



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
"ZARAGOZA"

INFLUENCIA DEL LUGAR DE RESIDENCIA SOBRE  
EL DAÑO AL ADN Y CAPACIDAD DE REPARACIÓN  
EN LINFOCITOS DE ADULTOS MAYORES.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
PRESENTA

**Eduardo Gutiérrez Galicia**

Director de tesis: M en C. Raquel Retana Ugalde  
Asesor de tesis: Dr. Víctor Manuel Mendoza Núñez



SEPTIEMBRE 2005



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.

## DEDICATORIAS

A mi mamá. Por todo lo que me has dado y por confiar en mí, te amo mamá.

A mi papá. Por todo lo que me has enseñado y por estar conmigo siempre, te amo papá.

A mi hermana. Por todo el cariño y por soportarme, te amo Adri.

## DEDICATORIAS

A mi novia. Gracias niña linda por cambiar mi vida y enseñarme quien soy y quien puedo llegar a ser, te amo BB.

## **AGRADESIMIENTOS**

A la maestra Raquel Retana. Por su toda su confianza y gran ayuda.

Al Dr. Víctor Mendoza. Por su tiempo y por sus enseñanzas.

A la Maestra Martha Sánchez, por brindarme su ayuda cuándo la necesité.

A la Maestra Mirna Ruiz. Gracias por tu apoyo y consejos.

A mis compañeras Ada B. y Juana R. por su amistad y ayuda.

Este proyecto fue apoyado por el Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM con el número IN 308302.

## ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.	1
2. RESUMEN.	2
3. MARCO TEÓRICO.	3
3.1. <i>URBANISMO.</i>	5
3.1.1. Ozono.	5
3.1.2. Partículas suspendidas.	7
3.2. <i>MECANISMO DE ACCIÓN DE CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS.</i>	12
3.2.1. Mecanismo de acción del ozono.	12
3.2.2. Mecanismo de acción de Partículas suspendidas.	13
3.3. <i>ENVEJECIMIENTO, RADICALES LIBRES Y URBANISMO.</i>	16
3.3.1. Envejecimiento.	16
3.3.2. Radicales libres y urbanismo.	17
3.4. <i>DAÑO OXIDATIVO AL ADN Y RADICALES LIBRES.</i>	25
3.5. <i>URBANISMO, DAÑO OXIDATIVO AL ADN Y ENVEJECIMIENTO.</i>	29
3.6. <i>SISTEMA ANTIOXIDANTE Y REPARACIÓN DEL ADN.</i>	31
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.	34
5. HIPÓTESIS.	35
6. OBJETIVOS.	36
6.5. <i>OBJETIVO GENERAL.</i>	36
6.6. <i>OBJETIVOS ESPECÍFICOS.</i>	36
7. MATERIAL Y MÉTODOS.	37
7.1. <i>POBLACIÓN Y DISEÑO.</i>	37
7.2. <i>VARIABLES.</i>	38
7.3. <i>TÉCNICAS.</i>	42
7.4. <i>DISEÑO ESTADÍSTICO.</i>	44
8. RESULTADOS.	45
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.	58
10. CONCLUSIONES.	65
11. PERSPECTIVAS.	67
12. REFERENCIAS.	68
13. ANEXO.	74

---

---

## 1. INTRODUCCIÓN

El **urbanismo** engloba una serie de factores pro-oxidantes que alteran el equilibrio homeostático entre la formación de radicales libres (RL) y la protección que proporciona el sistema antioxidante. Desde el punto de vista bioquímico este desequilibrio denominado estrés oxidativo (Eox) origina alteraciones de tipo estructural y funcional en las biomoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN) causando daño oxidativo en las células y con esto un envejecimiento celular acelerado o prematuro y favorece la aparición de padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos.

Al respecto una de las teorías más aceptadas para explicar el proceso de envejecimiento es la de los RL, propone que el envejecimiento es causado por la acumulación de daño oxidativo en las células por reacciones entre las biomoléculas y los RL, propiciando una serie de modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, que ocurren a lo largo de su vida como consecuencia de la acción del tiempo en un ambiente determinado, lo cual incrementa la vulnerabilidad para las enfermedades crónico-degenerativas.

Por otro lado, se sabe que la información genética contenida en el ADN regula el proceso de envejecimiento, no obstante las interacciones con factores pro-oxidantes así como la generación endógena de RL, puede modificar en cierta medida la molécula de ADN, propiciando un daño permanente en caso que exista una deficiencia en los mecanismos de protección y/o reparación de esta.

Por tal motivo, la presente investigación se llevó a cabo, con el fin de evaluar la influencia del lugar de residencia, sobre el daño oxidativo al ADN y la capacidad de reparación de linfocitos en adultos mayores, considerando que el lugar de residencia urbano, incrementa la exposición a diversos retos estresantes físicos y psicológicos.

## 2. RESUMEN

**ANTECEDENTES.** La exposición a factores pro-oxidantes propios del urbanismo genera alteraciones bioquímicas en el metabolismo del ADN y por tanto un deterioro celular generalizado, estos cambios se explican por la génesis de RL por reducción del ozono y la respuesta inmunológica propiciada por las partículas suspendidas.

**OBJETIVO.** Evaluar el daño oxidativo al ADN en adultos mayores mediante la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa) con respecto al lugar de residencia, así como el efecto de esta sobre la capacidad de reparación en linfocitos expuestos a peróxido de hidrógeno.

**METODO.** Se realizó un estudio observacional, transversal y comparativo en una población de 112 adultos mayores, 31 del área rural de Actopan, Hidalgo, 35 del área sub-urbana de Los Reyes, Estado de México y 46 del área urbana de la ciudad de México. Mayores de 60 años, sin distinción de sexo, sanos desde el punto de vista gerontológico, excluyendo a los sujetos con ingesta de antioxidantes exógenos. La variable independiente fue el lugar de residencia. Las variables dependientes fueron el daño oxidativo y capacidad de reparación al ADN. Los datos se analizaron por estadística descriptiva  $\chi^2$ , t de student y ANOVA al 95% pos hoc Dunnett. Por medio del paquete estadístico SPSS 11.0

