



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS

"EVALUACION POR ELECTROFORESIS UNICELULAR  
(ENSAYO COMETA) DEL DAÑO AL DNA EN LEUCOCITOS  
DE RECIEN NACIDOS EN LA ZONA METROPOLITANA  
DEL VALLE DE MEXICO"

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
LICENCIADA EN INVESTIGACION  
BIOMÉDICA BÁSICA  
P R E S E N T A :  
ADRIANA GRANADOS HERRERIAS

284977

DIRECTOR DE TESIS: DR. EMILIO ROJAS DEL CASTILLO

MEXICO, D. F.

2000



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**A...**

...MI MAMÁ Y MI HERMANO, CUYO INCONDICIONAL AMOR Y APOYO ME HAN  
ACOMPAÑADO DURANTE TODA MI VIDA Y A QUIENES DEBO TODO

...MIS ABUELITOS ERNESTO Y LUPITA; MIS TÍOS LUPITA, SERGIO, ERNESTO, LAURA,  
AURORA, FRANCISCO, RAÚL, GLORIA, DAVID, ADRIANA, RAQUEL, MIGUEL, CRISTINA Y  
JOSÉ LUIS; MIS PRIMOS DANIEL, ILEANA, VANESSA, JORGE, JOEL, FRANCISCO, LORENA,  
JAVIER, DIEGO, ANA BELÉN, TANYA Y ANDREA, QUE CONFORMAN LA OTRA PARTE DE MI  
GRAN FAMILIA, SIN LA CUAL NO SERÍA NI LA MITAD DE FELIZ DE LO QUE SOY

...MIS AMIGOS, DE QUIENES NO NECESITO MENCIONAR LOS NOMBRES PORQUE CADA  
UNO TIENE UN GRAN MOTIVO PARA PERMANECER EN MI CORAZÓN Y ELLOS LO SABEN

...MARCO POR SU AMOR, POR SU CONFIANZA, POR SUS CRÍTICAS, POR SU AYUDA Y SU  
GRAN APOYO...Y POR HABER ELEGIDO COMPARTIR SU VIDA CONMIGO

# GRACIAS...

...A DIOS, POR HABER CREADO TODO CUANTO EXISTE Y DARNOS LA OPORTUNIDAD DE  
CONOCERLO Y DISFRUTARLO

...AL DR. EMILIO ROJAS, A MIS COMPAÑERAS MAHARA, MARICARMEN Y PATTY, Y A MIS  
DEMÁS COMPAÑEROS DE LABORATORIO, POR SU VALIOSA AYUDA, SU  
ASESORAMIENTO Y CRÍTICAS PARA LA REALIZACIÓN DE ESTA TESIS

...A LA DRA. LETICIA SOLLANO, LA DRA. PATRICIA BIROTT, EL DR. FERNANDO ESCOBEDO  
Y EL DR. LUIS AMARO, ASÍ COMO AL PERSONAL DEL CMN 20 DE NOVIEMBRE DEL ISSSTE  
Y EL HOSPITAL GUSTAVO BAZ PRADA DE CIUDAD NEZAHUALCÓYOTL, POR SU ENORME  
COLABORACIÓN Y ACTIVA PARTICIPACIÓN EN ESTE TRABAJO

...A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE GENERACIÓN MARIANA, CEI, ERICK, HÉCTOR,  
IVÁN, JUAN RAMÓN, LENIN, LUIS Y MIGUEL POR HABER COMPARTIDO TODOS ESTOS  
AÑOS

...A TODOS MIS MAESTROS DURANTE LA LICENCIATURA, POR SU DEDICACIÓN Y  
PACIENCIA

A MIS ANTERIORES TUTORES Y COMPAÑEROS DE LABORATORIO, POR COMPARTIR  
CONMIGO SU EXPERIENCIA Y SUS CONOCIMIENTOS

# **EVALUACIÓN POR ELECTROFORESIS UNICELULAR (ENSAYO COMETA) DEL DAÑO AL DNA EN LEUCOCITOS DE RECIÉN NACIDOS EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO**

En la Zona Metropolitana del Valle de México, los niveles de contaminantes superan frecuentemente la norma, y no son los mismos en todas las regiones. Por este motivo, la población, cuyo 30% está formado por menores de 15 años, se encuentra expuesta diferencialmente a los contaminantes.

En este proyecto se evaluó el daño al DNA, empleando el ensayo cometa, en recién nacidos de esta ciudad y sus madres. Con esta técnica, el daño se detecta en el DNA de células lisadas y sometidas a electroforesis, por la formación de la cola de un cometa compuesta por fragmentos de DNA producidos por rompimientos, sitios álcali lábiles o sitios retardados de reparación. Las muestras se colocaron en laminillas con agarosa, se lisaron, se desenrolló el DNA y se realizó la electroforesis en una solución amortiguadora alcalina. Posteriormente, se observaron al microscopio tiñendo el DNA con bromuro de etidio, calculándose el porcentaje de células evaluables por muestra y midiéndose la migración del DNA. Se aplicaron también cuestionarios sobre condiciones socioeconómicas y de salud a cada pareja de madre e hijo, y se buscaron diferencias en el daño al DNA y varios parámetros de salud del recién nacido, debidas a estas condiciones.

Por otro lado, se obtuvieron las concentraciones de Ozono, Bióxido de Azufre, Monóxido de Carbono, Partículas Suspendidas Respirables, Óxidos y Bióxido de Nitrógeno, durante 1998 y 1999 en cada monitor de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico en el Valle de México. Se analizó también el efecto de los niveles de contaminantes en cada zona sobre las madres residentes de cada zona y sus recién nacidos.

Se encontró que el daño basal al DNA tiene una media de 5.65 micrómetros, lo que se considera un nivel bajo. El daño encontrado en los recién nacidos correlaciona con el daño en sus madres; sin embargo, en los recién nacidos el daño es siempre menor, lo que indica un adecuado funcionamiento placentario y/o eficientes mecanismos de reparación del daño al DNA. El tabaquismo materno y los problemas de salud en los recién nacidos causaron un incremento en el daño al DNA en éstos. El peso, la talla y la calificación Apgar fueron mayores en los recién nacidos de madres residentes en las zonas Este y Norte, sin mostrar, sin embargo, diferencias significativas en los niveles de daño al DNA evaluado por el ensayo cometa. Sin embargo, las madres residentes de las zonas Sur y Oeste muestran un mayor daño al DNA.

Los resultados encontrados sugieren que los niveles de contaminantes encontrados en cada zona pueden influir en el daño al DNA, y que los hijos de madres expuestas a éstos se encuentran en riesgo de sufrir un mayor daño al DNA.

# **EVALUACIÓN POR ELECTROFORESIS UNICELULAR (ENSAYO COMETA) DEL DAÑO AL DNA EN LEUCOCITOS DE RECIÉN NACIDOS EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO**

- ✓ **ILUSTRACIONES**
- ✓ **INTRODUCCIÓN**
  - ✓ DESARROLLO EMBRIONARIO: CONCEPTOS Y TOXICOLOGÍA
  - ✓ CONTAMINACIÓN DEL AIRE: CONCEPTOS Y SITUACIÓN EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO
  - ✓ ANTECEDENTES: EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE SOBRE LOS NIÑOS
  - ✓ PRUEBAS DE GENOTOXICIDAD
  - ✓ ELECTROFORESIS UNICELULAR (ENSAYO COMETA)
- ✓ **OBJETIVO GENERAL**
- ✓ **JUSTIFICACIÓN**
- ✓ **OBJETIVOS PARTICULARES**
- ✓ **PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**
  - ✓ POBLACIÓN DE ESTUDIO
  - ✓ MUESTREO
  - ✓ RECOLECCIÓN DE DATOS SOCIALES Y DE SALUD
  - ✓ DATOS DE CONTAMINANTES
  - ✓ ENSAYO COMETA
  - ✓ ANÁLISIS DE LOS DATOS Y ESTADÍSTICA
- ✓ **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**
  - ✓ NIVELES DE CONTAMINANTES EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO EN 1998 Y 1999
  - ✓ DAÑO BASAL AL DNA EN LOS RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES
  - ✓ PARÁMETROS Y DAÑO AL DNA EN LOS RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES POR ZONA HABITACIONAL
  - ✓ FACTORES SOCIOECONÓMICOS Y DE SALUD: SU INFLUENCIA EN EL DAÑO AL DNA EN LOS RECIÉN NACIDOS Y EN SUS MADRES
  - ✓ CORRELACIÓN ENTRE EL DAÑO AL DNA EN LOS RECIÉN NACIDOS Y EL DAÑO AL DNA EN SUS MADRES
- ✓ **CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DEL PROYECTO**
- ✓ **REFERENCIAS**

# ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

- FIGURA 1**  
DIAGRAMA DE SUCESOS QUE CONDUCEN A LA TERATOGENESIS POR LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS INTERMEDIARIOS REACTIVOS DE XENOBIÓTICOS.
- FIGURA 2**  
MAPA DE LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO Y UBICACIÓN DE LOS MONITORES DE LAS REDES DE MONITOREO ATMOSFÉRICO.
- FIGURA 3**  
CONCENTRACIONES DE MONÓXIDO DE CARBONO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.
- FIGURA 4**  
CONCENTRACIONES DE BIÓXIDO DE AZUFRE DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.
- FIGURA 5**  
CONCENTRACIONES DE PARTÍCULAS RESPIRABLES DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.
- FIGURA 6**  
CONCENTRACIONES DE OZONO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.
- FIGURA 7**  
CONCENTRACIONES DE ÓXIDOS DE NITRÓGENO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.
- FIGURA 8**  
CONCENTRACIONES DE BIÓXIDO DE NITRÓGENO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.
- FIGURA 9**  
DISTRIBUCIÓN POR HOSPITAL DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 10**  
DISTRIBUCIÓN POR SEXO Y TIEMPO DE GESTACIÓN DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES..
- FIGURA 11**  
DISTRIBUCIÓN POR ZONA HABITACIONAL (NORESTE, NOROESTE, SURESTE Y SUROESTE) DEL DAÑO AL DNA BAJO, INTERMEDIO Y ALTO DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 12**  
DISTRIBUCIÓN POR ZONA HABITACIONAL (NORTE Y SUR) DEL DAÑO AL DNA BAJO, INTERMEDIO Y ALTO DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 13**  
DISTRIBUCIÓN POR ZONA HABITACIONAL (ESTE Y OESTE) DEL DAÑO AL DNA BAJO, INTERMEDIO Y ALTO DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 14**  
ZONAS HABITACIONALES NORESTE, NOROESTE, SURESTE Y SUROESTE: DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES Y PARÁMETROS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO.
- FIGURA 15**  
ZONAS HABITACIONALES NORTE Y SUR: DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES Y PARÁMETROS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO.
- FIGURA 16**  
ZONAS HABITACIONALES ESTE Y OESTE: DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES Y PARÁMETROS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO.
- FIGURA 17**  
INFLUENCIA DE LA SALUD Y EL TRABAJO MATERNO EN EL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 18**  
INFLUENCIA DE LA EDAD MATERNA, EMBARAZOS Y ABORTOS PREVIOS Y NÚMERO DE PRODUCTOS DEL EMBARAZO EN EL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 19**  
PROMEDIO POR HOSPITAL, VÍA DE NACIMIENTO Y PROBLEMAS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO EN EL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 20**  
CORRELACIÓN DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.
- FIGURA 21**  
CORRELACIÓN POR HOSPITAL DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES.

- TABLA 1**  
CONSECUENCIAS DE LA EXPOSICIÓN A TERATÓGENOS EN DIFERENTES ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO.
- TABLA 2**  
NORMATIVIDAD EN LOS VALORES LÍMITES DE LOS CONTAMINANTES DEL AIRE EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.
- TABLA 3.**  
MEDIDAS DE PREVENCIÓN Y EFECTOS SOBRE LA SALUD A DIFERENTES INTERVALOS EN EL PUNTAJE IMECA DE LOS CONTAMINANTES..
- TABLA 4**  
PARÁMETROS REGISTRADOS POR LAS REDES AUTOMÁTICA Y MANUAL DE MONITOREO ATMOSFÉRICO.
- TABLA 5**  
ESTACIONES DE LA RED AUTOMÁTICA DE MONITOREO ATMOSFÉRICO: UBICACIÓN Y PARÁMETROS QUE REGISTRAN.
- TABLA 6**  
ESTACIONES DE LA RED MANUAL DE MONITOREO ATMOSFÉRICO: UBICACIÓN Y PARÁMETROS QUE REGISTRAN.
- TABLA 7**  
VARIANTES METODOLÓGICAS DEL ENSAYO COMETA.
- TABLA 8**  
PROMEDIO POR HOSPITAL Y ZONA HABITACIONAL DEL PORCENTAJE DE CÉLULAS EN LAS DIFERENTES CATEGORÍAS DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA.
- TABLA 9**  
PROMEDIO POR HOSPITAL Y ZONA HABITACIONAL DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS DE SALUD EVALUADOS EN LOS RECIÉN NACIDOS.

# INTRODUCCIÓN

## DESARROLLO EMBRIONARIO: CONCEPTOS Y TOXICOLOGÍA

El objetivo de esta tesis fue la evaluación del daño basal al DNA en recién nacidos en la Zona Metropolitana del Valle de México. Debido a que el daño que nosotros detectaríamos al nacimiento se produce durante la vida intrauterina, es necesario revisar el proceso del desarrollo embrionario y la placentación en el ser humano, así como los efectos de la exposición a sustancias tóxicas durante el mismo.

En los primeros días del desarrollo embrionario humano, algunas de las células de origen embrionario se insertan entre las células epiteliales del útero y dan origen al sintotrofoblasto, que absorbe fluidos y sangre extravasada por la destrucción de tejido. Hacia el noveno día de gestación, debido a la expansión de los sintotrofoblastos, se forman pequeños espacios vacíos, conocidos como lacunae, que se llenan de fluidos y sangre, y entre los días 11 y 12 comienzan a comunicarse. El trofoblasto se subdivide entonces en corion y vellosidades coriónicas. La placenta surge a partir de la decidua basalis (que encapsula la superficie luminal del corion y forma la parte materna) y el corion frondoso (que forma la parte fetal); las puntas de algunas vellosidades se fusionan a los tejidos maternos, para anclar el componente fetal de la placenta al materno. El alargamiento de los espacios entre las vellosidades abre cada vez más los vasos sanguíneos y crea pozas de sangre materna que bañan las vellosidades. Con el incremento de la presión arterial posterior al bombeo del corazón de la madre, la sangre es expulsada por las arterias y cuando esta presión disminuye, el flujo se mueve lateralmente y regresa por las venas uterinas. De este modo, se forman dos zonas circulatorias: la fetal, formada por las vellosidades coriónicas, y la materna, que son los espacios entre las vellosidades con pozas de sangre. El mesodermo desarrolla los vasos umbilicales que llevan sangre materna de la placenta al feto y sangre fetal de regreso a la placenta, que son dos arterias y una vena umbilicales. El feto no respira a través de sus pulmones, ya que éstos se encuentran llenos de líquido pulmonar; más bien, recibe oxígeno a través de la placenta por la vena umbilical, que corre dentro del cordón umbilical, pasa a través del ombligo, se acerca al hígado dejando una o dos ramas aquí, y se transforma en conducto venoso, que se une a la vena cava inferior. Ahí, la sangre oxigenada se mezcla con la sangre venosa proveniente del hígado. La sangre mezclada entra en la vena cava inferior hacia la aurícula derecha, donde vuelve a mezclarse con sangre venosa que viene de los diferentes tejidos fetales. La capacidad transportadora de oxígeno de la hemoglobina fetal es mayor a la encontrada en el adulto. Existen dos accesos en el corazón fetal que proporcionan sangre al circuito pulmonar: el agujero oval (que comunica las dos aurículas) y el conducto arterioso (que comunica el tronco de la pulmonar con el arco aórtico). Por medio de estos dos accesos, que se cierran rápidamente después del nacimiento, la sangre fetal es conducida rápidamente hacia el ventrículo izquierdo para ser bombeada a todo el cuerpo. Las arterias umbilicales, que se originan en las arterias ilíacas internas, pasan por el ombligo a través del cordón umbilical y de ahí a la placenta. En la placenta, esta sangre fetal mezclada es reoxigenada con sangre materna oxigenada y recirculada hacia la vena umbilical.



En el nacimiento, el cordón umbilical es cortado; con el tiempo, las arterias y vena umbilicales, el conducto arterioso y el conducto venoso se transforman en ligamentos. Todos los tejidos provienen de tres capas germinativas: ectodermo, endodermo y mesodermo. Del ectodermo se derivan la epidermis y apéndices relacionados (como el pelo, glándulas sudoríparas y receptores sensoriales) y el sistema nervioso. Del endodermo se derivan los revestimientos epiteliales de los aparatos digestivo y respiratorio. Del mesodermo se derivan los tejidos mesenquimáticos, que comprenden los músculos del cuerpo, incluyendo el corazón, los vasos sanguíneos linfáticos, gran parte del aparato urinario y algunos otros tejidos (Winick 1979; Falkner et al 1987; Feduccia et al 1991; Capit 1994).

La placenta a término pesa entre 425 y 550 g. La placenta desempeña las funciones de intercambio de gases (como el oxígeno, el dióxido y el monóxido de carbono) y nutrientes entre la madre y el feto, y actúa endocrinológicamente secretando hormonas esteroideas (como estrógenos y progesterona) y polipeptídicas. El feto consume más de 7 ml/min/kg de oxígeno, y la concentración de hemoglobina en su sangre es mayor a la que hay en la madre, y tiene mayor avidez por el oxígeno. Permite también el paso rápido de agua a favor del gradiente osmótico y hemodinámico. En cuanto al paso de los iones monovalentes (sodio, potasio, cloro) es casi siempre por difusión simple, con la excepción del yodo que es transportado activamente como los iones divalentes (calcio, magnesio, fierro y zinc). A través de la placenta pasan también por diferentes mecanismos los azúcares, aminoácidos, proteínas, lípidos, vitaminas y minerales (Miller et al 1993; Hay 1995; van der Aa et al 1998). El crecimiento fetal está determinado en gran parte por la disponibilidad de nutrientes que tenga el feto, la cual está asegurada por el aporte de los mismos desde la circulación sanguínea materno-uterina al feto, a través de la placenta. La desnutrición materna no sólo reduce la disponibilidad de los nutrientes, sino que influencia los ejes somatotróficos materno y fetal (Bauer et al 1998).

La placenta es también una vía importante de paso hacia el embrión de xenobióticos a las que se encuentra expuesta la madre. Los xenobióticos son sustancias químicas exógenas; incluyen drogas, medicamentos, compuestos no nutritivos presentes en las comidas, productos naturales, solventes, pesticidas y contaminantes ambientales. El estudio de los efectos de estos xenobióticos involucra los mecanismos e índices de distribución y absorción, las bases de las interacciones moleculares de éstos con los componentes bioquímicos celulares, y los procesos de biotransformación y eliminación de los mismos. El desarrollo fetal es afectado en gran medida de la exposición materna a estos xenobióticos. La toxicología perinatal es el estudio de los efectos tóxicas de diversos agentes ambientales, cuando la exposición ocurre desde la concepción hasta el periodo neonatal. En las últimas décadas, el interés por esta disciplina ha aumentado debido a la preocupación por los efectos que la exposición a diferentes xenobióticos en el trabajo, la casa, el medio ambiente y la ingesta de medicamentos, pueda causar durante el desarrollo embrionario. Estos efectos pueden observarse no sólo por la exposición durante el periodo de la organogénesis (durante las primeras 8 semanas de gestación), sino también durante las fases de desarrollo fetal y neonatal (Boréus 1973; Duffus 1983; Miller 1983; Miller et al 1993; Peters 1993; Ferguson et al 1997; Pardi et al 1997; Turusov et al 1997; Maranghi et al 1998).

Para analizar los efectos tóxicos de los xenobióticos durante el desarrollo embrionario existen 6 principios importantes, que comprenden el genotipo, la etapa del desarrollo en la que se presentó la exposición, los mecanismos de acción, la farmacocinética en la madre y el feto, las manifestaciones de la toxicidad embrio-fetal o neonatal (como muerte, malformaciones, inhibición del crecimiento y trastornos funcionales) y las relaciones dosis-efecto (Dencker et al 1998). Los tejidos fetales corren un riesgo mayor de daño durante una exposición química, debido a que las células que los componen se encuentran proliferando, migrando y diferenciándose. Las células en división representan una oportunidad para los efectos tóxicos capaces de producir daño al DNA, lo que puede llevar a mutaciones e incrementar el riesgo de padecer algún tipo de cáncer. Además, debido a que las proteínas se están sintetizando rápidamente, se pueden presentar errores en la transcripción o traducción que lleven a productos o sustratos proteicos inadecuados o disfuncionales, resultando en la detención del crecimiento o en errores en el desarrollo. Las células migratorias pueden sufrir alteraciones en sus rutas, mientras que aquellas en diferenciación pueden presentar errores, provocando malformaciones en un proceso denominado teratogénesis.

Durante el embarazo, la unión de proteínas del plasma materno a ciertas drogas se reduce debido a la reducción en la concentración de albúmina del suero. Además, se registra un 50% de incremento en el flujo plasmático efectivo renal, tasa de filtración glomerular y eliminación de creatinina, que llevan a una mayor eficiencia renal. Estos dos procesos disminuyen la cantidad de xenobiótico que llega a la placenta. La mayor parte de los xenobióticos sigue una de dos rutas: cruza rápidamente la placenta y las concentraciones farmacológicamente significativas se equilibran entre el plasma materno y fetal (transmisión completa) o no atraviesan completamente la placenta y sus concentraciones son menores en el plasma fetal. Sin embargo, existe otro grupo en el que las concentraciones del xenobiótico son mayores en el plasma fetal, llevando a cabo una transferencia excesiva (Pacifici et al 1995). Una vez atravesada la barrera placentaria, las moléculas farmacológicamente activas pueden localizarse en tejidos o compartimentos fetales específicos, ser excretadas al líquido amniótico, metabolizadas hasta cierto punto por el hígado fetal o regresar a la circulación materna por transferencia retrógrada fetal-materna. La distribución de la circulación fetal es de gran importancia para la determinación de las concentraciones relativas de xenobiótico presentado a una cierta región anatómica del feto. Después de que un xenobiótico cruza la placenta para entrar en la vena umbilical, del 60% al 85% del fluido en la vena umbilical entra al hígado a través de la vena porta y el resto pasa directamente a través del hígado por los ductos venosos a la vena cava inferior. Como consecuencia, una gran proporción del compuesto inicialmente presente en la vena umbilical puede ser selectivamente absorbido por el hígado y exceder en concentración a la de cualquier otro órgano fetal. Además, la concentración del químico en la vena cava inferior disminuye aún más por el drenaje venoso de los nódulos linfáticos inferiores y las vísceras abdominales. Cuando la sustancia llega al atrio izquierdo se diluye aún más por la vena cava superior que drena las regiones cefálicas del feto y entra al atrio izquierdo, a través del foramen oval. Esta tendencia disminuye los niveles del compuesto en la sangre cuando llega al ventrículo izquierdo, pulmones y sistema nervioso central, por lo que la concentración es similar a la encontrada en la aorta ascendente. Por el contrario, el hígado, glándulas adrenales y riñones son irrigados por sangre que contiene concentraciones equivalentes a las de la aorta descendente.

La permeabilidad de las membranas especializadas, como las que se encuentran en la barrera hemato-encefálica y el tubo renal, influyen fuertemente la distribución del xenobiótico en el feto. La barrera hemato-encefálica es altamente permeable durante el desarrollo temprano, por lo que el cerebro fetal puede estar expuesto a concentraciones extremadamente elevadas. Ya que el cerebro fetal contiene un alto porcentaje de agua y bajo contenido de mielina, su afinidad por las moléculas lipofílicas es baja. Los sistemas nerviosos central y periférico son sumamente vulnerables a las deficiencias de oxígeno y nutrimentos, así como al daño por agentes químicos tóxicos. Durante los primeros meses de la gestación, las células del cerebro en desarrollo crecen y migran, y es en esta etapa que los agentes químicos son capaces de alcanzarlas y dañarlas, debido a que la barrera sanguínea aún no se desarrolla. La ventana de acción de los químicos neurotóxicos, además, está abierta desde el desarrollo fetal hasta la niñez. El riñón no es una vía de eliminación de tóxicos muy efectiva debido a que los xenobióticos excretados por la orina se incorporan al líquido amniótico y reingresan al feto al tragarlo. Además, el flujo renal en el feto es de solo el 3% del bombeo cardíaco, en contraste con el 25% del adulto, y no posee secreción de aniones por túbulos renales (Morgan 1997).

La exposición de los gametos a los xenobióticos frecuentemente provoca muerte pre- y peri-implantacional y bajos índices de anomalías fetales en las que predomina el retardo del crecimiento. En contraste, la exposición del cigoto induce muerte peri-implantacional, muerte gestacional y anomalías fetales como defectos de la pared abdominal y del ojo. Durante el resto del desarrollo pregastrular se producen daños que se traslapan con los inducidos durante la organogénesis (Rutledge 1997). Puesto que los diferentes tejidos y órganos se desarrollan en diferentes etapas, el periodo de exposición a un xenobiótico puede tener consecuencias morfológicas diferentes. En la tabla 1 se presentan las consecuencias que pueden resultar de la exposición a teratógenos en las diferentes etapas del desarrollo.

Se estima que alrededor del 3% de todos los recién nacidos tienen un defecto de nacimiento o anomalía congénita. Alrededor del 20% de éstos se deben a mutaciones genéticas, del 5 al 10% a anomalías cromosómicas, y otro 5 al 10% a la exposición a un agente teratogénico. El 60 o 70% restante aún no ha sido explicado. Se ha especulado que los factores ambientales representan el 10% de las anomalías congénitas, además de incrementar el riesgo de éstas en su descendencia. Por ello es importante describir y encontrar los mecanismos y actividades mutagénicas y epigenéticas de los agentes ambientales en la teratogénesis, así como desarrollar y aplicar nuevos métodos moleculares para evaluar estos procesos e identificar nuevos factores ambientales de riesgo (Ferguson 1997; Bishop et al 1997).

TABLA 1: CONSECUENCIAS DE LA EXPOSICIÓN A TERATÓGENOS EN DIFERENTES ETAPAS DEL DESARROLLO EMBRIONARIO.

ETAPA	PREORGANOGENESIS		EMBRION						FETO					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	20	38
SISTEMA NERVIOSO CENTRAL			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CORAZÓN			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
OÍDO			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
OJO			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
BRAZOS			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
PIERNAS			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
LABIOS			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
DIENTES			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
PALADAR			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
GENITALES			■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■
CONSECUENCIA	MUERTE		MALFORMACIONES IMPORTANTES						MALFORMACIONES MENORES Y DEFECTOS FUNCIONALES					

Los cuadros oscuros indican los efectos más severos, los grises los efectos más leves y para los blancos no se han reportado efectos.

El impacto de muchos xenobióticos en la salud humana y, particularmente, durante el desarrollo fetal e infantil, ha comenzado a documentarse sólo recientemente. Los polimorfismos genéticos de enzimas metabólicas añaden otra variable que, dependiendo del xenobiótico en particular, puede servir como un factor de protección o incrementar la susceptibilidad a los efectos tóxicos (Graeter et al 1996). Existen muchas causas ambientales por las que el feto puede presentar defectos; entre ellas, se encuentran las infecciones intrauterinas, ciertos tipos de radiación, la exposición ocupacional, a pesticidas, solventes, medicamentos y drogas (como la talidomida, anticonvulsivos, hormonas femeninas, cumarina, retinoides, psicotrópicos, alcohol, cigarro y cafeína) (Persaud 1990).

Muchos xenobióticos son capaces de causar toxicidad en el embrión y el feto a través de intermediarios reactivos. En este caso, el compuesto original, llamado proteratígeno, es relativamente poco tóxico, pero puede convertirse *in vivo* a metabolitos intermediarios reactivos altamente tóxicos y de corta vida media. Si éstos no son eliminados en poco tiempo, reaccionan directa o indirectamente con macromoléculas celulares como el DNA, proteínas y lípidos. Si el daño causado a estas moléculas excede las funciones compensatorias y la capacidad reparativa de las mismas, entonces se alteran los procesos normales de desarrollo y se provoca la muerte *in utero*, así como anomalías del desarrollo. Estas anomalías no son solo defectos estructurales apreciables a simple vista, sino también bioquímicas y funcionales. En la figura 1 se muestra una síntesis de los mecanismos que pueden llevar a la teratogénesis por la producción de metabolitos intermediarios reactivos derivados de xenobióticos.

