.21 ^{††}
Cardiopatía	0 (0%)	7 (5.7%)	1.0 ^{††}
Dislipidemias	0 (0%)	1 (0.8%)	1.0 ^{††}
TDAH	0 (0%)	19 (15.3%)	0.09[†]
Autismo	1 (6.3%)	4 (3.2%)	0.46 ^{††}
Anemia	0 (0%)	4 (3.2%)	1.0 ^{††}
Fracturas	3 (20%)	29 (23.4%)	0.77 [†]

† Prueba de χ^2 †† Prueba exacta de Fisher

6.2.6.2 Descripción de la subpoblación de estudio

La \tilde{M} de la DED de la subpoblación de estudio fue de 0.11 (0.16 – 0.07) mg F⁻ Kg⁻¹ día⁻¹, que sobrepasa en 40% la RfD de 0.08 mg F⁻/Kg/día (EPA, 2010) y tuvo correlaciones positivas significativas con el contenido de F⁻ en agua ($\rho = 0.165$, $p = 0.051$) y por g/Cr en orina ($\rho = 0.288$, $p < 0.05$), lo cual corrobora que el agua del grifo es la fuente que más contribuye a la ingesta total de F⁻ en la población estudiada, en la que el 69.3% de los estudiantes tuvieron una DED mayor que 0.08 mg F⁻/Kg/día

En la Tabla XI se muestran las variables de exposición a F⁻ y los parámetros somatométricos de la submuestra por grupo de estudio. Mediante la prueba de Kruskal-Wallis no se determinaron diferencias significativas en los niveles de F⁻ de las muestras de agua proporcionadas por los menores. La concentración de F⁻ ajustado por creatinina (mg F⁻/g Cr) en los grupos expuestos fue marginalmente significativa ($p < 0.06$), expuesto normopeso (ENO) y expuesto sobrepeso (ES), respecto a los no expuestos no expuesto normopeso (NENO) y no expuesto sobrepeso (NES). Los niveles de F⁻ en orina sin ajustar (mg F⁻/L) fueron significativamente mayores ($p < 0.001$) en el grupo ENO respecto al resto de los grupos de estudio. Todos los parámetros relacionados con el IMC fueron significativos entre los individuos normopeso y sobrepeso en los grupos expuesto

y no expuesto, así como la presión sistólica y diastólica. En los grupos ENO y ES, que presentan fluorosis dental, no se encontró diferencia en la proporción de los individuos afectados con diferentes grados de fluorosis dental entre ambos grupos de estudio.

Tabla XI. Indicadores de exposición y parámetros somatométricos por grupo de estudio en la subpoblación de estudio

Variable Grupo	NENO n = 20	NES n = 10	ENO n = 58	ES n = 52	p
Agua (mg F/L) \bar{M} (IQR)	1.8 (2.3 – 0.9)	1.6 (2.8 – 0.4)	2.2 (3.2 – 1.7)	1.9 (2.4 – 0.9)	0.32 [†]
Orina (mg F/L) \bar{M} (IQR)	2.0 ^a (2.6 – 1.3)	2.0 ^{ab} (3.1 – 1.3)	2.5 ^b (3.3 – 2.1)	1.8 ^a (3.0 – 1.3)	< 0.001 [†]
Orina (mg/F/g Cr) \bar{M} (IQR)	1.6 ^a (2.7 – 1.0)	1.6 ^a (2.2 – 1.2)	2.7 ^b (3.6 – 1.8)	2.3 ^b (3.4 – 1.6)	< 0.06 [†]
Sexo [n (%)]					0.23 [†]
Masculino	10 (50%)	3 (42.9%)	31 (53.5%)	33 (63.5%)	
Femenino	10 (50%)	7 (57.1%)	27 (46.5%)	19 (36.5%)	
Peso (Kg) \bar{M} (IQR)	45.5 ^a (50.7 – 40.9)	76.7 ^b (85.8 – 71.4)	45.6 ^a (49.6 – 40.0)	61.5 ^b (70.8 – 57.1)	< 0.001 [†]
Talla (cm) \bar{M} (IQR)	156.0 ^a (159.8 – 152.5)	161.5 ^b (169.0 – 157.5)	154.0 ^a (162.3 – 151.0)	159.0 ^{ab} (163.0 – 152.0)	< 0.06 [†]
IMC (Kg/m ²) \bar{M} (IQR)	18.8 ^a (20.0 – 16.6)	29.0 ^b (32.4 – 26.7)	18.2 ^a (19.9 – 17.2)	24.4 ^b (27.9 – 23.1)	< 0.001 [†]
Grasa (%) \bar{M} (IQR)	18.0 ^a (22.3 – 10.8)	38.9 ^b (43.8 – 30.9)	17.4 ^a (24.4 – 13.4)	32.6 ^b (36.6 – 26.5)	< 0.001 [†]
Grasa (Kg) \bar{M} (IQR)	8.7 ^a (9.8 – 5.9)	29.4 ^b (37.2 – 21.5)	7.8 ^a (11.0 – 5.8)	19.4 ^b (24.1 – 15.0)	< 0.001 [†]
M. magra (Kg) \bar{M} (IQR)	37.5 ^a (39.1 – 33.0)	48.7 ^b (46.9 – 42.9)	35.7 ^a (39.1 – 32.7)	43.7 ^b (46.9 – 37.7)	< 0.001 [†]
Cadera (cm) \bar{M} (IQR)	85.0 ^a (87.0 – 79.5)	85.0 ^b (115.5 – 102.8)	85.0 ^a (87.0 – 80.0)	97.0 ^b (102 – 93)	< 0.001 [†]
Cintura (cm) \bar{M} (IQR)	65.0 ^a (68.0 – 61.0)	86.5 (92.3 – 78.8) ^b	65.0 (69.3 – 62.0) ^a	80.0 (85.8 – 73.3) ^b	< 0.001 [†]
P. sistólica \bar{M} (IQR)	109.5 ^a (114.0 – 102.3)	123.0 ^b (131.0 – 110.0)	107.0 ^a (117.5 – 100.0)	117.0 ^b (124.0 – 109.3)	< 0.001 [†]
P. diastólica \bar{M} (IQR)	61.0 ^{ac} (69.0 – 56.0)	69.5 ^b (75.5 – 62.8)	60.0 ^a (65.3 – 55.0)	67.0 ^{bc} (70.8 – 60.0)	< 0.001 [†]
T. arterial					< 0.05 [†]
Normotenso	15 (75%)	5 (50%)	49 (84.5%)	32 (61.5%)	
Hipertenso	5 (25%)	5 (50%)	9 (15.5%)	20 (38.5%)	
Fluorosis dental					0.18 [†]
TFI = 1			21 (36.2%)	24 (46.2%)	0.29 [*]
TFI = 2			19 (32.8%)	21 (40.4%)	0.41 [*]
TFI = 3			10 (17.2%)	4 (7.7%)	0.12 [*]
TFI = 4			8 (13.8%)	3 (5.8%)	0.15 [*]

Atención dental	13 (65%)	8 (80%)	44 (75.9%)	37 (71.2%)	0.58 [‡]
-----------------	----------	---------	------------	------------	-------------------

† Prueba de Kruskal-Wallis (Letras diferentes indican diferencias significativas)

‡ Prueba de χ^2 · Prueba de 2 proporciones

«Continuación»

El índice de Nivel Socioeconómico (NSE) creado por la AMAI (2017) clasifica a los hogares mexicanos en siete niveles, de acuerdo a su capacidad para satisfacer las necesidades de sus integrantes lo cual puede influir sobre el estado nutricional de la población pediátrica (García-Solís *et al.*, 2013). La prueba de bondad de ajuste mostró que sí hay una diferencia en las frecuencias de los NSE, distribuyéndose más del 50% de la subpoblación de estudio en los NSE C+ y C, correspondientes a los niveles medio-alto y medio típico, respectivamente. En cuanto al grado de vulnerabilidad económica, sólo menos del 9% de la subpoblación de estudio se ubicó en los NSE más bajos. y no se observó que el IMC esté asociado significativamente con el NSE (Figura 17).

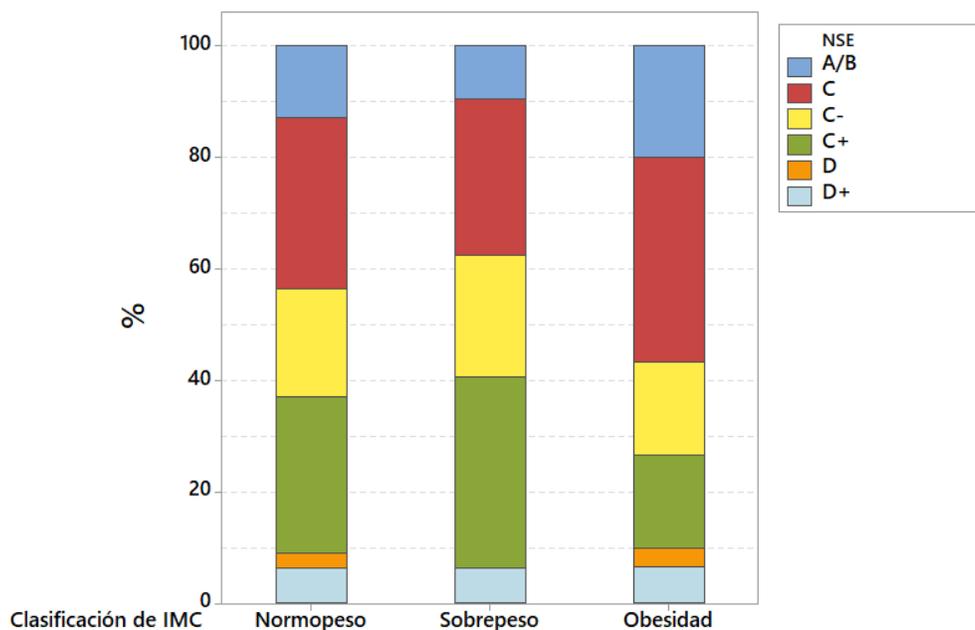


Figura 17. Distribución de los NSE por categoría de peso en la subpoblación de estudio

En cuanto a las variables sociodemográficas por grupo de estudio, no se encontraron diferencias significativas en el tiempo invertido para la realización de la entrevista del cuestionario por grupo de estudio que pudiera ocasionar algún

sesgo de información, ni ninguna asociación entre los NSE, lugar de nacimiento o de gestación, ni los tiempos de residencia (Tabla XII).

Tabla XII. Variables sociodemográficas de la subpoblación de estudio por grupo de estudio

Parámetro	NENO n = 20	NES n = 10	ENO n = 58	ES n = 52	p
Entrevista (min) \tilde{M} (IQR)	22.0 (25.8 – 18.0)	23.5 (27.5 – 19.8)	21.5 (25.0 – 18.0)	23.0 (27.8 – 19.0)	0.28 [‡]
NSE					0.85 [‡]
Alto y Medio-alto A/B C+	2 (10%) 5 (25%)	1 (10%) 3 (30%)	8 (13.8%) 17 (29.3%)	8 (15.4%) 13 (25%)	0.64 0.86
Continuación					
Medio típico C	9 (45%)	3 (30%)	15 (25.9%)	17 (32.7%)	
Medio-emergente, Bajo típico y bajo extremo C- D+ D	4 (20%) 0 (0%) 0 (0%)	2 (20%) 1 (10%) 0 (0%)	11 (19%) 5 (8.6%) 2 (3.4%)	10 (19.2%) 3 (5.8%) 1 (1.9%)	0.99 < 0.05 0.06
Nació en Cd. Chihuahua	14 (70%)	9 (90%)	52 (89.7%)	46 (88.4%)	0.14 [‡]
Residencia de gestación Ciudad Chihuahua	13 (92.9%)	6 (66.7%)	49 (94.2%)	42 (91.3%)	0.37 [‡] 0.15
Residencia (años) Actual \tilde{M} (IQR)	12.0 (13.0 – 5.8)	12.0 (13.0 – 5.3)	12.0 (13.0 – 5.8)	8.0 (12.0 – 3.0)	0.13 [‡]
Anterior \tilde{M} (IQR)	0.0 (5.3 – 0.0)	0.0 (1.9 – 0.0)	0.0 (2.0 – 1.0)	1.0 (5.2 – 0)	0.15 [‡]

[†] Prueba de Kruskal-Wallis [‡] Prueba de χ^2 ^{||} Prueba de bondad de ajuste

6.2.6.2.3 Parámetros clínicos de la subpoblación de estudio

Los análisis clínicos se realizaron en un total de 133 individuos, que cumplieron con los criterios de inclusión. La Tabla XIII muestra los parámetros clínicos por grupo de estudio de acuerdo a la exposición crónica medida por la fluorosis dental. Se encontró un aumento significativo en los niveles de triglicéridos y de HDL, LDL y VLDL en los grupos de individuos con sobrepeso, sin ninguna diferencia entre ellos debida a la exposición a F⁻.

Tabla XIII. Parámetros bioquímicos de la subpoblación de estudio por grupo de estudio

Parámetro Grupo	NENO n = 20	NES n = 10	ENO n = 58	ES n = 52	p
Glucosa (mg/dL) \bar{M} (IQR)	87.0 (92.0 – 84.0)	85.0 (87.0 – 82.0)	87.0 (92.0 – 84.0)	86.5 (93.8 – 84.3)	0.50 [†]
Triglicéridos (mg/dL) \bar{M} (IQR)	67.0 ^a (84.0 – 62.0)	135.0 ^b (183.8 – 100.5)	73.0 ^a (96.0 – 57.0)	101.5 ^b (132.3 – 71.3)	< 0.001 [†]
Col. total (mg/dL) \bar{M} (IQR)	152.0 (216 – 136)	162.5 (197 – 149.8)	153.0 (213 – 132.5)	152.5 (221 – 132.3)	0.30 [†]
Col. HDL (mg/dL) \bar{M} (IQR)	55.0 ^a (67.0 – 48.0)	45.0 ^b (53.0 – 40.8)	55.0 ^a (65.5 – 51.0)	45.0 ^b (54.8 – 41.0)	< 0.001 [†]
Col. LDL (mg/dL) \bar{M} (IQR)	87.0 ^{ab} (105.0 – 80.0)	104.0 ^b (121.3 – 91.3)	90.0 ^a (104.5 – 74.5)	99.5 ^{ab} (112.0 – 81.3)	< 0.05 [†]
Col. VLDL (mg/dL) \bar{M} (IQR)	13.0 ^a (37.0 – 10.0)	27.0 ^b (36.3 – 19.8)	14.0 ^a (19.0 – 11.0)	20.0 ^b (25.8 – 14.3)	< 0.001 [†]
TFG (mL/min/1.73 m ²) \bar{M} (IQR)	128.0 (141.0 – 119.0)	135.5 (166.0 – 114.5)	127.0 (151.5 – 111.5)	134.5 (151.0 – 119.3)	0.62 [†]
TSH (μUI/mL) \bar{M} (IQR)	2.1 (2.7 – 1.3)	2.4 (3.3 – 1.6)	2.1 (2.6 – 1.7)	2.2 (3.0 – 1.6)	0.63 [†]
fT4 (ng/dL) \bar{M} (IQR)	1.1 (1.2 – 1.0)	1.0 (1.2 – 0.9)	1.1 (1.3 – 1.0)	1.1 (1.3 – 1.0)	0.12 [†]
fT3 (pg/mL) \bar{M} (IQR)	4.1 (4.5 – 3.7)	4.0 (4.1 – 3.4)	4.1 (4.5 – 3.9)	4.2 (4.5 – 3.9)	0.16 [†]

Letras diferentes indican diferencias significativas [†] Prueba de Kruskal- Wallis [‡] Prueba de bondad de ajuste

La Tabla XIV muestra los parámetros clínicos de la subpoblación de estudio por nivel de exposición aguda a partir del BE y por IMC. Los resultados observados son similares a los de la Tabla XII, con la diferencia en que se detecta un incremento marginalmente significativo ($p < 0.07$) en los niveles de fT3, mostrando una tendencia en el incremento de sus valores en los grupos expuestos, respecto los no expuestos, al contrario del decremento de T3 observado por otros autores (Susheela *et al.*, 2005; Ruiz-Payan, 2006; Sashi & Singla, 2013b).

Tabla XIV. Parámetros bioquímicos de la submuestra por BE e IMC

Variables	BE < 1.2 mg/L		BE > 1.2 mg/L		p
	Normopeso (n = 4)	Sobrepeso (n = 12)	Normopeso (n = 75)	Sobrepeso (n = 49)	
Glucosa (mg/dL) \bar{M} (IQR)	82.5 (88.9 – 77.0)	85.5 (93.5 – 79.5)	87.0 (92.0 – 84.0)	86.0 (90.5 – 84.5)	0.38 [†]
Triglicéridos (mg/dL) \bar{M} (IQR)	89.0 ^{ab} (116.3 – 68.5)	110.5 ^{ab} (143.3 – 56.3)	72.0 ^a (96.0 – 56.0)	103.0 ^b (137.5 – 80.5)	< 0.001 [†]
Col. total (mg/dL) \bar{M}	159.0	162.0	153.0	157.0	0.51 [†]

(IQR)	(175.3 – 143.5)	(175.5 – 133.3)	169.0 – 133.0)	(179.5 – 141.0)	
Col. HDL (mg/dL) \bar{M} (IQR)	54.5 ^{ab} (55.0 – 44.3)	45.5 ^{ab} (62.5 – 44.0)	55.0 ^a (66.0 – 51.0)	45.0 ^b (52.5 – 41.0)	< 0.001[†]
Col. LDL (mg/dL) \bar{M} (IQR)	104.5 ^{ab} (112.8 – 82.0)	103.0 ^{ab} (117.3 – 83.3)	89.0 ^a (104.0 – 77.0)	99.0 ^b (112.5 – 86.5)	0.06[†]
Col. VLDL (mg/dL) \bar{M} (IQR)	17.5 ^{ab} (23.3 – 13.3)	22.0 ^{ab} (28.5 – 10.8)	14.0 ^a (19.0 – 11.0)	20.0 ^b (27.5 – 16.0)	< 0.001[†]
TFG (mL/min/1.73 m ²) \bar{M} (IQR)	130.0 (156.8 – 125.8)	138.0 (163.0 – 119.3)	127.0 (151.0 – 117.0)	134.0 (151.0 – 118.5)	0.55 [†]
TSH (μUI/mL) \bar{M} (IQR)	3.1 (4.6 – 1.2)	1.9 (2.5 – 1.2)	2.1 (2.6 – 1.6)	2.2 (3.2 – 1.6)	0.34 [†]
fT4 (ng/dL) \bar{M} (IQR)	1.08 (1.34 – 1.06)	1.13 (1.41 – 0.93)	1.10 (1.25 – 1.03)	1.12 (1.25 – 1.03)	0.99 [†]
fT3 (pg/mL) \bar{M} (IQR)	3.7 (4.1 – 3.3)	3.9 (4.2 – 3.4)	4.1 (4.5 – 3.9)	4.2 (4.5 – 3.9)	0.065[†]

[†] Prueba de Kruskal-Wallis [‡] Prueba de χ^2 ^{||} Prueba de bondad de ajuste
«Continuación»

El análisis de Spearman encontró una relación positiva ($\rho = 0.205$, $p < 0.02$) entre los niveles de F⁻ en orina ajustados por Cr con los niveles de TSH (Figura 18) en la subpoblación de estudio. Sin embargo, dicho análisis por grupo de estudio sólo fue significativo para el grupo ENO ($\rho = 0.348$, $p < 0.01$), lo que sugiere que el incremento de TSH se explica por la exposición a F⁻, independientemente del IMC.