**RESULTADOS.** Las frecuencias de daño al ADN en el área urbana fue de 76% vs. Sub-urbana 63% vs. Rural 68%. ( $p>0.05$ ). Los promedios de migración presentaron diferencias estadísticamente significativas entre el área rural  $41.4\mu\text{m}$ , con respecto a los del área urbana  $30.5\pm 13.22\mu\text{m}$  y sub-urbana  $29.5\pm 13.22\mu\text{m}$ . No así al relacionar la media de migración del área urbana contra la del área sub-urbana. La magnitud y grado de daño del área rural el 64.5% presenta de 1 a 5 células con daño, el 28.5% para sub-urbana y el 32.6% para urbana. Para mas de 6 células con daño el área rural mostró un 3.3%, para sub-urbana 34.3% y un 30.43% para urbana con un valor de  $p<0.05$  al comparar rural con respecto a las otras dos. La media de migración en la cinética de reparación del área rural, presento diferencia estadísticamente significativa entre el tiempo cero  $47.4\pm 6.2\mu\text{m}$  vs. sesenta  $43.13\pm 5.5\mu\text{m}$  y entre el tiempo treinta  $48.0\pm 8.6\mu\text{m}$  vs. sesenta  $43.13\pm 5.5\mu\text{m}$ , en el área sub-urbana se observó diferencia estadísticamente significativa entre el tiempo cero  $45.7\pm 6\mu\text{m}$  vs. treinta  $41.8\pm 4.2\mu\text{m}$  y entre el tiempo cero  $48.0\pm 8.6\mu\text{m}$  vs. sesenta  $40.0\pm 6.4\mu\text{m}$ , en el área urbana se observó diferencia estadísticamente significativa entre el tiempo cero  $43.7\pm 6.5\mu\text{m}$  vs. treinta  $42.2\pm 4.0\mu\text{m}$  y entre cero  $43.7\pm 6.5\mu\text{m}$  vs. sesenta  $40.0\pm 5.8\mu\text{m}$  ( $p<0.05$ ). El área rural reparó al tiempo treinta 39.0% y al sesenta 79.3%, el área sub-urbana reparó al tiempo treinta 48.0% y al sesenta 67.0% el área urbana reparo al tiempo treinta 63.0% y al sesenta 78.5%

**CONCLUSIONES.** El porcentaje de daño al ADN fue mayor en los AM del área urbana. Aun cuando el área rural presentó una media de migración mayor, con respecto al área sub-urbana y urbana, los resultados obtenidos de la magnitud y grado de daño, sugieren que la población más vulnerable al daño oxidativo al ADN, es el área urbana, ya que aún que ésta posee una media de migración menor a la del área rural, presentó un alto porcentaje de células con daño total del tipo nube, donde el daño es tan grande que no es reparado. Las medias de migración observadas a los diferentes tiempos de la cinética de reparación del área rural, demuestran que ésta presenta un periodo de adaptación más amplio, lo cual posiblemente se deba a que esta población no esta habituada a retos estresantes de esta magnitud. Se observó que los AM del área rural presentan una mejor capacidad de reparación del ADN.



### 3. MARCO TEÓRICO

La Unidad de Investigación en Gerontología de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, sustentándose en informes de La Organización Mundial de la Salud (OMS), ha definido al envejecimiento como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática, debida a las modificaciones morfológicas, fisiológicas bioquímicas y psicológicas, propiciadas por los cambios inherentes de la edad y al desgaste acumulado ante los retos que enfrenta el organismo a lo largo de la historia del individuo en un ambiente determinado.<sup>1</sup>

Al respecto Sterling y Eyer observaron la existencia de un equilibrio armónico entre el hombre y su ambiente, inmerso en una interacción dinámica que permite al individuo mitigar o contrarrestar las amenazas o retos de índole biológico, psicológico o social a través del mecanismo biológico denominado **alostasis**, que es una respuesta adaptativa del organismo ante las demandas o retos endógenos y exógenos de la vida diaria para mantener la homeostasis (mantenimiento de la estabilidad a través del cambio). Sin embargo este mecanismo de la adaptación genera un costo, que afecta tejidos u órganos por una sobre expresión, ineficiencia, reacción intensa o prolongada del organismo ante agentes estresógenos denominado carga alostática.<sup>2-5</sup>

Sin embargo no es el único mecanismo de adaptación que permite al hombre contrarrestar estos retos estresantes. La **hormesis** es un proceso adaptativo secundario que se sustenta en el hecho de que la exposición gradual, continua y a dosis seguras, a sustancias químicas, cambios físicos, psicológicos y sociales, consigue favorecer la homeostasis e incrementar la longevidad.<sup>6-8</sup>

No obstante existen factores genéticos y del entorno que modifican tanto la longevidad como las manifestaciones clínicas características de los adultos mayores (AM) lo que hace posible identificar factores que favorecen la aparición de padecimientos crónico-degenerativos o que aceleran el proceso normal de envejecimiento. Como es el caso del urbanismo que engloba factores pro-oxidantes de

entre los que destacan la contaminación ambiental, horas de sueño, alimentación inadecuada y estrés psicológico, estos factores afectan de forma directa e indirecta células, órganos y sistemas.<sup>9-16</sup>

Al respecto se ha observado que el urbanismo no solo aumenta la producción de radicales libres en el organismo, a los que se les atribuye el envejecimiento celular. Además se ha observado que en zonas urbanas toda la población se encuentra sometida a niveles altos de RL de forma continua, que modifica los niveles de antioxidantes séricos, tanto enzimáticos como no enzimáticos mostrando un deterioro de la protección que estos proporcionan ante los radicales libres.<sup>17, 18</sup>

De tal manera que resulta de gran interés determinar si el urbanismo representa un factor de riesgo para la acumulación de daño al ADN, así como analizar la existencia de similitudes y diferencias entre la capacidad de reparación de esta molécula en las tres poblaciones de estudio.

### 3.1 URBANISMO

El urbanismo es considerado por algunos investigadores como un factor de riesgo de los padecimientos más frecuentemente observados en los AM, debido a que engloba un gran número de factores pro-oxidantes, derivados del estilo de vida de cada individuo.