La teratogénesis ocasionada por un xenobiótico no metabolizado difiere de aquella mediada por intermediarios reactivos. En el primer caso el efecto se incrementa, alcanza un pico y decae casi a la par que las concentraciones del compuesto en el plasma, y la toxicidad generalmente no son acumulativas. Por el contrario, el desequilibrio de varias vías para la eliminación, bioactivación y desintoxicación de intermediarios reactivos del xenobiótico, así como de citoprotección y reparación, puede resultar en toxicidad aún en concentraciones de compuestos ambientales terapéuticas o consideradas seguras. La toxicidad, en este caso, ocurrirá después del pico del xenobiótico en el plasma y continuará en la mayor parte de los casos, aún después de que el xenobiótico deje de ser detectado en plasma u orina, pudiendo durar desde horas hasta años. La primera línea de defensa contra los xenobióticos durante el desarrollo embrionario está formada por las UDT-glucuronosiltransferasas (UGT) maternas, que son particularmente importantes ya que se encuentran a muy bajos niveles o ausentes en los tejidos fetales. También los citocromos P450 maternos tienen importancia en la reducción de la cantidad del teratígeno que alcanza al embrión o feto. En la placenta existen diferentes enzimas que pueden biotransformar los xenobióticos, entre las que se encuentra la arilamina-N-acetiltransferasa (Derewlany et al 1994). La teratogenicidad de muchos xenobióticos se debe a su oxidación a metabolitos intermediarios altamente reactivos deficientes en electrones (electrofilicos). Los intermediarios electrofilicos pueden ser revertidos espontáneamente, por epóxido-hidrolasas o GSH-S-transferasas. Si esto no ocurre, el centro electrofilico de éstos es capaz de reaccionar con grupos ricos en electrones, como los tioles en las proteínas u otros en DNA, RNA y fosfolípidos, formando uniones covalentes irreversibles, llamadas aductos. Las principales enzimas involucradas en este proceso son los citocromos P450.

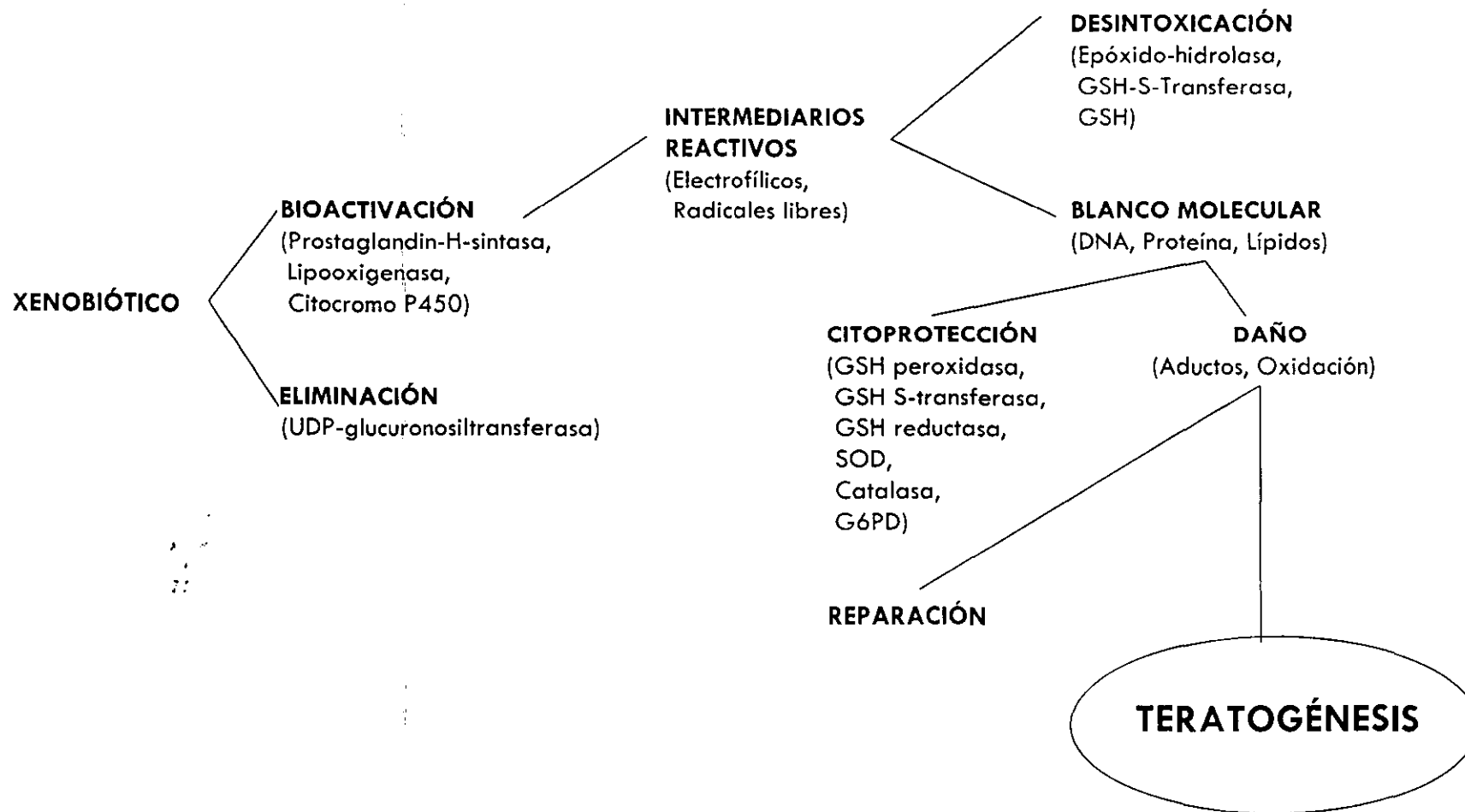


FIGURA 1: DIAGRAMA DE LOS SUCESOS QUE CONDUCEN A LA TERATOGENÉNESIS POR LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS INTERMEDIARIOS REACTIVOS DERIVADOS DE XENOBIÓTICOS

Las enzimas citocromo P450 (CYP) son las responsables del metabolismo oxidativo de una gran cantidad de compuestos, y se sabe que existen alrededor de 20 isoenzimas en el humano. La mayoría de éstas se localizan principal o exclusivamente en el hígado. Llevan a cabo funciones como N-desmetilación e hidroxilación aromática y alifática. En diversos experimentos, se han encontrado las isoformas CYP1A1, CYP1B1, CYP2C8, CYP2D6, CYP2E1, CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7 en el hígado fetal alrededor de la octava semana de gestación (fase embrionaria), y se ha detectado también metabolismo de xenobióticos durante la organogénesis (antes de la octava semana). Tanto en la corteza superadrenal como en la placenta existen también isoformas de CYP. Otras enzimas involucradas en la producción de intermediarios electrofílicos son la prostaglandina-H-sintasa (PHS) y las lipooxigenasas (LPO) (Miller et al 1996; Hakkola et al 1998).

Existe también otro grupo de intermediarios reactivos conocidos como especies reactivas del oxígeno, formado principalmente por peróxido de hidrógeno, ión superóxido e ión hidroxilo. En este proceso son particularmente importantes las PHS y LPO, ya que se encuentran presentes en grandes cantidades en el embrión, durante la organogénesis. Las especies reactivas de oxígeno llevan a cabo la oxidación de blancos moleculares como el DNA, proteínas y lípidos por medio del estrés oxidativo, que puede llevar a rompimientos en el DNA, lipoperoxidación e inactivación enzimática. Existen diversos mecanismos que la célula puede utilizar para protegerse sin desintoxicar directamente los intermediarios reactivos. Dentro de estos se encuentran sistemas y enzimas como: superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, NADPH-citocromo P450 reductasa (microsomal y nuclear), deshidrogenasa mitocondrial de NADH, xantina-oxidasa, ferredoxina-reductasa, GSH reductasa, nitrorreductasa mitocondrial de NAD(P)H, catalasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y tioredoxina (Juchau et al 1980; Goodman et al 1982; Anderson et al 1989; Wells et al 1996).

## **CRITERIOS DE EVALUACIÓN DE SALUD DEL NIÑO RECIÉN NACIDO**

Un niño nacido a término es aquel cuya gestación fue de 37 a 42 semanas, mientras que antes de 37 se considera pretérmino y después de 42 se clasifica como postérmino. El peso normal de un niño recién nacido puede variar entre 2700 y 3500 gramos, teniendo un promedio de 3000, mientras que la talla promedio es de 50 cm. El perímetro de la cabeza es también un parámetro usado por muchos médicos, y el promedio es de 35 centímetros. Los niños prematuros presentan una talla menor y bajo peso, además de reflejos pobres y bajo tono muscular, con pulmones y cerebro inmaduros, así como sistema inmune poco desarrollado. Los niños postmaduros, por el contrario, presentan talla normal con bajo peso, poca grasa bajo la piel y bajos niveles de azúcar en la sangre.

El sistema de puntuación de Apgar permite valorar la gravedad de la depresión respiratoria y neurológica en el momento del nacimiento, mediante la puntuación de ciertos signos físicos (Jonxis 1979; Manual Merck; American Medical Association). Todo recién nacido debe valorarse exactamente 1 minuto y 5 minutos después del nacimiento, registrando ambas puntuaciones. Los parámetros se muestran en la siguiente tabla.

Criterio	Puntuación		
	0	1	2
Actividad (tono muscular)	Hipotónico	Flexión parcial de extremidades	Activo
Pulso	Ausente	< 100	> 100
Grimace (reflejo de irritabilidad a succión nasal)	Ninguna	Muecas	Estornudo, tos
Apariencia (color de la piel)	Azul pálido	Cuerpo rosado, extremidades azules	Todo rosado
Respiración	Ausente	Irregular y lenta	Buena, llanto

La puntuación máxima de 10 es poco frecuente y cuanto más baja sea la puntuación, más gravemente deprimido se hallará el recién nacido (< 5 indica una depresión grave). Cuando el Apgar del primer minuto es de 7 o menos, implica que el bebé puede haber sufrido algunas dificultades durante el nacimiento que disminuyeron el contenido de oxígeno en sangre. Las puntuaciones bajas predicen con mayor probabilidad una lesión neurológica residual o la muerte neonatal, aunque la mayoría de los que presentan puntuación baja a los 5 minutos sobreviven y son normales. Una puntuación baja puede ser causada tanto por asfixia perinatal o respiratoria como por depresión neurológica debida al paso transplacentario de anestésicos administrados a la madre. Si se debe a asfixia perinatal aparecerá cianótico o pálido y presentará una frecuencia cardíaca disminuida y una presión arterial baja, mientras que la debida a los anestésicos es probable que presente un color, una frecuencia cardíaca y una presión arterial normales en el momento del nacimiento. Los prematuros tienen a menudo puntuaciones bajas debido a que se hallan hipotónicos, presentan unos reflejos deprimidos y es posible que no puedan establecer una respiración adecuada debido a la inmadurez de sus pulmones. Por consiguiente, una puntuación de Apgar baja en un prematuro puede considerarse "normal" (aunque estos recién nacidos a menudo requieren una ventilación inmediata con presión positiva en el momento del nacimiento).

## CONTAMINACIÓN AMBIENTAL

El estudio realizado en esta tesis tuvo lugar en la Zona Metropolitana del Valle de México, que es una zona urbana con altos índices de contaminación. Es por ello que se dedicará un capítulo a la revisión de los conceptos de contaminación ambiental y la situación actual en la Zona Metropolitana del Valle de México. El aire puro es una mezcla gaseosa compuesta por un 78% de nitrógeno, un 21% de oxígeno y un 1% de diferentes compuestos tales como el argón, el bióxido de carbono y el ozono. Además, constituye uno de los compuestos básicos de todo ser vivo: diariamente filtramos alrededor de 15 Kg de aire, mientras que solo absorbemos 2.5 Kg de agua y menos de 1.5 Kg de alimentos. De ahí que nuestra salud sea un reflejo fiel de la calidad del aire que respiramos. La contaminación del aire es uno de los problemas ambientales más importantes y es casi totalmente resultado de las actividades del hombre. Las causas que la originan son diversas, pero la mayor parte es provocada por las actividades industriales, comerciales, domésticas y agropecuarias. La combustión empleada para obtener calor, generar energía eléctrica o mecánica, es el proceso de emisión de contaminantes más significativo.



Existen, además, otras actividades tales como la fundición y la producción de sustancias químicas, que pueden provocar el deterioro de la calidad del aire si se realizan sin control alguno. El rápido crecimiento demográfico, la necesidad creciente de insumos, el crecimiento vertiginoso y desordenado de las industrias, y el aumento en la cantidad de vehículos automotores provocan que la atmósfera terrestre no pueda dispersar, adecuadamente, la enorme cantidad de compuestos tóxicos que en ella son desechados y purificarse en un intervalo lo suficientemente pequeño para no dañar a los seres vivos (Duffus, 1983; Leal et al 1995; Rivero et al 1996; OMS; Semarnap; Instituto Nacional de Ecología).

A continuación se describen las características, fuentes y efectos de los diferentes contaminantes dividiéndolos en dos grandes grupos, de acuerdo a la clasificación de Instituto Nacional de Ecología, y con base en los lineamientos de la Organización Mundial de la Salud, la Semarnap y la Secretaría del Medio Ambiente, y según datos publicados por Duffus en 1983, Leal et al en 1995, Rivero et al en 1996 y Coas 1999.

□ **Primarios:** Son los que permanecen en la atmósfera tal y como fueron emitidos por la fuente. Dentro de ellos se encuentran:

a. **Óxidos de azufre:** Son el bióxido y el trióxido de azufre. El primero es un gas incoloro con olor picante, que puede oxidarse a trióxido de azufre, el cual es inestable y puede combinarse con agua para formar ácido sulfúrico, principal componente de la lluvia ácida. Proceden de las actividades humanas, como la combustión de carbón y combustóleo, fusión de sulfuros, descomposición de materia orgánica y actividades volcánicas. El bióxido de azufre se oxida en gotas de agua siendo las sales de hierro y manganeso como catalizadores y se puede llevar a cabo la oxidación fotoquímica por el ozono o smog fotoquímico. Corroen los metales; deterioran los contactos eléctricos, el papel, los textiles, las pinturas, los materiales de construcción y los monumentos históricos. Provocan lesiones en las hojas y reducción en la fotosíntesis de las plantas. En humanos, irritan los ojos y tracto respiratorio, reducen las funciones pulmonares, agravan el asma, la bronquitis crónica y el enfisema, constricción bronquiolar y conjuntivitis, y disminuyen la agudeza visual.

b. **Monóxido de Carbono:** Es un gas incoloro, insípido e inodoro, más ligero que el aire. La mayor parte procede de la oxidación atmosférica del metano que a su vez se genera de la descomposición de residuos orgánicos, de los océanos, y como producto del crecimiento y la degradación de clorofila de las plantas. En las zonas urbanas se originan concentraciones de 50 a 100 veces mayores que la media global. La eliminación se produce en el suelo, sobre todo por hongos, y una pequeña parte se oxida a CO<sub>2</sub> en capas bajas de la atmósfera. También, importantemente, proviene de la combustión incompleta de hidrocarburos, gasolina y el diesel, y de los incendios. Se combina con la hemoglobina formando carboxihemoglobina, disminuyéndose así la capacidad de la sangre de transportar oxígeno a los tejidos. Afecta al sistema nervioso central, pudiendo ocasionar trastornos cardíacos y pulmonares al afectar los centros reguladores de estas funciones en el cerebro. Provoca también dolor de cabeza,

fatiga e hidropesía, somnolencia, fallos respiratorios, coma y hasta la muerte. Disminuye la percepción visual, la capacidad de trabajo, la destreza manual y el aprendizaje. Afecta principalmente a personas con enfermedades cardiovasculares, angina de pecho o enfermedades cardioperiféricas. En fumadores, el contenido básico aumenta de 2 a 4 veces.

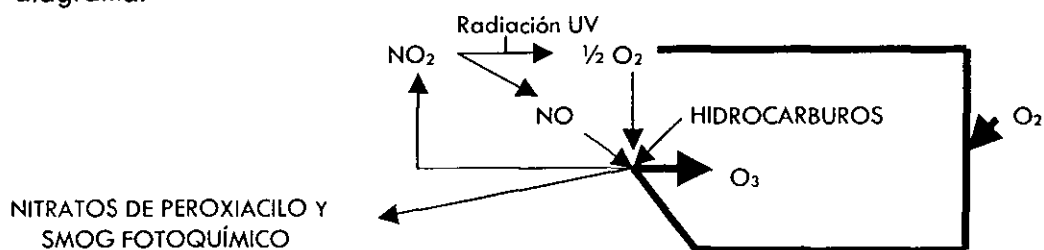
- c. **Óxidos de Nitrógeno:** Son el óxido nitroso, el óxido nítrico y el bióxido de nitrógeno, teniendo mayor importancia en la contaminación los dos últimos. El bióxido de nitrógeno es un gas café rojizo de olor picante, y tanto este como el óxido nítrico se encuentran involucrados en el proceso de contaminación fotolítica. Se producen por descomposición orgánica, tormentas eléctricas y combustión a alta temperatura en industrias y vehículos. Provocan el desteñimiento de pinturas y forman parte de la lluvia ácida. Ocasionan la caída prematura de las hojas e inhibición del crecimiento de las plantas, disminuyen la visibilidad formando espesas nubes oscuras y son los principales generadores del ozono ambiental. En humanos, irritan los pulmones, agravan las enfermedades respiratorias y cardiovasculares, disminuyen la eficacia de las defensas pulmonares propiciando las infecciones respiratorias, disminuyen la capacidad ventilatoria y exacerba los síntomas asmáticos, bronquíticos y enfisematosos.
  
- d. **Hidrocarburos:** Son compuestos orgánicos en estado gaseoso, generalmente con menos de 12 átomos de carbono, alifáticos o aromáticos. Los más abundantes son el metano, producto de descomposición de materia orgánica, y los terpenos y hemiterpenos producidos por las plantas. Las actividades humanas forman el 15% de los hidrocarburos. Se producen principalmente por la combustión incompleta de gasolina y diesel, la quema de carbón y aceite para fines industriales, sistemas de calefacción residencial y humo de cigarro. Participan en la formación del smog fotoquímico. Los hidrocarburos aromáticos policíclicos se encuentran en el aire, la comida (carnes y pescados asados al carbón o ahumados) y el agua, y se incrementan en los meses de invierno. Los de menos de 5 anillos se asocian a partículas de menos de 2  $\mu\text{m}$  de diámetro. Una gran parte de éstos tienen efectos tóxicos sobre los gametos y el desarrollo embrionario, y se ha demostrado que muchos de ellos son carcinógenos y mutágenos. Provocan también trastornos en el sistema respiratorio, irritaciones oculares y enfermedad respiratoria crónica. Aún no existe una norma para estos contaminantes.
  
- e. **Partículas Suspendidas Totales:** Son partículas o aerosoles producidos naturalmente por la degradación o aglomeración de materiales. Entre ellas se encuentran las de la sal marina, las producidas por la erosión del suelo, por la actividad volcánica y la combustión generadora de cenizas y hollín, además de partículas metálicas, cemento y polen. Proviene principalmente de la combustión de carbón, aceite, combustóleo, gasolina y diesel. Las concentraciones en interiores y en exteriores son similares, pero en interiores se incrementan por el humo de cigarro y de cocina, polvo de tapetes, muebles y ropa, y emisiones de

partículas de menos de 2.5  $\mu\text{m}$  de diámetro de estufas y calentadores de queroseno, que contienen una mezcla de compuestos que incluyen sulfatos, nitratos, carbono, compuestos orgánicos (como los hidrocarburos aromáticos policíclicos) y metales como plomo, cadmio, níquel, cobre, vanadio y zinc. Son especialmente preocupantes las emisiones de los vehículos diesel que emiten partículas de entre 0.05 y 0.3  $\mu\text{m}$ , ya que pasan a la atmósfera, y dan lugar a las partículas secundarias por reacciones de gases y disolución en pequeñas gotas de agua. La composición de estas partículas es muy variada, y puede contener desde calcio, silicio, aluminio, sulfato y nitrato de amonio, plaguicidas, hidrocarburos y metales, hasta microorganismos. Ocasionan el deterioro en materiales de construcción, interfieren en la fotosíntesis en las plantas, disminuyen la visibilidad mediante la formación de neblina y nubes. La fracción respirable (PM10, de diámetro inferior a 10 micrómetros) penetra en el aparato respiratorio hasta los alvéolos pulmonares, donde debido a la ausencia de cilios pueden permanecer por largos periodos de tiempo. Afectan principalmente a personas con enfermedades respiratorias, niños, ancianos y asmáticos. Provocan irritación en las vías respiratorias, agravan el asma y las enfermedades cardiovasculares, provocan afecciones respiratorias y cardiovasculares, debilitan el sistema inmune, ocasionan daño al tejido pulmonar y su acumulación en los pulmones origina enfermedades como la silicosis y la asbestosis.

f. **Plomo:** Es un metal pesado cuyas principales fuentes son la combustión de gasolina con plomo, la actividad de las industrias extrusivas y de la fundición, y procesos industriales. Se acumula en diversos órganos, causa anemia, malformaciones en fetos, lesiones en los riñones y sistema nervioso central, disminuyendo las funciones neurológicas.

□ **Secundarios:** Son los que han estado sujetos a cambios químicos, o bien, el producto de la reacción de dos o más contaminantes primarios en la atmósfera. Entre ellos destacan los oxidantes fotoquímicos y algunos radicales de corta existencia como el ozono.

a. **Ozono:** es un compuesto gaseoso incoloro normalmente presente en capas altas de la atmósfera, y, a menor concentración, también en las bajas. Se produce naturalmente en la tropósfera por el relampagueo. Debido a algunas evidencias que indican que a concentraciones bajas puede tener un papel benéfico para la salud, ha sido ampliamente usado como desodorante de humos de escape, aparatos domésticos y hospitalarios, y como agente germicida. Es producido en presencia de luz solar a partir de reacciones fotolíticas, esquematizadas en el siguiente diagrama.



Oxida materiales no inmediatamente oxidables por el oxígeno gaseoso, que son tóxicos e irritantes. Deteriora el hule, los textiles y la pintura, provoca lesiones en las hojas y limita su crecimiento, y disminuye la visibilidad por la formación de neblina. Afecta principalmente a recién nacidos y niños en crecimiento, deportistas y personas que pasan muchas horas al aire libre en horas de sol, enfermos con obstrucción pulmonar, fumadores y personas con enfermedades respiratorias. Provoca irritación de los ojos y del tracto respiratorio, agrava las enfermedades respiratorias y cardiovasculares, acelera el envejecimiento celular, aumenta el riesgo de fibrosis y cáncer pulmonares.

- b. **Smog fotoquímico:** incluye el ácido nitroso ( $\text{HNO}_3$ ), aldehídos (RCHO) y peroxiacilnitritos y nitratos (PAN, ROOR). Provoca la elevación de la temperatura ambiental y disminución de la visibilidad por la formación de neblina. La concentración máxima de este tipo de contaminantes se produce del mediodía a las primeras horas de la tarde. Puede producir daño oxidativo en las células.

Las normas de calidad del aire establecen los límites de las concentraciones de los contaminantes a no excederse en el ambiente, con fines de protección de la salud de las personas. Las Normas Oficiales Mexicanas fueron publicadas en el Diario Oficial de la Federación por la Secretaría de Salud el 3 de diciembre de 1994. La medición de cada contaminante expresa en partes por millón (PPM) y partes por billón (PPB), unidades que se obtienen dividiendo el volumen en un millón o un billón de partes iguales, respectivamente, y cada millonésima o billonésima parte del volumen, correspondiente a la sustancia de interés, es una parte por millón o por billón de la sustancia. En la Tabla 2 se indican los valores normados para los contaminantes (Instituto Nacional de Ecología).

**TABLA 2: VALORES NORMADOS DE LOS CONTAMINANTES**

CONTAMINANTE	EXPOSICIÓN AGUDA		EXPOSICIÓN CRÓNICA
	Concentración y tiempo promedio	Frecuencia máxima aceptable	(Para protección de la salud de la población susceptible)
Ozono ( $\text{O}_3$ )*	0.11 ppm (1 hora)	1 vez cada 3 años	-
Dióxido de azufre ( $\text{SO}_2$ )	0.13 ppm (24 horas)	1 vez al año	0.03 ppm (promedio aritmético anual)
Dióxido de nitrógeno ( $\text{NO}_2$ )	0.21 ppm (1 hora)	1 vez al año	-
Monóxido de carbono (CO)	11 ppm (8 horas)	1 vez al año	-
Partículas suspendidas totales (PST)	260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (24 horas)	1 vez al año	75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (promedio aritmético anual)
Partículas fracción respirable (PM10)	150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (24 horas)	1 vez al año	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (promedio aritmético anual)
Plomo (Pb)	-	-	1.5 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (promedio aritmético 3 meses)

\*: La Secretaría de Salud ha propuesto la reducción del límite de ozono a 0.08 ppm y se encuentra en un periodo de consulta pública con posible inicio de aplicación a partir de octubre de 2000.

## **LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO**

El Valle de México se encuentra a 2268 metros sobre el nivel mar rodeado de montañas en zona tropical, a la que llega una gran cantidad de radiación solar y, hasta hace 50 años, era una zona lacustre. La contaminación en el Valle de México siempre ha existido a causa de la estructura física y las tolvaneras provenientes de Texcoco, pero a partir de los años 40 el número de habitantes comenzó a incrementarse, se produjo un gran desarrollo y expansión en la ciudad, se incrementó la cantidad de vehículos que en ella circulaban, se dio un gran proceso de industrialización y se desforestó el 75% de la vegetación original. Los suelos secos, sin vegetación, propician el arrastre de partículas por los vientos que, a causa del círculo de montañas, soplan siete meses al año de norte a sur acumulando en el sur los contaminantes que se generan en el norte, donde hay un gran número de industrias. Las distancias provocadas por el crecimiento urbano obligan a millones de personas a desplazarse en todo tipo de medios de transporte, lo que ocasiona problemas de tráfico, además de una gran emisión de contaminantes por la combustión de los automotores. Al norte de la ciudad se producen además 3 “cuellos de botella” en el tráfico (Periférico Norte-Toreo; Vía Morelos-Indios Verdes; Avenida Central-Oceania), ubicados en los sitios de entrada de los vientos. Por otro lado, debido a la altura de la Zona Metropolitana, el contenido de O<sub>2</sub> es 23% menor al del nivel del mar, y esto provoca que los procesos de combustión interna sean menos eficientes (Leal et al 1995; Rivero et al 1996). El área de la Zona Metropolitana es de 1,486.45 km<sup>2</sup>, que representa el 0.08% del territorio nacional. Sin embargo, ya en 1995 se concentraban en la zona metropolitana 16.8 millones de habitantes (18.4% de la población total del país) y el 29.7% de estos era menor de 20 años. Tan solo en 1998, se registraron 506, 642 nacimientos en la zona metropolitana, lo que muestra la gran cantidad de niños que viven en esta ciudad y respiran el aire contaminado que en ella existe (INEGI).

### **ÍNDICE METROPOLITANO DE LA CALIDAD DEL AIRE (IMECA)**

Se define como un valor representativo de los niveles de contaminación atmosférica y sus efectos en la salud, dentro de una región determinada. Para su obtención, se otorga al nivel máximo permitido de un contaminante el valor de 100 puntos IMECA. A partir de éstos, se definen 4 intervalos para describir la calidad del aire en términos de efectos en la salud y medidas de prevención (Secretaría del Medio Ambiente). La función principal del IMECA es mantener informada a la población sobre la calidad del aire en la Ciudad de México, así como observar el comportamiento de los distintos contaminantes y comparar la calidad del aire entre zonas que utilicen índices similares. En la Tabla 3 se indican los puntos IMECA, los efectos que producen en la población y las medidas que deben tomarse para la protección a la salud (Instituto Nacional de Ecología).