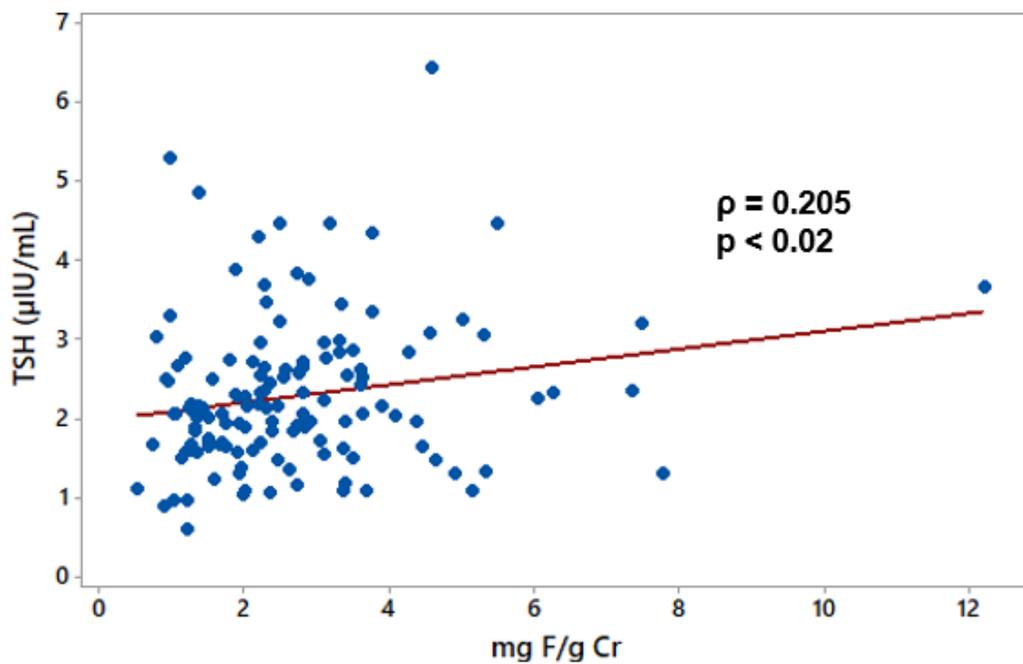


Figura 18. Correlación de Spearman entre el F⁻ urinario ajustado a Cr y TSH

La correlación significativa entre el F^- urinario y los niveles de TSH es congruente con los estudios de casos y controles presentados en Antecedentes (Tabla I) en los que se observó un incremento significativo de los niveles de TSH en un 80% de los trabajos recopilados, mientras que los restantes hallaron una alteración de los niveles de T3 o T4. Los resultados del trabajo realizado en Irán por Kheradpisheh *et al.* (2018) mostraron diferencias significativas en los niveles de TSH en personas con y sin desórdenes tiroideos asociados dos niveles de hidrofluorosis por debajo de la concentración óptima de F^- , concluyendo que aún pequeñas diferencias en los niveles de F^- presente en el agua potable pueden alterar los niveles de TSH, tanto en personas con una enfermedad tiroidea previamente diagnosticada como en pacientes sin ningún desorden tiroideo.

Se analizó si existía alguna correlación entre los parámetros bioquímicos analizados en la subpoblación de estudio. Los niveles de $fT4$ no tuvieron ninguna correlación significativa con el resto de los parámetros bioquímicos, mientras que los niveles de TSH estuvieron correlacionados significativamente con el nivel de triglicéridos ($\rho = 0.214$, $p < 0.05$) y colesterol VLDL ($\rho = 0.220$, $p < 0.02$). Trabajos previos han observado que en niños eutiroideos sin historial de desórdenes tiroideos el incremento de TSH y el decremento de $fT4$ estuvo asociado con el incremento del nivel de los triglicéridos (Nader *et al.*, 2010). En un estudio poblacional en adolescentes eutiroideos se observó que TSH estuvo correlacionado positivamente con los triglicéridos, y el análisis de regresión múltiple sugirió que el incremento de TSH y/o decremento de $fT4$, incluso dentro del rango de referencia, puede estar relacionado con el incremento de factores de riesgo cardiometabólico (Ma & Shim, 2019).

Los resultados de la German Health Interview and Examination Survey for Children and Adolescents obtenidos de más de 12,000 niños y adolescentes mostraron que existe una asociación significativa entre los niveles de TSH y los niveles de triglicéridos, colesterol total y LDL, tanto en niños como en adolescentes, independientemente del IMC, lo cual sugiera que la elevación de TSH está asociada a una disrupción del metabolismo lipídico (Witte *et al.*, 2015).

También un estudio transversal realizado en más de 30,000 individuos en Noruega mostró que existe una relación lineal entre los niveles normales de TSH y el perfil de lípidos, caracterizado por un incremento del colesterol total, LDL, triglicéridos y un decremento en el HDL. El estudio concluyó que el HSC está asociado con niveles lipídicos desfavorables (Åsvold *et al.*, 2007).

Los niveles de fT3 mostraron una correlación negativa con la concentración de colesterol HDL ($\rho = -0.175$, $p < 0.05$), como se observó en varones eutiroideos (Chin *et al.*, 2014), lo cual concuerda con el reporte de disminución de HDL en pacientes con HSC (Rizos, Elisaf & Liberopoulos, 2011), el cual se presenta como una posible causa secundaria de las hiperlipidemias lo que lo podría vincular con enfermedad de las arterias coronarias (Duntas & Brentas, 2018). En el trabajo de Wang *et al.* (2017) se observó que los niveles de fT3 de paciente eutiroideos, estuvieron asociados positivamente con colesterol total y LDL tanto en los individuos normopeso y con sobrepeso, mientras que únicamente en los individuos normopeso se observó correlación positiva entre fT3 y triglicéridos. Este trabajo es de los primeros en evaluar el rol del IMC en el efecto de las HTs sobre el perfil lipídico, concluyendo que existe un efecto diferencial de las HTs sobre el perfil de lípidos según el IMC. En pacientes diabéticos, la hipofunción tiroidea también ha sido asociada a la desregulación lipídica en un estudio de casos y controles (Jiffri, 2017).

La concentración de fT3 presentó una correlación positiva con los niveles de glucosa ($\rho = 0.302$, $p < 0.001$). En un estudio transversal en individuos sin desórdenes tiroideos ni diabetes se observó que el grupo integrado por los sujetos con los más altos niveles de glucosa en ayuno también presentaron los más altos niveles de fT3, (Jing *et al.*, 2014). Wang *et al.* (2017) observaron mediante un estudio transversal que los sujetos con más bajos niveles de fT3 presentaban los valores del índice de resistencia a la insulina HOMA-IR más altos. De lo anterior se deduce que los valores de fT3 podrían jugar un rol importante en la homeostasis de la glucosa en la subpoblación estudiada. Por otro lado, se observó una correlación negativa entre TSH y fT4 (Figura 19), que era esperable por el

sistema de retroalimentación negativa que regula los niveles de TSH en función de la concentración sérica de fT4 (Costanzo, 2018).

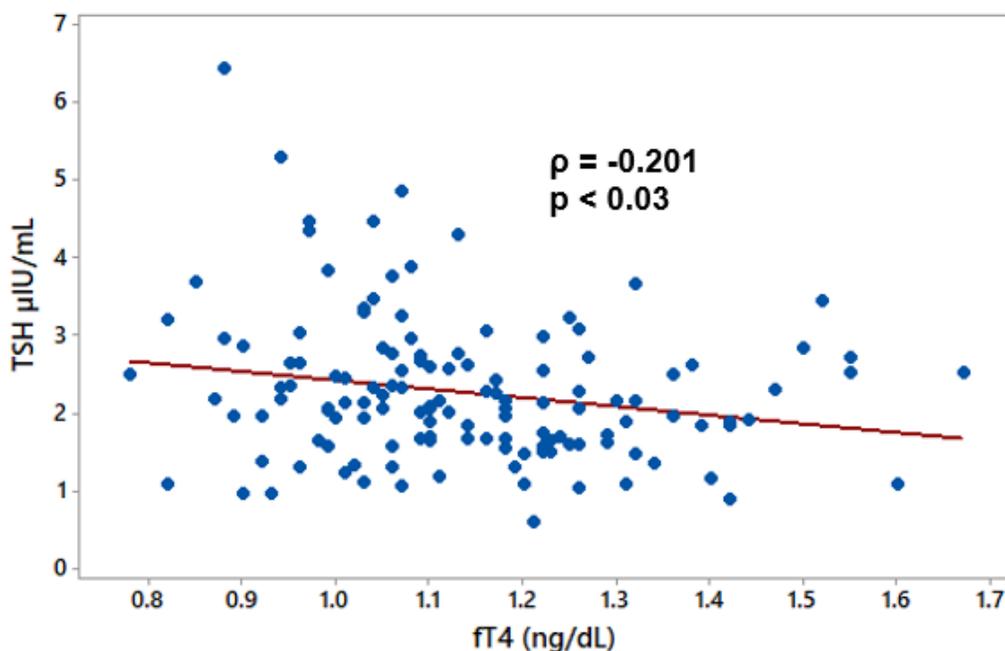


Figura 19. Correlación de Spearman entre fT4 y TSH en la subpoblación de estudio

También se realizó el análisis de Spearman entre el perfil tiroideo y los parámetros somatométricos de la subpoblación de estudio. Los niveles de fT3 estuvieron correlacionados negativamente con el porcentaje de grasa corporal ($\rho = -0.207$, $p < 0.02$) y positivamente con la masa magra ($\rho = 0.237$, $p < 0.005$), como se observa en la Figura 20. En un estudio transversal realizado en individuos eutiroideos, se observó que los individuos con sobrepeso u obesidad presentaron los niveles más altos de fT3, lo cual sugiera que la función tiroidea podría ser un factor que influye sobre el peso corporal y la comorbilidad de obesidad (Xu *et al.*, 2019). En un estudio transversal realizado en individuos eutiroideos se demostró que variaciones de las HTs dentro del rango de referencia está asociado a cambios en el peso corporal. En mujeres, el IMC estuvo asociado significativamente con los niveles de T3 y T4 totales, mientras que en varones el IMC estuvo asociado positivamente a los niveles de fT3 y de manera negativa con TSH (Milionis & Milionis, 2013).

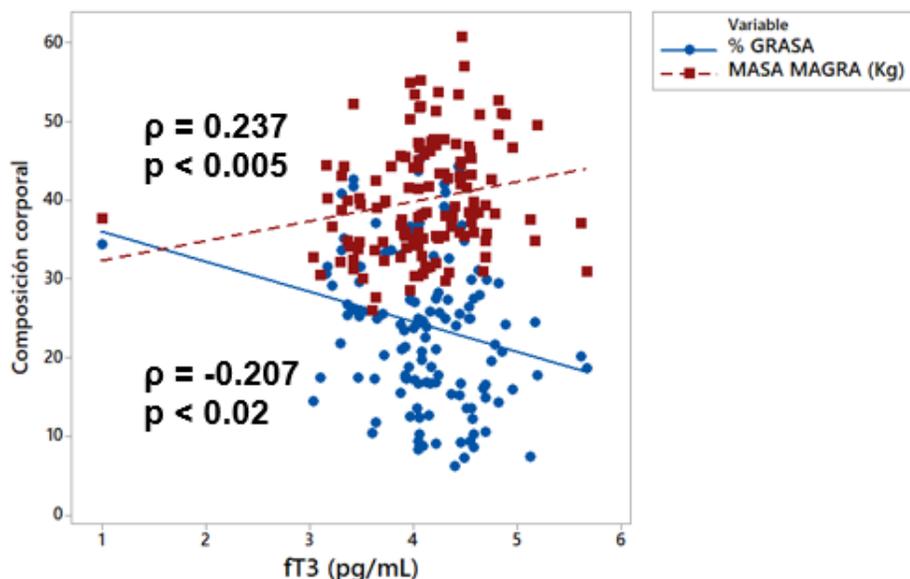


Figura 20. Correlación de Spearman entre fT3 y los parámetros de composición corporal

6.2.6.3 Regresión lineal múltiple

Finalmente, mediante un análisis bivariado se identificaron las variables de exposición, somatométricas y bioquímicas que tuviera un impacto significativo sobre los niveles de las hormonas tiroideas. Estas variables se introdujeron en un modelo de regresión lineal múltiple (Tabla XV), y mediante el método de Paso por Paso (α a entrar = 0.15, α a retirar = 0.15) se obtuvieron los modelos integrados solamente por las variables que explican significativamente la variabilidad de los niveles hormonales, medida por el coeficiente de determinación (R^2).

Tabla XV. Regresión lineal múltiple de los niveles de las hormonas tiroideas

Perfil tiroideo	Término	β	p
TSH (μUI/mL) $R^2 = 0.1986$	F ⁻ urinario (mg F/g Cr)	0.1498	0.003
	Edad (Meses)	-0.03144	0.002
	Triglicéridos (mg/dL)	0.00436	0.017
	Fumar ocasionalmente	-1.459	0.023
fT3 (pg/mL) $R^2 = 0.4610$	Glucosa sérica (mg/dL)	0.00916	0.090
	Sobrepeso	-0.4574	0.000
	Sedentarismo	-0.356	0.019

	Sexo femenino	-0.345	0.002
fT4 (ng/dL) R² = 0.3695	Fluorosis dental (TFI > 0)	0.1215	0.040
	Uso frecuente de sal de mesa	0.2241	0.003
	Cepillado dental (tres veces al día)	0.1570	0.019
	IMC (Kg/m ²)	0.0741	0.003
	Masa grasa (Kg)	-0.0248	0.023
	Masa magra (Kg)	-0.03409	0.000
	Sedentarismo	0.2391	0.008
	TFG (mL/min/1.73 m ²)	0.02137	0.000

«Continuación»

La concentración de TSH estuvo determinada positivamente por la exposición a F⁻ mediante el biomarcador de F⁻ urinario ajustado por Cr y el nivel de los triglicéridos. El aumento de cada mg F⁻/L estuvo asociado al incremento de 0.15 μ UI/mL de TSH, en contraste con la $\beta = 0.004$ correspondiente a los triglicéridos. Por otro lado, se halló que la edad y el fumar ocasionalmente tienen un impacto negativo sobre los niveles de TSH. Cada mes de edad acumulada estuvo asociado a una disminución de 0.03 μ UI/mL de TSH, mientras que los menores fumadores presentan una $\beta = -1.46$, lo cual podría explicarse por el contenido de hasta 360 ppm de F⁻ en los cigarrillos comerciales (Gondal *et al.*, 2015).

En cuanto a los niveles de fT4, se encontró que el incremento de cada grado de fluorosis dental (TFI) estuvo asociado con el incremento de 0.12 ng/dL de fT4. Así mismo, las variables de exposición crónica relativas al consumo de sal, que suele contener F⁻, y la frecuencia de cepillado (3 veces al día) también estuvieron asociadas al incremento de fT4. Otras variables independientes también explicaron el incremento de fT4, de manera independiente a la exposición de F⁻, como el IMC, TFG y el sedentarismo, definido como la ausencia de actividad física mayor a 30 min diarios. En contraste, los niveles de fT3 no fueron predichos por ningún biomarcador de exposición a F⁻, sino por la glucemia, y de manera negativa, por el sexo, sobrepeso y sedentarismo.

VII. CONCLUSIONES

Los métodos potenciométrico y cromatográfico utilizados para cuantificar el F^- de las muestras de agua del muestreo del año 2019 estuvieron intercalibrados ($\rho = 0.991$, $p < 0.001$), lo cual asegura la exactitud de las determinaciones realizadas. Los mapas de riesgo espacial correspondientes a los años 2018 y 2019 mostraron un patrón diferenciado en la concentración de F^- del agua proveniente de red de abastecimiento de agua potable de la ciudad de Chihuahua, que se caracterizó por presentar los más altos niveles de F^- sobre las zonas norte y suroriente de la ciudad. En los mapas de ambos años se apreció que por lo menos el 50% de la ciudad está expuesta a concentraciones superiores de 1.5 mg F^-/L .

La zona de estudio se ubicó en al área con mayor riesgo de exposición, según los mapas de riesgo espacial de los años 2018 y 2019, con una concentración promedio de F^- de 3.48 ± 0.52 mg/L, sin presencia detectable de As. La correlación positiva entre el contenido de F^- del agua y la concentración de F^- en orina sin ajustar ($\rho = 0.338$, $p < 0.001$) y con ajuste a Cr ($\rho = 0.426$, $p < 0.001$), lo cual indica que el agua de consumo es una fuente importante de F^- en la ingesta diaria, aunque no se descarta la existencia de otras fuentes de exposición. Se demostró la exposición comunitaria a F^- mediante tres criterios: alta prevalencia de fluorosis dental (83.2%), elevada proporción de individuos con contenido de F^- superior al BE (83.4%) y un ICF = 0.92, lo cual indica que la exposición a F^- es un problema de salud pública en la zona estudiada.

En cuanto a las características somatométricas de la población de estudio, se halló una prevalencia de sobrepeso/obesidad e hipertensión arterial del 25% y 20%, respectivamente. La concentración de F^- ajustado a Cr fue significativamente mayor en los grupos de estudio expuestos, independientemente del IMC. La concentración de triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL mostraron diferencias significativas dependientes del IMC entre los grupos de estudio.

El perfil tiroideo en la población de estudio mostró que en la población expuesta a F^- existe un incremento de TSH y una disminución de $fT4$, que podría hablar de un



hipotiroidismo subclínico. Sin embargo, se recomienda en trabajos futuros estudios de casos y controles que evalúen la función tiroidea en comunidades con diferentes niveles de exposición. También se recomienda validar metodologías para la evaluación de la ingesta de F^- proveniente de diferentes fuentes con el fin de estimar con mayor exactitud la dosis de exposición a F^- en la población chihuahuense.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

- Adimalla, N., & Venkatayogi, S. (2017). Mechanism of fluoride enrichment in groundwater of hard rock aquifers in Medak, Telangana State, South India. *Environmental Earth Sciences*, 76(1), 45. <https://doi.org/10.1007/s12665-016-6362-2>
- Afolabi, O. K., Oyewo, E. B., Adekunle, A. S., Adedosu, O. T., & Adedeji, A. L. (2013). Oxidative indices correlate with dyslipidemia and pro-inflammatory cytokine levels in fluoride-exposed rats. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 64(4), 521-529. <https://doi.org/10.2478/10004-1254-64-2013-2351>
- Agalakova, N. I., & Gusev, G. P. (2013). Excessive fluoride consumption leads to accelerated death of erythrocytes and anemia in rats. *Biological trace element research*, 153(1-3), 340-349. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9691-y>
- Aguilar-Díaz, F. D. C., Morales-Corona, F., & Cintra-Viveiro, A. C. (2017). Prevalence of dental fluorosis in Mexico 2005-2015: a literature review. *salud pública de méxico*, 59, 306-313.
- Ailani, V., Gupta, R. C., Gupta, S. K., & Gupta, K. (2009). Oxidative stress in cases of chronic fluoride intoxication. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 24(4), 426.
- Al-Amry, A. S. (2009). Hydrogeochemistry and origin of fluoride in groundwater of Hidhran & Alburayhi Basin, northwest Taiz City, Yemen. *Delta J Sci*, 33, 10-20.
- Alarcón-Herrera, M. T., Martín-Domínguez, I. R., Trejo-Vázquez, R., & Rodríguez-Dozal, S. (2001). Well water fluoride, dental fluorosis, and bone fractures in the Guadiana Valley of Mexico. *Fluoride*, 34(2), 139-149.