El término urbano se refiere esencialmente a ciudades, pueblos y otras áreas densamente pobladas. La demarcación de zonas urbanas es generalmente definida por los países como parte de sus procedimientos censales y se basa usualmente en el tamaño de las localidades o en función a criterios especiales, como densidad poblacional o tipo de actividad económica de sus residentes. No existe una definición de área urbana internacionalmente consensuada y las definiciones operacionales nacionales pueden variar de país a país. En México se clasifica como zona urbana, en base al tamaño del núcleo, expresado en número de habitantes, que debe oscilar entre 2.000 y 3.000 habitantes.<sup>19-21</sup>

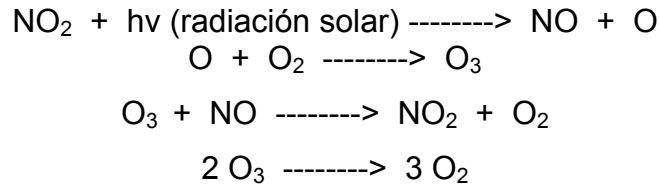
La ciudad de México D.F. es considerada como zona urbana ya que presenta niveles altos de contaminación, específicamente niveles altos de ozono y partículas suspendidas por lo que ha sido motivo de un gran número de estudios relacionados con el efecto de estos contaminantes sobre la salud.<sup>21-24</sup>

#### 3.1.1 Ozono

El **ozono** es una forma alotrópica del oxígeno formada por 3 átomos de oxígeno, es un gas de color azul pálido y al licuarse forma un líquido azul oscuro. Químicamente es muy activo, es un oxidante muy fuerte por lo que se usa como germicida, diluido se usa para esterilizar el agua, purificar el aire y llevar a cabo reacciones de oxidación en química orgánica. Se descompone rápidamente en oxígeno a temperaturas mayores a 100° C y a temperatura ambiente en presencia de catalizadores como el dióxido de manganeso, MnO<sub>2</sub>. Tanto el oxígeno atómico (O<sub>2</sub>) como el ozono (O<sub>3</sub>) son muy reactivos y al reaccionar con los hidrocarburos olefínicos producen aldehídos, cetonas y alcoholes.<sup>25, 26</sup>

El ozono atmosférico lo producen principalmente los motores eléctricos, los relámpagos y la radiación ultravioleta solar con el oxígeno del aire.

Las reacciones químicas de formación y descomposición del ozono son:



En la Ciudad de México y otras zonas ampliamente pobladas como Guadalajara, Monterrey con frecuencia se rebasan los límites de ozono tolerables para la salud. La Comisión Metropolitana para la Prevención de la Contaminación estima que esta contaminación es producida en estas ciudades, principalmente por vehículos, autotransportes, industria y producción de energía. (Tabla 3.1.)<sup>27</sup>

FUENTE	CONTRIBUCIÓN %
Vehículos	34.9
Autotransportes	41.7
Industria	20.0
Producción de energía	4.0

Tabla 3.1. Porcentaje de las principales fuentes de ozono en ciudades altamente pobladas de México. Tomado de: <http://www.sma.df.gob.mx/sma/index.php><sup>27</sup>

La inhalación del ozono presente en el smog fotoquímico ocasiona tos, dificultad para respirar, irritación en la nariz y la garganta, aumenta las molestias y agrava las enfermedades crónicas como el asma, bronquitis, enfisema (es incurable y reduce la capacidad de los pulmones para transferir oxígeno a la sangre) y trastornos cardiacos.

Los efectos sobre la salud, de la exposición prolongada a una atmósfera con ozono, indican que los niños, los ancianos y aquellas personas que tienen una salud frágil, resienten rápidamente problemas respiratorios, ronquera, náuseas y congestión pulmonar. Algunos estudios indican que el ozono tiene una influencia importante sobre los glóbulos rojos, limitando el transporte de oxígeno a las células del organismo. No obstante, quedan pendientes aún detalles importantes acerca de la forma en que el ozono afecta la salud.<sup>25, 28-30</sup>

En México el criterio para evaluar la calidad del aire con respecto al "ozono" establecido en la NOM-020-SSA1-1993 indica que:

- La concentración de ozono, como contaminante atmosférico, debe ser menor o igual a 0.110 ppm, promedio horario, para no ser rebasado una vez al año, calculado como se especifica en el numeral 4.3.1 de esta Norma.
- La concentración del promedio de ocho horas de ozono, como contaminante atmosférico, debe ser menor o igual a 0.080 ppm, tomado como el quinto máximo, en un periodo de un año, calculado como se especifica en el numeral 4.3.2 de esta Norma.

Es decir un promedio horario máximo de 216  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  por hora (0.11 ppm) Equivalentes a 100 puntos IMECA.<sup>26, 31, 32</sup>

### 3.1.2. Partículas suspendidas

Las partículas suspendidas se clasifican de acuerdo a su tamaño y suponiéndolas esféricas se clasifican en:

- 1) Inhalables (o partículas de materia inhalable, PMI), cuyo diámetro es menor a 10 micras **PM<sub>10</sub>**.
- 2) Ordinarias (o partículas respirables, RPM), con diámetro menor a 2.5 micras **PM<sub>2.5</sub>**.
- 3) Finas cuyo diámetro es menor a 1.2 micras **PM<sub>1.2</sub>**.

Las partículas emitidas directamente por fuentes contaminantes se denominan primarias y son:

- Partículas entre 0.1 y 2.5 micras, provenientes de procesos naturales como incendios forestales y procesos de combustión industrial.
- Partículas de materiales carbonosos incluyendo carbono elemental y compuestos orgánicos.
- Partículas emitidas por los automotores, principalmente en forma de sulfatos y óxidos de nitrógeno, carbono y azufre.
- Partículas con metales ligeros (sodio, magnesio, aluminio, silicio, potasio y calcio).
- Partículas con metales pesados (titanio, vanadio, cromo, manganeso, hierro, níquel, cobre, zinc, plomo, cadmio, arsénico y selenio).
- Partículas grandes (polvo transportado por el viento).
- Partículas emitidas a partir de actividades industriales.
- Partículas de polen, microorganismos e insectos.
- Partículas eléctricamente cargadas, con diámetros menores a 0.1 micras, formadas por efecto de la radiación solar y cósmica, material radioactivo y procesos de combustión.

Las fuentes de partículas son:

- Incendios forestales o de pastizales.
- Emisiones antropogénicas, provenientes de la combustión de combustible, de basura y de actividades industriales.
- Suspensión del polvo por la acción del viento o vehículos.
- Erupciones volcánicas.
- Fuentes extraterrestres que sólo afectan levemente las concentraciones en la capa planetaria límite, pero contribuyen a las concentraciones de polvo- extraterrestre encontradas arriba de los 30-40 km de altura.
- Emisiones de la sal del océano generadas por los rompimientos de las olas, la acción del viento en las crestas de las olas o burbujas de espuma rompiéndose en la superficie del agua.

Las partículas que se obtienen a partir de reacciones químicas en la atmósfera se denominan secundarias. Los principales procesos de producción de este tipo de partículas son:

- La transformación de  $\text{SO}_2$  en sulfatos.
- La transformación de  $\text{NO}_2$  en nitratos.
- La transformación de componentes orgánicos en partículas orgánicas.