**TABLA 3: PUNTAJE IMECA, EFECTOS EN LA SALUD Y MEDIDAS DE PREVENCIÓN**

Nivel IMECA	Posibles efectos en la salud	Medidas de tipo preventivo
0 a 100	No se presentan efectos negativos en la salud de la población. Es posible realizar todo tipo de actividad física por todos los grupos humanos.	En este nivel, no es necesaria ninguna medida de tipo preventivo.
101 a 250	Se presenta irritación conjuntival o dolor de cabeza en cualquier grupo de la población. Los enfermos del corazón o de los pulmones reactivan los síntomas de sus padecimientos. Los niños lactantes, los ancianos y los fumadores, presentan trastornos funcionales del aparato respiratorio y cardiovascular como aumento de su frecuencia respiratoria, sensación de falta de aire y palpitaciones. La población general sana, presenta molestias como ardor de ojos, dolor de cabeza, aumento de su frecuencia respiratoria, sensación de falta de aire y palpitaciones, sobre todo al realizar alguna actividad intensa.	<p>En este nivel, deben adoptarse conductas generales que disminuyan la exposición a la atmósfera contaminada, especialmente por parte de la población que presenta características de riesgo o mayor susceptibilidad, como los niños, ancianos, embarazadas y los enfermos crónicos del corazón o los pulmones; es recomendable para toda la población la adopción de las siguientes recomendaciones:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evitar la exposición a la atmósfera contaminada.</li> <li>• No realizar ejercicio o actividad física intensa al aire libre.</li> <li>• Permanecer en ambientes cerrados mientras dure el episodio de contaminación elevada.</li> </ul>
251 a 350	Los niños lactantes, los ancianos y los fumadores, pueden presentar las molestias descritas para el nivel anterior además de alteraciones de tipo inflamatorio (tos, expectoración y espasmo bronquial) en su sistema respiratorio. La población general sana, puede ser que presente trastornos funcionales del aparato respiratorio y cardiovascular, como aumento de su frecuencia cardíaca y respiratoria, sensación de falta de aire y palpitaciones, sobre todo si realiza ejercicio o actividad física al aire libre.	<p>A partir de este nivel de contaminación, es recomendable para todos los grupos de población y especialmente para los grupos con mayor susceptibilidad, adoptar las siguientes medidas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Evitar la exposición a la atmósfera contaminada.</li> <li>• No realizar ejercicio o actividad física intensa al aire libre.</li> <li>• Permanecer en ambientes cerrados mientras dure el episodio de contaminación.</li> <li>• Evitar agresiones adicionales del aparato respiratorio.</li> <li>• Evitar fumar y la exposición al humo de tabaco.</li> <li>• Evitar los cambios bruscos de temperatura.</li> <li>• Disminuir el contacto con personas que presenten infecciones de las vías respiratorias.</li> </ul>
351 en adelante	A partir de estos niveles de contaminación, algunos reportes de investigación señalan la posibilidad de que: Los enfermos crónicos de los pulmones o del corazón, reactiven su padecimiento de base. Los niños lactantes, los ancianos y los fumadores, pueden presentar alteraciones de tipo inflamatorio en su aparato respiratorio (tos, expectoración y espasmo bronquial). La población general sana está en riesgo de presentar alteraciones de tipo inflamatorio en su aparato respiratorio, aún sin realizar ejercicio o actividad física intensa, si se encuentran al aire libre.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reforzar los mecanismos naturales de defensa del organismo, mediante:</li> <li>• Ingesta abundante de líquidos, preferentemente de jugos naturales de frutas.</li> <li>• Consumir abundantes frutas y legumbres.</li> <li>• Atención médica oportuna.</li> <li>• Las personas susceptibles deben acudir al médico si presentan reactivación de sus padecimientos.</li> <li>• Las mascarillas, purificadores de aire o inhalación de oxígeno, no constituyen medidas científicamente comprobadas de protección ante la elevación de los niveles de contaminación atmosférica y su empleo indiscriminado, se puede presentar incremento en el riesgo para los grupos susceptibles.</li> <li>• Mantenerse atento a las recomendaciones de las Instituciones del Sistema Nacional de Salud, a través de los medios de comunicación.</li> </ul>

## **MONITOREO ATMOSFÉRICO Y DE LOS CONTAMINANTES**

En la zona metropolitana, la calidad del aire es registrada por la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA), que tiene la tarea de informar a la ciudadanía la calidad del aire en su zona a fin de que pueda tomar las medidas pertinentes para su protección. La RAMA comprende 37 estaciones de monitoreo automático (23 en el Distrito Federal y 14 en el Estado de México) apoyadas por 19 estaciones de monitoreo manual, y transmite un IMECA cada hora desde las 7:00 a las 21:00 horas. En la Tabla 4 se muestran los parámetros registrados por las redes de monitoreo atmosférico en la zona metropolitana y sus sistemas de apoyo. En las Tablas 5 y 6 se enumeran las diferentes estaciones de las redes automática y manual de monitoreo atmosférico y los parámetros que cada una registra. La figura 2 muestra un mapa de la localización de los monitores atmosféricos en la Zona Metropolitana (Secretaría del Medio Ambiente).

## **EFFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE EN NIÑOS**

En la mayor parte de las ciudades de los países en vías de desarrollo, los niveles de contaminantes sobrepasan de dos a ocho veces al año, los límites recomendados por la Organización Mundial de la Salud. La mayoría de los niños del mundo están creciendo en estas ciudades, donde respiran normalmente aire contaminado. En los países en desarrollo, los niños que viven en las grandes ciudades se enfrentan también a otros retos que complican la situación: pobreza, poco acceso a centros de salud, desnutrición y enfermedades infecciosas. La exposición crónica a los contaminantes del aire más comunes puede causar una gama de problemas en la salud, incluyendo problemas respiratorios, asma y función pulmonar disminuida. La OMS ha determinado que las partículas finas son responsables del 7 al 10% de todas las infecciones respiratorias en los niños europeos, llegando a alcanzar el 20% en las ciudades más contaminadas. Se piensa, además, que la contaminación del aire es responsable de al menos 50 millones de casos de tos crónica en menores de 15 años en todo el mundo, y que además puede agravar enfermedades como bronquitis, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica en personas de todas las edades. La contaminación del aire generalmente afecta más severamente a los niños que a los adultos. Fisiológicamente, sus órganos continúan desarrollándose a lo largo de los primeros años de vida, y son extremadamente sensibles a los efectos tóxicos de los contaminantes del aire. Los niños también tienden a absorber mejor los contaminantes que los adultos y los retienen en el cuerpo por mayores periodos de tiempo. Ya que los niños respiran alrededor de dos veces más litros de aire por unidad de peso corporal, están expuestos al doble de contaminantes en relación con el de un adulto. Además, se debe considerar que mientras menor sea la edad, al comienzo de la exposición, habrá más tiempo para que los efectos de los contaminantes se acumulen y desarrollen los problemas de salud relacionados con la exposición temprana. Los niños pequeños y los fetos son, además, especialmente vulnerables a los efectos tóxicos de los contaminantes ambientales como los hidrocarburos aromáticos policíclicos, el humo de cigarro, las partículas suspendidas, las nitrosaminas, los pesticidas, los compuestos bifenilos policlorados y los metales. (Davis et al 1999, Perera et al 1999).

**TABLA 4: PARÁMETROS REGISTRADOS POR LAS REDES DE MONITOREO ATMOSFÉRICO**

PARÁMETRO	CLAVE	UNIDAD	RED	DETECCIÓN
Monóxido de Carbono	CO	PPM	AUTOMÁTICA	Espectroscopia no dispersiva por correlación
Dióxido de Azufre	SO <sub>2</sub>	PPM	AUTOMÁTICA	Fluorescencia pulsante
Dióxido de Nitrógeno	NO <sub>2</sub>	PPM	AUTOMÁTICA	Quimioluminiscencia
Ozono	O <sub>3</sub>	PPM	AUTOMÁTICA	Fotometría en el intervalo de ultravioleta
Óxidos de Nitrógeno	NO <sub>x</sub>	PPM	AUTOMÁTICA	Quimioluminiscencia
Ácido sulfhídrico	H <sub>2</sub> S	PPM	AUTOMÁTICA	ND
Partículas menores a 10 micrómetros	PM10	µg/m <sup>3</sup>	AUTOMÁTICO	Atenuación de radiación beta; Muestreador PM 10
Partículas suspendidas totales	PST	µg/m <sup>3</sup>	MANUAL	Muestreador de Alto Volumen
Plomo	Pb	µg/m <sup>3</sup>	MANUAL	Espectrofotometría de absorción atómica
Cobre	Cu	µg/m <sup>3</sup>	MANUAL	Espectrofotometría de absorción atómica
Hierro	Fe	µg/m <sup>3</sup>	MANUAL	Espectrofotometría de absorción atómica
Cadmio	Cd	µg/m <sup>3</sup>	MANUAL	Espectrofotometría de absorción atómica
Níquel	Ni	µg/m <sup>3</sup>	MANUAL	Espectrofotometría de absorción atómica
Temperatura	TMP	°C	METEOROLÓGICA	Sensor tipo capacitor de película delgada de termistor
Humedad Relativa	RH	% de Humedad Relativa	METEOROLÓGICA	Sensor tipo capacitor de película delgada de polímero
Velocidad del Viento	WSP	metros por segundo	METEOROLÓGICA	Veleta convencional
Dirección del Viento	WDR	grados	METEOROLÓGICA	Anemómetro convencional



TABLA 5. ESTACIONES DE LA RED AUTOMÁTICA DE MONITOREO ATMOSFÉRICO Y CONTAMINANTES QUE MIDE

ZONA	CLAVE	ESTACIÓN	PARÁMETROS QUE SE MIDEN
NE	ACO	Acolman	En proceso de integración a la red
NE	ARA	Aragón	CO, SO <sub>2</sub>
NE	CUI	Cuitláhuac	CO
NE	CHA	Chapingo	En proceso de integración a la red
NE	HAN	Hangares	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
NE	IMP	I. M. P.	CO
NE	LPR	La Presa	SO <sub>2</sub>
NE	LVI	La Villa	SO <sub>2</sub> , PM 10
NE	LLA	Laureles	SO <sub>2</sub>
NE	MER	Merced	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10, H <sub>2</sub> S
NE	NET	Netzahualcóyotl	CO, SO <sub>2</sub> , PM 10
NE	SAG	San Agustín	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
NE	VAL	Vallejo	CO, SO <sub>2</sub>
NE	XAL	Xalostoc	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10
NO	ATI	Atizapán	CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
NO	AZC	Azacotzalco	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
NO	CAM	Camaronés	En proceso de integración a la red
NO	EAC	ENEP Acatlán	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
NO	EIA	ESIA Tecamachalco	En proceso de integración a la red
NO	LAG	Lagunilla	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
NO	MIN	Insurgentes	CO
NO	TAC	Tacuba	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , H <sub>2</sub> S
NO	TEM	ITESM Estado de México	En proceso de integración a la red
NO	TLA	Tlanepantla	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10
NO	TLI	Tultitlán	CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10
NO	VIF	Villa de las Flores	CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10
SE	CES	Cerro de la Estrella	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10
SE	CHO	Chalco	En proceso de integración a la red
SE	TAH	Tláhuac	O <sub>3</sub> , SO <sub>2</sub> , PM 10
SE	UIZ	UAM Iztapalapa	O <sub>3</sub>
SO	BJU	Benito Juárez	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
SO	CUA	Cuajimalpa	O <sub>3</sub>
SO	PED	Pedregal	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10
SO	PLA	Plateros	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub>
SO	SUR	Santa Úrsula	SO <sub>2</sub>
SO	TAX	Taxqueña	O <sub>3</sub> , CO, SO <sub>2</sub> , NO <sub>2</sub> , NO <sub>x</sub> , PM 10
SO	TPN	Tlalpan	O <sub>3</sub>

TABLA 6: ESTACIONES DE LA RED MANUAL DE MONITOREO ATMOSFÉRICO

ZONA	CLAVE	ESTACIÓN
NE	LPR	La Presa
NE	NTS	Netzahualcóyotl Sur
NE	XAL	Xalostoc
NE	MER	Merced
NE	CHA	Chapingo
NE	TEC	ND
NE	HAN	Hangares
NO	SHA	S. Hacienda
NO	TLA	Tlanepantla
NO	MCM	Museo de la Ciudad de México
NO	CFE	C.F.E.
SE	CES	Cerro de la Estrella
SE	UIZ	UAM Iztapalapa
SE	XCH	Xochimilco
SO	LOM	Lomas
SO	PED	Pedregal
SO	FAN	ND
SO	POT	ND
SO	TAX	Taxqueña

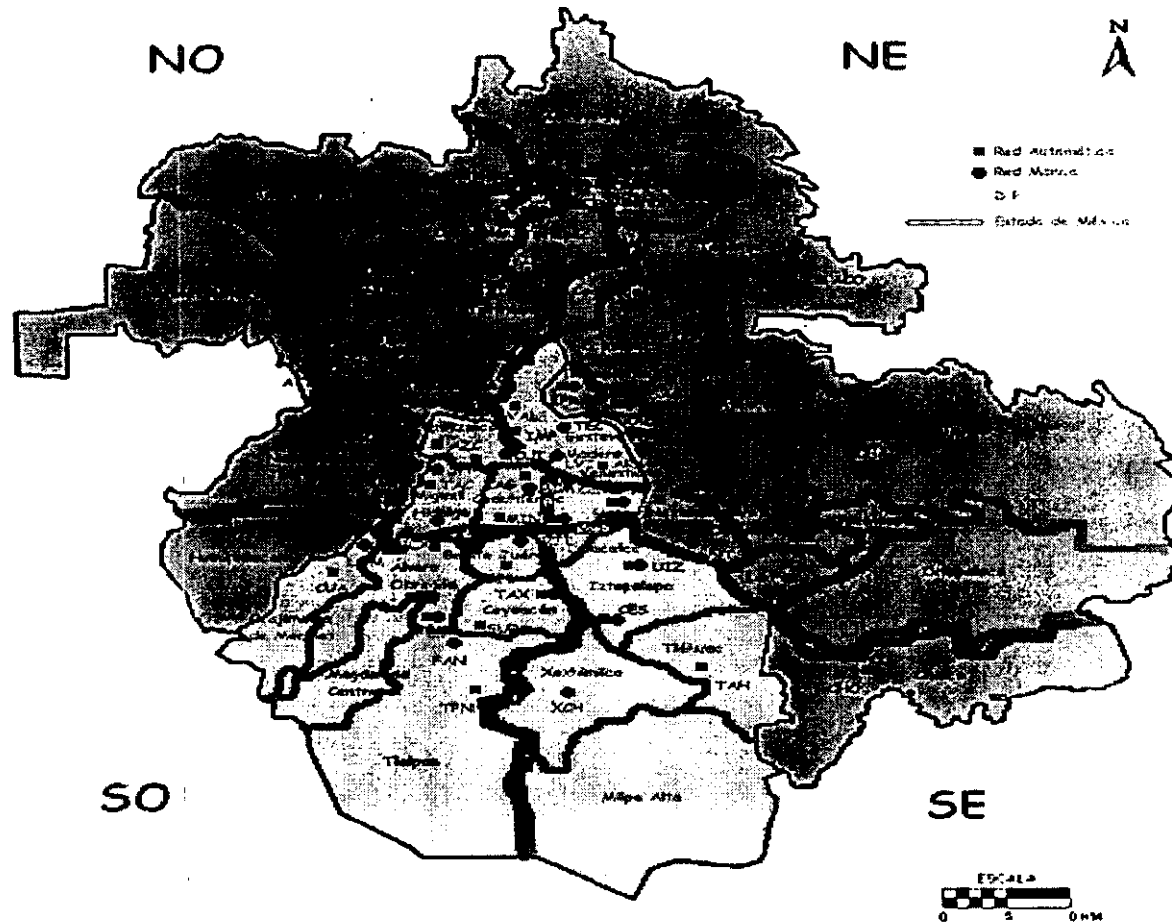


FIGURA 2. MAPA DE LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO: DIVISIÓN POLÍTICA Y UBICACIÓN DE LOS MONITORES DE LAS REDES DE MONITOREO ATMOSFÉRICO

Los contaminantes ambientales se asocian con impactos adversos de salud en niños. Éstos incluyen incrementos en la mortalidad, sobre todo en el periodo perineonatal en regiones con contaminación elevada; morbilidad por enfermedad respiratoria aguda; agravamiento del asma; mayor prevalencia de síntomas respiratorios y episodios infectivos de mayor duración; disminución en la función pulmonaria; y mayores tasas de enfermedad que resultan en ausencias al jardín de niños y primaria. Estos impactos son especialmente severos cuando se combinan niveles altos de contaminación en exteriores con niveles altos en interiores. En las grandes ciudades, la densidad del tráfico y los niveles elevados de NO<sub>2</sub> conllevan a contaminación fotoquímica y por partículas finas; y los niños se encuentran más expuestos a esta contaminación a causa de la realización de actividades físicas en exteriores (Bates 1995). La concentración de plomo en sangre de madres residentes en zonas urbanas y sus hijos es más elevada que la de aquellos de zonas agrícolas (Dussias et al 1997). Se han realizado estudios en todo el mundo para determinar las manifestaciones clínicas y efectos a nivel bioquímico de la exposición prenatal, perinatal, neonatal e infantil a los diversos contaminantes del ambiente.

Uno de los grupos más importantes en este tipo de estudios es el de Radim Sram, en la República Checa, donde se lleva a cabo desde hace 10 años el Programa Teplice. Este programa se ha desarrollado para evaluar el impacto de la contaminación sobre la salud, a corto y largo plazo, en la población de esta ciudad minera en Bohemia del Norte, observándose los efectos de la exposición humana a los agentes tóxicos ambientales y relacionándose las concentraciones de éstos con diversos riesgos a la salud. Una parte de este proyecto se refiere particularmente a los efectos de los contaminantes sobre el embarazo y el producto. En uno de estos estudios, se detectaron asociaciones entre el habitar en una zona contaminada y la prematuridad y bajo peso del recién nacido, así como entre el tabaquismo materno y bajo peso del recién nacido (Dejmek et al 1996). Estudios posteriores revelaron, además, correlaciones entre el retardo del crecimiento intrauterino y la exposición a concentraciones medias y altas de partículas de 10 µm y 2.5 µm durante el primer mes de gestación. Debido a que en el distrito más contaminado, en el periodo invernal, los contaminantes se encuentran en mayores niveles, se han hecho estudios para investigar las diferencias entre ambos periodos. Se encontró que los niños concebidos durante el periodo invernal presentan retardo del crecimiento intrauterino y bajo peso (Dejmek et al 1999; Sram et al 1999). También se han realizado ensayos de genotoxicidad y embriotoxicidad *in vitro* en células de pollo con contaminantes ambientales extraídos a través de filtros de aire localizados en una zona urbana, encontrándose un efecto sobre las mismas células (Binkova et al 1999). Otros estudios se han dedicado al análisis de diferentes biomarcadores en sangre venosa de la madre, en sangre del cordón umbilical y en placenta. Se ha encontrado un incremento en aberraciones cromosómicas, en las mujeres embarazadas residentes en las zonas más contaminadas. Al usar la electroforesis unicelular (ensayo cometa), no se encontraron diferencias en madres e hijos con relación a ninguno de los parámetros analizados (Sram et al 1998). Analizando los aductos en el DNA, se ha encontrado que la mayor cantidad de éstos en DNA de origen placentario expuesto a la contaminación ambiental, se forman debido a la fracción de hidrocarburos aromáticos policíclicos, en la que se encuentran el hidroxibenzo[a]pireno (9-OH-B[a]P), benzo[a]pireno-r-7-dihidrodiol-t-9,10-epóxido (+) (anti-BPDE), benzo[b]fluoranteno (B[b]F), criseno (CHRY), benz[a]antraceno (B[a]A), indeno[1,2,3-cd]pireno (I[cd]P).

Los niveles de aductos en el DNA placentario fueron mayores en las madres residentes en los distritos contaminados, en la madres fumadoras y en relación al genotipo GSTM1 nulo de placenta, que fue curiosamente encontrado más frecuentemente en el distrito más contaminado. Este último es un polimorfismo de la enzima Glutación-S-transferasa que puede traducirse en diferencias metabólicas de un mismo xenobiótico entre individuos con diferentes alelos. Se encontró una correlación entre los aductos en el DNA y el retardo en el crecimiento intrauterino. En cuanto a los efectos reproductivos, se encontró una correlación entre la contaminación ambiental y cambios morfológicos en los espermatozoides (Topinka et al 1997; Sram et al 1999).

Otro de los grupos principales es el de Robin Whyatt, de la Universidad de Columbia en Estados Unidos. Varios de sus trabajos se han realizado en Cracovia, Polonia, debido a que es una ciudad industrializada de población étnicamente homogénea, y esto proporciona un buen modelo para la evaluación de los efectos de los contaminantes en la salud, dándosele una gran importancia al tabaquismo. Observaron que el 42% de los hijos de mujeres no fumadoras, pero expuestas ambientalmente al humo del cigarro presentaban cotinina en sangre (Whyatt et al 1998). Se observó una fuerte correlación entre los aductos en el DNA de leucocitos del cordón umbilical y la contaminación ambiental, resultados que se reflejaron también en el decremento de longitud, peso y circunferencia de la cabeza del recién nacido (Perera 1998). Un análisis similar reveló que existía un incremento dosis-respuesta en los aductos en leucocitos maternos y umbilicales en relación con la concentración de contaminantes en el lugar de la vivienda, en mujeres que no trabajan fuera de su casa. El efecto se pronunció en sangre materna, cuando la madre era fumadora; en los niños se incrementaba el nivel de aductos si presentaban el sitio Msp de CYP1A1, que es un sitio de restricción presente en algunos alelos polimórficos de la enzima citocromo P450 1A1, lo que puede ocasionar diferencias metabólicas entre individuos (Whyatt et al 1998). El estudio epidemiológico molecular realizado en 1992 por este grupo, fue uno de los más importantes que se han realizado. En este, se tomaron muestras de sangre venosa de la madre, sangre de cordón umbilical y placenta; se buscaron aductos y diversas características de la enzima CYP1A1; a la par, se construía una estimación de la contaminación ambiental a que había estado expuesta la madre cada día a partir de las mediciones de PM10 de los dos años previos. El estudio mostró que los niveles de mRNA de la enzima CYP1A1 se incrementaron en la placenta de madres fumadoras y ex-fumadoras con relación a aquellas que nunca han fumado, al igual que en madres que habitan en zonas contaminadas, y en aquellas que consumen carne, pescado o queso ahumados. Los aductos de DNA-hidrocarburos aromáticos policíclicos en placenta se incrementan cuando el hijo presenta el sitio de restricción Msp de CYP1A1 (Whyatt et al 1995, Whyatt et al 1998; Perera 1999).

En México, diversos grupos se han preocupado por el efecto de los contaminantes ambientales sobre los niños. De 1993 a 1995 se realizó un estudio en el que se encontró una asociación en el incremento de mortalidad infantil, con la elevación en la concentración de partículas suspendidas, sobre todo en la exposición de 3 a 5 días antes de que se produjera la muerte. También se encontró una asociación menor con la exposición a NO<sub>2</sub> (Loomis et al 1999).

En otro estudio llevado a cabo en la Ciudad de México, se encontró una correlación entre las concentraciones de ozono y  $\text{SO}_2$  con el incremento en las visitas médicas por asma (50 ppb en una hora de ozono aumentan en 63% las visitas, mientras que la exposición a más de 100 ppb en dos días consecutivos las aumenta en 68%) (Romieu et al 1995). Se encontró también que los niños expuestos a la contaminación ambiental presentaron algunos cambios morfológicos particulares por daño al epitelio nasal (Calderón-Garcidueñas 1997). En otro trabajo realizado en la Ciudad de México, se reportó que el incremento en 50 ppb de ozono al día, durante el invierno, incrementó en más del 9% las visitas médicas de niños menores de 15 años en la Ciudad de México por infecciones del tracto respiratorio, alcanzando hasta 30% si los niveles permanecían durante 5 días (Téllez-Rojo et al 1997). Se ha evaluado también el riesgo de aborto en mujeres expuestas a diferentes concentraciones de plomo; las concentraciones en sangre de las mujeres que presentaban abortos anteriores a la semana 21 eran mayores a las de aquellas que continuaban con su embarazo más allá de esta fecha (Borja-Aburto et al 1998; Borja-Aburto et al 1999). En un estudio llevado a cabo en 1994 y 1995 en la Ciudad de México se encontró que los niveles de plomo en la sangre de mujeres variaban de 1.38 a 29 mg/dl, siendo menores en mujeres de mayor nivel socioeconómico (6.7 mg/dl) comparados con aquellas de nivel socioeconómico bajo (11.12 mg/dl). Además, en correlación con el incremento en los niveles del contaminante en el ambiente, la concentración en la sangre fue mayor en otoño e invierno (Farias et al 1996).

Otros países que muestran problemas de contaminación similares han realizado también este tipo de estudios. En Brasil, se realizó un estudio para relacionar la incidencia de muerte intrauterina con la exposición a contaminantes ambientales; se encontró una asociación significativa con los niveles de  $\text{NO}_2$ , y menor con aquellos de  $\text{SO}_2$  y CO. La asociación fue también significativa al utilizar un índice que agrupa los tres contaminantes, con pocos días de separación entre la exposición y la muerte (Pereira et al 1998). En Turquía se encontró una correlación entre las actividades de la Aril-hidrocarburo-hidroxilasa de placenta con la concentración de contaminantes en el aire y mucho mayor con los hábitos de tabaquismo (Hincal, 1986). En Estados Unidos se encontró un incremento en la mortalidad infantil en relación directa a la exposición a partículas respirables (Woodruff et al 1997). En España se correlacionó la edad de la madre y la ingesta de carne, así como la zona de habitación con mayores niveles de compuestos organoclorados, como el DDT, hexaclorobenceno, hexaclorociclohexanos, diversas formas de heptacloroepóxido y compuestos policlorobifenilos. También se registró, en correlación con estos compuestos, cambios en peso y circunferencia de la cabeza, así como hipotonía e hiporreflexión (Martínez Montero et al 1993). En China, se realizó un estudio abarcando un gran número de muestras que correlacionó la presencia de  $\text{SO}_2$  y partículas suspendidas con nacimientos pretérmino (Xu et al 1995). En Canadá se estudiaron los efectos de la exposición a compuestos organoclorados, encontrados frecuentemente en productos de pesca y caza en zonas costeras, en mujeres embarazadas, midiéndose las concentraciones de los mismos en plasma del cordón umbilical. Se encontraron mayores niveles de aductos DNA-hidrocarburos aromáticos policíclicos en las placentas de mujeres que habitaban en la costa, así como mayor actividad en la placenta de EROD, una enzima dependiente de CYP1A1. El tabaquismo fue un factor con gran influencia (Lagueux et al 1999).

En Estados Unidos se evaluó el tejido fetal y las placentas de 15 abortos humanos espontáneos buscando aductos DNA-hidrocarburos aromáticos policíclicos por medio de la técnica de ELISA. Se encontraron en el 43% de las placentas, así como en el 27% de muestras de hígado fetal y en el 42% de pulmón fetal, éstos últimos presumiblemente derivados de la exposición ambiental a aquellos compuestos, debido a que ninguna de las madres fumaba durante el embarazo (Hatch et al 1990).

Los factores socioeconómicos que rodean a las madres y, por consecuencia, a los fetos, en las grandes ciudades, pueden contribuir a la susceptibilidad y/o agravamiento de los efectos de los contaminantes. Es por ello que se han realizado también, en diferentes países, estudios que intentan describir los efectos que estos factores pueden tener sobre el producto del embarazo. Las mujeres que viven en condiciones socioeconómicas adversas se encuentran frecuentemente expuestas a una higiene deficiente y una mala alimentación; además, pocas de ellas conocen y/o deciden usar los diferentes métodos anticonceptivos, y tienen su primer hijo muy jóvenes. Por consecuencia, los hijos de estas mujeres son frecuentemente prematuros, con bajo peso y talla, bajo índice de masa corporal, retardo en el crecimiento intrauterino, y bajos niveles de hemoglobina en la sangre, presentando además una mayor frecuencia de muerte perinatal. (Blondel et al 1988; Blondel et al 1991; Melnikow et al 1993; Fraser et al 1995; Arntzen et al 1996; Magann et al 1996; Kambarami et al 1997; Abotalib et al 1998; Ngare et al 1998; Higgins et al 1999; Uljas et al 1999).

## **PRUEBAS DE GENOTOXICIDAD**

La exposición de los seres vivos a los diferentes agentes capaces genotóxicos ha propiciado un interés creciente en el desarrollo de técnicas capaces de detectarlo. Los primeros ensayos surgieron en la década de los 70. Una de las primeras pruebas, y aún utilizada en nuestros días, es la de Ames en *Salmonella typhimurium*, que evalúa el efecto, a nivel genético, causado por agentes mutagénicos. Debido a que esta prueba se realiza en bacterias, comenzaron a realizarse ensayos en las células eucariontes más simples, que son las levaduras, realizándose mutaciones directas e inversas, así como pruebas de recombinación mitótica y aneuploidías. Sin embargo, debido a que el interés primordial se encuentra centrado en el impacto de los xenobióticos en la salud humana, se empezaron a buscar metodologías aplicables a células de mamífero. Uno de los tipos de ensayos que se realizan es la evaluación de mutaciones en genes bien conocidos, como el de la hipoxantina-guanina fosforribosil transferasa (hgp<sup>r</sup>t) y timidina cinasa (tk). El tipo de mutaciones que aquí se detectan incluyen inserción, delección, (sustituciones de bases y rearreglos. Otro tipo de prueba es la búsqueda de aberraciones y alteraciones cromosómicas. Existen dos tipos de aberraciones: numéricas (aneuploidías, que involucran aumento o disminución en el número de cromosomas individuales, y poliploidías, en las que cambia el número de juegos completos de cromosomas) y estructurales (translocaciones, delecciones e inversiones).