- Alarcón-Herrera, M. T., Martín-Alarcon, D. A., Gutiérrez, M., Reynoso-Cuevas, L., Martín-Domínguez, A., Olmos-Márquez, M. A., & Bundschuh, J. (2020). Co-occurrence, possible origin, and health-risk assessment of arsenic and fluoride in drinking water sources in Mexico: Geographical data visualization. *Science of the Total Environment*, 698, 134168. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134168>
- Ali, S., Thakur, S. K., Sarkar, A., & Shekhar, S. (2016). Worldwide contamination of water by fluoride. *Environmental chemistry letters*, 14(3), 291-315. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0563-5>
- Allibone, R., Cronin, S. J., Charley, D. T., Neall, V. E., Stewart, R. B., & Oppenheimer, C. (2012). Dental fluorosis linked to degassing of Ambrym volcano, Vanuatu: a novel exposure pathway. *Environmental geochemistry and health*, 34(2), 155-170. <https://doi.org/10.1007/s10653-010-9338-2>
- Al-Raddadi, R. M., Bahijri, S. M., & Al-Khateeb, T. (2012). Excessive Fluoride Intake is Associated with Hyperparathyroidism and Hypothyroidism in Children and Adolescent, Jeddah-Saudi Arabia. *Archives of Disease in Childhood*, 97(Suppl 2), A294-A294. <https://doi.org/10.1136/archdischild-2012-302724.1026>
- Asociación Mexicana de Agencias de Inteligencia de Mercado y Opinión (2017). Nivel Socio económico AMAI 2018. Nota metodológica. Disponible en <http://nse.amai.org/niveles-socio-economicos-amai/#LinkNota> (Fecha de acceso: mayo de 2020).
- Åsvold, B. O., Vatten, L. J., Nilsen, T. I., & Bjørø, T. (2007). The association between TSH within the reference range and serum lipid concentrations in a population-based study. The HUNT Study. *European journal of endocrinology*, 156(2), 181-186. <https://doi.org/10.1530/eje.1.02333>
- Amarendra, G, Kulkarni, B., Shatrugna, Thilak, P., Balakrishna, N., Ajeya, P. & Usha, K. (2009). Bone mass of overweight affluent Indian youth and its sex-



- specific association with body composition. *Archives of osteoporosis*, 4(1-2), 31-39. <https://doi.org/10.1007/s11657-009-0024-x>
- Anderson, P. J., Critchley, J. A. J. H., Chan, J. C. N., Cockram, C. S., Lee, Z. S. K., Thomas, G. N., & Tomlinson, B. (2001). Factor analysis of the metabolic syndrome: obesity vs insulin resistance as the central abnormality. *International journal of obesity*, 25(12), 1782-1788.
- Apambire, W. B., Boyle, D. R., & Michel, F. A. (1997). Geochemistry, genesis, and health implications of fluoriferous groundwaters in the upper regions of Ghana. *Environmental Geology*, 33(1), 13-24.
- Arif, M., Hussain, I., Hussain, J., Sharma, S., & Kumar, S. (2012). Fluoride in the drinking water of Nagaur Tehsil of Nagaur district, Rajasthan, India. *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 88(6), 870-875. <https://doi.org/10.1007/s00128-012-0572-4>
- Armienta, M. A., Cruz-Reyna, S., Cruz, O., Cenicerros, N., Aguayo, A., & Marin, M. (2011). Fluoride in ash leachates: environmental implications at Popocatepetl volcano, central Mexico. *Natural Hazards and Earth System Sciences*, 11(7), 1949-1956. <https://doi.org/10.5194/nhess-11-1949-2011>
- Armienta, M. A., & Segovia, N. (2008). Arsenic and fluoride in the groundwater of Mexico. *Environmental Geochemistry and Health*, 30(4), 345-353. <https://doi.org/10.1007/s10653-008-9167-8>
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2003). Toxicological profile for fluorides, hydrogen fluoride, and fluorine. Fecha de acceso: 03-04-20, de <https://www.atsdr.cdc.gov/toxguides/toxguide-11.pdf>
- Ayala-Moreno, M. R., Guerrero-Hernández, J., Vergara-Castañeda, A., Salazar-Aceves, G., & Cruz-Mercado, D. E. (2018). Thyroid function in pediatric population with different nutritional status. *Boletín médico del Hospital Infantil de México*, 75(5), 279-286. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.M18000036>



- Aylward, L. L., Hays, S. M., Vezina, A., Deveau, M., St-Amand, A., & Nong, A. (2015). Biomonitoring Equivalents for interpretation of urinary fluoride. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 72(1), 158-167. <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2015.04.005>
- Aziz, F., Akhtar, Y., Bilal, B., & Parveen, N. (2013). Effect of fluoride exposure on key enzymes activity of protein—carbohydrate metabolism in gills of fresh water fish *Tilapia mossambica*, Keenjhar Lake, Thatta, Sindh, Pakistan. *Int Res J Environ Sci*, 2(8), 24-27.
- Azpeitia, M. D. L., Sánchez, M. A., & Rodríguez, M. (2009). Factores de riesgo para fluorosis dental en escolares de 6 a 15 años de edad. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc*, 47(3), 265-270.
- Banerjee, A. (2015). Groundwater fluoride contamination: a reappraisal. *Geoscience Frontiers*, 6(2), 277-284. <https://doi.org/10.1016/j.gsf.2014.03.003>
- Barberio, A. M., Hosein, F. S., Quiñonez, C., & McLaren, L. (2017). Fluoride exposure and indicators of thyroid functioning in the Canadian population: implications for community water fluoridation. *J Epidemiol Community Health*, 71(10), 1019-1025.
- Barbier, O., Arreola-Mendoza, L., & Del Razo, L. M. (2010). Molecular mechanisms of fluoride toxicity. *Chemico-biological interactions*, 188(2), 319-333. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2010.07.011>
- Basha, P. M., Rai, P., & Begum, S. (2011). Fluoride toxicity and status of serum thyroid hormones, brain histopathology, and learning memory in rats: a multigenerational assessment. *Biological trace element research*, 144(1-3), 1083-1094. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-9137-3>
- Bashash, M., Marchand, M., Hu, H., Till, C., Martinez-Mier, E. A., Sanchez, B. N., ... & Mercado-García, A. (2018). Prenatal fluoride exposure and attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) symptoms in children at 6–12 years of



- age in Mexico City. *Environment International*, 121, 658-666.
<https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.09.017>
- Bastemir, M., Akin, F., Alkis, E., & Kaptanoglu, B. (2007). Obesity is associated with increased serum TSH level, independent of thyroid function. *Swiss medical weekly*, 137(2930).
- Beltrán-Valladares, P. R., Cocom-Tun, H., Casanova-Rosado, J. F., Vallejos-Sánchez, A. A., Medina-Solís, C. E., & Maupomé, G. (2005). Prevalencia de fluorosis dental y fuentes adicionales de exposición a fluoruro como factores de riesgo a fluorosis dental en escolares de Campeche, México. *Revista de investigación clínica*, 57(4), 532-539.
- Bhardwaj, M., & Shashi, A. (2013). Dose effect relationship between high fluoride intake and biomarkers of lipid metabolism in endemic fluorosis. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 3(2), 121-127.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.bionut.2012.10.006>
- Bianco, A. C., Salvatore, D., Gereben, B., Berry, M. J., & Larsen, P. R. (2002). Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocrine Reviews*, 23(1), 38-89.
<https://doi.org/10.1210/edrv.23.1.0455>
- Biondi, B. (2010). Thyroid and obesity: an intriguing relationship.
<https://doi.org/10.1210/jc.2010-1245>
- Birkle, P., & Merkel, B. (2000). Environmental impact by spill of geothermal fluids at the geothermal field of Los Azufres, Michoacán, Mexico. *Water, air, and soil pollution*, 124(3-4), 371-410. <https://doi.org/10.1023/A:1005242824628>
- Bonola-Gallardo, I., Irigoyen-Camacho, M.E., Vera-Robles, L., Campero, A. & Gómez-Quiroz, L. (2017). Enzymatic Activity of Glutathione S-Transferase and Dental Fluorosis Among Children Receiving Two Different Levels of Naturally Fluoridated Water. *Biol Trace Elem Res*, 176(1), 40.
<https://doi.org/10.1007/s12011-016-0806-0>



- Boyle, D. R., & Chagnon, M. (1995). An incidence of skeletal fluorosis associated with groundwaters of the maritime carboniferous basin, Gaspé region, Quebec, Canada. *Environmental Geochemistry and Health*, 17(1), 5-12.
- Bronckers, A. L. J. J., Lyaruu, D. M., & DenBesten, P. K. (2009). The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis. *Journal of dental research*, 88(10), 877-893. <https://doi.org/10.1177/0022034509343280>
- Brucker-Davis, F. (1998). Effects of environmental synthetic chemicals on thyroid function. *Thyroid*, 8(9), 827-856.
- Brus, D. & Heuvelink, G. (2007). Optimization of sample patterns for universal kriging of environmental variables. *Geoderma*, 138, 86-95. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2006.10.016>
- Cabrera A, Blarasin M, Villalba G (2001) Groundwater contaminated with arsenic and fluoride in the Argentine Pampean plain. *J Environ Hydrol*, 9(6), 1–9.
- Carrillo-Rivera, J., Cardona, A., Huizar-Alvarez, R. & Graniel, E. (2008). Response of the interaction between groundwater and other components of the environment in Mexico. *Environ Geol*, 55, 303–319. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-1005-2>
- Castelli, W. P., Doyle, J. T., Gordon, T., Hames, C. G., Hjortland, M. C., Hulley, S. B., ... & Zukel, W. J. (1977). HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation*, 55(5), 767-772. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.55.5.767>
- Castiblanco, G. A., Martignon, S., Castellanos, J. E., Naranjo, M., & Alfonso, W. (2017). Pathogenesis of dental fluorosis: biochemical and cellular mechanisms. *Revista Facultad de Odontología Universidad de Antioquia*, 28(2), 408-421. <https://doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n2a10>



- Cavalheiro, J. P., Giroto Bussaneli, D., Restrepo, M., Bullio Fragelli, C. M., Loiola Cordeiro, R. D. C., Escobar Rojas, A., ... & Jeremias, F. (2017). Clinical aspects of dental fluorosis according to histological features: a Thylstrup Fejerskov Index review. *CES Odontología*, 30(1), 41-50. <http://dx.doi.org/10.21615/cesodon.30.1.4>
- Caverzasio, J., Palmer, G. & Bonjour, J. (1998). Fluoride: mode of action. *Bone*, 22(6), 585-589. [https://doi.org/10.1016/S8756-3282\(98\)00058-1](https://doi.org/10.1016/S8756-3282(98)00058-1)
- Cedeño-Morales, R., Castellanos-González, M., Benet-Rodríguez, M., Mass-Sosa, L., Mora-Hernández, C., & Parada-Arias, J. (2015). Indicadores antropométricos para determinar la obesidad, y sus relaciones con el riesgo cardiometabólico: cifras alarmantes. *Revista Finlay*, 5(1), 12-23.
- Chang, R. (2010). *Química*. Nueva York: McGraw-Hill.
- Chen H, Yan M, Yang X *et al* (2012) Spatial distribution and temporal variation of high fluoride contents in groundwater and prevalence of fluorosis in humans in Yuanmou County, Southwest China. *J Hazard Mater*, 235:201–209. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2012.07.042>
- Chen, S., Li, B., Lin, S., Huang, Y., Zhao, X., Zhang, M., ... & Yu, S. (2013). Change of urinary fluoride and bone metabolism indicators in the endemic fluorosis areas of southern China after supplying low fluoride public water. *BMC Public Health*, 13(1), 156. <http://doi.org/10.1186/1471-2458-13-156>
- Chiba, F. Y., Garbin, C. A. S., & Sumida, D. H. (2012). Effect of fluoride intake on carbohydrate metabolism, glucose tolerance, and insulin signaling. *Fluoride*, 45(3 Pt 2), 236-41.
- Chin, K. Y., Ima-Nirwana, S., Mohamed, I. N., Aminuddin, A., Johari, M. H., & Ngah, W. Z. W. (2014). The relationships between thyroid hormones and



- thyroid-stimulating hormone with lipid profile in euthyroid men. *International journal of medical sciences*, 11(4), 349. <http://doi.org/10.7150/ijms.7104>
- Chouhan, S., & Flora, S. (2010). Arsenic and fluoride: two major ground water pollutants. *Indian Journal of Experimental Biology*, 48, 666-678.
- Chou, S., Holler, J., & De Rosa, C. (1998). Minimal risk levels (MRLs) for hazardous substances. *J. Clean Technol. Environ. Toxicol. Occup. Med*, 7(1), 1-24.
- Choi, A. L., Zhang, Y., Sun, G., Bellinger, D. C., Wang, K., Yang, X. J., ... & Grandjean, P. (2015). Association of lifetime exposure to fluoride and cognitive functions in Chinese children: a pilot study. *Neurotoxicology and teratology*, 47, 96-101. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ntt.2014.11.001>
- Chuckpaiwong S, Nakornchai S, Surarit R, Soo-ampon S & Kasetzuwan R. (2000) Fluoride in water consumed by children in remote areas of Thailand. *J Trop Med Public Health*, 31(2), 319-24.
- Chueca, M., Berrade, S., Dura, T., & Oyarzábal, M. (2014). Hipotiroidismo subclínico en la infancia y adolescencia. *Rev Esp Endocrinol Pediatr*, 5(2), 49-57.
- Clark, N., & Corbin, S. (1983). The evolution of standards for naturally occurring fluorides: an example of scientific due process. *Public Health Reports*, 98(1), 53.
- Clinch, C. (2009). Fluoride interactions with iodine and iodide: implications for breast health. *Fluoride*, 42(2), 75-87.
- CONAGUA (Comisión Nacional del Agua). (2018). *Estadísticas del agua en México, edición 2018*. Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales,



Comisión Nacional del Agua. Fecha de acceso: 30-03-20. Recuperado de http://sina.conagua.gob.mx/publicaciones/EAM_2018.pdf

CONAGUA (Comisión Nacional del Agua) (2018). Sistema Nacional de Información del Agua. Fecha de acceso 29-05-2019. Recuperado de <http://sina.conagua.gob.mx/sina/tema.php?tema=acuiferos&ver=mapa&o=1&n=nacional>

Cooper, D. S., & Biondi, B. (2012). Subclinical thyroid disease. *The Lancet*, 379(9821), [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60276-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60276-6)

Cortés, F. A., Guillén, R. C., Navarro, P. S., & Smedley, P. L. (2010). Una revisión de la presencia de arsénico en el agua subterránea en México. *Rev. Tlaloc AMH*, 45, 1-11. <http://doi.org/10.1201/b12522-36>

Costanzo, L. (2018). Fisiología. Barcelona, España: Elsevier.

Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., ... & Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocrine reviews*, 30(4), 293-342.

Do, L. G., Miller, J., Phelan, C., Sivaneswaran, S., Spencer, A. J., & Wright, C. (2014). Dental caries and fluorosis experience of 8–12-year-old children by early-life exposure to fluoride. *Community dentistry and oral epidemiology*, 42(6), 553-562. <https://doi.org/10.1111/cdoe.12106>

Ghosh, A., Mukherjee, K., Ghosh, S. K., & Saha, B. (2013). Sources and toxicity of fluoride in the environment. *Research on Chemical Intermediates*, 39(7), 2881-2915. <https://doi.org/10.1007/s11164-012-0841-1>

Daesslé, L. W., Ruiz-Montoya, L., Tobschall, H. J., Chandrajith, R., Camacho-Ibar, V. F., Mendoza-Espinosa, L. G., ... & Lugo-Ibarra, K. C. (2009). Fluoride, nitrate and water hardness in groundwater supplied to the rural communities of Ensenada County, Baja California, Mexico. *Environmental geology*, 58(2), 419-429. <https://doi.org/10.1007/s00254-008-1512-9>



- Das, K., & Mondal, N. K. (2016). Dental fluorosis and urinary fluoride concentration as a reflection of fluoride exposure and its impact on IQ level and BMI of children of Laxmisagar, Simlapal Block of Bankura District, WB, India. *Environmental monitoring and assessment*, 188(4), 218. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5219-1>
- Dean, H. T., & Elvove, E. (1936). Some epidemiological aspects of chronic endemic dental fluorosis. *Am J Public Health* 26: 567-575.
- Dean, H. T. (1942). The investigation of physiological effects by the epidemiological method. In F. R. Moulton (Ed.), *Fluorine and dental health* Vol 19, (pp. 23–31). Washington, DC: American Association for the Advancement of Science
- de Leeuw, N. H. (2004). Resisting the onset of hydroxyapatite dissolution through the incorporation of fluoride. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(6), 1809-1811. <https://doi.org/10.1021/jp036784v>
- Del Razo, L. M., Corona, J. C., García-Vargas, G., Albores, A., & Cebrián, M. E. (1993). Fluoride levels in well-water from a chronic arsenicism area of northern Mexico. *Environmental Pollution*, 80(1), 91-94.
- Department of Health and Human Services (DHHS) (1991). Review of fluoride: benefits and risks – Report of the ad hoc subcommittee on fluoride and the committee to coordinate environmental health and related programs. Public Health Service, Washington, DC. Fecha de acceso: 04-04-20, de https://centerforinquiry.org/wp-content/uploads/sites/33/quackwatch/phs_1991.pdf
- Després, J. P. (2006). Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome?. *Annals of medicine*, 38(1), 52-63. <https://doi.org/10.1080/07853890500383895>
- Dey, S., & Giri, B. (2016). Fluoride fact on human health and health problems: a review. *Med Clin Rev*, 2(1), 11. <https://doi.org/10.21767/2471-299X.1000011>



- Dhurvey, V., Patil, V., & Thakare, M. (2017). Effect of sodium fluoride on the structure and function of the thyroid and ovary in albino rats (*rattus norvegicus*). *Fluoroide*, 50, 235-246.
- Díaz-Barriga, F., Navarro-Quezada, A., Grijalva, M.I., Grimaldo, M., Loyola-Rodriguez, J.P. and Ortiz, M.D. (1997) Endemic fluorosis in Mexico. *Fluoride*, 30(4), 233–239.
- Duan, Q., Jiao, J., Chen, X., & Wang, X. (2018). Association between water fluoride and the level of children's intelligence: a dose–response meta-analysis. *Public Health*, 154, 87-97.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.puhe.2017.08.013>
- Duntas, L. H., & Brenta, G. (2018). A renewed focus on the association between thyroid hormones and lipid metabolism. *Frontiers in endocrinology*, 9, 511.
<https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00511>
- Eager, J. M. (1901). Denti di Chiaie teeth. *Public Health Rep.*, 16, 2576-2577.
- Ecosystem Sciences Foundation (ESF)—Dirección de Medio Ambiente y Ecología (DMAE) (2006). Well water quality in San Miguel de Allende. Phase I: results and conclusions. 280 N 8th, St., Ste. 208 Boise, Idaho 83702.
<http://www.ecosystemsciences.com/Portals/0/pdfs/Drinking%20Water%20Quality%20in%20San%20Miguel,%20Mexico.pdf>.
- Ekstrand, J., Fomon, S. J., Ziegler, E. E., & Nelson, S. E. (1994). Fluoride pharmacokinetics in infancy. *Pediatric research*, 35(2), 157-163.
- Environmental Protection Agency (EPA). (2011). Questions and answers on fluoride. Fecha de acceso: 26-03-20, de
https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-10/documents/2011_fluoride_questionsanswers.pdf
- Environmental Protection Agency (EPA). (2010). Fluoride: Dose-Response Analysis For Non-cancer Effects. 820-R-10-019. Health and Ecological Criteria Division, Office of Water, Washington, D.C. Fecha de acceso: 25-04-20, de



http://water.epa.gov/action/advisories/drinking/upload/Fluoride_dose_response.pdf

Environmental Protection Agency (EPA). (1997). Methods for the Determination of Organic and Inorganic Compounds in Drinking Water, Volume 1 (EPA/815-R-00-014). Recuperado el 02-05-20, de https://www.nemi.gov/methods/method_summary/4674/

Environmental Protection Agency (EPA). (1974). Fluoride (Potentiometric, Ion Selective Electrode). Recuperado el 02-05-20, de https://www.nemi.gov/methods/method_summary/5774/

Environmental Protection Agency (1987). IRIS —Integrated Risk Information System. Fluorine (soluble fluoride) CASRN 7782-41-4. Fecha de acceso: 03-04-20, de https://cfpub.epa.gov/ncea/iris2/chemicalLanding.cfm?substance_nmbr=53

Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285(19):2486–2497. <https://doi.org/10.1001/jama.285.19.2486>

Fa-Fu, L., Aihaiti, H. X. Z., Jin, L., Ji-Yong, J., & Maimaiti, A. (1991). The relationship of a low-iodine and high-fluoride environment to subclinical cretinism in Xinjiang. *Iodine Deficiency Disorder Newsletter*, 7(3), 24-25.