En la atmósfera urbana flota un sinnúmero de partículas suspendidas (sales y óxidos de metales pesados, sustancias orgánicas, etc.), procedentes principalmente de procesos de combustión como: la actividad vehicular, procesos industriales de plantas metalúrgicas y fertilizantes, de almacenamiento y procesado de granos, fabricación de cemento; tolvaneras, o bien, de la formación de nitratos y sulfatos proveniente de aerosoles.<sup>33</sup>

Las partículas inhalables (o partículas de materia inhalable, PMI), cuyo diámetro es menor a 10 micras **PM<sub>10</sub>**.

Producen irritación en las vías respiratorias; su acumulación en los pulmones origina enfermedades como la silicosis y la asbestosis. Agravan el asma y las enfermedades cardiovasculares.<sup>34</sup>

En México el criterio para evaluar la calidad del aire con respecto a partículas suspendidas totales establecido en la NOM-024-SSA1-1993 indica que:

Las partículas suspendidas totales (**PST**) como contaminante atmosférico, no deben rebasar el límite máximo permisible de  $260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , en 24 horas, en un periodo de un año y  $75 \mu\text{g}/\text{m}^3$  en una media geométrica anual, para protección a la salud de la población susceptible.<sup>35</sup>

Al respecto el criterio para evaluar la calidad del aire establece una concentración máxima de  $PM_{10}$  de  $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$  en un promedio de 24 horas, equivalentes a 100 puntos IMECA.<sup>34</sup>

Las partículas finas (o partículas respirables, RPM), cuyo diámetro es menor a 2.5 micras  **$PM_{2.5}$** .

Por ser tan diminutas, las  $PM_{2.5}$  pueden ingresar y depositarse en las partes del sistema respiratorio más internas, causando serios daños. Estudios recientes en diferentes ciudades del mundo muestran una asociación directa entre el aumento de las concentraciones de  $PM_{2.5}$  y el decremento de la función pulmonar, el incremento de visitas a salas de hospitales, agravamiento de afecciones pulmonares y cardiovasculares preexistentes, y la muerte prematura en personas que padecen esas afecciones.<sup>36</sup>

La Secretaria de Salud Federal contempla la entrada en vigor de una norma ambiental para proteger la salud de la población por exposición a  $PM_{2.5}$ . Su aplicación será de carácter nacional. Esta norma tiene concordancia con la norma equivalente en vigor en los EUA. Los valores propuestos de la NOM son:

$65 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , promedio de 24 horas  $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , promedio anual.

$\mu\text{g}/\text{m}^3$  = microgramos por metro cúbico de aire muestreado

Al respecto se ha observado que las partículas suspendidas, principalmente las de plomo, causan anemia, lesión en los riñones y en el sistema nervioso central. De igual manera se ha demostrado que la inhalación de productos de la combustión de hidrocarburos esta asociado a procesos inflamatorios además de aumentar la producción de anticuerpos alergenicos, en este sentido recientemente se ha detectado un aumento en los niveles de lipopolisacaridos derivados de las paredes de bacterias Gram negativas que al ser inhalados representan un factor de riesgo para el asma.<sup>33,</sup>

<sup>37,38</sup>



Aunado a esto encontramos entre los compuestos inorgánicos que conforman las partículas suspendidas como metales pesados derivados de las industrias y vehículos, como el plomo, níquel, hierro y vanadio frecuentemente asociados con procesos inflamatorios y cáncer.<sup>39</sup>

Al respecto la OMS en el año 2002 señaló que la contaminación ambiental fue causante de 0.8 millones de muertes en el mundo lo que representa el 1.4% del total de fallecimientos, atribuyéndole también el 5% del cáncer de traquea, bronquios y pulmones.<sup>40</sup>

Sin embargo se desconocen a ciencia cierta las repercusiones biológicas de dicha exposición ya que en su mayoría las investigaciones realizadas se enfocan en estudiar el factor de riesgo que este representa sobre padecimientos como los de cáncer, enfermedades cardiovasculares y de vías respiratorias. Por ser estos los más asociados al aumento en la morbi-mortalidad.

### **3.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS.**

Los contaminantes del aire penetran en el cuerpo principalmente por los pulmones. Donde algunos son absorbidos por la sangre, otros se eliminan por los pulmones y una fracción queda contenida en el cuerpo.

#### **3.2.1. Mecanismo de acción del ozono.**

La principal forma de entrada del ozono es por medio de la vía respiratoria superior, pero se difunde fácilmente causando daño en diferentes zonas del sistema respiratorio por medio de los siguientes mecanismos:

- Causa respiración superficial y rápida, tos, opresión en el pecho y sequedad de faringe.
- Disminuye la distensibilidad pulmonar.
- Irrita los pulmones y puede causar la muerte por edema de estos órganos.
- Descama el epitelio de todas las vías ciliadas.
- Produce cambios degenerativos en las células alveolares.
- Produce turgencia o rotura del endotelio capilar de los alvéolos.
- Causa engrosamiento de los bronquiólos respiratorios terminales.
- En altas concentraciones produce bronquitis, fibrosis y cambios enfisematosos crónicos.
- Aumenta la sensibilidad a broncoconstrictores y alergenicos.
- Inhibe los sistemas de limpieza y eliminación de partículas.

El mecanismo bioquímico del ozono es debido principalmente a la formación de RL provenientes de la interacción con grupos sulfhídrico o por descomposición oxidativa de los ácidos grasos no saturados. La ozonización de estos induce la lipoperoxidación, formando ciclooxigenasa que es un producto del ácido araquidónico, el cual estimula los neuroreceptores de las vías respiratorias superiores favoreciendo un decremento agudo en la función pulmonar. Al respecto el ozono es capaz de producir mutaciones en el ADN mitocondrial y nuclear asociadas a enfermedades en la arteria coronaria, formación de tumores malignos y cáncer.<sup>41-46</sup>

### 3.2.2 Mecanismo de acción de partículas suspendidas.

Las partículas suspendidas totales (PST) penetran principalmente por los pulmones donde una parte es absorbida en la sangre, otra es eliminada por los pulmones y una fracción queda retenida en el cuerpo, dependiendo del tamaño de partícula:

- Las partículas con un diámetro mayor a 5  $\mu\text{m}$  se depositan en la porción superior de las vías respiratorias.
- Las de 1 a 5  $\mu\text{m}$  se decantan en los alvéolos.
- Las que se depositan en la porción sin cilios de las vías nasales permanecen hasta ser eliminadas al limpiarse la nariz o por medio del estornudo.
- La capa de moco transporta las partículas insolubles hasta la faringe donde son destruidas y deglutidas hacia el tracto gastrointestinal.
- Las partículas solubles en el moco son transportadas a la faringe o absorbidas en el epitelio y de ahí a la sangre.
- La tos y el estornudo desplazan el moco y las partículas hacia la glotis y posteriormente son deglutidas.
- Las partículas de menos de 1  $\mu\text{m}$  quedan suspendidas en el aire inhalado y llegan a los alvéolos donde son absorbidas.