En este tipo de análisis, se determinan diversos parámetros que proporcionan una idea sobre el tipo de daño que se produce. Entre los parámetros evaluados se encuentran:

- Número cromosómico, que nos habla de aberraciones de tipo numérico en las células
- Deleciones, duplicaciones, inserciones, translocaciones
- Alteraciones capaces de producir formaciones en anillos por recombinación y no-disyunción
- Micronúcleos, producidos por la pérdida de cromosomas enteros o fragmentos de cromosomas durante la división celular
- Intercambio de cromátidas hermanas, que se produce por el rompimiento y la reincorporación de material genético entre las cromátidas en el mismo locus sin alterar la estructura, y que permiten diferenciar también los intercambios teloméricos de los centrales

Existe también otro tipo de ensayos, en los que se evalúa la reparación del DNA después de la exposición a un xenobiótico, lo que puede aportar datos sobre los mecanismos de acción de los xenobióticos que dificultan la reparación, así como encontrar las personas que son más susceptibles a los efectos a largo plazo (Li et al 1991).

Para la evaluación del efecto del daño por la exposición a xenobióticos o por sospecha de síndromes o trastornos en el feto, se ha usado el muestreo de sangre fetal con propósitos tanto terapéuticos como diagnósticos. El reconocimiento de características citológicas encontradas delimita el número de etiologías posibles, contribuyendo así al diagnóstico sin multiplicar el uso de técnicas innecesarias. El diagnóstico prenatal puede ser llevado a cabo con sangre fetal, DNA de células fetales en fluido amniótico y DNA de vellosidades coriónicas fetales, y la elección depende de las técnicas disponibles y el tiempo de gestación. Afortunadamente, además del uso habitual en enfermedades de tipo hematológico, estas opciones se encuentran en proceso de expansión a desórdenes en otros sistemas y tipos celulares. Se está llevando a cabo la clonación de genes involucrados, así como la determinación de ligamientos y polimorfismos. La sangre fetal proporciona información sobre síndromes que afectan número y función de eritrocitos, leucocitos y plaquetas. Otros síndromes que se diagnostican por estudios cromosómicos pueden llevarse a cabo en cultivos celulares de cualquiera de los tres tipos de muestra por medio de condiciones ya establecidas. Entre las pruebas que se realizan, se encuentra el cariotipo, la cromatina Y, los rompimientos cromosómicos espontáneos o inducidos, la reparación del DNA, el intercambio de cromátidas hermanas y las translocaciones. El avance en estos estudios ha sido enorme en los últimos veinte años. Se ha tratado de llevar la aplicación de estas técnicas de diagnóstico al primer trimestre del embarazo, además de implementar el uso de sondas moleculares para proporcionar diagnóstico y tratamiento tempranos. Este tipo de técnicas está tratando de emplearse no solo prenatalmente, sino también en neonatos (Alter 1984; Forestier 1987; Forestier et al 1996; Palis et al 1998).

## **ELECTROFORESIS UNICELULAR (ENSAYO COMETA)**

En los últimos años se ha desarrollado la búsqueda de nuevas metodologías para detectar el daño al DNA, así como su reparación. Debido a que el daño al DNA producido por los xenobióticos puede variar dependiendo del tipo celular y de célula a célula, la búsqueda se ha enfocado a técnicas que puedan detectar el daño en cualquier tipo celular y, particularmente, en células individuales.

El ensayo cometa es un método desarrollado en la década de los 80 en un esfuerzo por contar con nuevas metodologías capaces de evaluar daños al DNA. Surgió a partir de la técnica de elución alcalina. En 1984 se publicó el primer trabajo con el ensayo cometa. En este método, las células se colocan sobre laminillas con agarosa y son sometidas a lisis, el DNA se desenrolla y después se realiza una electroforesis en condiciones de un pH de 9.5. Las células se tiñen con bromuro de etidio y se observan al microscopio. Las células que presentan daño al DNA asumen la forma de un cometa (Ostling 1984).

Con el tiempo, la técnica ha ido sufriendo modificaciones. Una de sus variantes más utilizadas es la que usa el desenrollamiento y la electroforesis a un  $\text{pH} > 13$ . Esta técnica fue introducida al evaluar el daño al DNA producido por rayos X y peróxido de hidrógeno, resultando en rompimientos de cadena sencilla. Esta variante recibe el nombre de electroforesis unicelular (SCGE por sus siglas en inglés: Single Cell Gel Electrophoresis) (Singh et al 1988). El principio básico de la electroforesis unicelular es el siguiente: a partir de una suspensión celular, se obtienen las células de interés, que se mezclan con una solución de agarosa de bajo punto de fusión y colocadas sobre un portaobjetos previamente recubierto con una capa de agarosa regular, agregando posteriormente otra capa de agarosa de bajo punto de fusión. La laminilla se sumerge en una solución de lisis compuesta por sales y detergentes que permite el rompimiento de las células, dejando descubierto el DNA, que se encuentra aún superenrollado, por lo que se procede al desenrollamiento del mismo. Después se procede a realizar la electroforesis, durante la cual el DNA, cargado negativamente, es atraído hacia el polo positivo de la cámara de electroforesis (ánodo). Los fragmentos más pequeños del DNA migran con mayor facilidad y los más grandes encuentran mayor resistencia. Una vez terminada la electroforesis las células se fijan, se neutraliza el pH, se tiñen con bromuro de etidio y se observan al microscopio de epifluorescencia con un objetivo entre 200 y 250 X. El bromuro de etidio es un fluorocromo que se intercala en el DNA y lo hace aparecer al microscopio de color rojizo. Cuando la célula presenta rompimientos de DNA, los fragmentos más pequeños que han migrado más rápido se observan formando parte de la cola de un cometa cuya cabeza está integrada por los fragmentos íntegros.

El ensayo cometa puede realizarse también a pH diferentes, y cada una de estas variantes proporciona información diferente. En la tabla 7 se indican las diferencias metodológicas de las tres condiciones del ensayo cometa.



TABLA 7: VARIANTES METODOLÓGICAS DEL ENSAYO COMETA.

VARIABLES TÉCNICAS	PH 7	PH 12.3	PH 13 (daño)	PH 13 (reparación)
Número de capas y concentración de agarosa	2-3 capas 0.75%	2-3 capas 0.75%	1-3 capas 0.5-1%	2 capas 1%
Solución amortiguadora de lisis y tiempo	EDTA (0.025-0.03 M) SDS (0.5-2.5%) *Proteinasa K (10 mg/ml) >1 hora	NaCl (1 M) NaOH (0.03 M) *N-laurilsarcosina (0.5%) *EDTA (2 mM) >1 hora	EDTA (100 mM) NaCl (2.5 M) Tris (10 mM) DMSO (10%) <sup>1</sup> Tritón X-100 (1%) <sup>2</sup> *N-laurilsarcosina (10 mM) *Proteinasa K (10 mg/ml) Ajustar a pH 10 >1 hora	EDTA (100 mM) NaCl (2.5 M) Tris (10 mM) DMSO (10%) <sup>1</sup> Tritón X-100 (1%) <sup>2</sup> *N-laurilsarcosina (10 mM) Ajustar a pH 10 >1 hora
Incubación con enzimas				NaOH (300 mM) EDTA (1 mM) DMSO (10% v/v) Colocado 5 minutos a 4°C en contenedor con solución amortiguadora para la enzima Agregar 50 µl de solución amortiguadora de la enzima a 37°C por 5 minutos, dos veces Parar la reacción con DMSO a 4°C
Solución amortiguadora de desenrollamiento y tiempo	Ácido bórico o acético (90 mM) EDTA (2-5 mM) Tris (40-117 mM) 2-16 horas	EDTA (1-2 mM) NaOH (0.03 M) Ajustar a pH 12.3 1 hora	EDTA (1 mM) NaOH (300 mM) Ajustar a pH 13 20-60 minutos	
Solución amortiguadora y condiciones de electroforesis	Mismo solución amortiguadora 0.5-0.57 V/cm 25 minutos <sup>3</sup>	Mismo solución amortiguadora 0.5-0.67 V/cm 25 minutos <sup>4</sup>	Mismo solución amortiguadora 0.8-1.5 V/cm 10-60 minutos <sup>4</sup>	NaOH (300 mM) EDTA (1 mM) 20 V 24 minutos
Tipo de daño que detecta	Rompimientos de doble cadena	Rompimientos de cadena sencilla Sitios retardados de reparación	Rompimientos de cadena sencilla Sitios retardados de reparación Sitios álcali lábiles	Defectos reparativos

\* opcional

<sup>1</sup> para muestras con eritrocitos

<sup>2</sup> agregar en fresco

<sup>3</sup> según voltaje y amperaje; <sup>4</sup> según protocolo y tipo celular

El ensayo cometa posee características que hacen de él una herramienta sumamente útil. Puede aplicarse a cualquier tipo de célula eucarionte, ya sea extracto tisular, cultivo o líneas celulares, sin importar si son frescas o congeladas. Evalúa el daño por célula, lo que nos permite identificar subgrupos dentro de la poza celular encontrada en una muestra. Requiere de poco volumen para llevarse a cabo, requiriendo entre 10,000 y 50,000 células por laminilla. Se realiza con facilidad, se puede obtener un resultado en poco tiempo (alrededor de 5 horas) y el costo es relativamente bajo. Tiene una alta sensibilidad, detectando hasta 0.1 rompimientos en  $10^9$  daltones de DNA. El ensayo cometa tiene la ventaja de ser poco invasivo y poder aplicarse a cualquier tipo celular, lo que hace que se pueda acceder directamente al tejido expuesto o mayormente afectado. Además, puede aplicarse para la investigación de otros factores en el daño al DNA, como estrés, actividad física y alimentación (Singh et al 1988; Tice et al 1991; Rojas et al 1999; Kassie et al 2000; Tice et al 2000). La utilidad del ensayo cometa se extiende a varias áreas. Además de su uso en ensayos de genotoxicidad, se está buscando su aplicación en la clínica. Uno de los mayores objetivos de la técnica es servir como un método predictivo de la respuesta a la quimioterapia en diferentes tipos de cáncer, así como para evaluar el daño celular en diferentes patologías y como una herramienta para describir mecanismos de acción sobre el DNA de nuevos fármacos. Otro de sus usos está enfocado a estudiar la reparación del daño al DNA, sobre todo para identificar individuos con capacidad reparativa reducida y en pacientes afectados con síndromes, donde se encuentra involucrada una reparación defectuosa. Una de sus aplicaciones principales es en el monitoreo ambiental. Esta área ha tenido un gran desarrollo en los últimos años, debido a la preocupación que se vive sobre los efectos de la exposición a xenobióticos. Este tipo de estudios se ha realizado en diferentes organismos a lo largo de la escala filogenética gracias a la accesibilidad técnica a cualquier tipo celular eucarionte. Sin embargo, por obvias razones, el mayor interés se encuentra en el monitoreo humano, de individuos expuestos casual, accidental u ocupacionalmente a los xenobióticos. Utilizando el ensayo cometa en leucocitos y células del epitelio nasal de adultos jóvenes en la Ciudad de México, se encontró un mayor daño en aquellos que habitan en la parte sur de la Zona Metropolitana, con respecto a aquellos que habitan al norte (Valverde et al 1997). Este tipo de daño es detectado también en células de lagrimal en adultos jóvenes residentes en la misma zona (Rojas et al 2000).

En niños, se han realizado diferentes estudios aplicando el ensayo cometa. Como ya se mencionó, Sram buscó en 1998 diferencias entre la longitud de la cola del cometa de células de recién nacidos y sus madres, en dos zonas de diferente contaminación ambiental en Polonia, sin encontrar una correlación positiva (Sram et al 1998). Otro estudio se realizó usando la técnica del cometa para determinar el efecto, en linfocitos, de la exposición al humo del cigarro en madres y sus hijos recién nacidos. En hijos de madres expuestas pasivamente o con bajo hábito de tabaquismo no se detectó daño con 40 minutos de desenrollamiento y 40 de electroforesis, mientras que el porcentaje de células dañadas en hijos de madres fumadoras se incrementó significativamente. Los resultados fueron posteriormente confirmados por la técnica de intercambio de cromátidas hermanas (Lundberg et al 1983; Sardas et al 1995). También por medio del cometa, el grupo de Sardas realizó un estudio evaluando el daño al DNA en familias con abortos habituales. Se encontró que el grupo de mujeres que habían sufrido abortos presentaba una mayor frecuencia de linfocitos con colas de cometa de longitud media y grande (Baltaci et al 1998).

Por otro lado, el ensayo cometa se usó para estudiar los efectos de la desnutrición proteica-calórica y las infecciones en niños pequeños. Previamente, se había encontrado que en estos niños existe un retardo en la proliferación y un incremento en el intercambio de cromátidas hermanas. Los niños con una infección moderada presentaban una cola de cometa 180  $\mu\text{m}$ , que se incrementaba a 200  $\mu\text{m}$  en niños severamente infectados sin tratamiento. Los niños severamente infectados con tratamiento presentaban una migración similar a estos últimos, pero la cabeza del cometa incrementaba su diámetro de 40 a 60  $\mu\text{m}$ . Las células de los niños infectados sin tratamiento y que además presentaban desnutrición se comportaban igual que los no desnutridos, pero si se les daba un tratamiento, el tamaño de la cola llegaba a 280  $\mu\text{m}$  (Betancourt 1995). El grupo de Calderón realizó también un estudio en niños de 6 a 12 años de la zona Suroeste del Valle de México, evaluando el daño al DNA por ensayo cometa en biopsias nasales. Todos presentaban síntomas de irritación del tracto respiratorio superior y daño en sus células nasales, presentándose mayormente en niños de 11 y 12 años. El 30% de los niños entre 9 y 12 años presentaba, además áreas de metaplasia escamosa, donde se encontraba el mayor número de células con daño al DNA y colas de cometa más grandes (Calderon-Garcidueñas 1997) Estos datos confirmaron los resultados de experimentos previos del mismo grupo con niños y adultos en la Ciudad de México, donde se encontró un mayor daño al DNA detectado por ensayo cometa en correlación con concentraciones elevadas de ozono (Calderón-Garcidueñas et al 1996).

## JUSTIFICACIÓN

El incremento en la contaminación ambiental ha provocado un aumento en la incidencia de una gran variedad de eventos patológicos. En adultos, produce frecuentemente síntomas respiratorios, como irritación en nariz y garganta, congestión en el pecho, bronquitis y enfisema, así como el incremento de cáncer de pulmón en residentes de zonas industriales. Además, los resultados de diferentes pruebas hechas en las células de las personas expuestas muestran un incremento en la mutagenicidad y la genotoxicidad. Desafortunadamente, en niños se han realizado pocos estudios para evaluar el daño por la exposición a la contaminación ambiental, y aquellos que existen se centran sobre todo en la descripción de los síntomas detectados en la clínica. En la Zona Metropolitana del Valle de México, los niveles de contaminantes ambientales superan frecuentemente la norma, y la distribución de los mismos se concentra en ciertas zonas debido a la cadena montañosa que la rodea y dirige la circulación de los vientos. Por otro lado, en la zona metropolitana se concentra más del 20% de la población del país, y esta se encuentra integrada en gran parte por niños y sólo en 1998 se registró más de medio millón de nacimientos. No se conocen los efectos que puedan ocasionar sobre las mujeres embarazadas y, a través de ellas, sobre el producto, la exposición a la contaminación ambiental. Es por ello que se requiere de esta evaluación en nuestra ciudad, así como la aplicación de pruebas moleculares que permitan la detección temprana del daño.

## OBJETIVO GENERAL

- ❖ Determinar, por medio de la técnica de electroforesis unicelular (ensayo cometa), el daño basal al DNA en leucocitos de recién nacidos en la Zona Metropolitana del Valle de México.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Determinar el daño basal al DNA de leucocitos de cordón umbilical de los recién nacidos en la Zona Metropolitana del Valle de México.
- ❖ Evaluar si existen diferencias en el daño al DNA en los recién nacidos pertenecientes a diferentes regiones de la Zona Metropolitana tomando muestras de hospitales correspondientes a las zonas con diferentes niveles de contaminantes.
- ❖ Evaluar la influencia de algunos factores socioeconómicos y de salud en el daño al DNA en los recién nacidos.
- ❖ Evaluar si existe una correlación entre el daño al DNA en los recién nacidos y el daño encontrado en sus madres.

# **PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL**

## **POBLACIÓN DE ESTUDIO**

El grupo de estudio estuvo conformado por 104 niños nacidos en la zona metropolitana del Valle de México: 64 del Centro Médico Nacional 20 de Noviembre del ISSSTE, ubicado en la zona Suroeste, y 40 niños del Hospital Gustavo Baz de Ciudad Netzahualcóyotl, localizado en la zona Noreste. Además, se incluyeron las madres de los 40 niños de la segunda zona y 34 de la primera zona. Las muestras nos fueron gentilmente proporcionadas por la Dra. Leticia Sollano, el Dr. Fernando Escobedo, el Dr. Luis Amaro y la Dra. Patricia Birott, pediatras neonatólogos de los hospitales antes mencionados. La toma de muestras se realizó entre octubre de 1998 y noviembre de 1999.

## **MUESTREO**

Al momento del parto se delimitó una zona del cordón umbilical con dos pinzas y se tomaron muestras de la región aislada con una jeringa heparinizada. En el caso de las madres, se tomaron muestras de sangre venosa del brazo, también con una jeringa heparinizada, del mismo lote usado para la biometría hemática practicada de rutina en los hospitales. Las muestras llegaron al laboratorio y fueron procesadas para el ensayo cometa antes de que se cumplieran 12 horas de la toma de la muestra.

## **DATOS DE LOS CONTAMINANTES**

La información fue conseguida mediante el envío de una carta al Lic. José Luis Pedroza Serrano, director de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico, que nos proporcionó los datos horarios de todos los contaminantes medidos por cada monitor durante los años 1998 y 1999, cubriendo el periodo de recolección de muestras y los 9 meses de embarazo de todas las madres. Se dividió la Zona Metropolitana del Valle de México en 4 zonas: Noreste (NE), Noroeste (NO), Sureste (SE) y Suroeste (SO). Con los datos proporcionados por la RAMA se calculó la acumulación de partes por millón de cada uno de los contaminantes durante 1998 y 1999, por monitor realizando una sumatoria del registro horario de cada monitor durante todo el año y se agruparon los diferentes monitores de cada una de las cuatro zonas. Se dividió también la Zona Metropolitana en dos subzonas: Norte-Sur y Este-Oeste, y se llevó a cabo el mismo procedimiento.

## **RECOLECCIÓN DE DATOS SOCIALES Y DE SALUD**

Se elaboró un cuestionario para la recolección de datos sobre la zona habitacional, trabajo, hábitos y salud de la madre y el recién nacido. A continuación, se muestra el cuestionario que se aplicó a las madres con este propósito. Se asignó a cada pareja el monitor más cercano a su domicilio durante el embarazo, y se definió así su zona habitacional. El cuestionario se muestra a continuación.

**MAMÁ**

Nombre \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_

Teléfono \_\_\_\_\_

Antecedentes perinatales de importancia:

- ❖ Toxemia \_\_\_\_\_
- ❖ Diabetes gestacional \_\_\_\_\_
- ❖ Diabetes mellitus \_\_\_\_\_
- ❖ Cardiopatía \_\_\_\_\_
- ❖ Nefropatía \_\_\_\_\_
- ❖ Alcoholismo SI NO  
No. de copas al día \_\_\_\_, semana \_\_\_\_, o mes \_\_\_\_
- ❖ Tipo de bebidas \_\_\_\_\_
- ❖ Drogas o medicamentos \_\_\_\_\_  
Nombre \_\_\_\_\_  
Dosis \_\_\_\_\_  
A partir de qué semana de gestación \_\_\_\_\_  
Tiempo de uso \_\_\_\_\_
- ❖ Desnutrición \_\_\_\_\_
- ❖ Rayos X en el embarazo SI NO  
En qué semana de gestación \_\_\_\_\_
- ❖ Cirugías en el embarazo \_\_\_\_\_  
En qué semana de gestación \_\_\_\_\_
- ❖ Tabaquismo: SI NO  
Número de cigarrillos al día \_\_\_\_\_  
Durante el embarazo SI NO
- ❖ Otros \_\_\_\_\_

Delegación donde habita (durante el embarazo) \_\_\_\_\_

Tiempo de habitar ahí \_\_\_\_\_

Ocupación \_\_\_\_\_

Delegación donde trabaja \_\_\_\_\_

Horas que pasa en su trabajo \_\_\_\_\_

Hasta qué mes del embarazo trabajó \_\_\_\_\_

Incremento ponderal de la madre durante el embarazo \_\_\_\_\_ kg

No. de embarazo \_\_\_\_\_

No. de abortos \_\_\_\_\_

**PAPÁ**

Edad \_\_\_\_\_

Ocupación \_\_\_\_\_

Delegación del trabajo \_\_\_\_\_

Horas en el sitio de trabajo \_\_\_\_\_

Tabaquismo SI NO

No. De cigarrillos al día \_\_\_\_\_

Fuma en casa SI NO

**BEBÉ**

Sexo FEMENINO MASCULINO

Peso \_\_\_\_\_ gr

Talla \_\_\_\_\_ cm

Apgar \_\_\_\_\_ 1' \_\_\_\_\_ 5'

Edad gestacional: FUR \_\_\_\_\_ EF \_\_\_\_\_ sem

Fecha de nacimiento \_\_\_\_\_

Vía de obtención PARTO CESÁREA FORTUITO

Estado general del bebé \_\_\_\_\_

## ENSAYO COMETA

A portaobjetos lavados, se les agregaron 150  $\mu$ l de una solución de agarosa regular al 0.5% calentada para licuarla, y se introdujeron en un horno hasta que la capa se solidificó. Al llegar la muestra, se tomaron 10  $\mu$ l de la sangre entera y se colocaron en un tubo de microfuga de 1 ml. Allí se mezclaron con 75  $\mu$ l de una solución de agarosa de bajo punto de fusión calentada para licuarla, y se colocó cada mitad de la mezcla en una de las laminillas previamente preparadas para realizar un duplicado y se cubrió con un cubreobjetos. La laminilla se colocó a 4°C por un minuto para la solidificación de la mezcla y posteriormente se le agregaron 75  $\mu$ l de la misma solución de agarosa 0.5% líquida y se colocó de nuevo por un minuto a 4°C para solidificar la agarosa. Se le retiró el cubreobjetos y se colocó en un vaso de Köplin que contenía una solución de lisis previamente preparada y refrigerada. Esta solución se preparó con NaCl 2.5 M, EDTA 100mM y Tris-base 10 mM, ajustando el pH a 10, y guardándose como "stock". Poco antes del procesamiento de la muestra, se tomaron 40 ml de la solución stock y se agregaron a ella 4 ml de DMSO y 400  $\mu$ l de Tritón X-100, y se colocó la solución a 4°C hasta que se colocaron las laminillas en ella. A la par de las muestras se realizó una laminilla control por vaso de Köplin, con linfocitos mantenidos a -70°C con un daño conocido. El vaso de Köplin se colocó a 4°C por al menos una hora. La laminilla se colocó posteriormente en una cámara horizontal de electroforesis sobre hielo y cubiertas por una solución de corrida de electroforesis por 20 minutos bajo luz amarilla. La solución se preparó al momento de la electroforesis con NaOH 300 mM y Na<sub>2</sub>EDTA 1 mM, con pH>13. Después se sometió a electroforesis por 20 minutos en la misma solución a 0.8 V/cm<sup>2</sup>. Después, la laminilla se retiró de la cámara y se lavó con una solución neutralizante de Tris 0.4 M con pH 7.5, por 1 minuto, y fijada con un lavado de 1 minuto con etanol absoluto, permitiendo después que la laminilla se seque. La laminilla se analizó en un microscopio de epifluorescencia Olympus BMX60, con un filtro de excitación de 515 a 560 nm utilizando un objetivo de 20X. La laminilla se tiñó con 20  $\mu$ l de una solución de 20  $\mu$ g/ml de bromuro de etidio, cubierta con un cubreobjetos y colocada al microscopio. Se analizaron 25 células por laminilla, midiendo la longitud de la cola con un ocular graduado. Cada línea de la reglilla representa 5  $\mu$ m, por lo que la medición se realizó en líneas y posteriormente se convirtió a micrómetros. Se midió también el porcentaje de nubes (células que toman esta forma por el excesivo daño al DNA y no pueden ser medidas) por laminilla. Se calculó la mediana de la longitud de la cola del cometa así como el porcentaje de nubes por muestra. Se clasificaron también las células de acuerdo al tamaño de la cola: daño bajo (el tamaño de la cola era igual a 1 vez el diámetro de la cabeza del cometa), daño intermedio (2 veces el tamaño de la cabeza) y daño elevado (3 veces el tamaño de la cabeza y nubes), cuya suma era el 100% de las células evaluadas. El tamaño de la cabeza tuvo un promedio de 15  $\mu$ m.

## ANÁLISIS DE LOS DATOS Y ESTADÍSTICA

Los datos fueron analizados usando el programa Statistica. Se formaron grupos dentro de las muestras de acuerdo a los datos recolectados por el cuestionario y se analizaron las diferencias entre los grupos por medio de pruebas no paramétricas (Kruskal Wallis y U de Mann Whitney). Para el análisis de los datos de contaminantes por zona y porcentajes de células con diferentes categorías de daño se usó la prueba de T. Se realizó la correlación múltiple del daño entre recién nacidos y sus madres.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### NIVELES DE CONTAMINANTES EN 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO

Se buscaron diferencias en las concentraciones acumuladas de cada uno de los contaminantes por zona del Valle de México, tanto en los cuatro cuadrantes del mapa (Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste) como dividiéndolo en Norte-Sur y Este-Oeste, agrupando los monitores pertenecientes a cada zona y analizando por separado el año 1998 y 1999. A los datos se les practicó una prueba de T de una cola para muestras independientes para conocer la significancia de las diferencias entre las zonas para cada contaminante.