Fawell, John, Bailey, K, Chilton, J, Dahi, E, Fewtrell, Lorna. *et al.* (2006). Fluoride in drinking-water./ J. Fawell ... [et al.]. World Health Organization. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/43514>

Featherstone, J. D. (1999). Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community dentistry and oral epidemiology*, 27(1), 31-40.

Featherstone, J. D. (2008). Dental caries: a dynamic disease process. *Australian dental journal*, 53(3), 286-291. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00064.x>



- Flora, S. J. S., Mittal, M., & Mishra, D. (2009). Co-exposure to arsenic and fluoride on oxidative stress, glutathione linked enzymes, biogenic amines and DNA damage in mouse brain. *Journal of the neurological sciences*, 285(1-2), 198-205. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2009.07.001>
- Flores-Ramírez, R., Pérez-Vázquez, F. J., Medellín-Garibay, S. E., Aldrete, A. C., Vallejo-Pérez, M. R., de León-Martínez, L. D., ... & Díaz-Barriga, F. (2018). Exposure to mixtures of pollutants in Mexican children from marginalized urban areas. *Annals of global health*, 84(2), 250. <https://doi.org/10.29024/aogh.912>
- Friedewald, W. T., Levy, R. I., & Fredrickson, D. S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical chemistry*, 18(6), 499-502.
- Furukawa, S., Fujita, T., Shimabukuro, M., Iwaki, M., Yamada, Y., Nakajima, Y., ... & Shimomura, I. (2017). Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *The Journal of clinical investigation*, 114(12), 1752-1761. <https://doi.org/10.1172/JCI200421625>.
- Galicia, L., Molina, N., Oropeza, A., Gaona, E., & Juárez, L. (2011). Análisis de la concentración de fluoruro en agua potable de la delegación Tláhuac, Ciudad de México. *Revista internacional de contaminación ambiental*, 27(4), 283-289.
- García-García, J. A., Reding-Bernal, A., & López-Alvarenga, J. C. (2013). Cálculo del tamaño de la muestra en investigación en educación médica. *Investigación en educación médica*, 2(8), 217-224.
- García-Solís, P., Solís-S, J. C., García-Gaytán, A. C., Reyes-Mendoza, V. A., Robles-Osorio, L., Villarreal-Ríos, E., ... & Hernández-Montiel, H. L. (2013). Iodine nutrition in elementary state schools of Queretaro, Mexico: correlations between urinary iodine concentration with global nutrition status



- and social gap index. *Arquivos brasileiros de endocrinologia & metabologia*, 57(6), 473-482.
- Ge, Y., Ning, H., Wang, S., & Wang, J. (2005). DNA damage in thyroid gland cells of rats exposed to long-term intake of high fluoride and low iodine. *Fluoride*, 38(4), 318-323.
- Ge, Y. M., Ning, H., Gu, X., Mei, Y., Yang, X., Qi, Y., & Wang, J. (2013). Effects of high fluoride and low iodine on thyroid function in offspring rats. *Journal of Integrative Agriculture*, 12(3), 502-508. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60251-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60251-8)
- Gilbert, O. (1987). *Statistical methods for environmental pollution monitoring*. New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Gondal, M. A., Habibullah, Y. B., Oloore, L. E., & Iqbal, M. A. (2015). Determination of carcinogenic fluorine in cigarettes using pulsed UV laser-induced breakdown spectroscopy. *Applied optics*, 54(17), 5560-5567. <http://dx.doi.org/10.1364/AO.54.005560>
- Gong, G., Mattevada, S., & O'Bryant, S. E. (2014). Comparison of the accuracy of kriging and IDW interpolations in estimating groundwater arsenic concentrations in Texas. *Environmental research*, 130, 59-69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envres.2013.12.005>
- González-Horta, C., Ballinas-Casarrubias, L., Sánchez-Ramírez, B., Ishida, M. C., Barrera-Hernández, A., Gutiérrez-Torres, D., ... & García-Vargas, G. (2015). A concurrent exposure to arsenic and fluoride from drinking water in Chihuahua, Mexico. *International journal of environmental research and public health*, 12(5), 4587-4601. <https://doi.org/10.3390/ijerph120504587>
- Gore, A. C., Crews, D., Doan, L. L., La Merrill, M., Patisaul, H., & Zota, A. (2014). Introduction to endocrine disrupting chemicals (EDCs)—a guide for public interest organizations and policy makers. In *Endocrine Society* (pp. 1-57).



- Ghosh, A., Mukherjee, K., Ghosh, S. K., & Saha, B. (2013). Sources and toxicity of fluoride in the environment. *Research on Chemical Intermediates*, 39(7), 2881-2915. <https://doi.org/10.1007/s11164-012-0841-1>
- Grimes, D. R. (2015). Commentary on “Are fluoride levels in drinking water associated with hypothyroidism prevalence in England? A large observational study of GP practice data and fluoride levels in drinking water”. *J Epidemiol Community Health*, 69(7), 616-616. <https://doi.org/10.1136/jech-2015-205708>
- Grucka-Mamczar, E., Birkner, E., Kasperczyk, S., Kasperczyk, A., Chlubek, D., Samujlo, D., & Ceglowska, A. (2004). Lipid balance in rats with fluoride-induced hyperglycemia. *Fluoride*, 37(3), 195-200.
- Guo, H., Zhang, Y., Xing, L., & Jia, Y. (2012). Spatial variation in arsenic and fluoride concentrations of shallow groundwater from the town of Shahai in the Hetao basin, Inner Mongolia. *Applied Geochemistry*, 27(11), 2187-2196. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2012.01.016>
- Hadow, J. E., McClain, M. R., Palomaki, G. E., & Hollowell, J. G. (2007). Urine iodine measurements, creatinine adjustment, and thyroid deficiency in an adult United States population. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(3), 1019-1022. <https://doi.org/10.1210/jc.2006-2156>
- Hao, P., Ma, X., Cheng, X., Ba, Y., Zhu, J., & Cui, L. (2010). Effect of fluoride on human hypothalamus-hypophysis-testis axis hormones. *Wei sheng yan jiu= Journal of hygiene research*, 39(1), 53-55.
- Heikens A, Sumarti S, Van Bergen M, Widianarko B, Fokkert L, Van Leeuwen K, Seinen W (2005) The impact of the hyperacid Ijen Crater Lake: risks of excess fluoride to human health. *Sci Total Environ* 346(1):56–69. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.12.007>
- Hermosillo-Muñoz, M. C., Valles-Aragón, M. C., de Lourdes Ballinas-Casarrubias, M., Rocha-Gutiérrez, B. A., & Prieto-Amparan, J. A. (2019). Trazabilidad de



- arsénico en agua de riego agrícola en el centro sur del estado de Chihuahua, México. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35, 81-91. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.esp03.10>
- Hernández-Guerrero, J. C., Ledesma-Montes, C., Cardiel-Nieves, M., & Jiménez-Farfán, D. (2005). Fluoride levels in Mexico City's water supplies. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 21(1), 17-22.
- Hernández-Guerrero, J. C., De La Fuente-Hernández, J., Jiménez-Farfán, M. D., Ledesma-Montes, C., Castañeda-Castaneira, E., Molina-Frechero, N., ... & Moreno-Altamirano, A. (2008). Fluoride content in table salt distributed in Mexico City, Mexico. *Journal of public health dentistry*, 68(4), 242-245. <https://doi.org/10.1111/j.1752-7325.2008.00084.x>
- Hodge, H.C. 1950. The concentration of fluorides in drinking water to give the point of minimum caries with maximum safety. *J. Am. Dent. Assoc.* 40: 436.
- Hou, J. X., Yang, Y. J., Gong, B., Li, S. H., Ding, Z., Wen, S. B., ... & Ba, Y. (2013). The influence of high fluoride exposure in drinking water on endocrine hormone in female. *Zhonghua yu fang yi xue za zhi [Chinese journal of preventive medicine]*, 47(2), 142-146.
- Huizar Álvarez, R., Carrillo Rivera, J. J., & Juárez, F. (2016). Fluoruro en el agua subterránea: niveles, origen y control natural en la región de Tenextepango, Morelos, México. *Investigaciones geográficas*, (90), 40-58. <https://dx.doi.org/10.14350/riq.47374>
- Hurtado-Jiménez, R., & Gardea-Torresdey, J. (2005). Estimación de la exposición a fluoruros en Los Altos de Jalisco, México. *Salud pública de México*, 47(1), 58-63.
- INEGI (2000). XX Censo Nacional de Población, México. Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática.



Instituto Nacional de Salud Pública (2013). Encuesta Nacional de Salud y Nutrición 2012. Resultados por entidad federativa, Chihuahua. Cuernavaca, México: Instituto Nacional de Salud Pública. Disponible en: encuestas.insp.mx

Irigoyen-Camacho, M. E., García-Pérez, A., Mejía-González, A., & Huízar-Alvarez, R. (2016). Nutritional status and dental fluorosis among schoolchildren in communities with different drinking water fluoride concentrations in a central region in Mexico. *Science of the Total Environment*, 541, 512-519. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.09.085>

Jabal, M. S. A., Abustan, I., Rozaimy, M. R., & Al-Najar, H. (2014). Fluoride enrichment in groundwater of semi-arid urban area: Khan Younis City, southern Gaza Strip (Palestine). *Journal of African Earth Sciences*, 100, 259-266. <https://doi.org/10.1016/j.jafrearsci.2014.07.002>

Jarquín-Yáñez, L., Mejía-Saavedra, J. D. J., Molina-Frecherro, N., Gaona, E., Rocha-Amador, D. O., López-Guzmán, O. D., & Bologna-Molina, R. (2015). Association between urine fluoride and dental fluorosis as a toxicity factor in a rural community in the state of San Luis Potosi. *The Scientific World Journal*, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/647184>

Jebb, S. A., Cole, T. J., Doman, D., Murgatroyd, P. R., & Prentice, A. M. (2000). Evaluation of the novel Tanita body-fat analyser to measure body composition by comparison with a four-compartment model. *British Journal of Nutrition*, 83(2), 115-122. <https://doi.org/10.1017/S0007114500000155>

Jiffri, E. H. (2017). Relationship between lipid profile blood and thyroid hormones in patient with type diabetes mellitus. *Advances in Obesity, Weight Management & Control*, 6(6). <https://doi.org/10.15406/aowmc.2017.06.00176>

Jianjie, C., Wenjuan, X., Jinling, C., Jie, S., Ruhui, J., & Meiyang, L. (2016). Fluoride caused thyroid endocrine disruption in male zebrafish (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*, 171, 48-58. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2015.12.010>



- Jiménez, L. V., Guzmán, O. L., Flores, M. C., Costilla-Salazar, R., Hernández, J. C., Contreras, Y. A., & Rocha-Amador, D. O. (2017). In utero exposure to fluoride and cognitive development delay in infants. *Neurotoxicology*, 59, 65-70. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.12.011>
- Jiménez-Córdova, M. I., Cárdenas-González, M., Aguilar-Madrid, G., Sanchez-Peña, L. C., Barrera-Hernández, Á., Domínguez-Guerrero, I. A., ... & Del Razo, L. M. (2018). Evaluation of kidney injury biomarkers in an adult Mexican population environmentally exposed to fluoride and low arsenic levels. *Toxicology and applied pharmacology*, 352, 97-106. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2018.05.027>
- Jiménez-Córdova, M. I., González-Horta, C., Ayllón-Vergara, J. C., Arreola-Mendoza, L., Aguilar-Madrid, G., Villareal-Vega, E. E., ... & Del Razo, L. M. (2019). Evaluation of vascular and kidney injury biomarkers in Mexican children exposed to inorganic fluoride. *Environmental research*, 169, 220-228. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.10.028>
- Jing, S., Xiaoying, D., Ying, X., Rui, L., Mingyu, G., Yuting, C., ... & Yongde, P. (2014). Different levels of thyroid hormones between impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: free T3 affects the prevalence of impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance in opposite ways. *Clinical endocrinology*, 80(6), 890-898. <https://doi.org/10.1111/cen.12384>
- Jirsa, F., Gruber, M., Stojanovic, A., Odour, S., Mader, D., Körner, W. & Schagerl, M. (2013) Major and trace element geochemistry of Lake Bogoria and Lake Nakuru, Kenya, during extreme draught. *Chem Erde*, 73:275–282. <http://doi:10.1016/j.chemer.2012.09.001>
- Khandare, A. L., Gourineni, S. R., & Validandi, V. (2017). Dental fluorosis, nutritional status, kidney damage, and thyroid function along with bone metabolic indicators in school-going children living in fluoride-affected hilly



- areas of Doda district, Jammu and Kashmir, India. *Environmental monitoring and assessment*, 189(11), 579. <https://doi.org/10.1007/s10661-017-6288-5>
- KheradPisheh, Z., Ehrampoush, M. H., Montazeri, A., Mirzaei, M., Mokhtari, M., & Mahvi, A. H. (2016). Fluoride in drinking water in 31 provinces of Iran. *Exposure and Health*, 8(4), 465-474. <https://doi.org/10.1007/s10311-016-0563-5>
- Kheradpisheh, Z., Mirzaei, M., Mahvi, A. H., Mokhtari, M., Azizi, R., Fallahzadeh, H., & Ehrampoush, M. H. (2018). Impact of drinking water fluoride on human thyroid hormones: a case-control study. *Scientific reports*, 8(1), 2674. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20696-4>
- Kimambo, V., Bhattacharya, P., Mtalo, F., Mtamba, J., Ahmad, A. (2019) Fluoride occurrence in groundwater systems at global scale and status of defluoridation – state of the art. *Groundw Sustain Dev*, 9, 100223. <https://doi.org/10.1016/j.gsd.2019.100223>.
- Kiritsy, M. C., Levy, S. M., Warren, J. J., Guha-Chowdhury, N., Heilman, J. R., & Marshall, T. (1996). Assessing fluoride concentrations of juices and juice-flavored drinks. *The Journal of the American Dental Association*, 127(7), 895-902.
- Knudsen, N., Laurberg, P., Rasmussen, L. B., Bülow, I., Perrild, H., Ovesen, L., & Jørgensen, T. (2005). Small differences in thyroid function may be important for body mass index and the occurrence of obesity in the population. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90(7), 4019-4024. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-2225>
- Kumar, V., Chahar, P., Kajjari, S., Rahman, F., Bansal, D. K., & Kapadia, J. M. (2018). Fluoride, Thyroid Hormone Derangements and its Correlation with Tooth Eruption Pattern Among the Pediatric Population from Endemic and Non-endemic Fluorosis Areas. *J Contemp Dent Pract*, 19(12), 1512-1516. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2458>



- Lacobellis, G., Cristina Ribaudó, M., Zappaterreno, A., Valeria Iannucci, C., & Leonetti, F. (2005). Relationship of thyroid function with body mass index, leptin, insulin sensitivity and adiponectin in euthyroid obese women. *Clinical endocrinology*, 62(4), 487-491. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2265.2005.02247.x>
- Leverett, D. (1986). Prevalence of dental fluorosis in fluoridated and nonfluoridated communities—a preliminary investigation. *Journal of public health dentistry*, 46(4), 184-187.
- Levy S. M., Kiritsy, M. C. & Warren, J. J. (1995). Sources of fluoride intake in children. *J Public Health Dent*, 55(1):39–52.
- Limón-Pacheco, J. H., Jiménez-Córdova, M. I., Cárdenas-González, M., Retana, I. M. S., Gonsebatt, M. E., & Del Razo, L. M. (2018). Potential Co-exposure to arsenic and fluoride and biomonitoring equivalents for Mexican children. *Annals of Global Health*, 84(2). <http://doi.org/10.29024/aogh.913>
- Linhares, D. P. S., Garcia, P. V., Amaral, L., Ferreira, T., Cury, J. A., Vieira, W., & dos Santos Rodrigues, A. (2016). Sensitivity of two biomarkers for biomonitoring exposure to fluoride in children and women: A study in a volcanic area. *Chemosphere*, 155, 614-620. <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.04.092>
- Liteplo, R., Gomes, R., Howe, P., & Malcom, H. (2002). Environmental health criteria 227. *World Health Organization*, Geneva.
- Litwack, G. (2018). Human biochemistry. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-63992-1>
- Liu, H., Zeng, Q., Cui, Y., Yu, L., Zhao, L., Hou, C., ... & Jiang, C. (2014). The effects and underlying mechanism of excessive iodide on excessive fluoride-induced thyroid cytotoxicity. *Environmental toxicology and pharmacology*, 38(1), 332-340. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.06.008>



- Liu, L., Wang, M., Li, Y., Liu, H., Hou, C., Zeng, Q., ... & Liu, L. (2019). Low-to-moderate fluoride exposure in relation to overweight and obesity among school-age children in China. *Ecotoxicology and environmental safety*, 183, 109558. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.109558>
- Lodi, C. S., Ramires, I., Pessan, J. P., Neves, L. T. D., & Buzalaf, M. A. R. (2007). Fluoride concentrations in industrialized beverages consumed by children in the city of Bauru, Brazil. *Journal of Applied Oral Science*, 15(3), 209-212.
- Long, Y. G., Wang, Y. N., Chen, J., Jiang, S. F., Nordberg, A., & Guan, Z. Z. (2002). Chronic fluoride toxicity decreases the number of nicotinic acetylcholine receptors in rat brain. *Neurotoxicology and teratology*, 24(6), 751-757.
- Loyola-Rodríguez, J. P., Pozos-Guillén, A. D. J., & Hernández-Guerrero, J. C. (1998). Bebidas embotelladas como fuentes adicionales de exposición a flúor. *Salud pública de México*, 40, 438-441.
- Loyola-Rodríguez, J. P., Pozos-Guillén, A. D. J., Hernández-Guerrero, J. C., & Hernández-Sierra, J. F. (2000). Fluorosis en dentición temporal en un área con hidrofluorosis endémica. *salud pública de méxico*, 42, 194-200.
- Ma, C. G., & Shim, Y. S. (2019). Association of Thyroid-Stimulating Hormone and Thyroid Hormones with Cardiometabolic Risk Factors in Euthyroid Children and Adolescents Aged 10–18 Years: A Population-Based Study. *Scientific reports*, 9(1), 1-9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-51963-7>
- Maia, A. L., Kim, B. W., Huang, S. A., Harney, J. W., & Larsen, P. R. (2005). Type 2 iodothyronine deiodinase is the major source of plasma T 3 in euthyroid humans. *The Journal of clinical investigation*, 115(9), 2524-2533. <https://doi.org/10.1172/JCI25083>
- Mahlknecht, J., Horst, A., Hernández, G., & Araventa, R. (2008). Groundwater geochemistry of the Chihuahua City region in the Rio Conchos Basin