Debido a este gran número de formas de absorción, depósito y eliminación de partículas suspendidas, no es posible definir con exactitud los mecanismos de absorción y eliminación de partículas pero al parecer intervienen tres principales procesos:

- Eliminación física: las partículas depositadas en la capa de líquidos de los alvéolos son aspiradas en la “escala móvil” mucociliar del árbol traqueobronquial.
- Fagocitosis: por mononucleares o macrófagos alveolares; en los cuales se produce una gran cantidad de anión superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) así como ácido hipocloroso (HClO).
- Absorción en sistema linfático: en él las partículas pueden quedar atrapadas largo tiempo.

Al respecto se ha observado que la eliminación de las partículas desde los alvéolos es relativamente ineficiente. Solo el 20% se desecha en el primer día después de su depósito, su eliminación depende en gran medida de la disolución y absorción en la sangre. Algunas partículas permanecen en los alvéolos por tiempo indefinido, al proliferar las células que las fagocitan forman una placa alveolar o nódulo alveolar al unirse a la red reticular. <sup>41,47</sup>

En este sentido podemos observar que el gran número de interacciones entre los mecanismos de absorción y eliminación de contaminantes propios del urbanismo son capaces de generar una considerable cantidad de RL sin embargo los mecanismos de acción no han sido establecidos por completo, por lo que el siguiente esquema basado en la evidencia científica propone una serie de eventos propiciados por la exposición crónica al ozono y PST (Figura 3.2.2). <sup>48</sup>

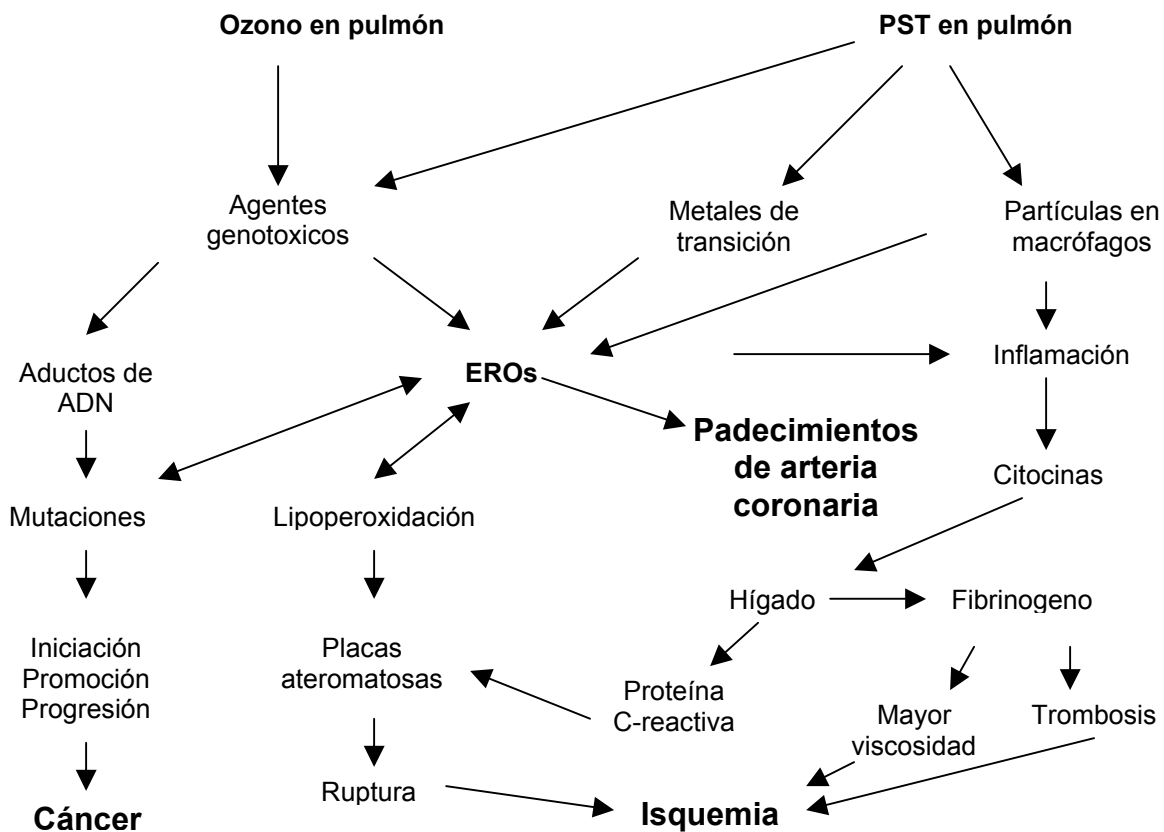


Figura.3.2.2 Diagrama de eventos hipotéticos desencadenados por la exposición a ozono y PST  
Tomado de: Sorensen 2003<sup>48</sup>

Como es posible observar en el esquema anterior las interacciones entre los procesos bioquímicos y fisiológicos derivados de la exposición a contaminantes propios del urbanismo poseen mecanismos muy variados, sin embargo también es posible observar que en todos los casos existe un factor común que es la intervención de las EROs.