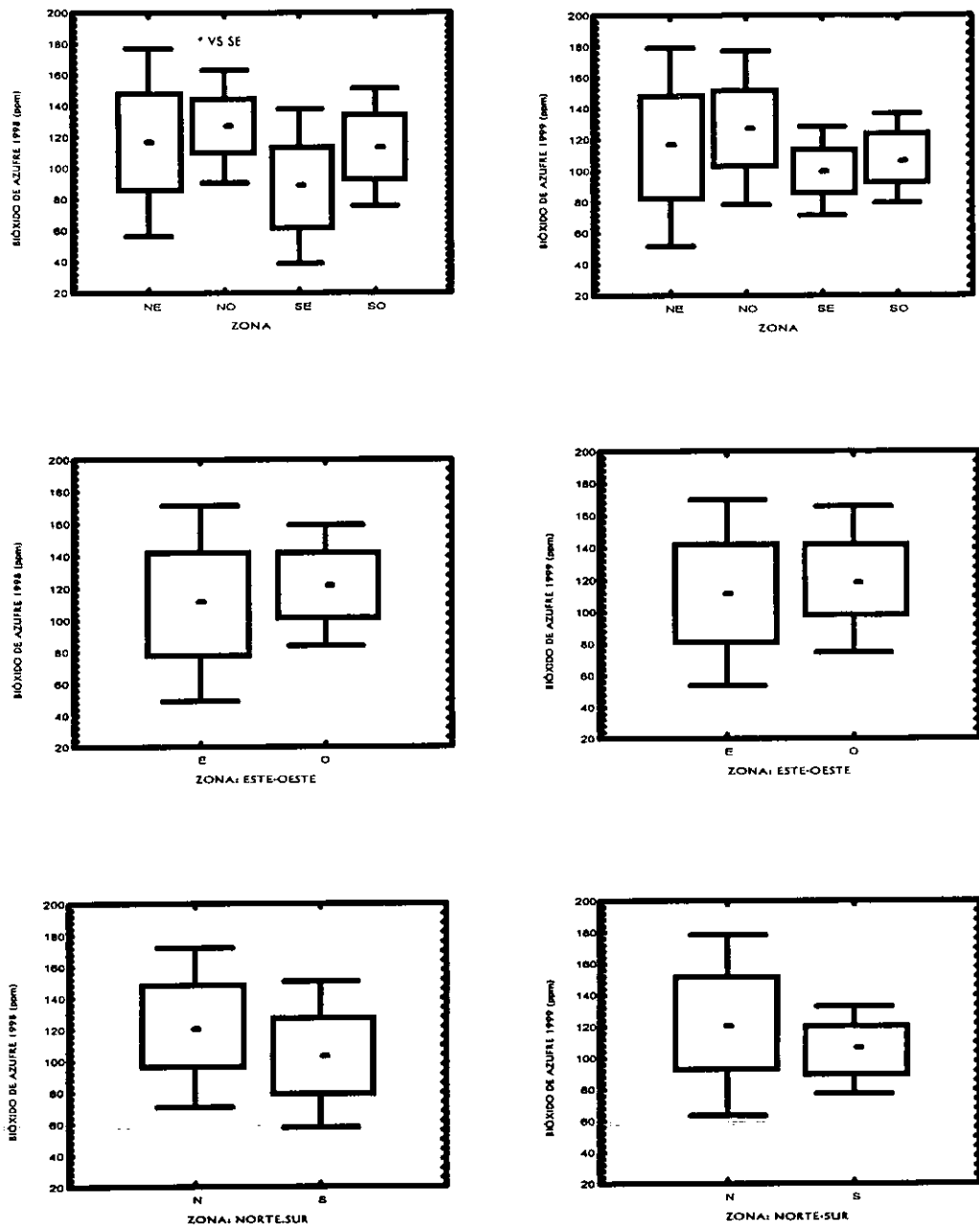
En la figura 3 se muestran las concentraciones acumuladas de CO por zonas. A pesar de no haberse encontrado diferencias significativas, se observó una tendencia en la cual la zona Sureste tuvo una menor acumulación del contaminante, en relación con las demás zonas y que se observó mayormente en 1998. No se detectaron diferencias entre las zonas Norte y Sur, y Este y Oeste de ninguno de los dos años. La figura 4 muestra las concentraciones acumuladas de SO<sub>2</sub>. Se encontró que la acumulación del contaminante en 1998 en la zona Sureste fue significativamente menor con respecto a la zona Noroeste. La tendencia se mantuvo durante 1999. Se observa una ligera diferencia, no significativa, entre Norte y Sur, en ambos años, siendo mayor la acumulación del contaminante en el Norte. La figura 5 muestra las concentraciones acumuladas de PM<sub>10</sub>. Se encontró una concentración significativamente mayor en el Noroeste comparada con el Noreste en 1999; la tendencia se observó también en 1998. Cabe destacar que las concentraciones de partículas respirables disminuyeron notablemente de 1998 a 1999 en las zonas Noreste, Noroeste, Este y Norte. Se encontraron también diferencias significativas entre el Este y el Oeste para ambos años, siendo mayores en la zona Este. Se observó una acumulación ligeramente mayor en la zona Norte con respecto a la Zona Sur en 1998. La figura 6 muestra las concentraciones acumuladas de O<sub>3</sub>. A pesar de no haberse encontrado diferencias estadísticamente significativas, observamos una tendencia de acumulación del contaminante en la zona Sur con respecto a la zona Norte, y ligeramente mayor en la zona Oeste al compararla con la zona Este. La zona que presentó mayor acumulación es la zona Suroeste, y el comportamiento de la acumulación permanece en 1998 y 1999. Las figuras 7 y 8 muestran las concentraciones acumuladas de NO<sub>x</sub> y NO<sub>2</sub>. Ambos tipos de contaminantes presentan el mismo comportamiento. No se encontraron diferencias significativas, pero se detectó una acumulación ligeramente menor en la zona Oeste en comparación con la zona Este.



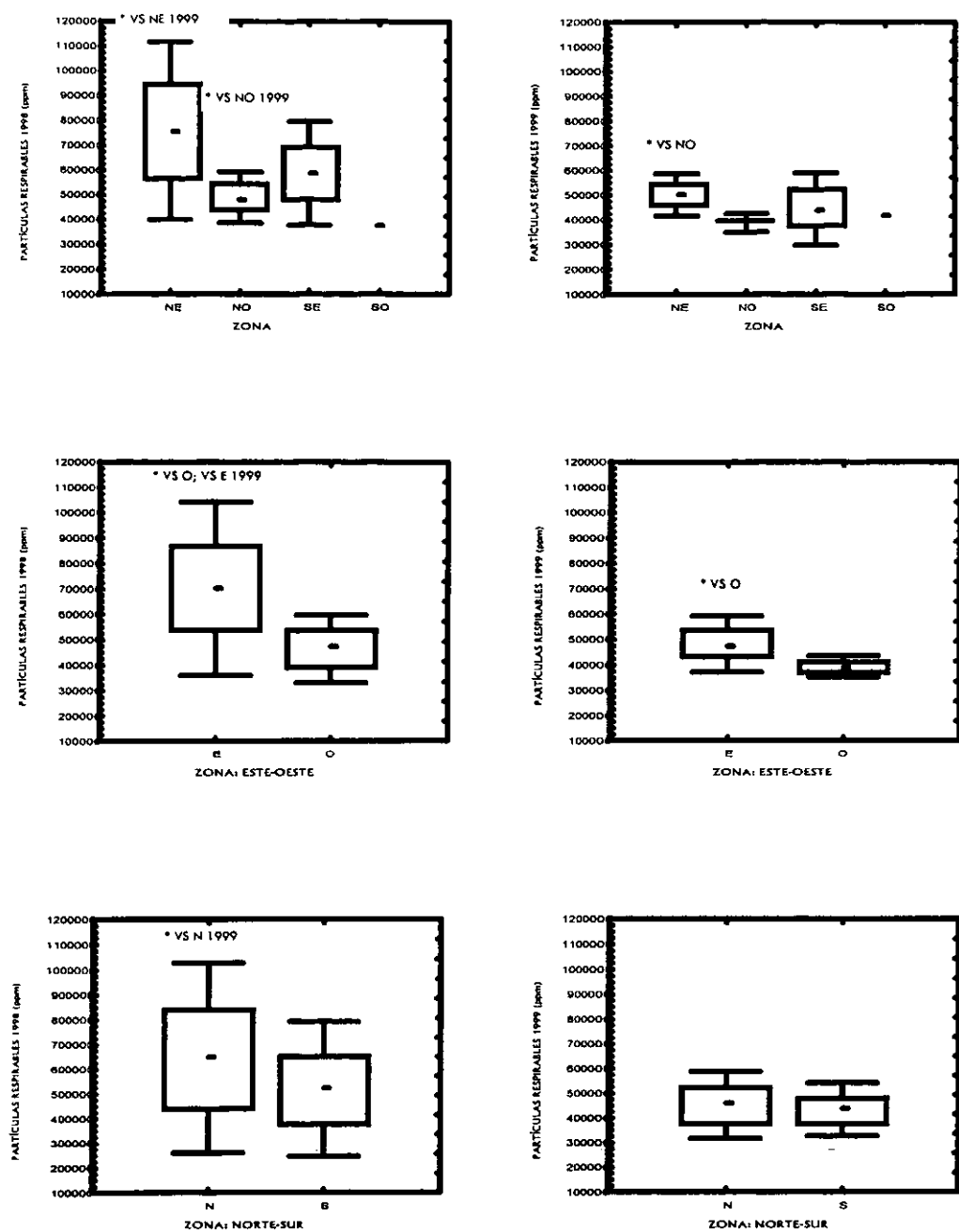


**FIGURA 3. CONCENTRACIONES DE MONÓXIDO DE CARBONO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.**

X: Zona: Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste en las gráficas superiores; Este y Oeste en las gráficas centrales; Norte y Sur en las gráficas inferiores. Y: Sumatoria de la concentración horaria por monitor atmosférico durante 1998 (izquierda) y 1999 (derecha) en ppm.

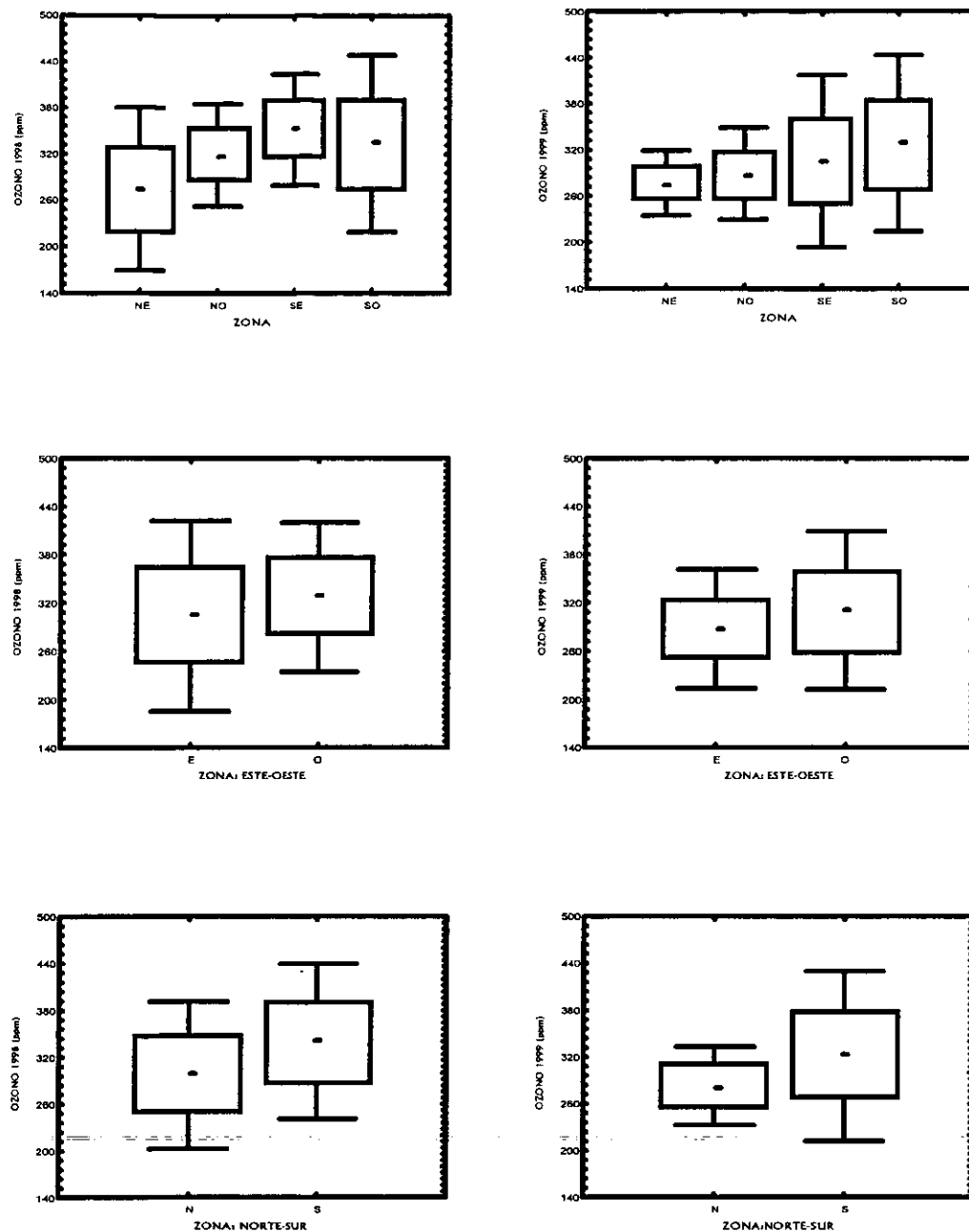


**FIGURA 4.** CONCENTRACIONES DE BIÓXIDO DE AZUFRE DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.  
 X: Zona: Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste en las gráficas superiores; Este y Oeste en las gráficas centrales; Norte y Sur en las gráficas inferiores. Y: Sumatoria de la concentración horaria por monitor atmosférico durante 1998 (izquierda) y 1999 (derecha) en ppm. \*:  $p < 0.05$



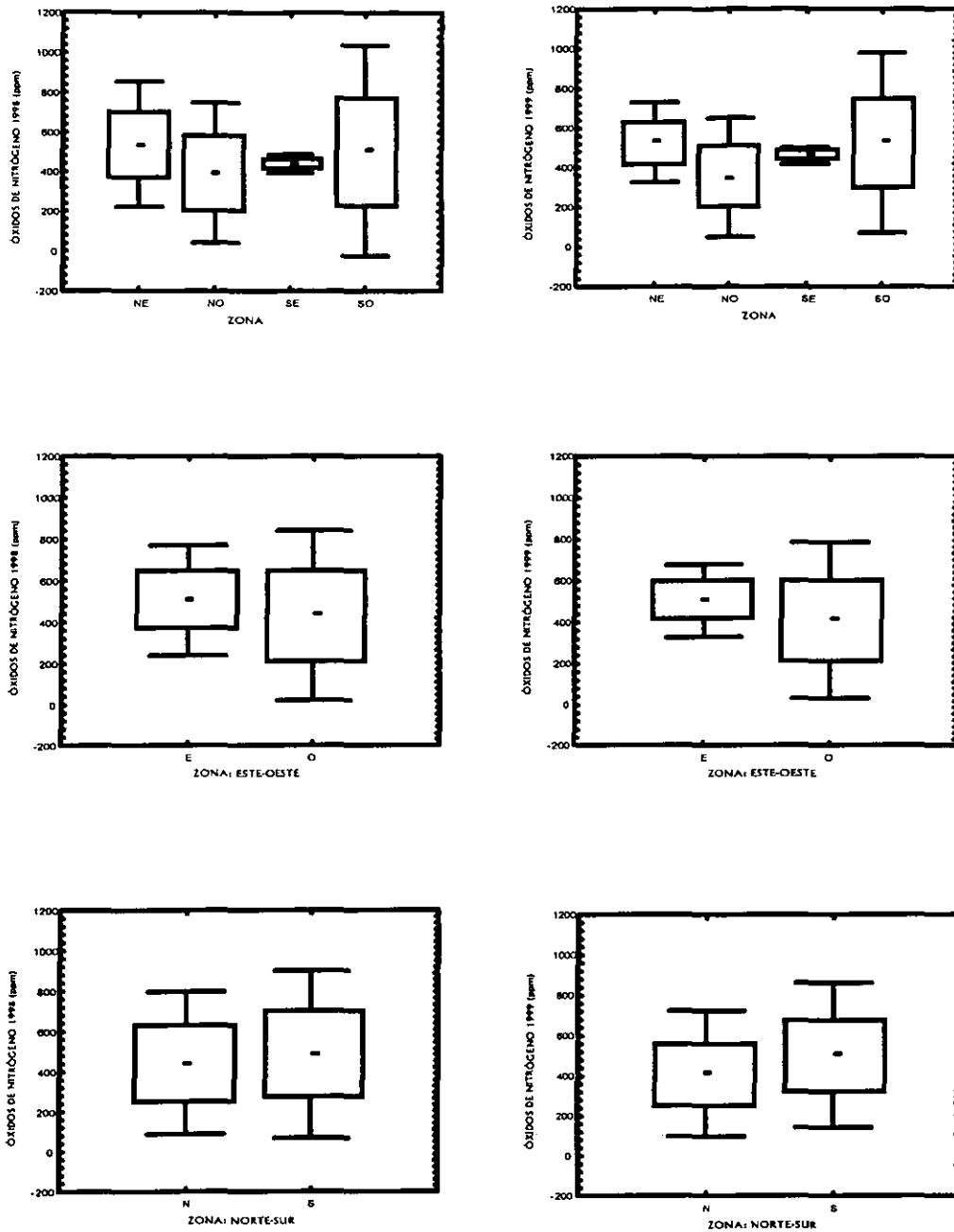
**FIGURA 5. CONCENTRACIONES DE PARTÍCULAS RESPIRABLES DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.**

X: Zona: Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste en las gráficas superiores; Este y Oeste en las gráficas centrales; Norte y Sur en las gráficas inferiores. Y: Sumatoria de la concentración horaria por monitor atmosférico durante 1998 (izquierda) y 1999 (derecha) en ppm. \*:  $p < 0.05$



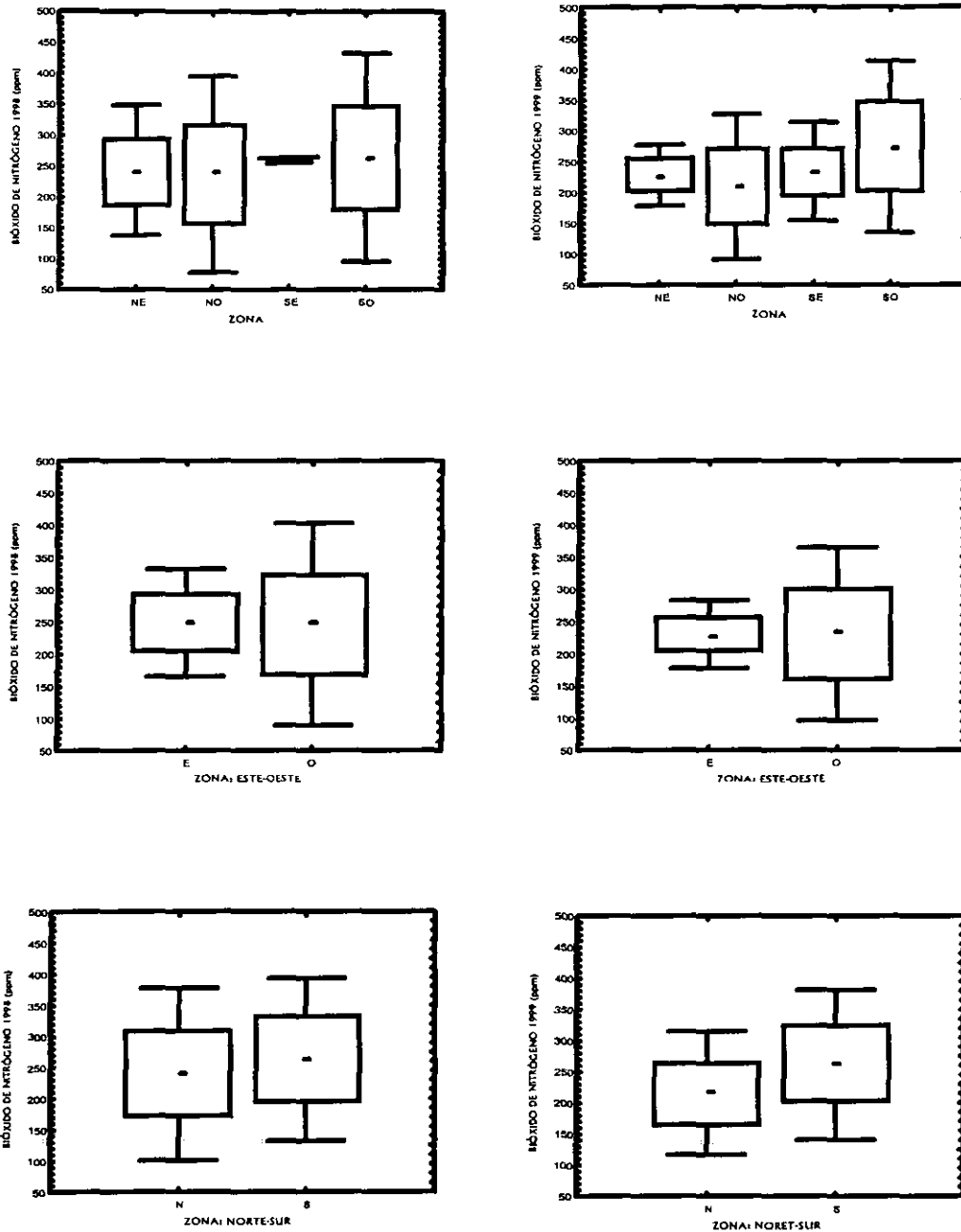
**FIGURA 6. CONCENTRACIONES DE OZONO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.**

X: Zona: Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste en las gráficas superiores; Este y Oeste en las gráficas centrales; Norte y Sur en las gráficas inferiores. Y: Sumatoria de la concentración horaria por monitor atmosférico durante 1998 (izquierda) y 1999 (derecha) en ppm.



**FIGURA 7. CONCENTRACIONES DE ÓXIDOS DE NITRÓGENO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.**

X: Zona: Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste en las gráficas superiores; Este y Oeste en las gráficas centrales; Norte y Sur en las gráficas inferiores. Y: Sumatoria de la concentración horaria por monitor atmosférico durante 1998 (izquierda) y 1999 (derecha) en ppm.



**FIGURA 8.** CONCENTRACIONES DE BIÓXIDO DE NITRÓGENO DURANTE 1998 Y 1999 EN LA ZONA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.

X: Zona: Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste en las gráficas superiores; Este y Oeste en las gráficas centrales; Norte y Sur en las gráficas inferiores. Y: Sumatoria de la concentración horaria por monitor atmosférico durante 1998 (izquierda) y 1999 (derecha) en ppm.

## **DAÑO BASAL EN LOS RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES**

El daño al DNA detectado por el ensayo cometa en los recién nacidos tiene una media de migración de 5.65 micrómetros, por debajo de las 15 micrómetros que es el tamaño de la cabeza del cometa, razón por la cual se considera un daño bajo. La migración del DNA en el ensayo cometa fue dividida en tres categorías: daño bajo, que comprendía a aquellas células que presentaban colas de una o menos veces el diámetro de la cabeza del cometa; daño intermedio, que comprendía las colas con una longitud entre una y dos veces el diámetro de la cabeza; y daño elevado, que eran las células con colas mayores a dos veces el diámetro de la cabeza y células que tomaban la forma de nubes. En la tabla 8 se muestran las medias del porcentaje de células de cada categoría de daño tanto de los niños como de sus madres. Al hacer el análisis por hospital, no encontramos diferencias significativas entre la distribución de las células en las categorías de daño entre los niños, siendo mayor al 70% el número de células que presentan daño bajo. Sin embargo, encontramos una diferencia en las madres, que en el Hospital Gustavo Baz tienen un porcentaje de células con daño intermedio significativamente menor y una tendencia de mayor porcentaje de células con daño bajo. En la tabla 9 se muestran las medias de los diferentes valores de evaluación en los recién nacidos. Encontramos diferencias estadísticamente significativas en entre ambos hospitales en todos los parámetros evaluados, encontrándose un promedio mayor de peso, talla y calificaciones Apgar en el Hospital Gustavo Baz. No se encontraron diferencias en el daño en los recién nacidos por sexo o tiempo de gestación. En las madres se encontró un daño significativamente mayor en las que habían tenido un parto pretérmino (Figura 10).

## **DISTRIBUCIÓN DEL DAÑO AL DNA EN LOS RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES POR ZONA HABITACIONAL**

En la tabla 8 se muestran los porcentajes de células en las diferentes categorías de daño. Realizando el análisis por zona habitacional, no encontramos diferencias en la distribución de las células en las diferentes categorías de daño en los niños. En sus madres, por otro lado, hallamos un porcentaje significativamente mayor de células con daño bajo en la zona Noreste con respecto a la zona Noroeste y Sureste, y en la zona Norte con respecto a la Zona Sur; simultáneamente, encontramos un porcentaje significativamente menor de células con daño intermedio en las mismas zonas. La zona Noreste presentó también una tendencia de mayor cantidad de células con daño bajo respecto a la zona Suroeste y un porcentaje significativamente menor de células con daño intermedio. Las figuras 11, 12 y 13 muestran la distribución de las células en las categorías de daño por zonas. En la tabla 9 se muestran las medias de los valores de evaluación de los recién nacidos. Al analizar su distribución por zona habitacional encontramos varias diferencias significativas. En la zona Noreste el peso de los niños fue mayor que en todas las demás zonas, así como las calificaciones Apgar en comparación con los niños de las zona Noroeste y Suroeste. La talla también fue mayor en la zona Noreste en relación a la de los niños de la zona Suroeste. La zona Norte presentó mayor peso en los niños, mientras que la zona Este presentó mejores valores en todos los parámetros evaluados en comparación con la zona Oeste. Estos resultados se ilustran en las gráficas superiores y medios de las figuras 14, 15 y 16.

	PORCENTAJE DE CÉLULAS CON DAÑO:	HOSPITAL		ZONA							
		CMN 20 NOV	G. BAZ	NORESTE	NOROESTE	SURESTE	SUROESTE	NORTE	SUR	ESTE	OESTE
BEBÉS	BAJO	75.6	75.1	77.1	76.3	81.2	73.6	76.9	77.1	78.5	74.6
	INTERMEDIO	10.1	6.7	7.8	8.1	8.4	10.7	7.8	9.6	8.0	9.7
	ALTO	14.3	18.2	15.2	15.6	10.4	15.7	15.3	13.3	13.6	15.7
MAMÁS	BAJO <sup>1</sup>	73.7	83.5	90.1	76.2	76.0	77.5	87.3	76.7	85.6	77.0
	INTERMEDIO <sup>2</sup>	10.1	4.3	3.1	10.9	9.2	17.5	4.6	13.0	5.0	14.9
	ALTO	16.2	12.2	6.9	12.9	14.8	5.1	8.1	10.3	9.4	8.1

Tabla 8. PORCENTAJE PROMEDIO DE CÉLULAS EN LAS DIFERENTES CATEGORÍAS DE DAÑO DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA POR HOSPITAL Y ZONA HABITACIONAL.