- (northern Mexico) and implications for water resources management. *Hydrological Processes*, 22, 4736–4751. <https://doi.org/10.1002/hyp.7084>
- Malin, A. J., Riddell, J., McCague, H., & Till, C. (2018). Fluoride exposure and thyroid function among adults living in Canada: Effect modification by iodine status. *Environment international*, 121, 667-674. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.09.026>
- Martínez-Mier, E. A., Soto-Rojas, A. E., Ureña-Cirett, J. L., Stookey, G. K., & Dunipace, A. J. (2003). Fluoride intake from foods, beverages and dentifrice by children in Mexico. *Community dentistry and oral epidemiology*, 31(3), 221-230.
- Massart, F., Ferrara, P., & Saggese, G. (2012). Environmental thyroid disruptors and human endocrine health. In *A New look at hypothyroidism*. IntechOpen
- Medina, C., Jáuregui, A., Campos-Nonato, I., & Barquera, S. (2018). Prevalencia y tendencias de actividad física en niños y adolescentes: resultados de Ensanut 2012 y Ensanut MC 2016. *salud pública de méxico*, 60, 263-271. <https://doi.org/10.21149/8819>
- Méndez-Villa, L., García-Solís, P., Solís-s, J. C., García-Gutiérrez, D. G., Pérez-Mora, V. A., Robles-Osorio, L., & Sampson-Zaldívar, E. (2016). High iodine and salt intakes and obesity do not modify the thyroid function in Mexican Schoolchildren. *Biological trace element research*, 172(2), 290-298. <https://doi.org/10.1007/s12011-015-0591-1>
- Menendez, C., Baldelli, R., Camina, J. P., Escudero, B., Peino, R., Dieguez, C., & Casanueva, F. F. (2003). TSH stimulates leptin secretion by a direct effect on adipocytes. *Journal of Endocrinology*, 176(1), 7-12.
- Messaïfa, A. (2008). Fluoride contents in groundwaters and the main consumed foods (dates and tea) in Southern Algeria region. *Environmental geology*, 55(2), 377-383. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-0983-4>



- Michael, M., Barot, V. V., & Chinoy, N. J. (1996). Investigations of soft tissue functions in fluorotic individuals of North Gujarat. *Fluoride*, 29, 63-71.
- Michalski, R. (2018). Ion chromatography applications in wastewater analysis. *Separations*, 5(1), 16. <https://doi.org/10.3390/separations5010016>
- Milionis, A., & Milionis, C. (2013). Correlation between body mass index and thyroid function in euthyroid individuals in Greece. *ISRN biomarkers*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/651494>
- Moghaddam, A. A., & Fijani, E. (2008). Distribution of fluoride in groundwater of Maku area, northwest of Iran. *Environmental geology*, 56(2), 281-287. <https://doi.org/10.1007/s00254-007-1163-2>
- Monarrez-Espino, J., & Greiner, T. (2005). Iodine nutrition among indigenous Tarahumara schoolchildren in Mexico. *European journal of clinical nutrition*, 59(10), 1213-1216.
- Monárrez-Treviño, C., Navarrete-Valencia, R., Martínez-Tapia, M. E., Hernández-Loya, A., & Villegas-Sepúlveda, L. (2014). Hipotiroidismo subclínico en pacientes con síndrome metabólico en la consulta de Medicina interna de un Hospital General en la ciudad de Chihuahua. *Rev Esp Med Quir*, 19(1), 23-29.
- Morales-Arredondo, J. I., Esteller-Alberich, M. V., Hernández, M. A., & Martínez-Florentino, T. A. K. (2018). Characterizing the hydrogeochemistry of two low-temperature thermal systems in Central Mexico. *Journal of Geochemical Exploration*, 185, 93-104. <https://doi.org/10.1016/j.gexplo.2017.11.006>
- Msonda, K. W. M., Masamba, W. R. L., & Fabiano, E. (2007). A study of fluoride groundwater occurrence in Nathenje, Lilongwe, Malawi. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 32(15-18), 1178-1184. <https://doi.org/10.1016/j.pce.2007.07.050>



- Nader, N. S., Bahn, R. S., Johnson, M. D., Weaver, A. L., Singh, R., & Kumar, S. (2010). Relationships between thyroid function and lipid status or insulin resistance in a pediatric population. *Thyroid*, 20(12), 1333-1339. <https://doi.org/10.1089/thy.2010.0180>
- Nair, K., Manji, F. & Gitonga, J. (1984) The occurrence and distribution of fluoride in groundwaters of Kenya. *East Afr Med J*, 61(7):503–512
- Nájera-Haro, B. (2016). *Variación estacional de la calidad del agua en los Acuíferos de Tabalaopa-Aldama y Aldama-San Diego, en Chihuahua, México* (Tesis de maestría). Centro Internacional de Materiales Avanzados (CIMAV), Ciudad Chihuahua, Chih., México.
- Nakamoto, T., & Rawls, H. R. (2018). Fluoride exposure in early life as the possible root cause of disease in later life. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 42(5), 325-330. <https://doi.org/10.17796/1053-4625-42.5.1>
- Naseem, S., Rafique, T., Bashir, E., Bhangar, M. I., Laghari, A., & Usmani, T. H. (2010). Lithological influences on occurrence of high-fluoride groundwater in Nagar Parkar area, Thar Desert, Pakistan. *Chemosphere*, 78(11), 1313-1321. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.01.010>
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine (2020). *Review of the Draft NTP Monograph: Systematic Review of Fluoride Exposure and Neurodevelopmental and Cognitive Health Effects*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/25715>.
- National Research Council (2006). *Fluoride in Drinking Water: A Scientific Review of EPA's Standards*. Washington, DC: The National Academies Press. <https://doi.org/10.17226/11571>.
- National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Pressure in Children and Adolescents (2004). The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure in Children and Adolescents. *Pediatr*, 114 (Supplement 2), 555-76.



Newton, J. N., Verne, J., Dancox, M., & Young, N. (2017). Are fluoride levels in drinking water associated with hypothyroidism prevalence in England? Comments on the authors' response to earlier criticism. *J Epidemiol Community Health*, 71(4), 315-316. <https://doi.org/10.1136/jech-2016-208649>

Norma Mexicana NMX-AA-051-SCFI-2001, "Análisis de agua medición de metales por absorción atómica en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas—método de prueba. Recuperada de: <http://www.economia-nmx.gob.mx/normas/nmx/2010/nmx-aa-051-scfi-2016.pdf> (Fecha de acceso: 12-05-20).

Nor, N. A. M. (2017). Methods and indices in measuring fluorosis: A review. *Archives of Orofacial Sciences*, 12(2), 77-85.

Norma Oficial Mexicana NOM-014-SSA1, "Procedimientos Sanitarios para el Muestreo de Agua para Uso y Consumo Humano en Sistemas de Abastecimiento de Agua Públicos y Privados", Diario Oficial de la Federación, México, D.F., 12 de agosto de 1994. Recuperado el 02-05-20, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/014ssa13.html>

Norma Oficial Mexicana NOM-040-SSA1-1993, "bienes y servicios. sal yodada y sal yodada fluorurada. especificaciones sanitarias", Diario Oficial de la Federación, México, D.F., 29 de noviembre de 1994. Recuperado el 07-05-20, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/040ssa13.html>

Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-2002, " Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo", Diario Oficial de la Federación, México, D.F., 17 de febrero de 2003. Recuperado el 07-05-20, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/087ecolssa.html>

Norma Oficial Mexicana NOM-127-SSA1-1994, "Salud ambiental, agua para uso y consumo humano—límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe



someterse el agua para su potabilización", Diario Oficial de la Federación, México, D.F., 30 de noviembre de 1995. Recuperado el 26-03-20, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/127ssa14.html>

Norma Oficial Mexicana NOM-166-SSA1-1997, "Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos", Diario Oficial de la Federación, México, D.F., 13 de enero de 2000. Recuperado el 07-05-20, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/166ssa17.html>

Nutrient Data Laboratory (2015). USDA National Fluoride Database of Selected Beverages and Foods - Release 2 (2005). Nutrient Data Laboratory, Beltsville Human Nutrition Research Center, ARS, USDA. Recuperado el 24-03-2020, de <https://doi.org/10.15482/USDA.ADC/1178143>.

Oehme, M. y Stray, H. (1981). Una comparación de las técnicas de cromatografía iónica y potenciométrica para la determinación de fluoruro gaseoso y particulado en el aire. *Fresenius 'Journal of Analytical Chemistry*, 306 (5), 356-361.

Organización Mundial de la Salud (2020). *Obesidad y sobrepeso*. Recuperado el 30-04-20, de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

Ortega-Guerrero, M. A. (2009). Presencia, distribución, hidrogeoquímica y origen de arsénico, fluoruro y otros elementos traza disueltos en agua subterránea, a escala de cuenca hidrológica tributaria de Lerma-Chapala, México. *Revista mexicana de ciencias geológicas*, 26(1), 143-161.

Ortiz, D., Castro, L., Turrubiartes, F., Milan, J., & Diaz-Barriga, F. (1998). Assessment of the exposure to fluoride from drinking water in Durango, Mexico, using a geographic information system. *Fluoride*, 31(4), 183-187.

Ortiz-Pérez, D., Rodríguez-Martínez, M., Martínez, F., Borja-Aburto, V. H., Castelo, J., Grimaldo, J. I., ... & Díaz-Barriga, F. (2003). Fluoride-induced disruption



- of reproductive hormones in men. *Environmental Research*, 93(1), 20-30. [https://doi.org/10.1016/S0013-9351\(03\)00059-8](https://doi.org/10.1016/S0013-9351(03)00059-8)
- Ozsvath, D. L. (2009). Fluoride and environmental health: a review. *Rev Environ Sci Biotechnol*, 8(59), 59-79. <https://doi.org/10.1007/s11157-008-9136-9>
- Pacifico, L., Anania, C., Ferraro, F., Andreoli, G. M., & Chiesa, C. (2012). Thyroid function in childhood obesity and metabolic comorbidity. *Clinica Chimica Acta*, 413(3-4), 396-405. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2011.11.013>
- Passarella, G., Vurro, M., D'agostino, V., Giuliano, G., & Barcelona, M. J. (2002). A probabilistic methodology to assess the risk of groundwater quality degradation. *Environmental monitoring and assessment*, 79(1), 57-74.
- Patrick, L. (2009). Thyroid disruption: mechanisms and clinical implications in human health. *Alternative Medicine Review*, 14(4), 326-347.
- Pearce, E. N., & Caldwell, K. L. (2016). Urinary iodine, thyroid function, and thyroglobulin as biomarkers of iodine status. *The American journal of clinical nutrition*, 104(suppl_3), 898S-901S.
- Peckham, S., & Awofeso, N. (2014). Water fluoridation: a critical review of the physiological effects of ingested fluoride as a public health intervention. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/293019>.
- Peckham, S., Lowery, D., & Spencer, S. (2015). Are fluoride levels in drinking water associated with hypothyroidism prevalence in England? A large observational study of GP practice data and fluoride levels in drinking water. *J Epidemiol Community Health*, 69(7), 619-624. <https://doi.org/10.1136/jech-2014-204971>
- Peniche Camps, S., y Mireles Prado, J. (2015). El diamante mexicano: El Bajío bajo los ojos de los gobiernos del BID y del BM. *Trayectorias*, 17 (41), 29-51.



- Pereira, H. A. B. S., Dionizio, A. S., Fernandes, M. S., Araujo, T. T., Cestari, T. M., Buzalaf, C. P., ... & Buzalaf, M. A. R. (2016). Fluoride intensifies hypercaloric diet-induced ER oxidative stress and alters lipid metabolism. *PloS one*, 11(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0158121>
- Pérez, T., Scherman, R., Hernández, R., Rizo, G. & Hernández, M. (2007). Fluorosis dental en niños y flúor en el agua de consumo humano. Mexticacán, Jalisco, México. *Investigación en salud*, 9(3), 214-219.
- Perumal, E., Paul, V., Govindarajan, V., & Panneerselvam, L. (2013). A brief review on experimental fluorosis. *Toxicology letters*, 223(2), 236-251. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2013.09.005>
- Pohl, H. R., & Abadin, H. G. (1995). Utilizing uncertainty factors in minimal risk levels derivation. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 22(2), 180-188.
- Pontigo-Loyola, A. P., Islas-Márquez, A., Loyola-Rodríguez, J. P., Maupome, G., Marquez-Corona, M. L., & Medina-Solis, C. E. (2008). Dental Fluorosis in 12-and 15-Year-Olds at High Altitudes in Above-Optimal Fluoridated Communities in Mexico. *Journal of public health dentistry*, 68(3), <https://doi.org/10.1111/j.1752-7325.2007.00065.x>
- Pornprasert, S., Wanachantararak, P., Kantawong, F., Chamnanprai, S., Kongpan, C., Pienthai, N., ... & Prasannarong, M. (2017). Excessive fluoride consumption increases haematological alteration in subjects with iron deficiency, thalassaemia, and glucose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PD) deficiency. *Environ Geochem Health*, 39(4), 751-758. <https://doi.org/10.1007/s10653-016-9845->
- Prieto-Amparán, J. A., Rocha-Gutiérrez, B. A., Ballinas-Casarrubias, M. D. L., Valles-Aragón, M. C., Peralta-Pérez, M. D. R., & Pinedo-Alvarez, A. (2018). Multivariate and Spatial Analysis of Physicochemical Parameters in an Irrigation District, Chihuahua, Mexico. *Water*, 10(8), 1037. <https://doi.org/10.3390/w10081037>



- Prystupa, J. (2011). Fluorine—a current literature review. An NRC and ATSDR based review of safety standards for exposure to fluorine and fluorides. *Toxicology mechanisms and methods*, 21(2), 103-170. <https://doi.org/10.3109/15376516.2010.542931>
- Rafique, T., Naseem, S., Ozsvath, D., Hussain, R., Bhangar, M. I., & Usmani, T. H. (2015). Geochemical controls of high fluoride groundwater in Umarkot sub-district, Thar Desert, Pakistan. *Science of the Total Environment*, 530, 271-278. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.05.038>
- Rango, T., Vengosh, A., Jeuland, M., Whitford, G. M., & Tekle-Haimanot, R. (2017). Biomarkers of chronic fluoride exposure in groundwater in a highly exposed population. *Science of the Total Environment*, 596, 1-11. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.04.021>
- Regional Committee for the Western Pacific, 035. (1984). WHO guidelines for drinking-water quality. Manila : WHO Regional Office for the Western Pacific. <https://doi.org/10.1007/s12011-013-9844-z>
- Reyes-Gómez, V. M., Alarcón-Herrera, M. T., Gutiérrez, M., & López, D. N. (2013). Fluoride and arsenic in an alluvial aquifer system in Chihuahua, Mexico: contaminant levels, potential sources, and co-occurrence. *Water, Air, & Soil Pollution*, 224(2), 1433. <https://doi.org/10.1007/s11270-013-1433-4>
- Reyes-Gómez, V. M., Alarcón-Herrera, M. T., Gutiérrez, M., & López, D. N. (2015). Arsenic and fluoride variations in groundwater of an endorheic basin undergoing land-use changes. *Archives of environmental contamination and toxicology*, 68(2), 292-304. <https://doi.org/10.1007/s00244-014-0082-y>
- Rębacz-Marón, E., Baranowska-Bosiacka, I., Gutowska, I., Krzywania, N., & Chlubek, D. (2013). The content of fluoride, calcium and magnesium in the hair of young men of the bantu language group from tanzania versus social conditioning. *Biological trace element research*, 156(1-3), 91-95.



- Ribeiro, D. A., Yujra, V. Q., da Silva, V. H. P., Claudio, S. R., Estadella, D., de Barros Viana, M., & Oshima, C. T. F. (2017). Putative mechanisms of genotoxicity induced by fluoride: a comprehensive review. *Environmental Science and Pollution Research*, 24(18), 15254-15259. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9105-3>
- Rizos, C. V., Elisaf, M. S., & Liberopoulos, E. N. (2011). Effects of thyroid dysfunction on lipid profile. *The open cardiovascular medicine journal*, 5, 76. <https://doi.org/10.2174/1874192401105010076>
- Rocha-Amador, D., Navarro, M. E., Carrizales, L., Morales, R., & Calderón, J. (2007). Decreased intelligence in children and exposure to fluoride and arsenic in drinking water. *Cadernos de saúde pública*, 23, S579-S587.
- Rocha-Amador, D. O., Calderón, J., Carrizales, L., Costilla-Salazar, R., & Pérez-Maldonado, I. N. (2011). Apoptosis of peripheral blood mononuclear cells in children exposed to arsenic and fluoride. *Environmental toxicology and pharmacology*, 32(3), 399-405. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2011.08.004>
- Rodríguez-Dozal, S., Alarcón-Herrera, M., Cifuentes, E., Barraza, A., Loyoa-Rodríguez, J. & Sanin, L. (2005). Dental fluorosis in rural communities of Chihuahua, Mexico. *Fluoride*, 38(2), 143-150.
- Rosas-Peralta, M., Medina-Concebida, L. E., Borrayo-Sánchez, G., Madrid-Miller, A., Ramírez-Arias, E., & Pérez-Rodríguez, G. (2016). Hipertensión arterial sistémica en el niño y adolescente. *Revista Médica del Instituto Mexicano del Seguro Social*, 54(S1), 52-66.
- Rotondi, M., Magri, F., & Chiovato, L. (2011). Thyroid and obesity: not a one-way interaction. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 96(2), 344-346. <https://doi.org/10.1210/jc.2010-2515>
- Ruiz-Payan, A. (2006). Chronic effects of fluoride on growth, blood chemistry and thyroid hormones in adolescents residing in three communities in Northern Mexico. *ETD Collection for University of Texas, El Paso*. AAI3214004. <https://digitalcommons.utep.edu/dissertations/AAI3214004>