### 3.3 ENVEJECIMIENTO, RADICALES LIBRES Y URBANISMO

#### 3.3.1 Envejecimiento

Por consenso internacional, se ha definido como adultos mayores a las personas de 65 años o más, lo cual se aplica a países desarrollados; en cambio en aquellos en los que la esperanza de vida se ve disminuida como es el caso de toda América latina y en particular de México, donde se considera como adultos mayores a partir de los 60 años.<sup>49, 50</sup>

Al respecto el envejecimiento es un proceso multifactorial complejo que involucra mecanismos biológicos, psicológicos y sociales, de ahí que sea individualizado. Por tal motivo, los humanos envejecen de manera distinta y la edad cronológica no siempre es coincidente con la edad biológica.<sup>51</sup>

En busca de explicar la causa del envejecimiento se han propuesto diversas teorías, entre las cuales encontramos a la de los radicales libres, propuesta por Denhan Harman en 1956, esta propone que el envejecimiento es producto de la acumulación de daño oxidativo a las biomoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN) causado por los radicales libres generados en el metabolismo normal aeróbico.<sup>52-55</sup>

En este sentido y bajo el enfoque teórico alostático, definimos el envejecimiento humano como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática debido a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por la carga o costo alostático (*allostatic load*) acumulado a lo largo de su historia, como consecuencia de la acción del tiempo en un ambiente determinado.<sup>1</sup>

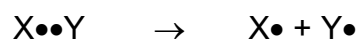
La alostasis es el proceso de adaptación ante retos o desafíos estresantes (acumulación crónica de radicales libres), donde el organismo responde de manera activa con el fin de mantener la homeostasis, este mecanismo de respuesta adaptativa, representa un costo biológico, por lo que, cuando ocurre de forma repetida, propicia una carga alostática (*Allostatic load*), haciendo menos eficiente el proceso de adaptación y favoreciendo la aparición de padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos.<sup>2-4</sup>

### 3.3.2 Radicales libres y urbanismo

El termino “radical libre” se refiere a especies químicas con un electrón no apareado en su orbita externa, que pueden considerarse fragmentos de moléculas, siendo por lo general inestables y por tanto altamente reactivas por lo que tienden a asociarse “aparearse” al electrón más cercano, lo que les confiere la capacidad de oxidar y dañar a las biomoléculas, causando daño a nivel celular y tisular, con la consiguiente alteración de su función.<sup>54-57</sup>

Existen tres vías por las que es posible la formación de RL estas son:

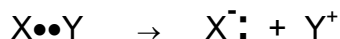
- Por ruptura o fisión homolítica de un enlace covalente en una molécula normal donde cada fragmento retiene a uno de los electrones.



- Por transferencia de un electrón solitario a una molécula normal.



- Por fisión heterolítica en una molécula covalente, en la que uno de los átomos retiene los dos electrones del enlace.



En términos de energía cinética estas tres vías confieren gran inestabilidad al RL formado, el cual busca compensar su energía por dos medios:

- Perdiendo el electrón desapareado, en cuyo caso el radical resultante posee potencial reductor.
- Ganando un electrón, obteniéndose un radical con potencial oxidante.

La transformación de una molécula primaria a RL, requiere de una energía de activación relativamente alta, sin embargo una vez formado inicia reacciones en cadena alternas que representan un peligro para los sistemas vivos.<sup>55, 58-60</sup>

Las reacciones en las que intervienen los RL, pueden tener su origen a en fuentes exógenas, como las radiaciones ionizantes, ultravioleta, la visible o térmica, drogas antitumorales, algunos productos químicos carcinogénicos, pesticidas, también diversos medicamentos inducen la liberación de RL y por supuesto la contaminación ambiental. Pero también son generados en el interior de las células como producto de sus actividades fisiológicas normales como la respiración, hipoxia y la respuesta inmune entre otros. (Tabla. 3.3.2)<sup>61-63</sup>

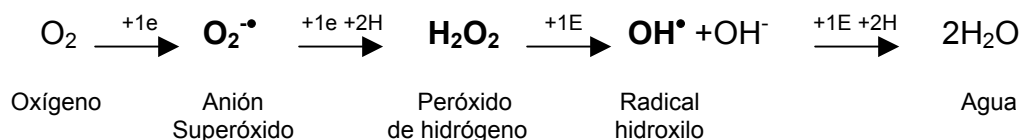
LUGAR	REACCIÓN
Retículo endoplásmico	Transporte de electrones dependiente del Citocromo P-450 Transporte de electrones dependiente del Citocromo b5
Mitocondria	Transporte de electrones (cadena respiratoria: principales sitios, complejo NADH-CoQ reductasa y formas reducidas de la coenzima Q: $O_2 + e \rightarrow O_2^{\cdot -}$ ) Lipoperoxidación
Lisosomas	Sistema de mieloperoxidasa
Membranas	Lipoperoxidación Lipo-oxigenasa Prostaglandina sintetasa NADPH-oxidasa*
Peroxisomas	Oxidasas Flavoproteínas
Citoplasma	Auto-oxidación de la oxihemoglobina ( $Hemo-Fe^{2+} - O_2 \rightarrow Hemo-Fe^{3+} O_2^{\cdot -}$ ) Auto-oxidación de moléculas pequeñas: adrenalina, tióles, flavín mononucleótido (FMN), flavín adenín dinucleótido (FAD), glucosa Procesos de transferencia de electrones mediados por metales de transición como el hierro y el cobre, o por enzimas

\*Oxida el  $NADP^+$ , con la resultante reducción del oxígeno para formar el radical superóxido, este mecanismo es utilizado por los neutrófilos, monocitos, macrófagos y eosinófilos para eliminar bacterias, proceso durante el cual los tejidos circundantes pueden verse también afectados.

**Tabla 3.3.2.** Sitios de la célula y reacciones químicas a partir de las que se generan radicales libres a partir de procesos fisiológicos normales. Tomado de: González 2000<sup>64</sup>



El oxígeno, es uno de los elementos más abundantes dentro y fuera de nuestro organismo ya sea en forma libre o formando parte de algunos compuestos, este posee la tercera afinidad electrónica más alta, por lo que su reducción secuencial en cuatro pasos es considerada como la principal fuente de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Fig. 3.3.2)<sup>1</sup>



**Figura 3.3.2.1** Generación de EROs por reducción secuencial en cuatro pasos del oxígeno molecular. Tomado de: *Sánchez 2003*<sup>1</sup>