<sup>1</sup>: P < 0.05 Zona Noreste VS Noroeste; Zona Norte VS Sur

<sup>2</sup>: p < 0.05 Hospital Gustavo Baz VS CMN 20 de Noviembre; Zona Noreste VS todas las demás; Zona Norte VS Sur; Zona Este VS Oeste

	HOSPITAL		ZONA							
	CMN 20 NOV	G. BAZ	NORESTE	NOROESTE	SURESTE	SUROESTE	NORTE	SUR	ESTE	OESTE
PESO <sup>1</sup>	2383.8	3178.8	3175.1	2368.8	2506.3	2406.3	2927.0	2452.0	2926.2	2391.7
TALLA <sup>2</sup>	46.6	49.6	49.6	48.5	49.1	45.9	49.3	47.2	49.4	46.8
APGAR 1 <sup>3</sup>	7.7	8.4	8.4	7.5	8.1	7.7	8.1	7.9	8.3	7.6
APGAR 5 <sup>4</sup>	8.6	9.0	9.0	8.3	8.8	8.7	8.8	8.7	8.9	8.5

TABLA 9: VALORES PROMEDIO DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS EVALUADOS EN LOS RECIÉN NACIDOS POR HOSPITAL Y ZONA HABITACIONAL

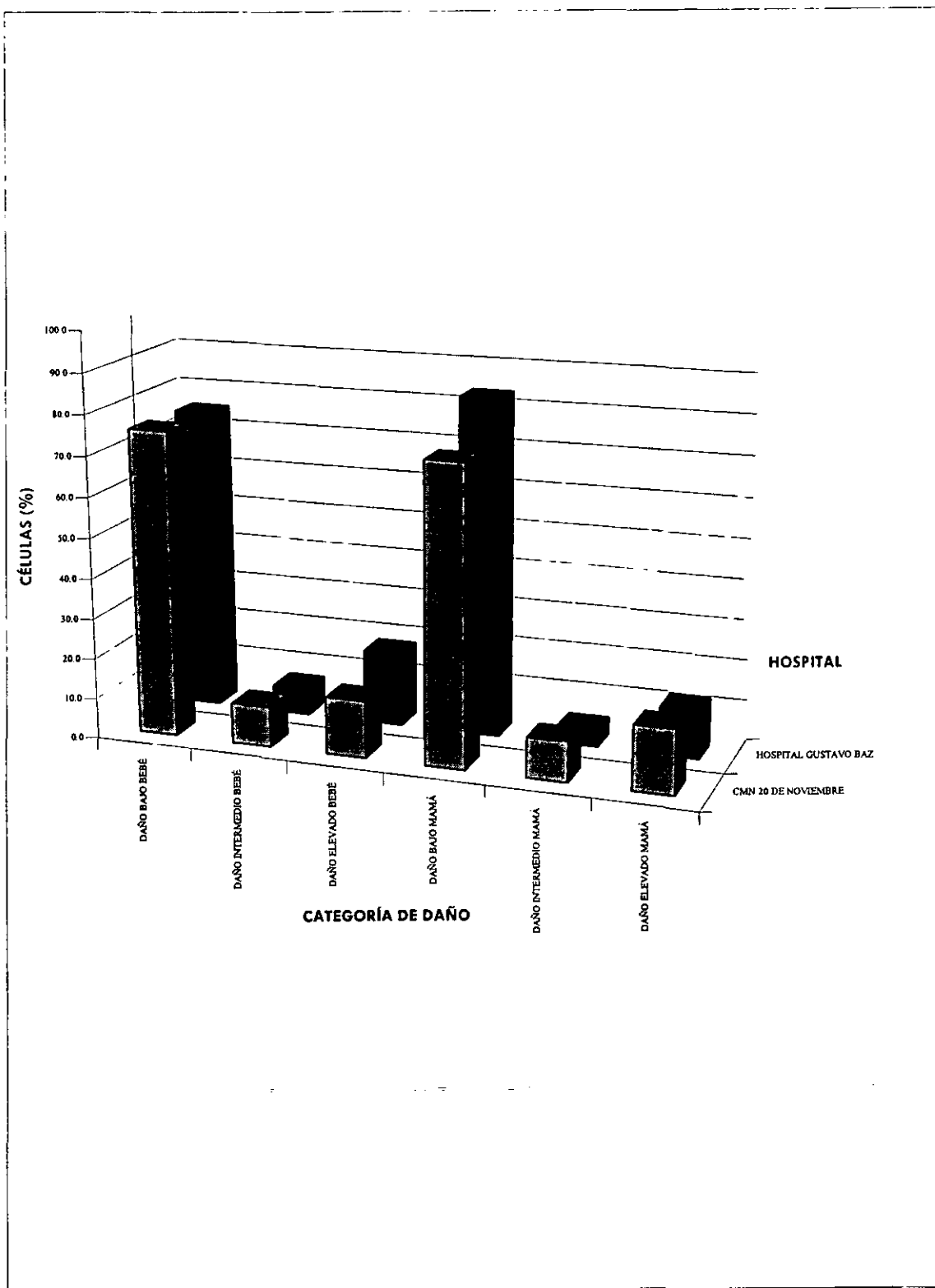
<sup>1</sup>: p < 0.05 Hospital Gustavo Baz VS CMN 20 de Noviembre; Zona Noreste VS todas las demás; Zona Norte VS Sur; Zona Este VS Oeste

<sup>2</sup>: p < 0.05 Hospital Gustavo Baz VS CMN 20 de Noviembre; Zona Noreste VS Suroeste; Zona Este VS Oeste

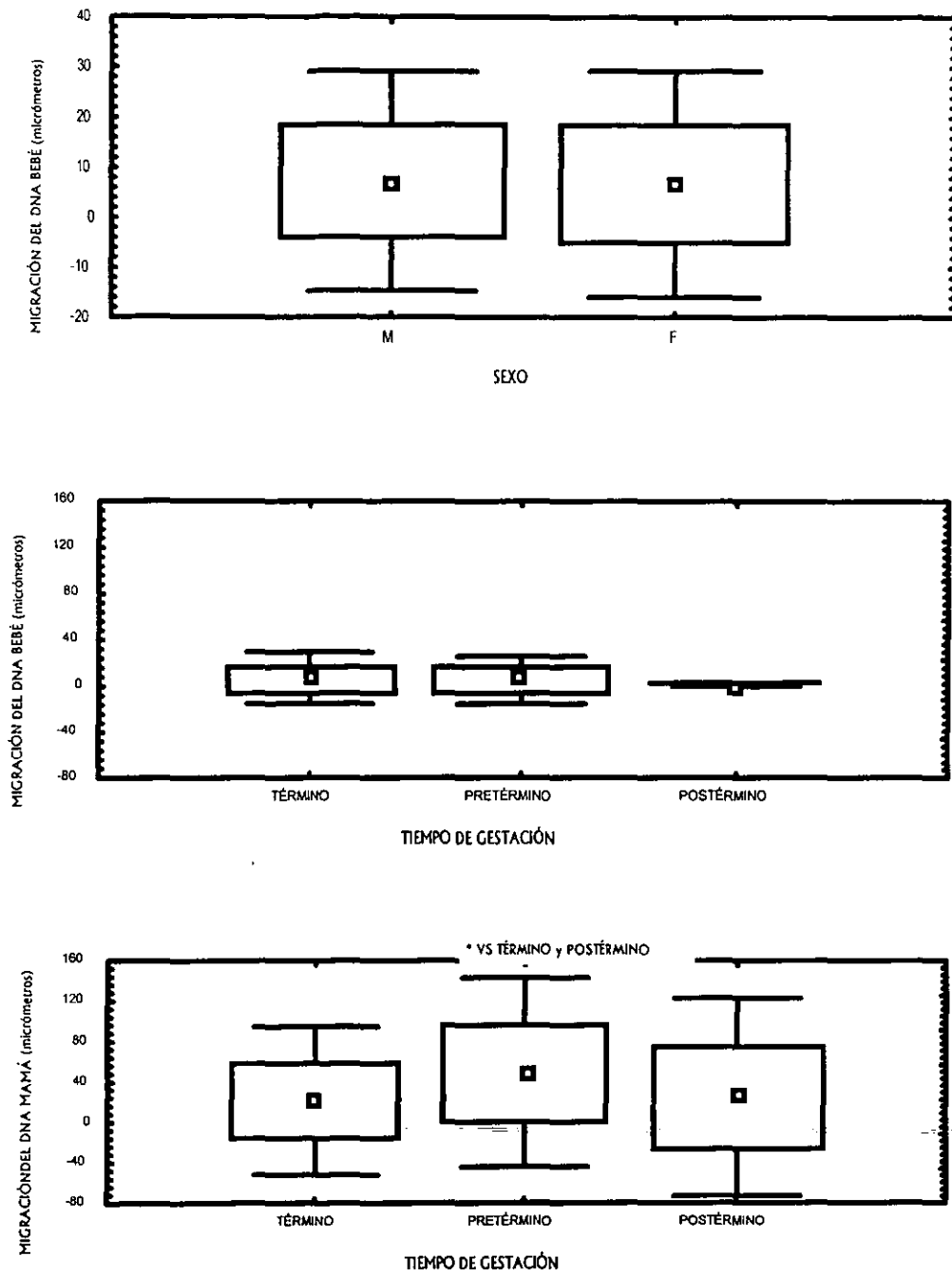
<sup>3</sup>: p < 0.05 Hospital Gustavo Baz VS CMN 20 de Noviembre; Zona Noreste VS Noroeste y Suroeste; Zona Este VS Oeste

<sup>4</sup>: p < 0.05 Hospital Gustavo Baz VS CMN 20 de Noviembre; Zona Noreste VS Noroeste y Suroeste; Zona Este VS Oeste

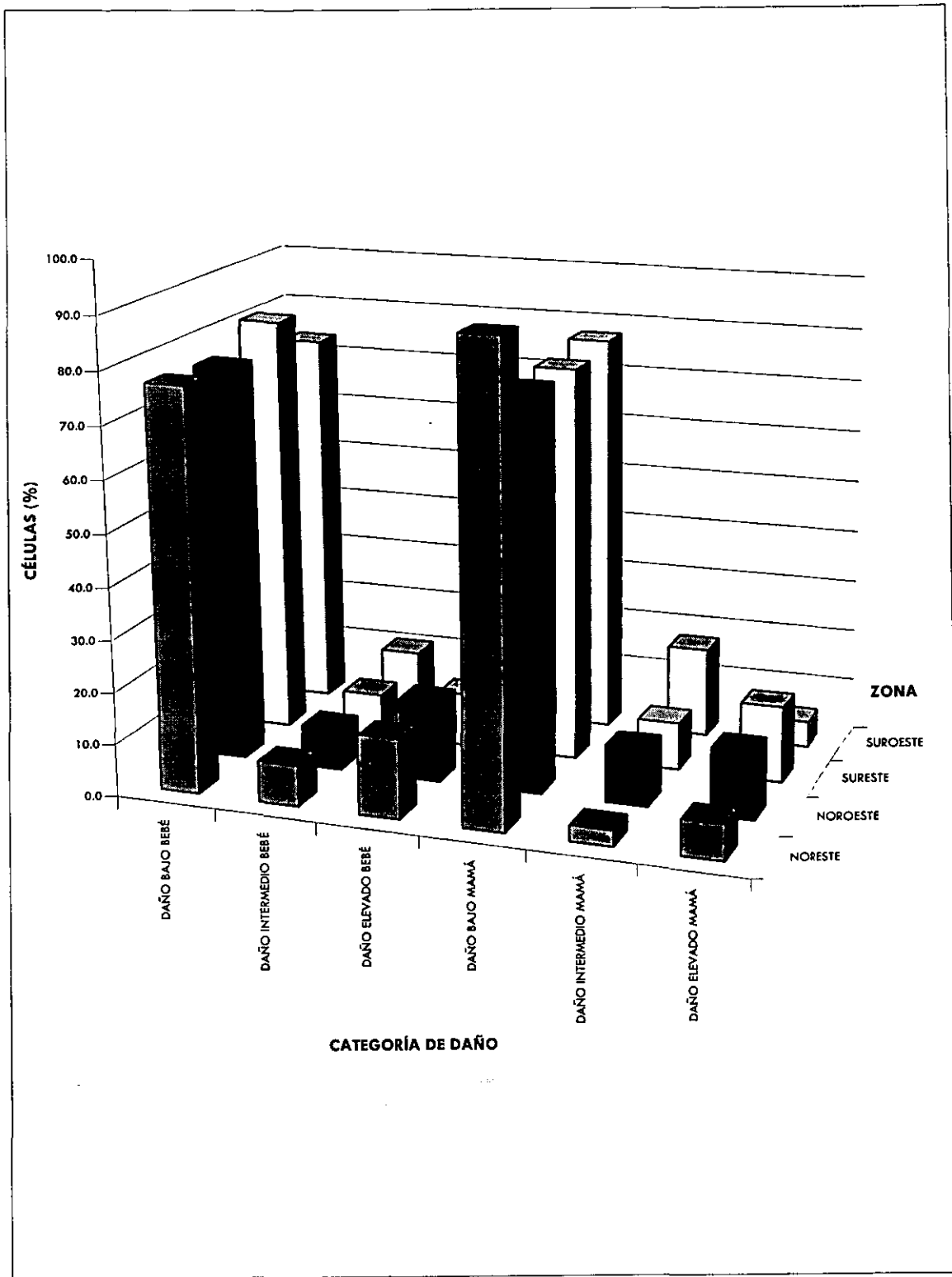




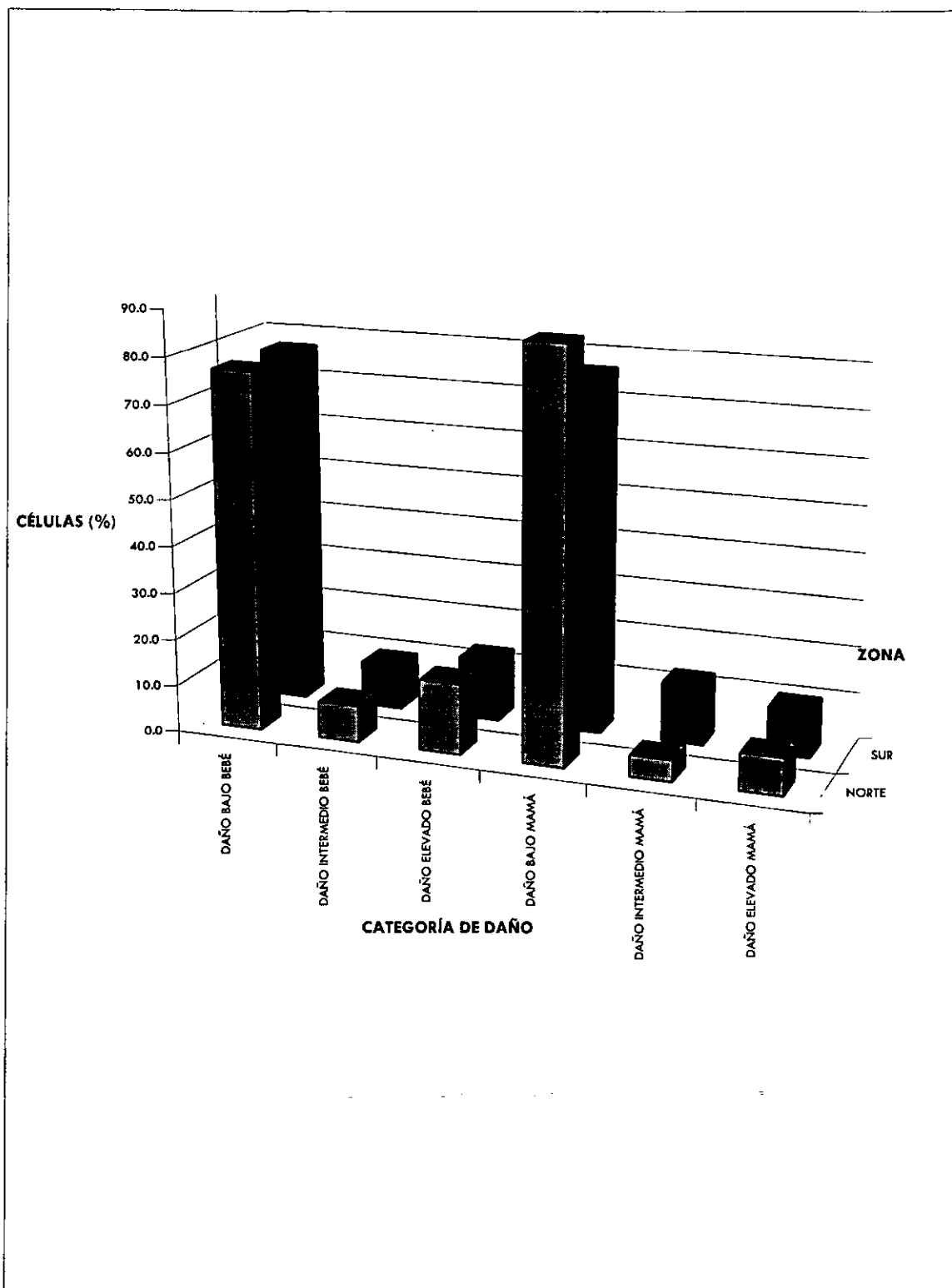
**FIGURA 9.** DISTRIBUCIÓN POR HOSPITAL DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES. Porcentaje de células con daño bajo (longitud de la cola del cometa hasta 1 vez el diámetro de la cabeza), intermedio (dos veces) y elevado (tres o más veces) en recién nacidos y sus madres.



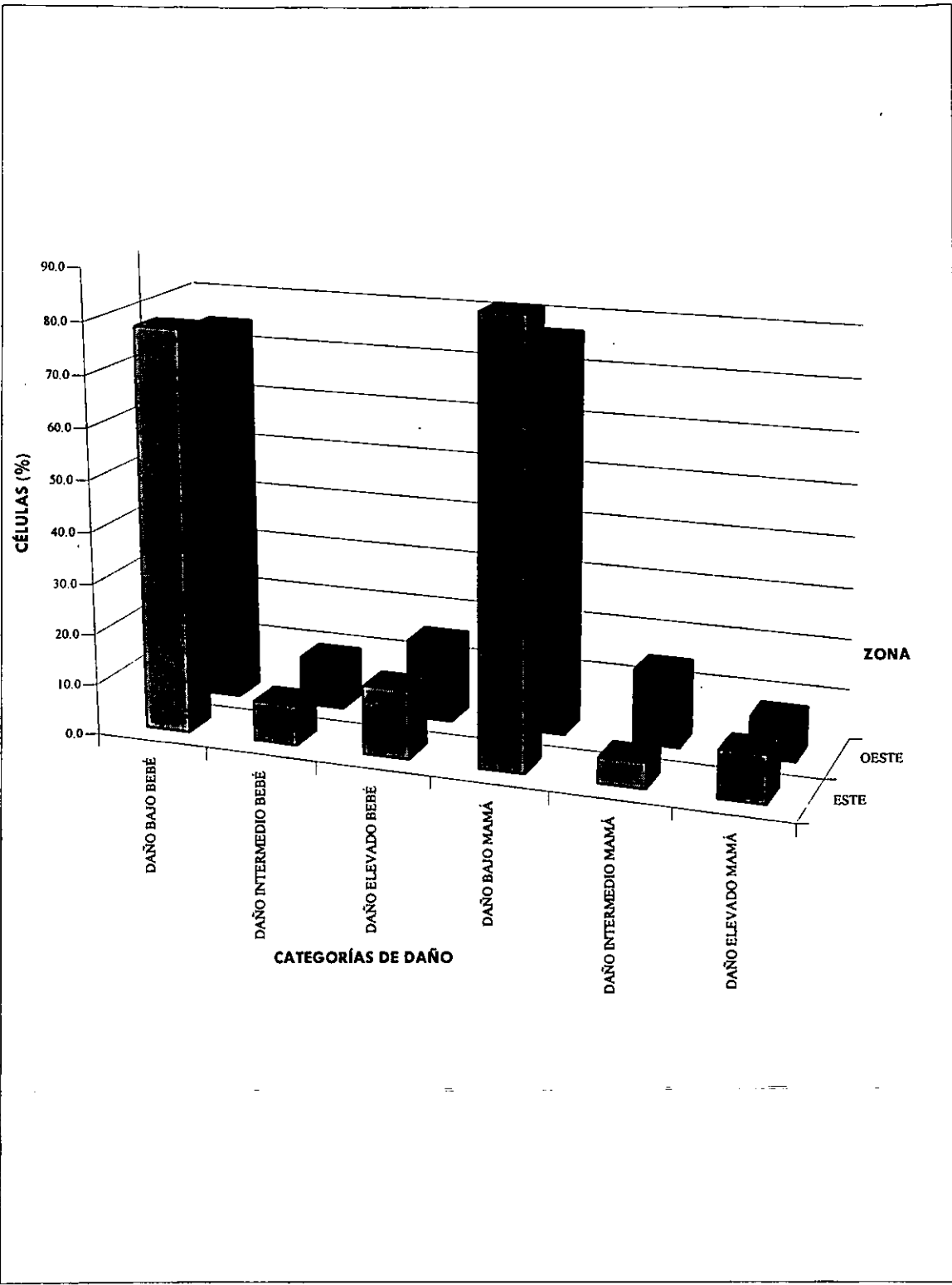
**FIGURA 10.** DISTRIBUCIÓN POR SEXO Y TIEMPO DE GESTACIÓN DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES: Mediana de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) en células de recién nacidos y sus madres agrupados por sexo del bebé (paneles superiores) y tiempo de gestación (paneles inferiores) \*:P<0.05



**FIGURA 11.** DISTRIBUCIÓN POR ZONA HABITACIONAL (NORESTE, NOROESTE, SURESTE Y SUROESTE) DEL DAÑO AL DNA BAJO, INTERMEDIO Y ALTO DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES. Porcentaje de células con bajo (longitud de la cola del cometa hasta 1 vez el diámetro de la cabeza), intermedio (dos veces) y alto (tres o más veces) daño en muestras de recién nacidos y sus madres.



**FIGURA 12.** DISTRIBUCIÓN POR ZONA HABITACIONAL (NORTE Y SUR) DEL DAÑO AL DNA BAJO, INTERMEDIO Y ALTO DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES. Porcentaje de células con bajo (longitud de la cola del cometa hasta 1 vez el diámetro de la cabeza), intermedio (dos veces) y alto (tres o más veces) daño en muestras de recién nacidos y sus madres.



**FIGURA 13.** DISTRIBUCIÓN POR ZONA HABITACIONAL (ESTE Y OESTE) DEL DAÑO AL DNA BAJO, INTERMEDIO Y ALTO DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES: Porcentaje de células con bajo (longitud de la cola del cometa hasta 1 vez el diámetro de la cabeza), intermedio (dos veces) y alto (tres o más veces) daño en muestras de recién nacidos y sus madres.

Se compararon también las medianas de la longitud de la cola de los cometas en los niños y sus madres por zona habitacional, así como los valores de evaluación de los niños. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niños, pero se encontró que la migración en las madres de la zona Noreste es significativamente menor que la de las madres en las zonas Noroeste y Suroeste, así como en la zona Este en comparación con la zona Oeste. Los resultados se ilustran en las gráficas inferiores de las figuras 14, 15 y 16.

## **FACTORES SOCIOECONÓMICOS Y DE SALUD: SU INFLUENCIA EN EL DAÑO AL DNA EN LOS RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES**

Se analizó el efecto de diferentes factores de tipo socioeconómico y de salud recolectados en los cuestionarios aplicados a las madres sobre la mediana de la longitud de cola del cometa en los recién nacidos y sus madres. En todos los casos, el daño observado en las madres fue mayor al encontrado en los niños. La presencia de complicaciones durante el embarazo, al igual que el empleo de algún medicamento en cualquier momento del mismo se reflejaba en un incremento en el daño detectado por el ensayo cometa en la madre, con respecto a aquellas que no habían presentado complicaciones ni empleado medicamentos durante el embarazo. Sin embargo, en los recién nacidos no se encontraron diferencias. Esto, por un lado, podría deberse a que la barrera placentaria evita eficientemente el paso tanto de los microorganismos que puedan haber ocasionado infecciones durante el embarazo como de los medicamentos empleados para combatirlas y combatir otro tipo de padecimientos no infectivos. Por otro lado, el daño bajo en los recién nacidos podría deberse a que los mecanismos de reparación en los niños son capaces de reparar el daño ocasionado tanto por los microorganismos como los medicamentos que llegan al bebé en desarrollo. Podría, también, ser una combinación de ambos procesos (Figura 17). En el caso del tabaquismo, cabe destacar que el número de madres fumadoras dentro de la muestra fue muy bajo y no fue posible obtener los datos sobre los hábitos de la mayor parte de los padres. Sin embargo, en los pocos casos en los que la madre era fumadora, se encontró una diferencia en el daño detectado por el ensayo cometa en los recién nacidos, y no así en sus madres, aunque, como ya se mencionó, el daño en las madres era siempre mayor que el encontrado en los niños (Figura 17). Este hecho concuerda con reportes previos, sobre todo del grupo de Sardas, quien reportó un incremento en el porcentaje de células con daño detectado por ensayo cometa, así como en el intercambio de cromátidas hermanas, en madres fumadoras y sus recién nacidos (Sardas et al 1995; Sardas et al 1998). Al analizarse la influencia del trabajo sobre el daño detectado por el ensayo cometa, se encontró que las madres que trabajan fuera de sus casas presentaron un mayor daño con respecto a las que se dedicaban al hogar, mientras que en los niños no se encontraron diferencias. Cabe destacar que ninguna de las madres trabajaba en empleos de alto riesgo y/o con exposición a sustancias tóxicas. Por otro lado, casi todas las mujeres que trabajaban fuera de sus casas dieron a luz en el CMN 20 de Noviembre, donde se concentran casos con complicaciones durante el embarazo, y la mayor parte de ellas residía en la zona Suroeste, por lo que la diferencia encontrada podría deberse a estos factores (Figura 17).

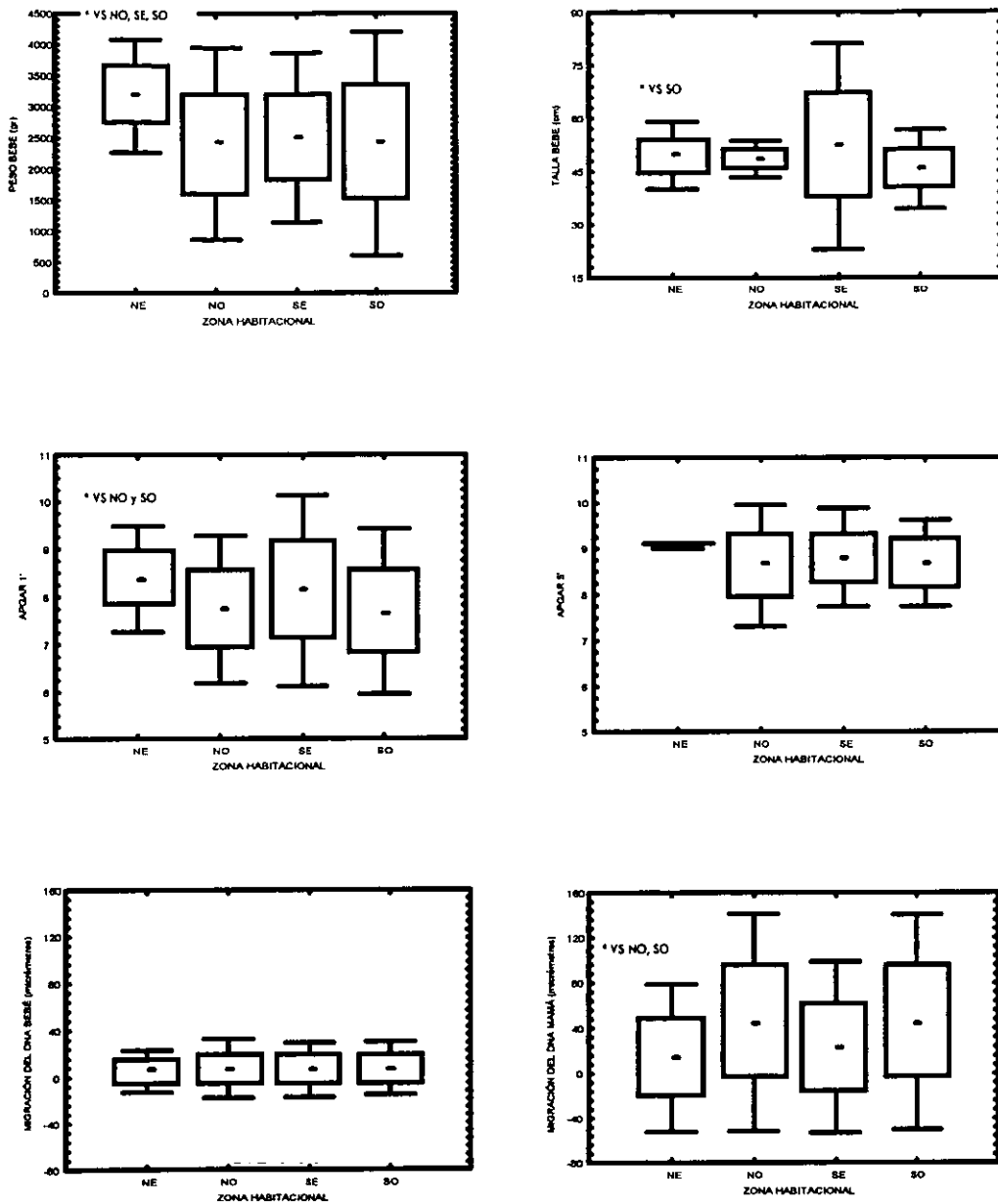


FIGURA 14. ZONAS HABITACIONALES NORESTE, NOROESTE, SURESTE Y SUROESTE: DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES, Y PARÁMETROS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO: Variación de acuerdo a la zona habitacional Noreste, Noroeste, Sureste y Suroeste del peso (gr) y talla (cm) (parte superior), Apgar 1' y 5' (unidades arbitrarias) (parte media) y mediana de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) en recién nacidos y sus madres (parte inferior, gráficas izquierda y derecha respectivamente). \*:  $p < 0.05$