- Sachdeva, S., Ahmed, J., & Singh, B. (2015). Thyroid dysfunction associated with excess fluoride intakes: Scope for primary prevention. *Thyroid Research and Practice*, 12(2), 50. <https://doi.org/10.4103/0973-0354.156726>
- Salgado-Bustamante, M., Ortiz-Pérez, M. D., Calderón-Aranda, E., Estrada-Capetillo, L., Niño-Moreno, P., González-Amaro, R., & Portales-Pérez, D. (2010). Pattern of expression of apoptosis and inflammatory genes in humans exposed to arsenic and/or fluoride. *Science of the total environment*, 408(4), 760-767. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2009.11.016>
- Sánchez-Romero LM, Barquera S, Campos I, García E, Arellano S, González A, Díaz E, Flores M. (2012). Concentraciones séricas de hormona estimulante de la tiroides (TSH) en niños, adolescentes y adultos mexicanos. Resultados de la ENSANUT 2006. México: Instituto Nacional de Salud Pública.
- Saxena, V., & Ahmed, S. (2001). Dissolution of fluoride in groundwater: a water-rock interaction study. *Environmental geology*, 40(9), 1084-1087. <https://doi.org/10.1007/s002540100290>
- Sarne D. (2016). Effects of the Environment, Chemicals and Drugs on Thyroid Function. En: Feingold KR, Anawalt B, Boyce A, *et al.* Endotext [Internet]. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2000-. Disponible de: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK285560/>.
- Schwartz, G. J. & Work, D. F. (2009). Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *J Am Soc Nephrol.*, 4(11), 1832-643. <https://doi.org/10.2215/CJN.01640309>
- Secretaría de Salud (SSA) (2002). Manual de procedimientos. Toma de medidas clínicas y antropométricas en el adulto y adulto mayor. Recuperado el 06-05-20, de <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/DOCSAL7518.pdf>



- Shamah-Levy, T., Cuevas-Nasu, L., Gaona-Pineda, E. B., Gómez-Acosta, L. M., Morales-Ruán, M. D. C., Hernández-Ávila, M., & Rivera-Dommarco, J. Á. (2018). Sobrepeso y obesidad en niños y adolescentes en México, actualización de la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición de Medio Camino 2016. *salud pública de méxico*, 60(3), 244-253. <https://doi.org/10.21149/8815>
- Shakya, P. R., Gelal, B., Das, B. K. L., Lamsal, M., Pokharel, P. K., Nepal, A. K., ... & Baral, N. (2015). Urinary iodine excretion and thyroid function status in school age children of hilly and plain regions of Eastern Nepal. *BMC research notes*, 8(1), 374. <https://doi.org/10.1186/s13104-015-1359-6>
- Shashi, A., & Singla, S. (2013a). Clinical and biochemical profile of deiodinase enzymes and thyroid function hormones in patients of fluorosis. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 7(4), 100-107.
- Shashi, A., & Singla, S. (2013b). Syndrome of low triiodothyronine in chronic fluorosis. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*, 3(1), 152-160.
- Shimizu, R. (2014). Iodotyrosine deiodinase, a novel target of environmental halogenated chemicals for disruption of the thyroid hormone system in mammals. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 37(9), 1430-1434. <https://doi.org/10.1248/bpb.b14-00240>
- Shimizu, R. (2014). Recent Advances in the Mechanistic Understanding of Endocrine Disruption by Environmental Chemicals. *Biol. Pharm. Bull*, 37(9), 1429.
- Simpson, G., & Wu, Y. H. (2014). Accuracy and effort of interpolation and sampling: can GIS help lower field costs?. *ISPRS International Journal of Geo-Information*, 3(4), 1317-1333. <https://doi.org/10.3390/ijgi3041317>



- Singh, B., Gaur, S., & Garg, V. K. (2007). Fluoride in drinking water and human urine in Southern Haryana, India. *Journal of hazardous materials*, 144(1-2), 147-151. <http://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2006.10.010>
- Singh, N., Verma, K. G., Verma, P., Sidhu, G. K., & Sachdeva, S. (2014). A comparative study of fluoride ingestion levels, serum thyroid hormone & TSH level derangements, dental fluorosis status among school children from endemic and non-endemic fluorosis areas. *Springerplus*, 3(1), 7. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-7>
- Soto-Rojas, A. E., Ureña-Cirett, J. L., & Martínez-Mier, E. D. L. A. (2004). A review of the prevalence of dental fluorosis in Mexico. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 15, 9-17.
- Sun, L., Gao, Y., Liu, H., Zhang, W., Ding, Y., Li, B., ... & Sun, D. (2013). An assessment of the relationship between excess fluoride intake from drinking water and essential hypertension in adults residing in fluoride endemic areas. *Science of the Total Environment*, 443, 864-869. <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.11.021>
- Surks, M. I., Ortiz, E., Daniels, G. H., Sawin, C. T., Col, N. F., Cobin, R. H., ... & Gorman, C. (2004). Subclinical thyroid disease: scientific review and guidelines for diagnosis and management. *Jama*, 291(2), 228-238. <https://doi.org/10.1001/jama.291.2.228>
- Susheela, A. K., Bhatnagar, M., Vig, K., & Mondal, N. K. (2005). Excess fluoride ingestion and thyroid hormone derangements in children living in Delhi, India. *Fluoride*, 38(2), 98-108.
- Susheela, A. K., Mondal, N. K., Tripathi, N., & Gupta, R. (2014). Early diagnosis and complete recovery from fluorosis through practice of interventions. *JAPI*, 62, 573.



- Susheela, A. K., Gupta, R., & Mondal, N. K. (2016). Anaemia in adolescent girls: An intervention of diet editing and counselling. *The National medical journal of India*, 29(4), 200.
- Susheela, A. K., & Toteja, G. S. (2018). Prevention & control of fluorosis & linked disorders: Developments in the 21st Century-Reaching out to patients in the community & hospital settings for recovery. *The Indian journal of medical research*, 148(5), 539. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_1775_18
- Sutton, M., Kiersey, R., Farragher, L., & Long, J. (2015). Health effects of water fluoridation: an evidence review. Report conducted for Republic of Ireland's Department of Health.
- Tamer, M. N., Köroğlu, B. K., Arslan, Ç., Akdoğan, M., Köroğlu, M., Çam, H., & Yildiz, M. (2007). Osteosclerosis due to endemic fluorosis. *Science of the total environment*, 373(1), 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2006.10.051>
- Tapia-Conyer, R. (2016). El manual de salud pública. México: Intersistemas
- Thole, B. (2013) Ground water contamination with fluoride and potential fluoride removal technologies for East and Southern Africa. In Ahmad, Dar (ed) *Perspective in water pollution*. <http://www.intechopen.com>. Recuperado el 28-03-20.
- Thylstrup, A. & Fejerskov, O., (1978). Clinical appearance of dental fluorosis in permanent teeth in relation to histologic changes. *Community Dent. Oral Epidemiol.* 6, 315–328. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0528.1978.tb01173.x>
- Tiwari, H., & Rao, M. V. (2010). Curcumin supplementation protects from genotoxic effects of arsenic and fluoride. *Food and chemical toxicology*, 48(5), 1234-1238. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.02.015>
- Trejo, R., Alarcón, M., Martínez, Y., Romero, P., y Moysén, J. (1997). Niveles de fluoruros en el agua de los pozos de la ciudad de Durango. Tecnología y



ciencias del agua, [S.l.], v. 12, n. 3, p. 51-57, dic. 2015. ISSN 2007-2422.

Disponible

en:

<http://www.revistatyca.org.mx/ojs/index.php/tyca/article/view/776> (Fecha de acceso: 30 mar. 2020)

Trejo-Vázquez, R., & Bonilla-Petriciolet, A. (2001). Exposición a fluoruros del agua potable en la ciudad de Aguascalientes, México. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 10, 108-113.

Uribe-Carvajal, R., Jiménez-Aguilar, A., Morales-Ruan, M. D. C., Salazar-Coronel, A. A., & Shamah-Levy, T. (2018). Percepción del peso corporal y de la probabilidad de desarrollar obesidad en adultos mexicanos. *salud pública de méxico*, 60, 254-262. <https://doi.org/10.21149/8822>

Valdez, L., Calderón, J., Córdova, R., Sandoval, S., Alegría, J., Costilla, R. & Rocha, D. (2018). Dosis de exposición a fluoruros por el consumo de diferentes tipos de leche en residentes de una zona con hidrofluorosis endémica en México. *An Pediatr*, 90(6). <https://doi.org/10.1016/j.anpedi.2018.10.005>

Valdez-Jiménez, L., López-Guzmán, O., Cervantes-Flores, M., Costilla-Salazar, R., Calderón-Hernández, J., Alcaraz-Contreras, Y., & Rocha-Amador, D. O. (2017). In utero exposure to fluoride and cognitive development delay in infants. *Neurotoxicology*, 59, 65-70. <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuro.2016.12.011>

Valenzuela-Vásquez, L., Ramírez-Hernandez, J., Reyes-Lopez, J., Sol-Uribe, A., & Lázaro-Mancilla, O. (2006). The origin of fluoride in groundwater supply to Hermosillo City, Sonora, Mexico. *Environmental Geology*, 51(1), 17-27. <https://doi.org/10.1007/s00254-006-0300-7>

Van Loveren, C., Ketley, C. E., Cochran, J. A., Duckworth, R. M., & O'Mullane, D. M. (2004). Fluoride ingestion from toothpaste: fluoride recovered from the



- toothbrush, the expectorate and the after-brush rinses. *Community dentistry and oral epidemiology*, 32, 54-61.
- Villalpando, S., García-Guerra, A., Ramírez-Silva, C. I., Mejía-Rodríguez, F., Matute, G., Shamah-Levy, T., & Rivera, J. A. (2003). Iron, zinc and iodide status in Mexican children under 12 years and women 12-49 years of age. A probabilistic national survey. *salud pública de méxico*, 45(S4), 520-529.
- Villarreal-Vega E.E., (2017). Evaluación del estrés oxidante y efectos proinflamatorios en una población de Chihuahua expuesta ambientalmente a fluoruro y a fluoruro arsénico. Tesis de maestría en Ciencias en Biotecnología. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México.
- Vine, M. F., Degnan, D., & Hanchette, C. (1997). Geographic information systems: their use in environmental epidemiologic research. *Environmental health perspectives*, 105(6), 598-605.
- Wadhwa, N., Mathew, B. B., Jatawa, S., & Tiwari, A. (2012). Lipid peroxidation: mechanism, models and significance. *Int J Curr Sci*, 3, 29-38.
- Wahlefeld, A. W. (1974). Triglycerides determination after enzymatic hydrolysis. In *Methods of enzymatic analysis* (pp. 1831-1835). Academic Press.
- Wang, Y., Yin, Q., Xu, M., Ni, Q., Wang, W., & Wang, Q. (2017). BMI modulates the effect of thyroid hormone on lipid profile in euthyroid adults. *International journal of endocrinology*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8591986>
- Wang, J., Markesbery, W. R., & Lovell, M. A. (2006). Increased oxidative damage in nuclear and mitochondrial DNA in mild cognitive impairment. *Journal of neurochemistry*, 96(3), 825-832. <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2005.03615.x>
- Wang, S. X., Wang, Z. H., Cheng, X. T., Li, J., Sang, Z. P., Zhang, X. D., ... & Wang, Z. Q. (2007). Arsenic and fluoride exposure in drinking water: children's IQ and growth in Shanyin county, Shanxi province,



- China. *Environmental health perspectives*, 115(4), 643-647.
<https://doi.org/10.1289/ehp.9270>
- Wang, H., Yang, Z., Zhou, B., Gao, H., Yan, X., & Wang, J. (2009). Fluoride-induced thyroid dysfunction in rats: roles of dietary protein and calcium level. *Toxicology and industrial health*, 25(1), 49-57.
<https://doi.org/10.1177/0748233709102720>
- Waugh, D. T., Potter, W., Limeback, H., & Godfrey, M. (2016). Risk assessment of fluoride intake from tea in the Republic of Ireland and its implications for public health and water fluoridation. *International journal of environmental research and public health*, 13(3), 259.
<https://doi.org/10.3390/ijerph13030259>
- Waugh, D. T., Godfrey, M., Limeback, H., & Potter, W. (2017). Black tea source, production, and consumption: assessment of health risks of fluoride intake in New Zealand. *Journal of environmental and public health*, 17.
<https://doi.org/10.1155/2017/5120504>
- Waugh, D. T. (2017). Fluoride exposure and indicators of thyroid functioning: study design and data analysis considerations. *J Epidemiol Community Health*, 71(12), 1226-1226. <http://dx.doi.org/10.1136/jech-2017-209956>
- Weiss, R., Dziura, J., Burgert, T. S., Tamborlane, W. V., Taksali, S. E., Yeckel, C. W., ... & Sherwin, R. S. (2004). Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *New England journal of medicine*, 350(23), 2362-2374.
- Wen, D., Zhang, F., Zhang, E., Wang, C., Han, S., & Zheng, Y. (2013). Arsenic, fluoride and iodine in groundwater of China. *Journal of Geochemical Exploration*, 135, 1-21. <http://dx.doi.org/10.1016/j.gexplo.2013.10.012>
- Whelton, H. P., Ketley, C. E., McSweeney, F., & O'Mullane, D. M. (2004). A review of fluorosis in the European Union: prevalence, risk factors and aesthetic issues. *Community dentistry and oral epidemiology*, 32, 9-18.



- Witkowska-Sędek, E., Kucharska, A., Rumińska, M., & Pyrżak, B. (2017). Thyroid dysfunction in obese and overweight children. *Endokrynologia Polska*, 68(1), 54-60. <https://doi.org/10.5603/EP.2017.0007>
- Witte, T., Ittermann, T., Thamm, M., Riblet, N. B., & Völzke, H. (2015). Association between serum thyroid-stimulating hormone levels and serum lipids in children and adolescents: a population-based study of german youth. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(5), 2090-2097. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-4466>
- World Health Organization. International Programme on Chemical Safety. (2002). Fluorides. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42415>
- World Health Organization. (2004). *Fluoride in drinking water. Background document of WHO guidelines for drinking-water quality*. Génova: World Health Organization. Recuperado el 28-03-20, de https://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/fluoride.pdf
- World Health Organization. (2011). *Guidelines for drinking-water quality (4th Ed.)*. Génova: World Health Organization. Recuperado el 28-03-20, de https://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/
- World Health Organization (2011). Anthro for personal computers, version 3.2.2. Software for assessing growth and development of the world's children. Geneva: <http://www.who.int/childgrowth/software/es/> (Último acceso Mayo 2020).
- World Health Organization. (2019). *Preventing disease through healthy environments: inadequate or excess fluoride: a major public health concern* (No. WHO/CED/PHE/EPE/19.4. 5). <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/329484/WHO-CED-PHE-EPE-19.4.5-eng.pdf?ua=1>



- Xiang, Q., Chen, L., Liang, Y., Wu, M., & Chen, B. (2009). Fluoride and thyroid function in children in two villages in China. *Journal of Toxicology and Environmental Health Sciences*, 1(3), 054-059.
- Xiong, X., Liu, J., He, W., Xia, T., He, P., Chen, X., ... & Wang, A. (2007). Dose-effect relationship between drinking water fluoride levels and damage to liver and kidney functions in children. *Environmental Research*, 103(1), 112-116. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2006.05.008>
- Xu, R., Huang, F., Zhang, S., Lv, Y., & Liu, Q. (2019). Thyroid function, body mass index, and metabolic risk markers in euthyroid adults: a cohort study. *BMC endocrine disorders*, 19(1), 58. <https://doi.org/10.1186/s12902-019-0383-2>
- Yang, Y., Wang, X., Guo, X., & Hu, P. (2008). The effects of high levels of fluoride and iodine on child intellectual ability and the metabolism of fluoride and iodine. *Fluoride*, 41(4), 336-339.
- Yao, L., Zhuo, J., Wang, X., Cui, Q., & Lin, F. (1996). Analysis on the Correlation Between TSH and Intelligence in Children with Dental Fluorosis from Endemic Fluorosis Regions. *Literature and Information on Preventive Medicine*, 2(1), 42-43.
- Yousefi, M., Yaseri, M., Nabizadeh, R., Hooshmand, E., Jalilzadeh, M., Mahvi, A. H., & Mohammadi, A. A. (2018). Association of hypertension, body mass index, and waist circumference with fluoride intake; water drinking in residents of fluoride endemic areas, Iran. *Biological trace element research*, 185(2), 282-288. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1269-2>
- Zacarias-Estrada O.L., (2009). Efectos a la salud de poblaciones expuestas a arsénico y flúor en agua de consume en comunidades rurales del estado de Chihuahua y su relación con el síndrome metabólico. Tesis de Maestría en Ciencias en Biotecnología. Universidad Autónoma de Chihuahua. Chihuahua, México.



- Zhang, Y., Xie, L., Li, X., Chai, L., Chen, M., Kong, X., ... & Wang, H. (2018). Effects of fluoride on morphology, growth, development, and thyroid hormone of Chinese toad (*Bufo gargarizans*) embryos. *Environmental and molecular mutagenesis*, 59(2), 123-133. <https://doi.org/10.1002/em.22147>
- Zhu X., Cheng S. (2016) Thyroid Hormone Nuclear Receptors and Molecular Actions. In: Belfiore A., LeRoith D. (eds) Principles of Endocrinology and Hormone Action. Endocrinology. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-27318-1_10-1
- Zohouri, F. V., Swinbank, C. M., Maguire, A., & Moynihan, P. J. (2006). Is the fluoride/creatinine ratio of a spot urine sample indicative of 24-h urinary fluoride?. *Community dentistry and oral epidemiology*, 34(2), 130-138.
- Zou, G., Xue, K., Huang, D., Su, C. & Sun, J. (2010). The comparison and study of small sample data spatial interpolation accuracy. *Sixth International Conference on Natural Computation*, 4, 1897-1900.



VIII. APÉNDICES

Apéndice I. Consentimiento informado.

FOLIO: _____



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH)

Consentimiento para que su hijo(a) participe en un estudio de Investigación Biomédica

Título del Estudio: “Asociación entre función tiroidea y exposición a fluoruro en niños de la ciudad de Chihuahua”

Investigador Principal:

Dra. María del Carmen González Horta
Universidad Autónoma de Chihuahua,

Número telefónico:

614-236-6000 ext 4267

Dirección electrónica:

carmengonzalez@uach.mx

¿Cuáles son las cosas generales que usted debe saber de los estudios de investigación?

A su hijo(a) se le ha pedido que forme parte de este estudio de investigación. La participación de su hijo(a) en este estudio es voluntaria. Usted puede negarse a la participación de su hijo(a) o puede retirarse del estudio posteriormente por cualquier razón sin ser sancionado. Los estudios de investigación están diseñados para obtener nuevos conocimientos que pueden ayudar a otras personas en el futuro. Su hijo(a) puede no recibir un beneficio directo en esta investigación.

También puede haber riesgos en los estudios de investigación.

El decidir que su hijo(a) no esté en el estudio o dejar el estudio antes de que éste termine, no afectará la relación que usted tiene con los investigadores o con la escuela. Su hijo(a) no tiene que estar en este estudio para recibir servicios de salud ni de educación.

Los detalles de esta investigación están descritos más adelante. Es importante que entienda esta información para que pueda tomar una decisión con respecto a este estudio de investigación. Se le proporcionará una copia de esta solicitud de consentimiento. Usted puede en cualquier momento, preguntarles a los investigadores nombrados arriba o a los miembros del equipo que los asiste cualquier duda que tenga acerca de este estudio.

¿Cuál es el propósito de este estudio?

El propósito de este estudio es examinar como la presencia de fluoruro presente en el agua para beber afecta la salud de los niños. Le pedimos que su hijo(a) participe en este estudio porque vive en un área donde el agua para beber puede estar contaminada con flúor. Su hijo(a) puede participar en este estudio solo si ha vivido en este lugar al menos por los últimos 3 años. Los investigadores determinarán la cantidad de fluoruro en el agua que su hijo(a) bebe, así como en



su orina y suero. También examinarán signos de posibles enfermedades que su hijo(a) pudo haber desarrollado, incluyendo enfermedad tiroidea y renal, y sugerirán un tratamiento apropiado. Cuando el estudio sea completado, este estudio podrá ayudar a entender como el fluoruro en el agua de bebida causa ciertas enfermedades y podría ayudar en el futuro al tratamiento de éstas.