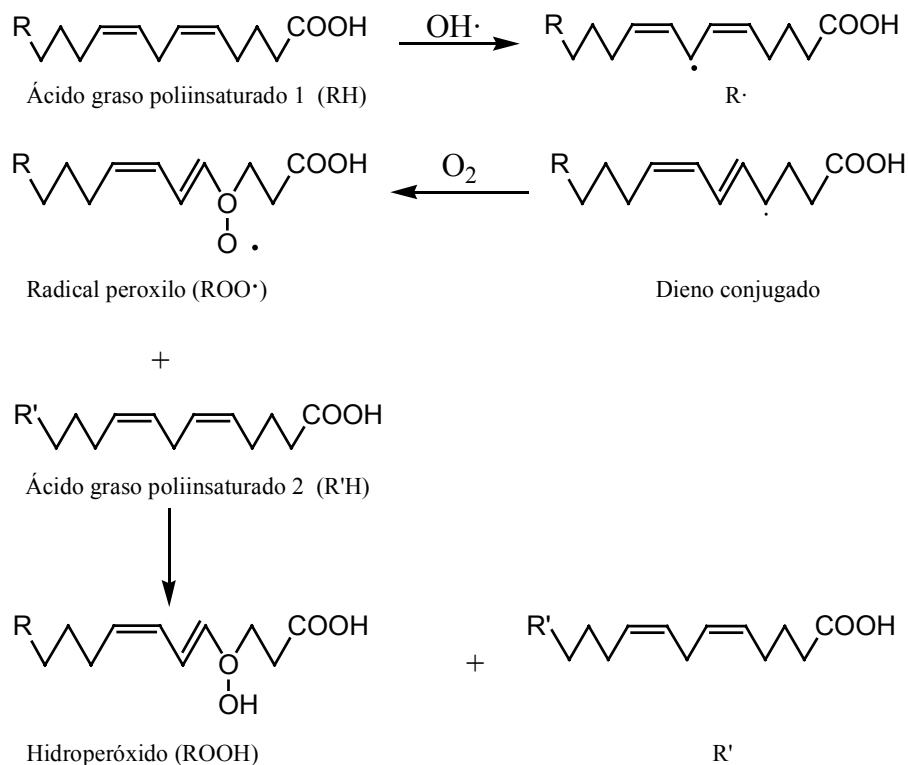
Estas EROs derivadas de la reducción del oxígeno representan la principal fuente de daño oxidativo a las biomoléculas, dado que poseen diversos niveles de reactividad, la cual esta en función del sitio de su formación. Al respecto se sabe que algunas especies se ven mas frecuentemente involucradas con determinado tipo de biomoléculas cuando se presentan las condiciones idóneas. (Tabla 3.3.2.1)<sup>64</sup>

RADICAL	NOMBRE	CARACTERÍSTICAS
$\text{O}_2^{\bullet -}$	Superóxido	Altamente reactivo en medio hidrofóbico, pero no puede atravesar libremente las membranas biológicas, en presencia de la enzima SOD, es transformado en peróxido de hidrógeno, es un importante reductor de iones metálicos de transición y regula la actividad del oxido nítrico.
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido de hidrógeno	No es un radical, es un agente oxidante muy reactivo, en los fagosomas en presencia de iones metálicos y la enzima mieloperoxidasa genera rápidamente el RL hidroxilo.
$\text{OH}^{\bullet}$	Hidroxilo	Es considerado él más reactivo ya que frecuentemente se encuentra relacionado con el daño oxidativo del ADN, lípidos y proteínas. Se forma de la reducción del peroxido de hidrógeno por medio de la reacción de Fenton.
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singulete	Se forma como producto de la reacción del glutatión reducido y el radical superóxido y durante la lipoperoxidación.

**Tabla 3.3.2.1** EROs y sus principales características. Tomado de: *González 2000*<sup>64</sup>

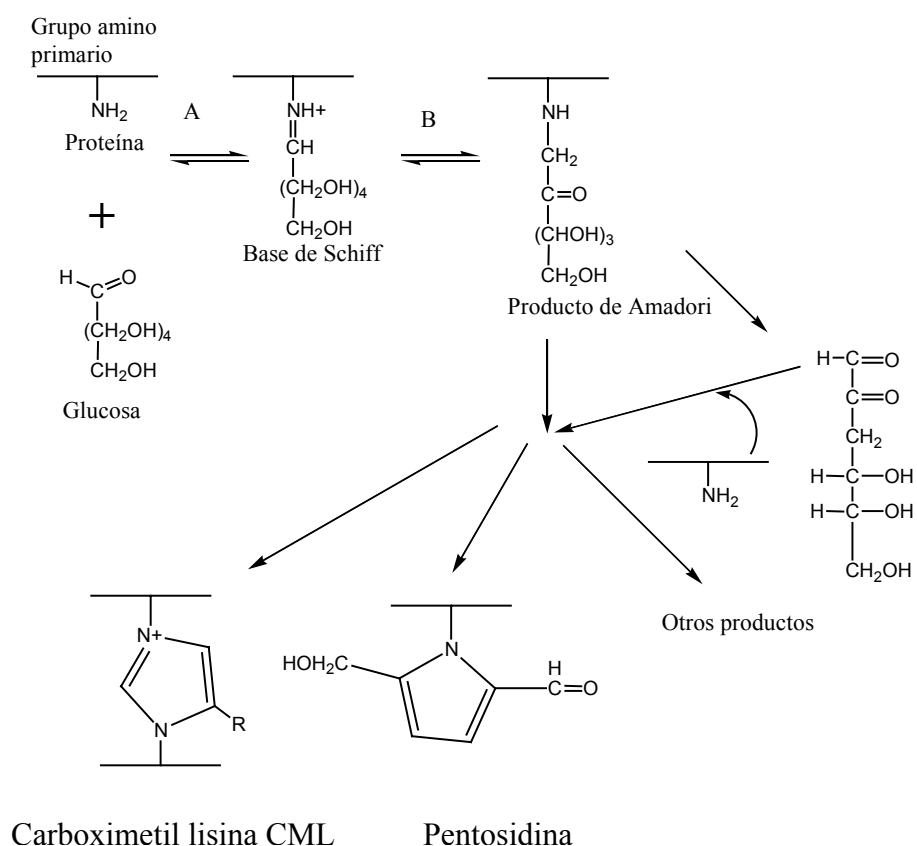
Por otro lado, es importante señalar que los radicales de oxígeno no son los únicos radicales pero se consideran los principales por que son los que inician la producción de otros, entre ellos los radicales con centro de carbono ( $R^\bullet$ ) que pueden ser lípidos, aminoácidos, carbohidratos o proteínas.<sup>61, 65,66</sup>

Los lípidos se encuentran entre las biomoléculas más susceptibles al ataque por RL puesto que se encuentran conformando la membrana celular en forma de ácidos grasos poliinsaturados fácilmente oxidables durante la lipoperoxidación. Esta oxidación involucra principalmente al radical hidroxilo ( $OH^\bullet$ ) inicia con la abstracción de un átomo de hidrógeno de la cadena del ácido graso poliinsaturado (ácido araquidonico) formando un radical de ácido graso ( $L^\bullet$ ) este suele sufrir un rearrreglo molecular dando origen a un dieno conjugado que al reaccionar con el oxígeno ( $O_2$ ) forma el radical ácido graso peroxil ( $LOO^\bullet$ ) capaz de extraer otro átomo de hidrógeno de otro ácido graso iniciando una reacción en cadena que produce una mayor cantidad de RL causando un gran daño a las membranas celulares.(Figura. 3.3.2.2)<sup>65, 66</sup>