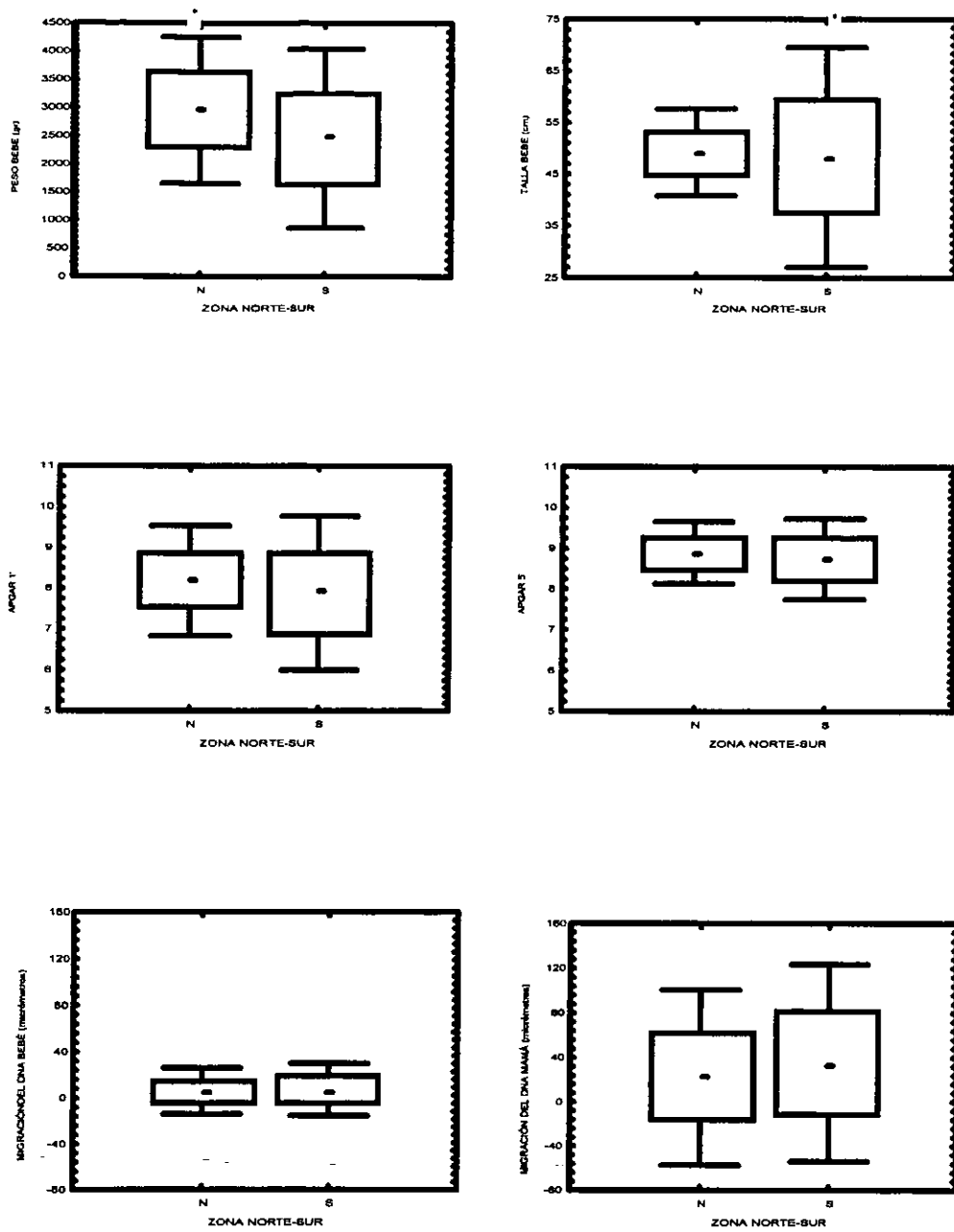


FIGURA 15. ZONAS HABITACIONALES NORTE Y SUR: DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES, Y PARÁMETROS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO: Variación de acuerdo a la zona habitacional Norte y Sur del peso (gr) y talla (cm) (parte superior), Apgar 1' y 5' (unidades arbitrarias) (parte media) y mediana de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) en recién nacidos y sus madres (parte inferior, gráficas izquierda y derecha respectivamente). \*:  $p < 0.05$



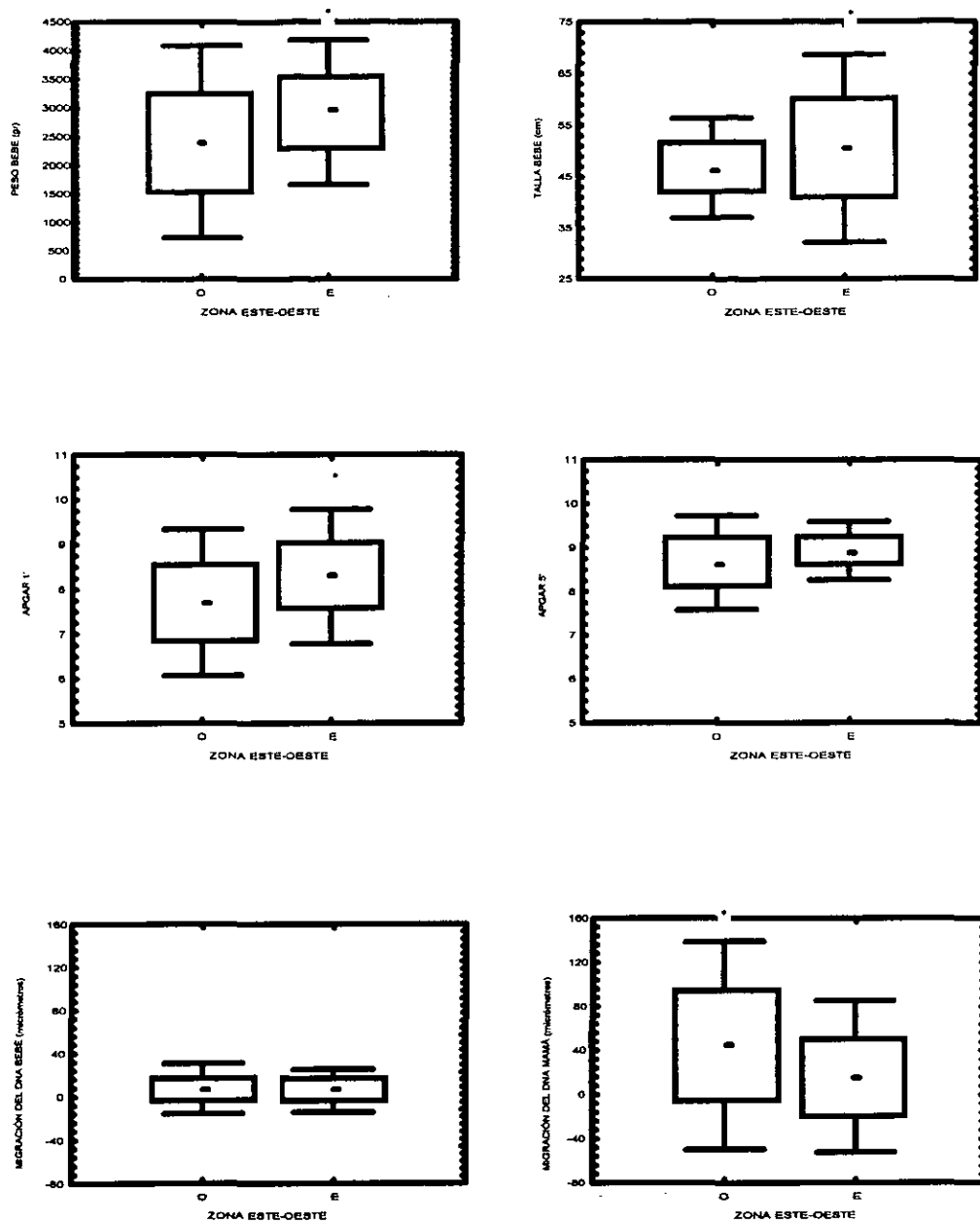


FIGURA 16. ZONAS HABITACIONALES ESTE Y OESTE: DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES, Y PARÁMETROS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO: Variación de acuerdo a la zona habitacional Este y Oeste del peso (gr) y talla (cm) (parte superior), Apgar 1' y 5' (unidades arbitrarias) (parte media) y mediana de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) en recién nacidos y sus madres (parte inferior, gráficas izquierda y derecha respectivamente). \*:  $p < 0.05$

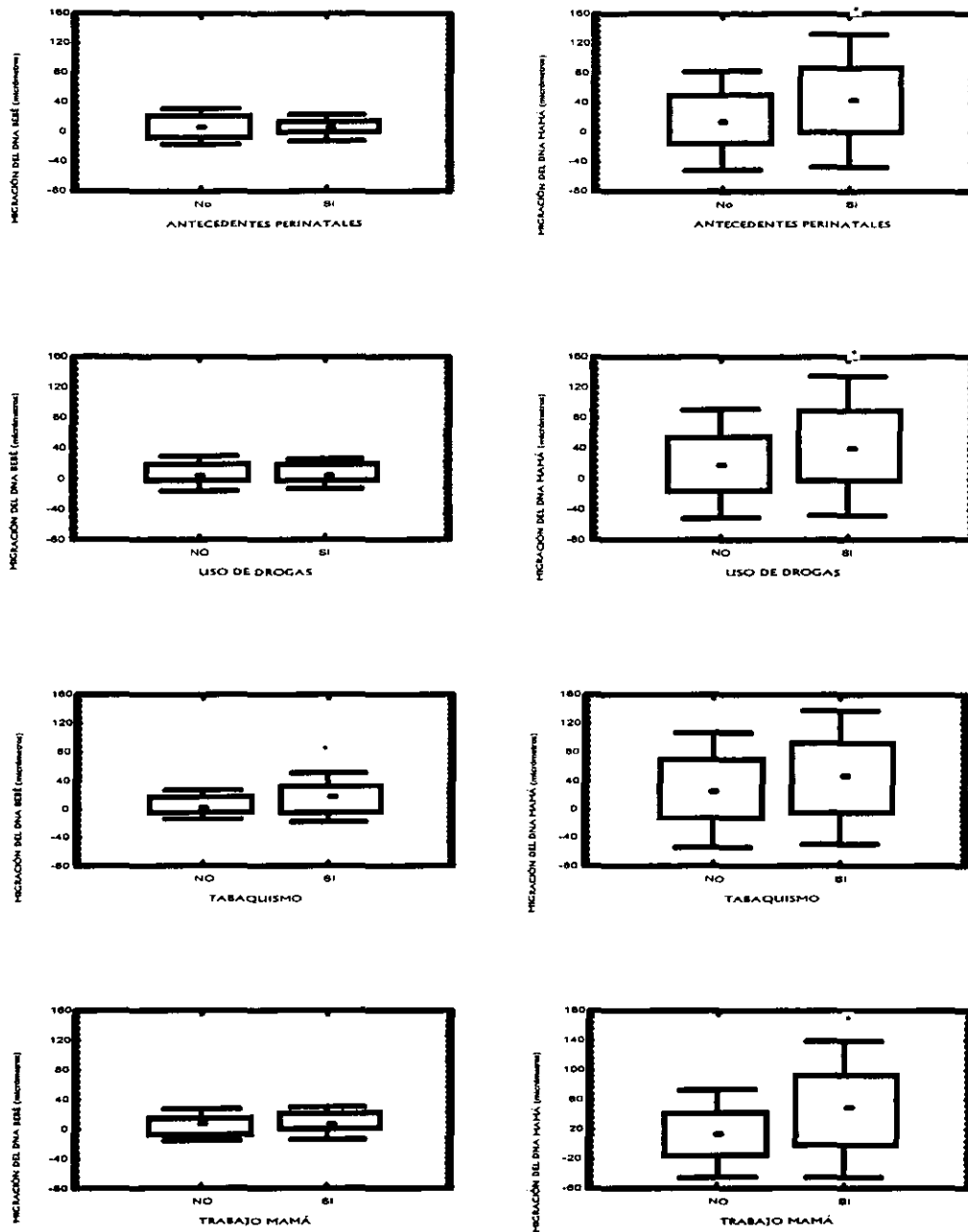


FIGURA 17. INFLUENCIA DE LA SALUD Y EL TRABAJO MATERNO EN EL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES: mediana de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) en células de recién nacidos (izquierda) y sus madres (derecha) agrupados por antecedentes perinatales maternos de importancia (parte superior), uso de drogas durante el embarazo (parte media superior), tabaquismo (parte media inferior) y trabajo (parte inferior). \*: $p < 0.05$

Se investigó si el historial de abortos previos podía influir en el daño detectado por el ensayo cometa. No se encontraron datos significativamente diferentes, pero esto puede deberse a que hubo pocas madres con abortos previos, sobre todo con más de 3. Sin embargo, en estos casos se encontró una mediana de la longitud de cola del cometa de más del doble que en las madres con abortos previos. En los niños no se encontraron diferencias. La edad de la madre ocasionó un incremento en la mediana de la longitud de la cola del cometa, aunque no es estadísticamente significativo; esto no se observa en los bebés. A pesar de no hallarse diferencias significativas por el número de embarazos de la madre, el comportamiento mostró un incremento en la mediana de la migración en la madre a medida que se incrementa el número de embarazos, cosa que no se observa en los recién nacidos. En este sentido, cabe destacar que en muchos casos las madres con más edad han tenido un mayor número de embarazos, y por esta razón, la tendencia de incremento del daño en las madres con mayor número de embarazos podría deberse a un incremento en el nivel de daño al DNA por la edad. Se observó un ligero incremento, no significativo, en la migración del DNA en las madres con embarazos múltiples con relación a aquellas con embarazos de un producto, sin encontrarse diferencias en los niños. Cabe aclarar que la falta de significancia podría deberse a que hubo muy pocas madres con partos múltiples en la muestra. (Figura 18).

Encontramos, como ya describimos previamente, una diferencia por hospital en la distribución de las células en las tres categorías de daño, disminuyendo el porcentaje de aquellas de daño bajo e incrementando las de las de mayor daño en las madres. Esto se observó también en la mediana de la migración de DNA, que es significativamente mayor en las madres que dieron a luz en el CMN 20 de Noviembre. Esto puede deberse a que en éste se encontró un mayor número de madres con complicaciones durante el embarazo, no así en el Hospital Gustavo Baz. Cabe destacar, sin embargo, que la mediana del daño en los recién nacidos continúa siendo siempre menor a la de la madre, y en este caso tampoco se encuentran diferencias entre los niños nacidos en los dos hospitales. La vía de nacimiento del recién nacido (cesárea o parto natural) no provoca diferencias en la mediana del daño en los niños, mientras que en las madres sí, siendo significativamente mayor en las que sufrieron cesárea. La existencia de un problema de nacimiento en el bebé se refleja directamente en la mediana de la longitud de la cola, que a pesar de ser siempre menor a la de la madre, es mayor en los niños con cualquier tipo de problema con respecto a aquellos que no los presentaron. En las madres no se encuentran diferencias al tener un hijo con problemas de salud al nacer (Figura 19).

## **CORRELACIÓN ENTRE EL DAÑO EN LOS RECIÉN NACIDOS Y EL DAÑO EN SUS MADRES**

Se buscó una correlación entre el daño observado en el niño recién nacido y su madre. Se encontró que a pesar de que la mediana de la longitud de la cola del cometa en la madre es siempre mayor que la del niño, al incrementarse esta se incrementa paralelamente la mediana de la longitud de la cola del cometa en su hijo. Esto se observó también en el porcentaje de nubes y en la distribución de las células en las tres categorías de daño (Figura 20). El comportamiento se mantuvo independientemente del hospital de nacimiento (Figura 21).

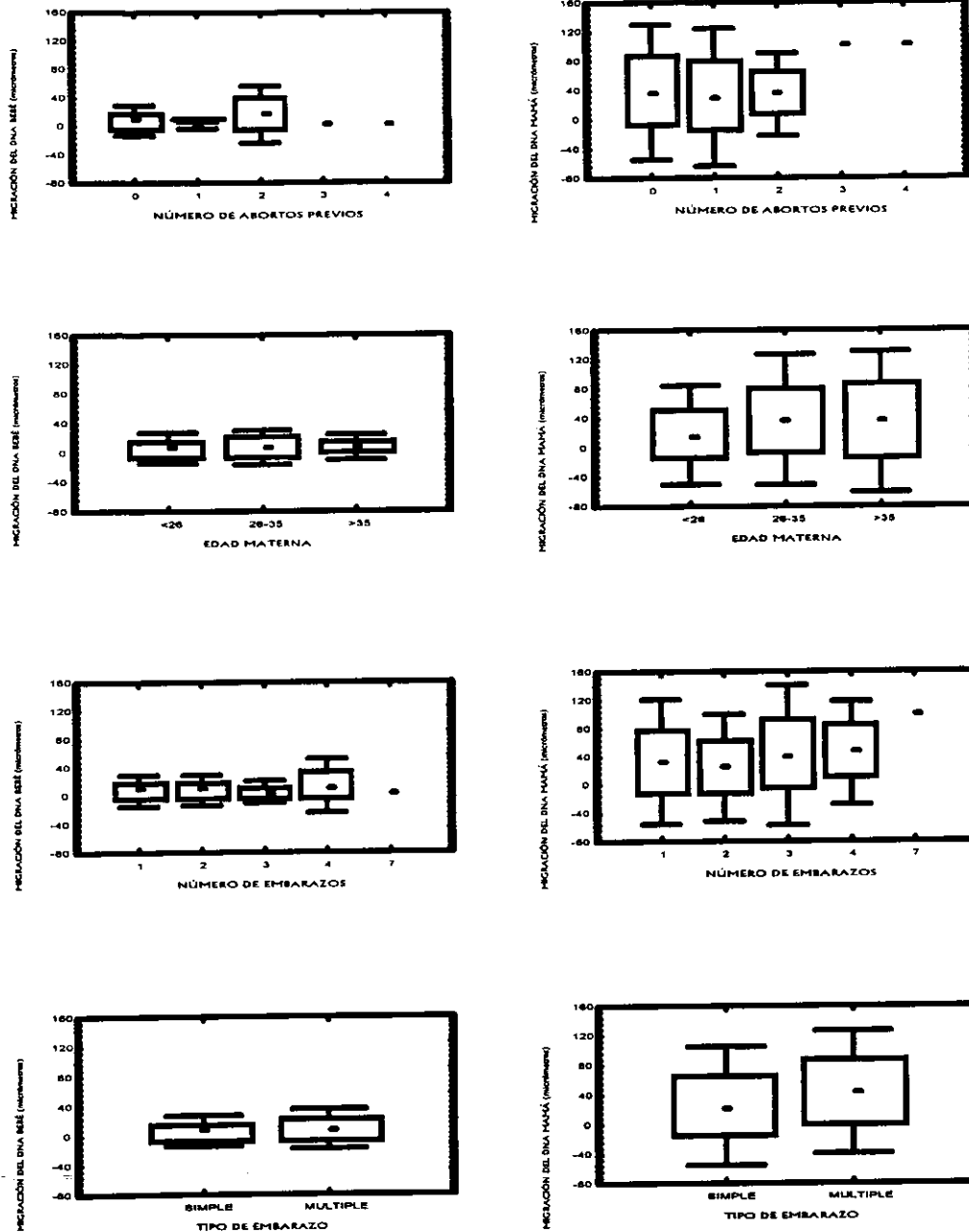


FIGURA 18. INFLUENCIA DE LA EDAD MATERNA, EMBARAZOS Y ABORTOS PREVIOS Y NÚMERO DE PRODUCTOS DEL EMBARAZO, EN EL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES: mediana de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) en células de recién nacidos (izquierda) y sus madres (derecha) agrupados por el número de abortos previos (parte superior), edad materna (parte media superior), número de embarazos (parte media inferior) y embarazo simple o múltiple (parte inferior)

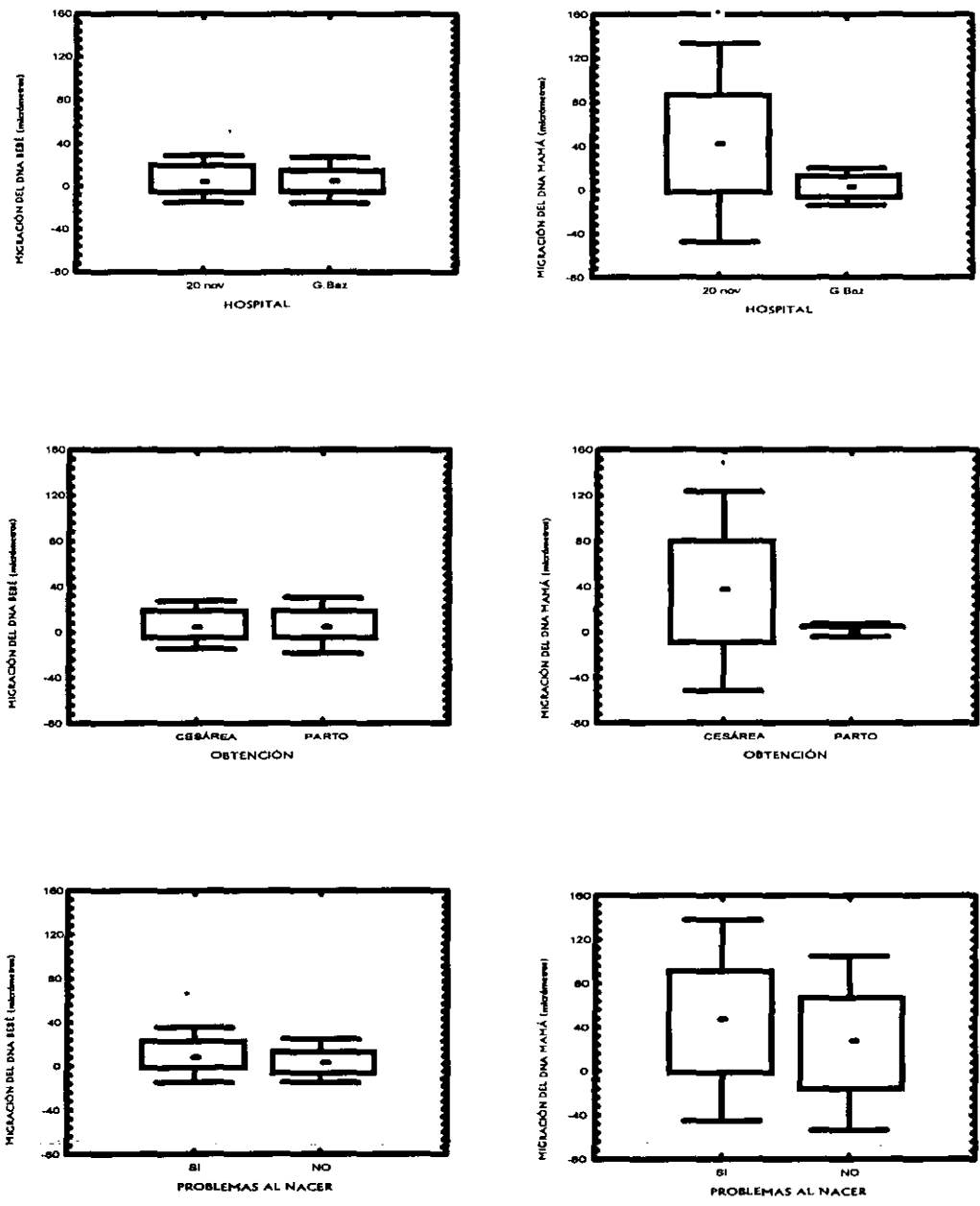


FIGURA 19. PROMEDIO POR HOSPITAL, VÍA DE NACIMIENTO Y PROBLEMAS DE SALUD DEL RECIÉN NACIDO EN EL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES: mediana de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) en células de recién nacidos (izquierda) y sus madres (derecha) agrupados por hospital (parte superior), nacimiento por parto o cesárea (parte media) y problemas de salud del recién nacido al nacer (parte inferior). \*: $p < .05$

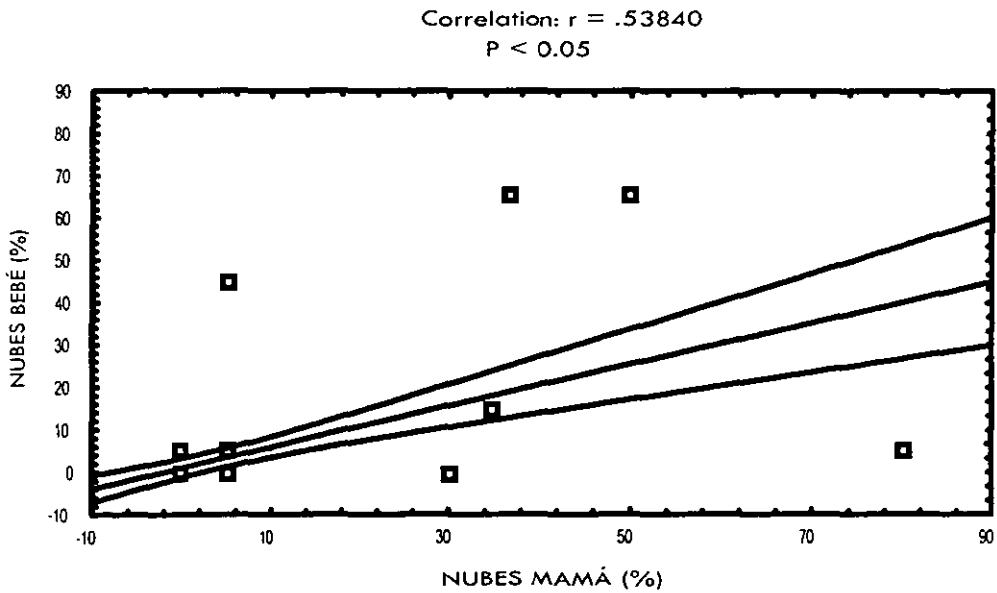
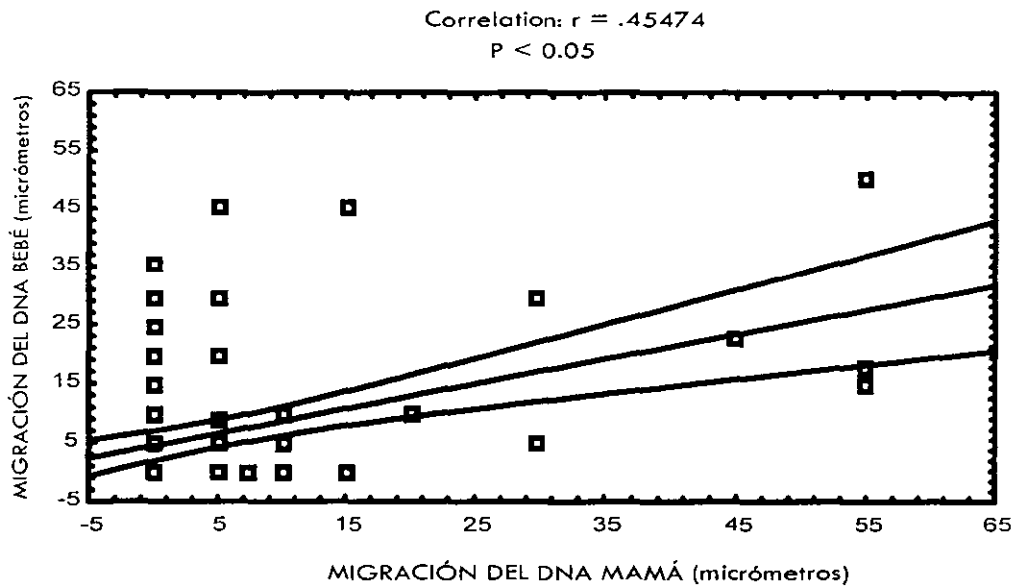


FIGURA 20: CORRELACIÓN DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES: El panel superior muestra la correlación entre la mediana de la longitud de la cola de cometa (micrómetros) del recién nacido (Y) y su madre (X), mientras que el panel inferior muestra la correlación entre el porcentaje de las células con nubes en el recién nacido.  $P < 0.05$  en ambos casos

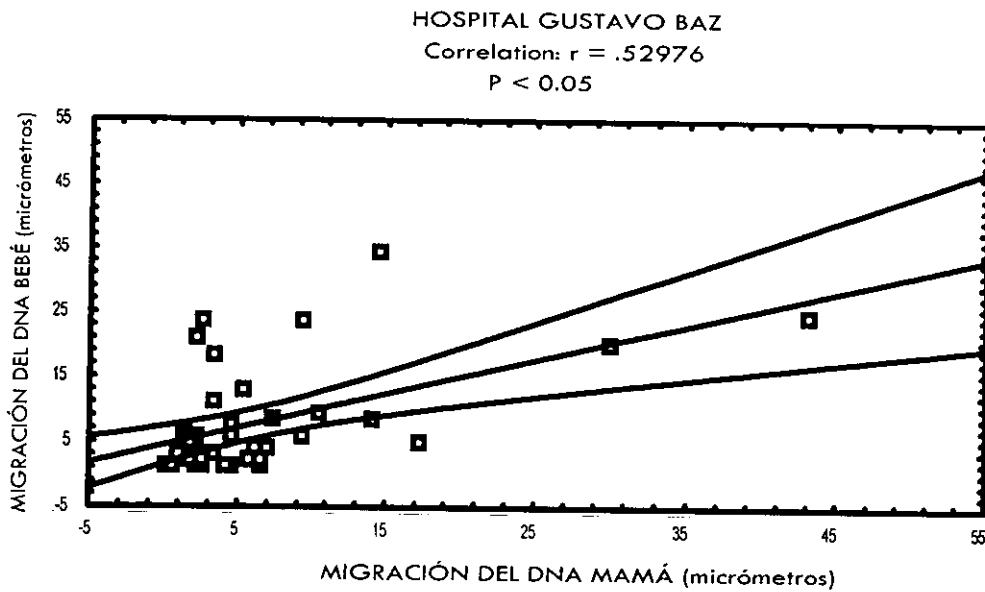
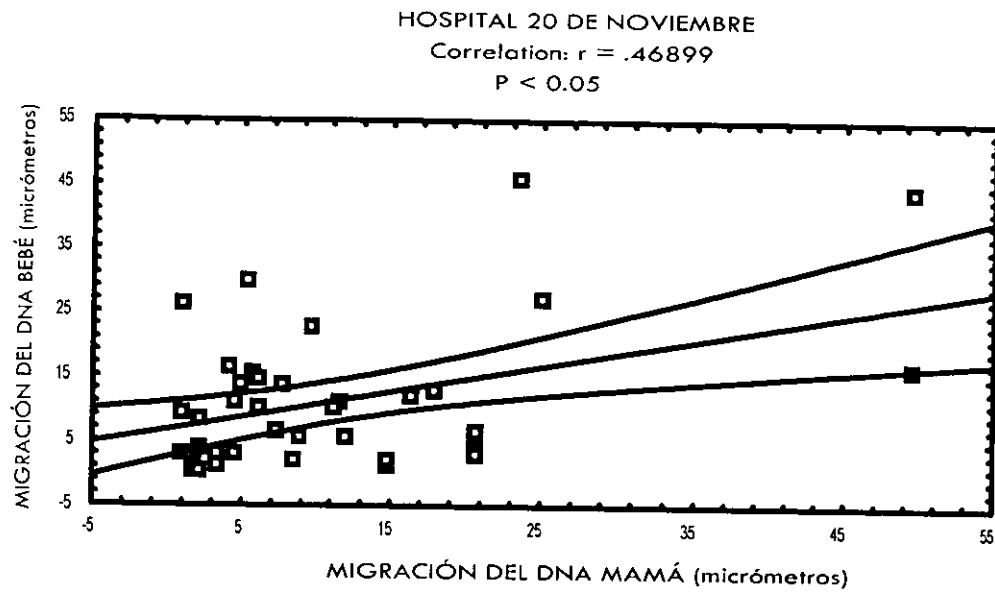


FIGURA 21. CORRELACIÓN DEL DAÑO AL DNA DETECTADO POR EL ENSAYO COMETA EN RECIÉN NACIDOS Y SUS MADRES POR HOSPITAL: La figura muestra la correlación de las medias de la longitud de la cola del cometa (micrómetros) entre el recién nacido (Y) y su madre (X). El panel superior se refiere al CMN 20 de noviembre y el inferior al Hospital Gustavo Baz.  $P < 0.05$  en ambos casos

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS DEL PROYECTO

Por medio del trabajo realizado hemos podido determinar que el daño basal detectado por ensayo cometa en leucocitos del cordón umbilical de recién nacidos en la Zona Metropolitana del Valle de México tiene una media de migración de 5.65 micrómetros, menor al diámetro promedio de la cabeza de los cometas que es de 15 micrómetros, por lo cual se considera un nivel bajo de daño al DNA. El tipo de daño evaluado pertenece a rompimientos de cadena sencilla, sitiosapurínicos o apirimídicos, y/o a sitios retardados de reparación, debido a que el pH al que se realizó el ensayo cometa puede detectar únicamente este tipo de daños. Sin embargo, esto no es indicativo de la ausencia de rompimientos de doble cadena, por lo que se podría realizar en un futuro el ensayo cometa a pH 7 para poder evaluar también este tipo de daño.