¿Existen algunas razones por las cuales su hijo(a) no debería participar en este estudio?

Su hijo(a) no puede ser incluido si tiene enfermedad renal crónica y/o problemas cardiacos, o si desarrolló alguna de estas enfermedades antes de mudarse a esta área. También se le excluirá a su hijo(a) si se encuentra gravemente enfermo, si se encuentra bajo tratamiento contra cáncer o si utiliza cierto tipo de medicamentos o suplementos alimenticios.

¿Cuántas personas participarán en este estudio?

Los participantes de este estudio serán reclutados de varios lugares del estado de Chihuahua, México. Si decide que su hijo(a) participe, él/ella será uno de aproximadamente 120 niños en este estudio.

¿Cuánto tiempo durará este estudio?

Este proyecto será completado en 2 años. Su principal participación será durante el año 2019 pero podrá ser requerida a lo largo de todo el proyecto.

¿Qué tendrá que hacer si usted y su hijo(a) aceptan formar parte de este estudio?

El proyecto se llevará a cabo en cuatro etapas:

1. La primera etapa consiste en una reunión en donde se proporcione la información sobre los objetivos, medios y fines del estudio con el fin de resolver toda las dudas que surjan a los tutores legales de los niños. El padre, madre o tutor del menor tendrá que firmar una carta de consentimiento para autorizar la participación del menor en el estudio. Los niño(a)s que decidan participar también firmarán una carta de asentimiento donde expresan que están de acuerdo en proporcionar una muestra de sangre, orina y agua para analizarlos y solo así podrán formar parte del estudio. Se realizará una valoración de fluorosis dental y se tomarán medidas de presión arterial y talla y peso. Se les dará información necesaria para la toma de muestras de orina y agua y los recipientes para la recolección.
2. En esta segunda etapa consistirá en la recolección de muestras de orina y de agua para los análisis químicos y de acuerdo a los resultados se informará a los padres si el niño o niña ha sido seleccionado dentro de alguno de los diferentes grupos incluidos en nuestro estudio. Se proporcionará la información necesaria para acudir a la tercera etapa.



3. En la tercera etapa se hará la toma de muestras de sangre para los análisis de la función tiroidea. Los padres de familia de los participantes seleccionados para la fase de evaluación de parámetros clínicos responderán un cuestionario sobre hábitos, condiciones de vivienda y exposición a otros contaminantes, con ayuda de un encuestador entrenado.
4. En la etapa final se hará la entrega de los resultados de manera personal a los padres de familia.
5. La colección de sangre, la aplicación del cuestionario, así como la evaluación física y odontológicas se llevarán a cabo en las instalaciones de la escuela primaria bajo la supervisión del investigador principal del proyecto.

¿Qué se hará con las muestras de sangre y orina de mi hijo(a) cuando se termine este estudio?

Nosotros le pedimos permiso para almacenar las muestras de orina, de sangre y de material genético extraídos de la sangre de su hijo(a) para estudios futuros. Si usted está de acuerdo que su hijo(a) participe le pediremos que firme el consentimiento para que estas muestras puedan ser guardadas hasta 5 años después de haber completado el estudio.

¿Cuáles son los beneficios de que mi hijo(a) esté en este estudio?

Los beneficios que usted y su hijo(a) pueden tener al estar en este estudio son: la evaluación de la cantidad de fluoruro que su hijo(a) consume en el agua que bebe, un examen general de orina, conocer el estado general de salud de su hijo(a), una evaluación clínica del perfil tiroideo, la revisión médica por un facultativo y la revisión de la salud bucal de su hijo(a), con la finalidad de saber las posibles enfermedades que puede tener como resultado del consumo de esta agua.

¿Cuáles son los posibles riesgos o incomodidades de que mi hijo(a) esté en el estudio de investigación?

Un pequeño riesgo para su hijo(a) está asociado con la muestra de sangre. La sangre será colectada por enfermeras profesionales o químicos calificados. Su hijo(a) experimentará un pequeño dolor al momento de sacar la sangre. Ocasionalmente se forma un moretón en el lugar del piquete. Se utilizará material nuevo y estéril para evitar infecciones. Usted tendrá que contactarnos o bien a su médico si en su hijo(a) aparece alguna irritación o dolor en el área del piquete después de haber salido de la escuela. En caso de alguna emergencia durante la colección de sangre, será llevado inmediatamente al hospital más cercano o a una clínica de emergencia.

Si usted decide que su hijo(a) participe en este estudio ¿Tiene opciones de tratamiento médico?

Usted puede decidir que su hijo(a) participe o no en este estudio. Cabe destacar que este estudio no le dará un tratamiento para las enfermedades causadas por la



exposición a fluoruro en el agua para beber. Usted tendrá que contactar a su médico para recibir este tratamiento.

¿Qué pasa si descubrimos nueva información durante este estudio?

A usted se le dará la nueva información que obtengamos sobre su hijo(a) durante el curso del presente estudio, aun cuando esta nueva información afecte la aprobación para que su hijo(a) participe en este estudio.

¿Cómo se protegerá su privacidad?

Toda su información personal se mantendrá guardada en un lugar seguro en la oficina de la Dra. González-Horta en la Universidad Autónoma de Chihuahua. El nombre de su hijo(a) será sustituido por un número de folio que será usado posteriormente para la identificación de sus muestras. Esta información no se dará a ningún otro miembro del equipo dentro o fuera de la Ciudad de Chihuahua. Únicamente la Doctora González-Horta. Esta información será almacenada en la oficina de la Dra. González-Horta hasta por cinco años después de que haya terminado la investigación y posteriormente será destruida. Si nosotros encontramos que su hijo(a) tiene una enfermedad causada por el fluoruro le pediremos permiso para transmitir esta información a su médico. En ninguna publicación acerca de este estudio aparecerán los nombres de los niños participantes en el estudio. Los resultados serán analizados en forma grupal y no individual, por lo tanto, ninguna persona ajena al estudio sabrá de sus respuestas o de sus resultados.

¿Qué pasará si usted quiere que su hijo(a) deje de participar en este estudio antes de que este concluya?

Usted puede decidir que su hijo(a) deje de participar en cualquier momento a lo largo de este estudio sin ser sujeto a ninguna medida de presión. Los investigadores también tienen el derecho de pedirle a usted que su hijo(a) deje de participar en este estudio en cualquier momento. Esto podría ser debido a que su hijo(a) presente alguna reacción adversa grave por algún procedimiento, porque no se haya seguido las instrucciones de este estudio o bien porque todo el estudio ha sido suspendido.

¿Qué recibirá usted a cambio por estar en este estudio?

Usted recibirá sin costo alguno los resultados clínicos del examen general de orina y el perfil tiroideo, así como, los resultados de la evaluación antropométrica y odontológica de su hijo(a) por su participación en este estudio.

¿Cuánto le costará participar en este estudio?

A usted no le costará nada. Todas las pruebas y exámenes médicos asociados con la participación de su hijo(a) en esta investigación serán gratuitas para usted.

¿Quién realiza este estudio?

Esta investigación será realizada por la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). Los investigadores no tienen un interés financiero con ninguna agencia o con los resultados finales de este estudio.



Apéndice II. Asentimiento informado.

FOLIO: _____



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE
CHIHUAHUA

Autónoma de Chihuahua (UACH)

Asentimiento informado para que participes en un estudio de Investigación Biomédica

Hola, somos un grupo de investigación que trabajamos en la Universidad Autónoma de Chihuahua (UACH). La responsable de la investigación es la Dra. María del Carmen González Horta. Vamos a realizar un estudio que se llama “Asociación entre función tiroidea y exposición a fluoruro en niños de la ciudad de Chihuahua”. Este estudio lo realizamos para saber si el fluoruro que es un contaminante que se encuentra en el agua de bebida te está causando algún daño a ti o a otros niños de tu comunidad.

Te estamos pidiendo a ti que participes porque vives en una zona donde es posible que exista una alta concentración de fluoruro en el agua que tomas y queremos saber si eso te puede causar alguna enfermedad a ti o a otros de tus compañeros. Por este motivo me gustaría saber si te gustaría participar en este estudio. Ya hemos hablado con tus padres y ellos saben que te estamos preguntando. No tienes que contestar ahora, puedes pensarlo y hablarlo con tus padres. Si no entiendes cualquier cosa puedes preguntar lo que quieras y las veces que quieras, que yo te explicaré lo que necesites. Si decides participar:

1. Le pediremos a tu mamá o papá que cuando vayas al baño en la mañana nos guarde un poco de tu orina en un frasco que yo le daré, esto no te causará ningún dolor.
2. Te pediremos que permitas que se te tome una muestra de sangre, pues la necesitamos para conocer si puedes tener alguna enfermedad. Cuando te saquen la sangre, notarás un piquetito cuando la aguja se introduce en tu piel y a veces puede aparecer un moretón que se quita al cabo de unos días.
3. Se te revisará tu boca para identificar posibles daños en tus dientes.
4. Además, te realizaremos una evaluación física que consiste en medir tu peso, estatura y las medidas de tu cadera, cintura y porcentaje de grasa, lo cual es un procedimiento muy rápido y sencillo que no te provocará ninguna molestia.

Tus muestras serán guardadas y analizadas en la Universidad de Chihuahua, no usaremos tu nombre, es decir, nadie más que nosotros sabrá de quienes son las muestras. Tampoco le diremos a nadie que estás participando en el estudio. Los investigadores medirán el fluoruro en tu orina, revisarán tu sangre y la salud de tus dientes para ver si puede haber algunas enfermedades causadas por el fluoruro en el agua. Los resultados de tus exámenes se los daremos a tus padres en un sobre cerrado y nadie más sabrá de los resultados. Además, si detectamos que

tienes alguna enfermedad les diremos a tus padres para que te lleven a un consultorio y estés bien. Si aceptas participar y después tienes alguna duda, puedes preguntarme todo lo que quieras saber. Aunque ahora decidas participar, si más adelante no quieres continuar puedes dejarlo cuando tú quieras y nadie se molestará por eso.

Si no quieres participar en el estudio no pasa nada, tu participación debe ser voluntaria y no afectará tus calificaciones de la escuela, no te preocupes. Si quieres participar, te pido por favor que hagas un círculo o una marca al dibujo del dedo apuntando hacia arriba y si no quieres haz una marca en el dedo hacia abajo. Eso será suficiente para que nosotros sepamos lo que quieres.

Tú nombre:

Fecha: _____



Sí quiero participar



No quiero Participar

Dra. María del Carmen González Horta (Investigador titular)

Fecha



Apéndice III. Hoja de registro de parámetros clínicos.



Proyecto de Intervención en gestión hídrica de la Escuela Secundaria Estatal 3049

Folio _____
 Edad: _____ Talla: _____ Peso: _____ % grasa: _____
 Diámetro cintura: _____ Diámetro cadera: _____ Presión arterial: _____

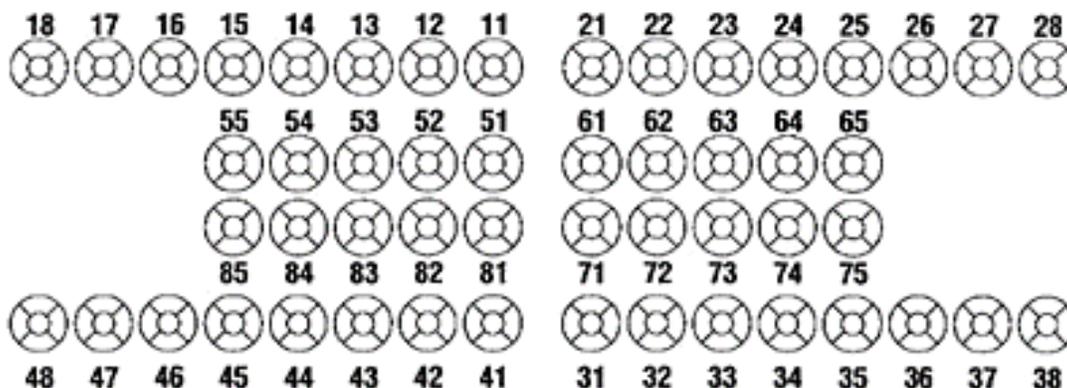
NOTA: GRAPAR REGISTRO DE IMPEDANCIA

Evaluación dental

Clasificación:

Cráneo: Dolicocéfalo Mesocéfalo Braquicéfalo
 Perfil: Recto Cónico Convexo

ODONTOGRAMA



Grados de fluorosis dental TF (Thylstrup-Fejerskov):

0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ()

¿Requiere atención dental? 1. Si () 2. No ()

Observaciones:

Niveles de Fluoruros en orina: _____ mg/L

Niveles de Fluoruros en agua: _____ mg/L

A continuación, te haré algunas preguntas sobre las características de la vivienda donde habitas y algunos datos generales sobre tus padres.

2. Vivienda y características socioeconómicas

<p>2.1. El “jefe de familia” es la persona que aporta la mayor parte del gasto familiar y quien toma las decisiones más importantes de la familia. En tu hogar, ¿quién es el jefe de la familia?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Papá 2) Mamá 3) Otro pariente</p>	<input type="checkbox"/>
<p>2.2. ¿Cuál fue el último año de estudios que aprobó en la escuela el jefe o jefa del hogar?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Sin educación 2) Preescolar 3) Primaria incompleta 4) Primaria completa 5) Secundaria incompleta 6) Secundaria completa 7) Preparatoria incompleta 8) Preparatoria completa 9) Licenciatura incompleta 10) Licenciatura completa 11) Posgrado</p>	<input type="checkbox"/>
<p>2.3. ¿Cuántos baños completos con regadera y excusado hay en tu vivienda?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Ninguno 2) Uno 3) Dos o más</p>	<input type="checkbox"/>
<p>2.4. En tu vivienda, ¿cuántos cuartos se usan para dormir, sin contar pasillos ni baños?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Ninguno 2) Uno 3) Dos 4) Tres 5) Cuatro o más</p>	<input type="checkbox"/>
<p>2.5. ¿Cuántos automóviles o camionetas tienen en tu hogar, incluyendo camionetas cerradas, o con cabina o caja?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Ninguno 2) Uno 3) Dos o más</p>	<input type="checkbox"/>
<p>2.6. Sin tomar en cuenta la conexión móvil que pudieras tener desde algún celular ¿tu hogar cuenta con internet?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Sí 2) No</p>	<input type="checkbox"/>

<p>2.7. De todas las personas de 14 años o más que viven en tu hogar, ¿cuántas trabajaron en el último mes?</p> <p>Espere respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Ninguna 2) Una 3) Dos 4) Tres 5) Cuatro o más</p>	<input type="checkbox"/>																														
<p>3. Exposición a fluoruro</p>																																
<p><i>A continuación, te haré algunas preguntas sobre los lugares donde has vivido, el tipo de agua que utilizas para beber y algunos hábitos de limpieza dental</i></p>																																
<p>3.1. ¿Naciste en la ciudad de Chihuahua?</p>	<p>1) Sí → Pase a 3.3 2) No</p>	<input type="checkbox"/>																														
<p>3.2. ¿En qué ciudad naciste?</p> <p>No olvide anotar ciudad y estado</p>	<p>_____ Ciudad</p> <p>_____ Estado</p>	<input type="text"/> <input type="text"/>																														
<p>3.3. ¿Tu madre vivió en (<i>Lugar de nacimiento</i>) durante el transcurso de su embarazo?</p>	<p>1) Sí → Pase a 3.5 2) No 3) No sabe → ↑</p>	<input type="checkbox"/>																														
<p>3.4. ¿En dónde vivió durante el embarazo?</p> <p>No olvide anotar ciudad y estado</p>	<p>_____ Ciudad</p> <p>_____ Estado</p>	<input type="text"/> <input type="text"/>																														
<p>3.5. ¿Cuánto tiempo tienes viviendo en tu actual dirección?</p>	<p>_____ _____ _____ _____ Años</p> <p>_____ _____ _____ _____ Meses</p>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>																														
<p>3.6. ¿Regularmente en tu casa utilizas para beber agua...</p> <p>Lea todas las opciones y en caso afirmativo anote número de vasos promedio por día. <u>Muestre el vaso de unice</u> como material de auxilio.</p> <p>a) De la llave? b) De la llave con filtro? c) Purificada o de garrafón? d) Otra</p>	<p>1) Sí...Cuántos vasos diarios? 2) No 3) No sabe ↓</p> <table border="1" data-bbox="834 1381 1055 1533"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp.</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>a)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>b)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>c)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>d)</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		Resp.	Vasos	a)			b)			c)			d)			<table border="1" data-bbox="1192 1339 1416 1503"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp.</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>a)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>b)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>c)</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>d)</td> <td></td> <td></td> </tr> </tbody> </table>		Resp.	Vasos	a)			b)			c)			d)		
	Resp.	Vasos																														
a)																																
b)																																
c)																																
d)																																
	Resp.	Vasos																														
a)																																
b)																																
c)																																
d)																																
<p>3.7. ¿Has vivido en un domicilio diferente al actual?</p>	<p>1) Sí 2) No → Pase a 3.10</p>	<input type="checkbox"/>																														

<p>3.8. ¿En qué dirección viviste anteriormente?</p>	<p>_____</p> <p style="text-align: center;">Calle</p> <p>_____</p> <p>Número Colonia</p>	<p>_____</p> <p style="text-align: center;">_____</p> <p>_____</p>
<p>3.9. ¿Cuánto tiempo viviste en ese domicilio?</p>	<p>____ ____ ____ ____ </p> <p style="text-align: center;">Años Meses</p>	<p>____ ____ ____ ____ </p>
<p>3.10. ¿Has vivido fuera de la ciudad?</p>	<p>1) Sí 2) No → Pase a 3.13</p>	<p>_____</p>
<p>3.11. ¿En dónde viviste durante ese periodo?</p> <p style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 10px auto;">No olvide anotar ciudad y estado</p>	<p>_____</p> <p style="text-align: center;">Ciudad o comunidad</p> <p>_____</p> <p style="text-align: center;">Estado</p>	<p>_____</p> <p>_____</p>
<p>3.12. ¿Cuánto tiempo viviste fuera de la ciudad?</p>	<p>____ ____ ____ ____ </p> <p style="text-align: center;">Años Meses</p>	<p>____ ____ ____ ____ </p>
<p>3.13. En los últimos 30 días, ¿has estado fuera de la ciudad por más de 3 días?</p>	<p>1) Sí 2) No → Pase a 3.16</p>	<p style="text-align: center;">□</p>
<p>3.14. ¿En qué comunidad o ciudad estuviste durante esos días?</p>	<p>_____</p> <p style="text-align: center;">Nombre de la localidad</p> <p>_____</p> <p style="text-align: center;">Estado</p>	<p>_____</p> <p>_____</p>
<p>3.15. ¿Por cuantos días estuviste ausente?</p>	<p style="text-align: center;">____ ____ </p> <p style="text-align: center;">Anotar número de días</p>	<p style="text-align: center;">____ ____ </p>
<p>3.16. Durante la semana, ¿pasas parte del día fuera de tu casa, ya sea porque algún familiar cuida de ti en su casa por las tardes o porque vas a clases de inglés, práctica de algún deporte, etc.?</p>	<p>1) Sí 2) No → Pase a 3.20</p>	<p style="text-align: center;">□</p>
<p>3.17. ¿En qué colonia se ubica ese lugar?</p>	<p>_____</p> <p style="text-align: center;">Colonia</p>	<p>_____</p>

<p>3.18. Aproximadamente, ¿cuántos días a la semana y por cuántas horas pasas el día en ese lugar?</p> <p>Codifique multiplicando Días por Horas</p>	<p><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p>Días Horas</p>	<p><input type="text"/> <input type="text"/></p>																																								
<p>3.19. Durante tu estancia en este lugar utilizas para beber agua...</p> <p>Lea todas las opciones y en caso afirmativo anote número de vasos promedio por día. <u>Muestre el vaso de unisel como material de auxilio.</u></p> <p>a) De la llave? b) De la llave con filtro? c) purificada o de garrafón? d) Otra</p>	<p>1) Sí...Cuántos vasos diarios? 2) No 3) No sabe</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Resp	Vasos	a)			b)			c)			d)			<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp.</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Resp.	Vasos	a)			b)			c)			d)												
	Resp	Vasos																																								
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
	Resp.	Vasos																																								
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
<p>3.20. ¿Regularmente en la escuela utilizas para beber agua...</p> <p>Lea todas las opciones y en caso afirmativo anote número de vasos promedio por día. <u>Muestre el vaso de unisel como material de auxilio.</u></p> <p>a) De la llave? b) De la llave con filtro? c) Purificada o de garrafón? d) Otra</p>	<p>1) Sí...Cuántos vasos diarios? 2) No 3) No sabe</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp.</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Resp.	Vasos	a)			b)			c)			d)			<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp.</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Resp.	Vasos	a)			b)			c)			d)												
	Resp.	Vasos																																								
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
	Resp.	Vasos																																								
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
<p>3.21. Durante una semana normal, ¿acostumbra a tomar...</p> <p>Lea todas las opciones y en caso afirmativo anote número de vasos promedio por día. <u>Muestre el vaso de unisel como material de auxilio.</u></p> <p>a) Soda? b) Leche? c) Jugos? d) Tés?</p>	<p>1) Sí... Cuántos vasos diarios? 2) No 3) No sabe</p> <p style="text-align: center;">↓</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp.</th> <th>Días</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Resp.	Días	Vasos	a)				b)				c)				d)				<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Resp.</th> <th>Días</th> <th>Vasos</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Resp.	Días	Vasos	a)				b)				c)				d)			
	Resp.	Días	Vasos																																							
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
	Resp.	Días	Vasos																																							
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
<p>3.22. ¿Regularmente en tu casa utilizan para cocinar agua...</p> <p>Lea todas las opciones y en caso afirmativo anote número de vasos promedio por día. <u>Muestre el vaso de unisel como material de auxilio.</u></p> <p>a) De la llave? b) De la llave con filtro? c) Purificada o de garrafón? d) Otra</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No sabe</p> <table border="1"> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> </tbody> </table>	a)		b)		c)		d)		<table border="1"> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> </tbody> </table>	a)		b)		c)		d)																									
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
a)																																										
b)																																										
c)																																										
d)																																										
<p>3.23. ¿Normalmente en tu hogar hierven el agua para beber?</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No sabe</p>	<p><input type="checkbox"/></p>																																								

<p>3.24. ¿Con que frecuencia te cepillas los dientes?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Más de 3 veces al día 2) Tres veces al día 3) Dos veces al día 4) Una vez al día 5) No se los cepilla →</p> <p>Pase a 3.26</p>	<input type="checkbox"/>																																																																																																								
<p>3.25. ¿Qué cantidad de pasta dental usas durante el cepillado?</p> <p>Lea todas las opciones, excepto el "no sabe", mostrando la imagen 1 de apoyo</p>	<p>1) ¼ parte del cepillo? 2) ½ parte del cepillo? 3) ¾ partes del cepillo? 4) Toda la cabeza del cepillo? 5) No usa pasta dental 6) No sabe</p>	<input type="checkbox"/>																																																																																																								
<p>3.26. ¿En el último año, algún dentista te ha aplicado flúor en los dientes?</p> <p>Muestre la imagen 2 de apoyo</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No sabe</p>	<input type="checkbox"/>																																																																																																								
<p>3.27. ¿Con qué regularidad utilizas enjuague bucal?</p> <p>Espera respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Todos los días 2) Más de 5 veces por semana 3) Entre 3-5 veces por semana 4) Menos de 3 veces por semana 5) Nunca</p>	<input type="checkbox"/>																																																																																																								
<p>3.28. ¿Conoces o habías escuchado los efectos del flúor sobre la salud?</p>	<p>1) Sí 2) No</p>	<input type="checkbox"/>																																																																																																								
<p>3.29. ¿Alguna vez has notado que presentas...</p> <p>Lea todas las opciones y circule respuesta</p> <p>1) Sí 2) No → 3) No sabe (NS) →</p> <p>Pase al siguiente inciso</p>	<p>3.30. ¿Hace cuánto que has observado presentar (mencione el síntoma)...</p> <p>Menos de un mes.....00 00 No sabe o no recuerda....99 99</p>	<p>Lea las opciones a las que contestó que sí en la pregunta anterior. Anote número de años y meses</p>																																																																																																								
	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>Sí</th> <th>No</th> <th>NS</th> <th>Años</th> <th>Meses</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>a) Bajo rendimiento escolar?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>b) Somnolencia?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>c)Decaimiento del ánimo?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>d) Fatiga?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>e) Debilidad muscular?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>f) Pérdida de peso?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>g) Baja estatura para su edad?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>h) Mucha sensibilidad al frío?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>i) Piel seca o fría?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>j) Pelo quebradizo?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>k) Estreñimiento crónico?</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> <tr> <td>l) Otro_____</td> <td>1</td> <td>2</td> <td>9</td> <td><input type="text"/></td> <td><input type="text"/></td> </tr> </tbody> </table>		Sí	No	NS	Años	Meses	a) Bajo rendimiento escolar?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	b) Somnolencia?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	c)Decaimiento del ánimo?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	d) Fatiga?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	e) Debilidad muscular?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	f) Pérdida de peso?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	g) Baja estatura para su edad?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	h) Mucha sensibilidad al frío?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	i) Piel seca o fría?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	j) Pelo quebradizo?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	k) Estreñimiento crónico?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	l) Otro_____	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<table border="1"> <thead> <tr> <th></th> <th>a)</th> <th>b)</th> <th>c)</th> <th>d)</th> <th>e)</th> <th>f)</th> <th>g)</th> <th>h)</th> <th>i)</th> <th>j)</th> <th>k)</th> <th>l)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td></td> <td><input type="checkbox"/></td> </tr> </tbody> </table>		a)	b)	c)	d)	e)	f)	g)	h)	i)	j)	k)	l)		<input type="checkbox"/>											
	Sí	No	NS	Años	Meses																																																																																																					
a) Bajo rendimiento escolar?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
b) Somnolencia?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
c)Decaimiento del ánimo?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
d) Fatiga?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
e) Debilidad muscular?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
f) Pérdida de peso?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
g) Baja estatura para su edad?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
h) Mucha sensibilidad al frío?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
i) Piel seca o fría?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
j) Pelo quebradizo?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
k) Estreñimiento crónico?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
l) Otro_____	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>																																																																																																					
	a)	b)	c)	d)	e)	f)	g)	h)	i)	j)	k)	l)																																																																																														
	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>																																																																																														

A continuación, te haré algunas preguntas sobre algunos hábitos familiares

4. Exposición a otros contaminantes

<p>4.1. ¿En tu casa utilizan para cocinar trastes de barro vidriado?</p> <p>Muestre la imagen 3 de apoyo</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No sabe</p>	<input type="checkbox"/>																								
<p>4.2. ¿En tu casa acostumbran a guardar alimentos en trastes de barro vidriado?</p>	<p>1) Sí 2) No → Pase a 4.4 3) No sabe →</p>	<input type="checkbox"/>																								
<p>4.3. ¿En tu casa guardan en trastes de barro vidriado alimentos como...</p> <p>Lea todas las opciones, espere respuesta y codifique</p> <p>a) Mole? b) Frijoles? c) Salsa? d) Arroz? e) Agua? f) Otro?</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No sabe</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr><td>a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td></tr> <tr><td>f)</td><td></td></tr> </table>	a)		b)		c)		d)		e)		f)		<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr><td>a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td></tr> <tr><td>f)</td><td></td></tr> </table>	a)		b)		c)		d)		e)		f)	
a)																										
b)																										
c)																										
d)																										
e)																										
f)																										
a)																										
b)																										
c)																										
d)																										
e)																										
f)																										
<p>4.4. ¿En tu casa se utiliza estufa de leña para cocinar o calentar la casa?</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No sabe</p>	<input type="checkbox"/>																								
<p>4.5. ¿En tu casa utilizan regularmente leña para prender el boiler de agua?</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No sabe</p>	<input type="checkbox"/>																								
<p>4.6. ¿Alguna persona fuma cigarros en la casa?</p>	<p>1) Sí 2) No → Pase a 4.12 3) No lo sabe →</p>	<input type="checkbox"/>																								
<p>4.7. ¿Cuántas personas fuman?</p>	<p style="text-align: center;"> <table border="1" style="display: inline-table; margin: 0 auto;"> <tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr> </table> Número de personas </p>			<table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <tr><td style="width: 20px; height: 20px;"></td><td style="width: 20px; height: 20px;"></td></tr> </table>																						
<p>4.8. ¿Alguna de ellas lo hace en frente de ti?</p>	<p>1) Sí 2) No 3) No lo sabe</p>	<input type="checkbox"/>																								
<p>4.9. ¿Con qué frecuencia fuman en la casa?</p> <p>Espere respuesta y ubique la opción</p>	<p>1) Diario 2) Cada tercer día 3) Dos veces por semana 4) Una vez a la semana 5) Los fines de semana 6) Una vez al mes 7) Otra _____</p>	<input type="checkbox"/>																								

<p>4.10. ¿Cuál de las siguientes frases describe mejor las reglas para fumar en la casa?</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: fit-content;"> <p>Lea todas las opciones de respuestas, excepto el "no sabe"</p> </div>	<ol style="list-style-type: none"> 1) Se puede fumar en todas las áreas cerradas 2) Solo se puede fumar en algunas áreas cerradas 3) No se puede fumar en ninguna área cerrada, excepto en algunas ocasiones especiales 4) Nunca se puede fumar en ninguna área cerrada 5) No sabe 	<input style="width: 40px; height: 20px;" type="text"/>																																																				
<p>4.11. Respecto a fumar en el automóvil particular...</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: fit-content;"> <p>Lea todas las opciones de respuestas, excepto el "no sabe"</p> </div>	<ol style="list-style-type: none"> 1) Se puede fumar en cualquier momento 2) No se puede fumar si van menores 3) No se puede fumar en ningún momento 4) No tiene automóvil 5) No sabe 	<input style="width: 40px; height: 20px;" type="text"/>																																																				
<p>4.12. ¿Existe algún taller de...</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: fit-content;"> <p>Lea tipo de taller seguido de localización y codifique. Al terminar pase al siguiente inciso</p> </div> <ol style="list-style-type: none"> a) Hojalatería y pintura... b) Mecánico... c) Herrería... d) Reparación de radiadores... e) Otro..._____ 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Sí 2) No 3) No sabe <table border="1" style="margin-left: 20px; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th></th> <th style="font-size: 8px;">Dentro de su casa?</th> <th style="font-size: 8px;">Frente de su casa?</th> <th style="font-size: 8px;">En la manzana?</th> </tr> </thead> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>f)</td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>		Dentro de su casa?	Frente de su casa?	En la manzana?	a)				b)				c)				d)				e)				f)				<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td><td></td><td></td></tr> <tr><td>f)</td><td></td><td></td><td></td></tr> </tbody> </table>	a)				b)				c)				d)				e)				f)			
	Dentro de su casa?	Frente de su casa?	En la manzana?																																																			
a)																																																						
b)																																																						
c)																																																						
d)																																																						
e)																																																						
f)																																																						
a)																																																						
b)																																																						
c)																																																						
d)																																																						
e)																																																						
f)																																																						
<p>4.13. Cerca de tu casa hay....</p> <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 10px auto; width: fit-content;"> <p>Lea cada opción y codifique</p> </div> <ol style="list-style-type: none"> a) Una ladrillera? b) Una gasolinera? c) Una industria o fábrica? 	<ol style="list-style-type: none"> 1) Sí 2) No 3) No sabe <table border="1" style="margin-left: 20px; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> </tbody> </table>	a)		b)		c)		<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <tbody> <tr><td>a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> </tbody> </table>	a)		b)		c)																																									
a)																																																						
b)																																																						
c)																																																						
a)																																																						
b)																																																						
c)																																																						

A continuación, le haré algunas preguntas sobre algunas enfermedades del niño(a), el consumo de medicamentos y antecedentes de enfermedades de algunos de sus familiares.

5. Antecedentes patológicos

5.1. ¿Alguna vez un médico le ha dicho a tus padres que tienes...
 Lea todas las opciones y circule respuesta
 1) Sí
 2) No →
 3) No sabe (NS) → **Pase al siguiente inciso**

5.2. ¿Hace cuánto tiempo le dijo el médico que tenía (mencione la enfermedad) ...?
 Menos de un mes.....00 00
 No sabe o no recuerda.....99 99

Lea las opciones a las que contestó que sí en la pregunta anterior. Anote número de años y meses

	Sí	No	NS	Años	Meses	
a) Diabetes?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	a)
b) Tiroides (Hipo o hipertiroidismo)?						b)
c) Infección por VIH o SIDA?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	c)
d) Hepatitis?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	d)
d) Problemas cardiacos?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	e)
e) Insuficiencia renal?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	f)
f) Colesterol o triglicéridos elevados?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	g)
g) Hiperactividad y/o déficit de atención?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	h)
h) Autismo?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	i)
i) Baja estatura para su edad?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	j)
j) Anemia?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	k)
k) Problemas hormonales?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	l)
l) Fractura de un hueso?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	m)
m) Cáncer o tumores malignos?	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	n)
n) Otro _____	1	2	9	<input type="text"/>	<input type="text"/>	

Si respondió **NO** o **NO SABE** al inciso **m)**, pase a **5.5**

5.3. ¿En dónde tienes el cáncer o el tumor
 Espere respuesta y ubique en las opciones

1) Sangre
 2) Piel
 3) Huesos
 4) Cerebro
 5) Pulmón
 6) Riñón
 7) No sabe
 8) Otro _____

5.4. ¿Estás recibiendo radioterapia o quimioterapia?	1) Sí 2) No 3) No sabe	<input type="checkbox"/>																														
5.5. ¿Alguna vez te han hecho alguna cirugía?	1) Sí 2) No → 3) No sabe →	<input type="checkbox"/>																														
5.6. ¿En qué consistió la cirugía?	<input type="text"/>	<input type="text"/>																														
5.7. ¿Estás tomando algún medicamento?	1) Sí 2) No → 3) No sabe →	<input type="checkbox"/>																														
5.8. ¿Qué medicamento (s) estás tomando? <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px 0;"> Escriba el nombre del cada medicamento o principio activo </div> <p style="text-align: center;">Nombre o principio activo</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 20px;">a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td></tr> </table>	a)		b)		c)		d)		e)		5.9. ¿Cuál es la indicación del (nombre del medicamento)? (Cuánto y cada cuánto) <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px 0;"> Escriba la indicación de cada medicamento </div> <p style="text-align: center;">Indicación</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 20px;">a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td></tr> </table>	a)		b)		c)		d)		e)		5.10. ¿Desde cuándo está tomando (nombre del medicamento)? <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px 0;"> Escriba la duración, numero de (días, semanas, años, etc.) </div> <p style="text-align: center;">Duración</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 20px;">a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td></tr> </table>	a)		b)		c)		d)		e)	
a)																																
b)																																
c)																																
d)																																
e)																																
a)																																
b)																																
c)																																
d)																																
e)																																
a)																																
b)																																
c)																																
d)																																
e)																																
5.11. ¿En la última semana, has tenido... <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin: 5px 0;"> Lea cada opción y codifique </div> <p>a) Gripa? b) Tos? c) Diarrea? d) Infección en garganta? e) Fiebre? f) Otro _____</p>	1) Sí 2) No 3) No sabe	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td style="width: 20px;">a)</td><td></td></tr> <tr><td>b)</td><td></td></tr> <tr><td>c)</td><td></td></tr> <tr><td>d)</td><td></td></tr> <tr><td>e)</td><td></td></tr> <tr><td>f)</td><td></td></tr> </table>	a)		b)		c)		d)		e)		f)																			
a)																																
b)																																
c)																																
d)																																
e)																																
f)																																
6. Actividad física y nutrición																																
<i>A continuación, te haré algunas preguntas sobre hábitos relacionados actividad física</i>																																
6.1. ¿Cuántos días a la semana acostumbras a realizar actividad física que tenga una duración mayor de 30 minutos? <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; margin-top: 10px;"> Espere respuesta y ubique en las opciones </div>	1) Ningún día 2) 1-2 días 3) 3-5 días 4) Más de 5 días 5) Todos los días 6) No sabe	<input type="checkbox"/>																														

<p>6.2. ¿Cuántos días a la semana comes alimentos como dulces, chocolates, frituras, pizza o hamburguesas?</p> <p>Espera respuesta y ubique en las opciones</p>	<p>1) Ningún día 2) 1-2 días 3) 3-5 días 4) Más de 5 días 5) Todos los días 6) No sabe</p>	<input type="checkbox"/>
<p>6.3 ¿Cuántos días a la semana comes frutas cítricas (por ejemplo: kiwi, naranja, toronja, limón, fresa, papaya...)?</p> <p>Espera respuesta y ubique en las opciones</p>	<p>1) Ningún día 2) 1-2 días 3) 3-5 días 4) Más de 5 días 5) Todos los días 6) No sabe</p>	<input type="checkbox"/>
<p>6.4. ¿Qué tan frecuentemente consumes pescado o mariscos?</p> <p>Lea todas las opciones y codifique</p>	<p>1) Muy frecuentemente 2) Frecuentemente 3) Ocasionalmente 4) Raramente 5) Nunca</p>	<input type="checkbox"/>
<p>6.5. ¿Qué tan frecuentemente le pones sal a la comida?</p> <p>Lea todas las opciones y codifique</p>	<p>1) Muy frecuentemente 2) Frecuentemente 3) Ocasionalmente 4) Raramente 5) Nunca</p>	<input type="checkbox"/>
<p>6.6. ¿Consumes algún suplemento de vitaminas?</p>	<p>1) Sí 2) No</p>	<input type="checkbox"/>
<p>6.7. Recuerda que esta entrevista es completamente confidencial y tus padres no tendrán acceso a ella ni se les compartirán los resultados. ¿Con qué frecuencia fumas tabaco?</p> <p>Lea todas las opciones y codifique</p>	<p>1) Muy frecuentemente 2) Frecuentemente 3) Ocasionalmente 4) Raramente 5) Nunca</p>	<input type="checkbox"/>
<p>6.8. ¿Con qué frecuencia consumes bebidas alcohólicas?</p> <p>Lea todas las opciones y codifique</p>	<p>1) Muy frecuentemente 2) Frecuentemente 3) Ocasionalmente 4) Raramente 5) Nunca</p>	<input type="checkbox"/>

Concluir la entrevista, agradecer su participación

Hora fin de la entrevista / __//__ / : / __//__ /
Hora Minutos

Nombre del entrevistador _____