Observamos que una gran parte de los factores de riesgo durante el embarazo, como los medicamentos, las infecciones y los trastornos metabólicos maternos, afectan preferentemente a la madre, mientras que el recién nacido presenta un nivel bajo de daño al DNA. Esto puede deberse a que exista un adecuado funcionamiento placentario o a que los mecanismos de reparación del daño al DNA en los fetos sean mejores que en sus madres. Existen reportes que indican que la frecuencia espontánea de células aberrantes y de mutaciones hprt se incrementa con la edad; asimismo se ha encontrado una disminución en la eficiencia del reconocimiento y la reparación del daño al DNA, y una mayor susceptibilidad a la acción de agentes oxidantes con el incremento de la edad (Singh et al 1990; Piperakis et al 1998; Rossner et al 1998; Curry 1999). Por estos motivos, una de las posibles líneas a seguir del proyecto sería la aplicación de ensayos de reparación en las células de estos niños, induciendo un daño y evaluando su capacidad reparativa. Haber encontrado una correlación entre el daño al DNA de la madre y el recién nacido, nos indica que no obstante el bajo nivel de daño al DNA entre los recién nacidos, la probabilidad de que el hijo de una madre expuesta a factores de riesgo durante el embarazo sufra un daño al DNA, es mayor que si la madre no estuvo expuesta.

Encontramos que el DNA de los recién nacidos es sensible a condiciones como la enterocolitis, dificultades respiratorias, malformaciones, trauma obstétrico, neuropatías y deficiencias nutricionales encontradas entre los recién nacidos de nuestra muestra, y esto se refleja en un incremento en la longitud de la cola del cometa. Este dato otorga una gran validez al ensayo cometa en la evaluación del daño genético en recién nacidos con condiciones adversas de salud, respaldando las manifestaciones clínicas que éstos presentan. Se detectó también un efecto importante del tabaquismo materno en el daño al DNA en los recién nacidos, confirmando datos anteriormente publicados que reportan un incremento en el daño genético en los hijos de madres activa o pasivamente fumadoras (Lundberg 1983; Sardas et al 1995, Whyatt et al 1998; Perera et al 1998).

Al analizar los parámetros de salud de los recién nacidos por zona habitacional, encontramos que su peso, su talla y la calificación Apgar al primer minuto son mayores en aquellos pertenecientes a la zona Noreste, al igual que al dividir en dos subzonas la Zona Metropolitana, encontrándose mejores parámetros en la zona Norte y la zona Este.



Sin embargo, analizando el daño al DNA por zona habitacional, no encontramos diferencias en los recién nacidos, lo que confirma la idea de que el nivel basal de daño al DNA en los niños que nacen en nuestra ciudad es bajo. Las madres, por el contrario, presentaron un menor daño al habitar en la zona Noreste, con respecto a las demás zonas, así como al habitar en la zona Este en comparación con la Oeste. La diferencia en el daño entre madres e hijos podría deberse, como ya se mencionó, a una adecuada función protectora de la placenta como barrera a los contaminantes ambientales. Otras hipótesis podrían ser que los mecanismos de reparación del daño al DNA en los niños recién nacidos fueran más eficientes que los encontrados en sus madres, o bien, que el daño encontrado en las madres sea el producto de la acumulación por una exposición crónica a los contaminantes. Estas hipótesis no son excluyentes entre sí, y podrían ser estudiadas como otra línea del proyecto en el futuro.

Dentro de la población analizada en este estudio, las madres que dieron a luz en el CMN 20 de Noviembre presentan un mayor daño. Esto puede deberse a que en este hospital se sigue un mayor número de embarazos de riesgo, mientras que el Hospital Gustavo Baz de Ciudad Nezahualcóyotl reportó únicamente dos de éstos casos. Además, el estilo de vida y las condiciones socioeconómicas de las madres que acuden a cada hospital, son diferentes, y esto podría presentar un sesgo en los resultados encontrados. Para aclarar este punto, como perspectivas a futuro del proyecto, sería necesario ampliar el número de muestras, abarcando hospitales equivalentes en cuanto al tipo de embarazos que atienden y las condiciones socioeconómicas de las pacientes.

Los hospitales que nos proporcionaron muestras se encuentran en la zona Suroeste (CMN 20 de Noviembre) y Noreste (Hospital Gustavo Baz). Como ya se mencionó, atienden a pacientes con diferentes tipos de embarazo y condiciones socioeconómicas, y la mayor parte de las madres que dan a luz en cada hospital pertenecen a la zona donde se ubica el mismo. La zona Noreste es la que presenta menores niveles de ozono, pero tiene una alta concentración de partículas suspendidas; la zona Suroeste, por el contrario, tiene una alta concentración de ozono y bajos niveles de partículas suspendidas. Ya que el ensayo cometa detecta un mayor daño en las madres residentes en la zona Suroeste, esto podría indicar que la técnica es más sensible para detectar daño inducido por una sustancia oxidante, como es el caso del ozono. En nuestra población, sin embargo, no podemos descartar la posibilidad de que el bajo nivel de daño al DNA en las madres residentes en las zonas Este y Norte se deba también a que su embarazo haya sido de bajo riesgo, mientras que en las madres residentes en las zonas Oeste y Sur encontramos una mayor frecuencia de embarazos de alto riesgo. Para aclarar este punto, será necesario muestrear hospitales equivalentes en diferentes zonas de la ciudad.

Podemos concluir, que el daño basal en los leucocitos del cordón umbilical, en los recién nacidos en la Zona Metropolitana del Valle de México evaluado por medio del ensayo cometa, tiene una media de 5.65 micrómetros, lo que se considera bajo. Esto nos habla de un fuerte impacto de los hábitos de la madre en la salud del recién nacido. La zona de habitación influye sobre el daño al DNA en las madres, y, debido a la correlación encontrada en el daño al DNA entre madres e hijos, la contaminación ambiental constituye un importante riesgo para los niños en gestación.

## REFERENCIAS

Abotalib Z, Adelusi B, al Meshari A, al Nuaim A, Chowdhury N, Kangave D. *East Afr Med J* 1998 Feb;75(2):102-106 **Obstetric outcome in the unbooked mother.**

Alter BP. *Blood* 1984 Aug;64(2):329-40 **Advances in the prenatal diagnosis of hematologic diseases.**

Anderson LM, Jones AB, Miller MS, Chauhan DP. *IARC Sci Publ* 1989;(96):155-88 **Metabolism of transplacental carcinogens.**

Arntzen A, Moum T, Magnus P, Bakketeig LS. *Scand J Soc Med* 1996 Mar;24(1):36-42 **Marital status as a risk factor for fetal and infant mortality.**

Baltaci V, Aygun N, Akyol D, Karakaya AE, Sardas S. *Mutat Res* 1998 Sep 1;417(1):47-55 **Chromosomal aberrations and alkaline comet assay in families with habitual abortion.**

Bates DV. *Environ Health Perspect* 1995 Sep;103 Suppl 6:49-53 **The effects of air pollution on children.**

Bauer MK, Harding JE, Bassett NS, Breier BH, Oliver MH, Gallaher BH, Evans PC, Woodall SM, Gluckman PD. *Mol Cell Endocrinol* 1998 May 25;140(1-2):115-20 **Fetal growth and placental function.**

Betancourt M. *Mutat Res* 1995; 331(1):65-77 **Assessment of DNA damage in leukocytes from infected and malnourished children by single cell gel electrophoresis/comet assay.**

Binkova B, Veselý D, Veselá D, Jelínek R, Sram RJ. *Mutat Res* 1999; 440(1):45-58 **Genotoxicity and embriotoxicity of urban air particulate matter collected during winter and summer period in two different districts of the Czech Republic.**

Bishop JB, Witt KL, Sloane RA. *Mutat Res* 1997 Dec 12;396(1-2):9-43 **Genetic toxicities of human teratogens.**

Blondel B, Zuber MC. *Paediatr Perinat Epidemiol* 1988 Apr;2(2):125-37 **Marital status and cohabitation during pregnancy: relationship with social conditions, antenatal care and pregnancy outcome in France.**

Blondel B, Saurel-Cubizolles MJ. *J Epidemiol Community Health* 1991 Sep;45(3):211-5 **An indicator of adverse pregnancy outcome in France: not receiving maternity benefits.**

Boréus LO. **Fetal pharmacology.** 1973, Raven Press Publishers. New York, USA.

Borja-Aburto VH, Castillejos M, Gold DR, Bierzwinski S, Loomis D. *Environ Health Perspect* 1998 Dec;106(12):849-55 **Mortality and ambient fine particles in southwest Mexico City, 1993-1995.**

Borja-Aburto VH, Hertz-Picciotto I, Rojas Lopez M, Farias P, Rios C, Blanco J. *Am J Epidemiol* 1999 Sep 15;150(6):590-7 **Blood lead levels measured prospectively and risk of spontaneous abortion.**

Calderón-Garcidueñas L, Osnaya-Brizuela N, Ramírez-Martínez L, Villarreal-Calderón A. *Environ Health Perspect* 1996; 104(2):160-168 **DNA strand breaks in nasal respiratory epithelium are induced upon exposure to urban pollution.**

Calderón-Garcidueñas L. *Environ Mol Mutagen* 1997; 30(1):11-20 **DNA damage in nasal respiratory epithelium from children exposed to urban pollution.**

Capit W, Elson LM. **Anatomía Cromodinámica.** 1994, Fernández Editores. México.

Coas V. **Le tecnologie dei cicli prodottivi ed il suo impatto ambientale: risorse e problematiche de sviluppo sostenibile.** 1999, Corso di tecnologia dei cicli prodottivi con indirizzo ambientale, Università degli Studi di Firenze, Italia.

Curry J, Karnaoukhova L, Guenette GC, Glickman BW. *Genetics* 1999 Jul; 152(3):1065-77 **Influence of sex, smoking and age on human hprt mutation frequencies and spectra.**

Davis DL, Saldiva PHN, Ahmed AK, Carreira J, Miraglia S, Bandhari R, White R, Khattak N, Wu C, Xue S, Chen B, Schmidt C, Loh M. *World Resources Institute Environmental Health Notes* Sep 1999 **Urban Air pollution risks to children: A global environmental health indicator.**

Dejmek J, Selevan SG, Sram RJ. *Cas Lek Cesk* 1996 Aug 21;135(16):510-5 **The environment, life style and pregnancy outcome.**

Dejmek J, Selevan SG, Benes I, Solansky I, Sram RJ. *Environ Health Perspect* 1999 Jun;107(6):475-80 **Fetal growth and maternal exposure to particulate matter during pregnancy.**

Dencker L, Eriksson P. *Food Addit Contam* 1998;15 Suppl:37-43 **Susceptibility in utero and upon neonatal exposure.**

Derewlany LO, Koren G. *J Lab Clin Med* 1994 Jul;124(1):134-41 **Biotransformation of carcinogenic arylamines and arylamides by human placenta.**

Duffus JH. **Toxicología ambiental.** 1983, Ediciones Omega. Barcelona, España.

Dussias V, Stefos T, Stefanidis K, Paraskevaidis E, Karabini F, Lolis D. *Clin Exp Obstet Gynecol* 1997;24(4):187-9 (fe de erratas en *Clin Exp Obstet Gynecol* 1998;25(1-2)) **Lead concentrations in maternal and umbilical cord blood in areas with high and low air pollution.**

Falkner F, Tanner JM. **Human Growth 1. Principles and prenatal growth.** 1978, Bailliére Tindall. London, England.

Farias P, Borja-Aburto VH, Rios C, Hertz-Picciotto I, Rojas-Lopez M, Chavez-Ayala R. *Environ Health Perspect* 1996 Oct;104(10):1070-4 **Blood lead levels in pregnant women of high and low socioeconomic status in Mexico City.**

Feduccia A, McCrady E. **Torrey's morphogenesis of the vertebrates.** 5<sup>th</sup> edition. 1991, John Wiley and sons, Inc. USA.

Ferguson LR, Ford JH. *Mutat Res* 1997 Dec 12;396(1-2):1-8 **Overlap between mutagens and teratogens.**

Forestier F. *Fetal Ther* 1987;2(4):181-7 **Some aspects of fetal biology.**

Forestier F, Hohlfield P, Vial Y, Olin V, Andreux JP, Tissot JD. *Br J Haematol* 1996 Nov;95(2):278-80 **Blood smears and prenatal diagnosis.**

Fraser AM, Brockert JE, Ward RH. *N Engl J Med* 1995 Apr 27;332(17):1113-7 **Association of young maternal age with adverse reproductive outcomes.**

Goodman DR, James RC, Harbison RD. *Food Chem Toxicol* 1982 Feb;20(1):123-8 **Placental toxicology.**

Graeter LJ, Mortensen ME. *Toxicology* 1996 Jul 17;111(1-3):15-20 **Kids are different: developmental variability in toxicology.**

Hakkola J, Pelkonen O, Pasanen M, Raunio H. *Crit Rev Toxicol* 1998 Jan;28(1):35-72 **Xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 enzymes in the human feto-placental unit: role in intrauterine toxicity.**

Hatch MC, Warburton D, Santella RM. *Carcinogenesis* 1990 Sep;11(9):1673-5 **Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in spontaneously aborted fetal tissue.**

Hay WW Jr. *Placenta* 1995 Jan;16(1):19-30 **Metabolic interrelationships of placenta and fetus.**

Higgins PG, Woods PJ. *Health Care Women Int* 1999 Mar-Apr;20(2):127-36 **Reasons, health behaviors, and outcomes of no prenatal care: research that changed practice.**

Hincal F. *Arch Environ Health* 1986 Nov-Dec;41(6):377-83 **Effects of exposure to air pollution and smoking on the placental aryl hydrocarbon hydroxylase (AHH) activity.**

Jonxis JHP. **Crecimiento y desarrollo del niño nacido a término y del prematuro.** 1979, Editorial El Manual Moderno S.A.

Juchau MR, Chao ST, Omiecinski CJ. *Clin Pharmacokinet* 1980 Jul-Aug;5(4):320-39 **Drug metabolism by the human fetus.**

Kambarami RA, Chirenje M, Rusakaniko S, Anabwani G. *Cent Afr J Med* 1997 Jun;43(6):158-162 **Perinatal mortality rates and associated socio-demographic factors in two rural districts in Zimbabwe.**

Kassie F, Parzefall W, Knasmüller S. *Mutat Res* 2000; 463(1):13-31 **Single cell gel electrophoresis assay: a new technique for human biomonitoring studies.**

Lagueux J, Pereg D, Ayotte P, Dewailly E, Poirier GG. *Environ Res* 1999 May;80(4):369-82 **Cytochrome P450 CYP1A1 enzyme activity and DNA adducts in placenta of women environmentally exposed to organochlorines.**

Leal M, Chávez V, Larralde L. UNAM, GDF, GDEM, Semarnap. **Temas ambientales: Zona Metropolitana de la Ciudad de México.** 1995. México.

Li AP, Heflich RH. **Genetic Toxicology.** 1991, CRC Press, USA.

Loomis D, Castillejos M, Gold DR, McDonnell W, Borja-Aburto VH. *Epidemiology* 1999 Mar;10(2):118-23 **Air pollution and infant mortality in Mexico City.**

Lundberg MS, Livingston GK. *Mutat Res* 1983 Sep;121(3-4):241-6 **Sister chromatid exchange frequency in lymphocytes of smoking and non smoking mothers and their newborn infants.**

Magann EF, Evans SF, Newnham JP. *Am J Obstet Gynecol* 1996 Jul;175(1):182-7 **Employment, exertion, and pregnancy outcome: assessment by kilocalories expended each day.**

Maranghi F, Macri C, Ricciardi C, Stazi AV, Mantovani A. *Adv Exp Med Biol* 1998;444:129-36 **Evaluation of the placenta: suggestions for a greater role in developmental toxicology.**

Martinez Montero E, Romanos Lezcano A, Praena Crespo M, Repetto Jimenez M, Martinez Ruiz D. *An Esp Pediatr* 1993 Jun;38(6):493-8 **Organochlorine compounds: correlation between maternal and infantile blood levels, maternal milk and maternal-infantile parameters. Study in the province of Huelva.**

---

Melnikow J, Alemagno S. *J Fam Pract* 1993 Dec;37(6):575-82 **Adequacy of prenatal care among inner-city women.**

Miller MS, Juchau MR, Guengerich FP, Nebert DW, Raucy JL. *Fundam Appl Toxicol* 1996 Dec;34(2):165-75 **Drug metabolic enzymes in developmental toxicology.**

Miller RK. *Am J Ind Med* 1983;4(1-2):205-44 **Perinatal toxicology: its recognition and fundamentals.**

Miller RK, Faber W, Asai M, D'Gregorio RP, Ng WW, Shah Y, Neth-Jessee L. *Ann N Y Acad Sci* 1993 Mar 15;678:92-107 **The role of the human placenta in embryonic nutrition. Impact of environmental and social factors.**

Morgan DJ. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1997 Nov;24(11):869-73 **Drug disposition in mother and foetus.**

Ngare DK, Neumann C. *East Afr Med J* 1998 May;75(5):296-299 **Predictors of low birthweight at the community level.**

Pacifici GM, Nottoli R. *Clin Pharmacokinet* 1995 Mar;28(3):235-69 **Placental transfer of drugs administered to the mother.**

Palis J, Segel GB. *Blood Rev* 1998 Jun;12(2):106-14 **Developmental biology of erythropoiesis.**

Pardi G, Marconi AM, Cetin I. *Acta Paediatr Suppl* 1997 Nov;423:170-2 **Pathophysiology of intrauterine growth retardation: role of the placenta.**

Pereira LA, Loomis D, Conceicao GM, Braga ALF, Arcas RM, Kishi HS, Singer JM, Bohm GM, Saldiva PH. *Environ Health Perspect* 1998 Jun;106(6):325-9 **Association between air pollution and intrauterine mortality in Sao Paulo, Brazil.**

Perera FP, Whyatt RM, Jedrychowski W, Rauh V, Manchester D, Santella RM, Ottman R. *Am J Epidemiol* 1998 Feb 1;147(3):309-14 **Recent developments in molecular epidemiology: A study of the effects of environmental polycyclic aromatic hydrocarbons on birth outcomes in Poland.**

Perera FP, Jedrychowski W, Rauh V, Whyatt RM. *Environ Health Perspect* 1999; 107 sup 3:451-460 **Molecular epidemiologic research on the effects of environmental pollutants of the fetus.**

Persaud TVN. **Environmental causes of human birth defects.** 1990, Charles C. Thomas Publisher. Springfield, Illinois, USA.

Peters PW. *Ann Ist Super Sanita* 1993;29(1):131-7 **Risk assessment of drug use in pregnancy: prevention of birth defects.**

Piperakis SM, Visvardis EE, Sagnou M, Tassiou AM. *Carcinogenesis* 1998 Apr; 19(4):695-8 **Effects of smoking and aging on oxidative DNA damage of human lymphocytes.**

Rivero SO, Ponciano RG. **La situación ambiental en México.** 1996, Programa Universitario de Medio Ambiente. México.

Rojas E, López MC, Valverde M. *J Chromatogr Biomed Sci Appl* 1999 Feb 5; 722(1-2):225-54 **Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications.**

Rojas E, Valverde M, López MC, Naufal I, Sánchez I, Bizarro P, López I, Fortoul TI, Ostrosky-Wegman P. *Mutat Res* 2000; 468:11-17 **Evaluation of DNA damage in exfoliated tear duct epithelial cells from individual exposed to air pollution assessed by single cell gel electrophoresis.**

Romieu I, Meneses F, Sienna-Monge JJ, Huerta J, Ruiz Velasco S, White MC, Etzel RA, Hernandez-Avila M. *Am J Epidemiol* 1995 Mar 15;141(6):546-53 **Effects of urban air pollutants on emergency visits for childhood asthma in Mexico City.**

Rossner P, Sram RJ, Bavorova H, Ocadlikova D, Cerna M, Svandova E. *Toxicol Lett* 1998 Aug; 96-97:137-42 **Spontaneous level of chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes of control individuals of the Czech Republic population.**

Rutledge JC. *Mutat Res* 1997 Dec 12;396(1-2):113-27 **Developmental toxicity induced during early stages of mammalian embryogenesis.**

Sardas S, Walker D, Akyol D, Karakaya AE. *Mutat Res* 1995 Dec;335(3):213-7 **Assessment of smoking-induced DNA damage in lymphocytes of smoking mothers of newborn infants using the alkaline single-cell gel electrophoresis technique.**

Sardas S, Karahatıl B, Akyol D, Kükner S, Karakaya AE. *Mutat Res* 1998; 341(4):249-253 **The effect of smoking on SCE rate of newborn infants born to smoking mothers.**

Singh NP, McCoy MT, Tice RR, Scheider EI. *Exp Cell Res* 1988 Mar; 175(1):184-91 **A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells.**

Singh NP, Danner DB, Tice RR, Brant L, Schneider E. *Mutat Res* 1990; 237:123-130 **DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes.**

Sram RJ, Podrazilová K, Dejmek J, Mracková G, Plicik T. *Mutagenesis* 1998; 13(1):99-103 **SCGE assay: sensitivity of peripheral white blood cells in human population studies.**

Sram RJ, Binkova B, Rossner P, Rubes J, Topinka J, Dejmek J. *Mutat Res* 1999 Jul 16;428(1-2):203-15 **Adverse reproductive outcomes from exposure to environmental mutagens.**

Tellez-Rojo MM, Romieu I, Polo-Pena M, Ruiz-Velasco S, Meneses-Gonzalez F, Hernandez-Avila M. *Salud Publica Mex* 1997 Nov-Dec;39(6):513-522 **Effect of environmental pollution on medical visits for respiratory infections in children in Mexico City.**

Tice RR, Andrews PW, Hirai O, Singh NP. *Adv Exp Med Biol* 1991; 283:157-64 **The single cell gel (SCG) assay: an electrophoretic technique for detection of DNA damage in individual cells.**

Tice RR, Agurell E, Anderson D, Burlinson B, Hartmann A, Kobayashi H, Miyamae Y, Rojas E, Ryu JC, Sasaki YF. *Environ Mol Mutagen* 2000;35(3):206-21 **Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing.**

Topinka J, Binkova B, Mrackova G, Stavkova Z, Peterka V, Benes I, Dejmek J, Lenicek J, Pilcik T, Sram RJ. *Environ Mol Mutagen* 1997;30(2):184-195 **Influence of GSTM1 and NAT2 genotypes on placental DNA adducts in an environmentally exposed population.**

Turusov VS, Tomatis L. *Arkh Patol* 1997 Sep-Oct;59(5):7-12 **Transplacental and transgenerational carcinogenesis.**

Uljas H, Rautava P, Helenius H, Sillanpaa M. *Dev Med Child Neurol* 1999 Jun;41(6):412-419 **Behaviour of Finnish 3-year-old children. I: Effects of sociodemographic factors, mother's health, and pregnancy outcome.**

Valverde M, López MC, López I, Sánchez I, Fortoul TI, Ostrsoky-Wegman P, Rojas E. *Env Mol Mutagen* 1997;30:147-52 **DNA damage in leukocytes and buccal and nasal epithelial cells of individuals exposed to air pollution in Mexico City.**

van der Aa EM, Peereboom-Stegeman JH, Noordhoek J, Gribnau FW, Russel FG. *Pharm World Sci* 1998 Aug;20(4):139-48 **Mechanisms of drug transfer across the human placenta.**

Wells PG, Winn LM. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 1996 Feb;31(1):1-40 **Biochemical toxicology of chemical teratogenesis.**

Whyatt RM, Perera FP. *Environ Health Perspect* 1995 Sep;103 Suppl 6:105-10 **Application of biologic markers to studies of environmental risks in children and the developing fetus.**

Whyatt RM, Bell DA, Jedrychowski W, Santella RM, Garte SJ, Cosma G, Manchester DK, Young TL, Cooper TB, Ottman R, Perera FP. *Carcinogenesis* 1998 Aug;19(8):1389-92 **Polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in human placenta and modulation by CYP1A1 induction and genotype.**

Whyatt RM, Garte SJ, Cosma G, Bell DA, Jedrychowski W, Wahrendorf J, Randall MC, Cooper TB, Ottman R, Tang D, et al. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1995 Mar;4(2):147-53 **CYP1A1 messenger RNA levels in placental tissue as a biomarker of environmental exposure.**

Whyatt RM, Santella RM, Jedrychowski W, Garte SJ, Bell DA, Ottman R, Gladek-Yarborough A, Cosma G, Young TL, Cooper TB, Randall MC, Manchester DK, Perera FP. *Environ Health Perspect* 1998 Jun;106 Suppl 3:821-6 **Relationship between ambient air pollution and DNA damage in Polish mothers and newborns.**

Winick M. **Human Nutrition, a comprehensive treatise. Nutrition: pre- and postnatal development.** 1979, Plenum Press. New York, USA.

Woodruff TJ, Grillo J, Schoendorf KC. *Environ Health Perspect* 1997 Jun;105(6):608-12 **The relationship between selected causes of postneonatal infant mortality and particulate air pollution in the United States.**



Xu X, Ding H, Wang X. *Arch Environ Health* 1995 Nov-Dec;50(6):407-15 **Acute effects of total suspended particles and sulfur dioxides on preterm delivery: a community-based cohort study.**

## **SITIOS WEB**

Secretaría Del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca  
<http://www.semarnap.gob.mx>

Instituto Nacional De Ecología, Sistema Nacional De Información Ambiental  
<http://www.ine.gob.mx>

Instituto Nacional De Estadística, Geografía e Informática  
<http://www.inegi.gob.mx>

Secretaría Del Medio Ambiente, Centro De Información Ambiental Del Distrito Federal, Comisión Ambiental Metropolitana  
<http://sma.df.gob.mx>

American Medical Association  
[http://www.ama-assn.org/insight/h\\_focus/nemours/baby/index.htm](http://www.ama-assn.org/insight/h_focus/nemours/baby/index.htm)

Manual Merck:  
<http://www.merck.com/pubs>

Organización Mundial de la Salud  
<http://www.who.int>