**Figura 3.3.2.2** Reacciones de inicio y propagación de la lipoperoxidación. Tomado de: *Gutteridge 1995*<sup>65</sup>

Las proteínas aunque en menor medida también son susceptibles al ataque por RL, cuando estas son oxidadas sufren procesos de fragmentación, agregación, desnaturalización y entrecruzamiento provocando una distorsión en las estructuras secundaria y terciaria, haciéndolas más susceptibles a la proteólisis y a la pérdida de su funcionalidad. Una de las reacciones más frecuentes donde se pierde la funcionalidad de las proteínas es el entrecruzamiento con la glucosa esta reacción se lleva a cabo entre un grupo aldehído (CHO) de la glucosa y un grupo amino (NH<sub>2</sub>) de una proteína. Al combinarse estas moléculas forman la denominada base de **Schiff**, que es muy inestable y de manera espontánea forma un compuesto reversible conocido como producto de **Amadori** este producto se deshidrata con el paso del tiempo dando lugar a formas irreversibles conocidas como productos finales de glicosilación avanzada (AGEs). (Figura 3.3.2.3)<sup>67</sup>



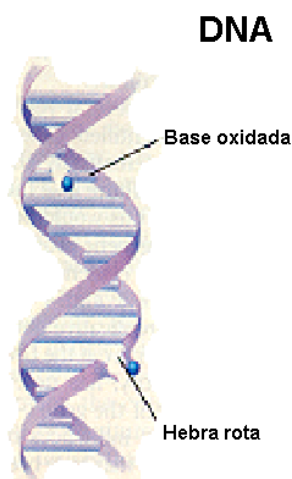
**Figura 3.3.2.3.** Formación de AGEs a partir de la glucosilación no enzimática de proteínas. (A) formación de la base de Schiff. (B) Reordenamiento de Amadori. Estos pueden dar origen a derivados con estructura imidazólica (C), pirrólica(D) y otras (iminas, furanos, piridinas, etc.)

Tomado de: González 2000<sup>67</sup>

Al respecto el efecto de los RL sobre los carbohidratos, parece estar limitado a las reacciones de glucosilación con proteínas pues otros efectos son poco conocidos.<sup>64</sup>

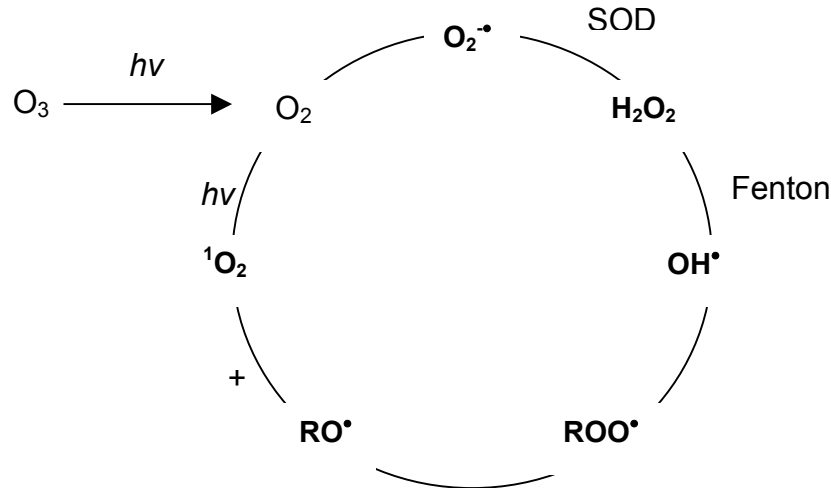
El material genético ADN no está exento del ataque de los radicales libres ya que en la mitocondria alrededor del 2 a 3% del oxígeno consumido por la célula es transformado en iones superóxido y peróxido de hidrógeno lo que se traduce en 10,000 golpes oxidativos al ADN por día. Lo que puede causar entrecruzamiento de proteínas-ADN, intercambio de cromátidas hermanas, daño a la estructura de desoxirribosa-fosfato y oxidación de las cuatro bases nitrogenadas.<sup>66, 68, 69</sup>

Estas modificaciones oxidativas pueden producir mutaciones, mientras que al oxidarse a desoxirribosa puede liberar bases y producir rompimiento de la cadena sencilla del ADN (Figura 3.3.2.4)<sup>66,68-71</sup>



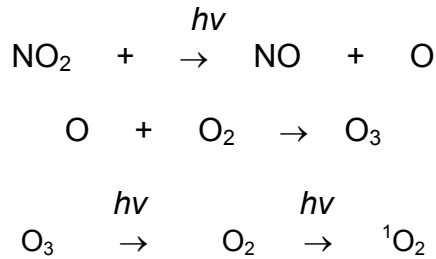
**Figura 3.3.2.4** Daño oxidativo al ADN producido por RL

En este sentido se sabe que el ozono es una de las sustancias contaminantes más abundantes en zonas urbanas, el estar constituido por tres átomos de oxígeno le confiere cierta inestabilidad, haciéndolo susceptible a sufrir reacciones de reducción secuenciales y mediante estas forma un gran número de especies reactivas de oxígeno (EROs) y RL. (Figura 3.3.2.5)<sup>72</sup>



**Figura 3.3.2.5** Generación secuencial de EROs y RL por reducción del ozono. Tomado de: Nohl 1993<sup>72</sup>

Cuando el  $O_3$  reacciona por fotólisis en presencia de dióxido de nitrógeno da origen a una especie reactiva de oxígeno considerada como RL altamente reactiva.

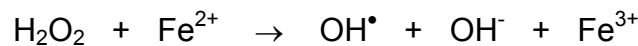


El oxígeno singlete ( ${}^1\text{O}_2$ ) se forma cuando un electrón periférico de la estructura del oxígeno se excita y cambia su posición hacia un orbital arriba del que normalmente ocupa presentando spines paralelos es decir apareados dando como resultado una molécula altamente reactiva capaz de oxidar muchas otras incluyendo ácidos grasos poliinsaturados por medio de lipoperoxidación.<sup>60, 65, 66</sup>

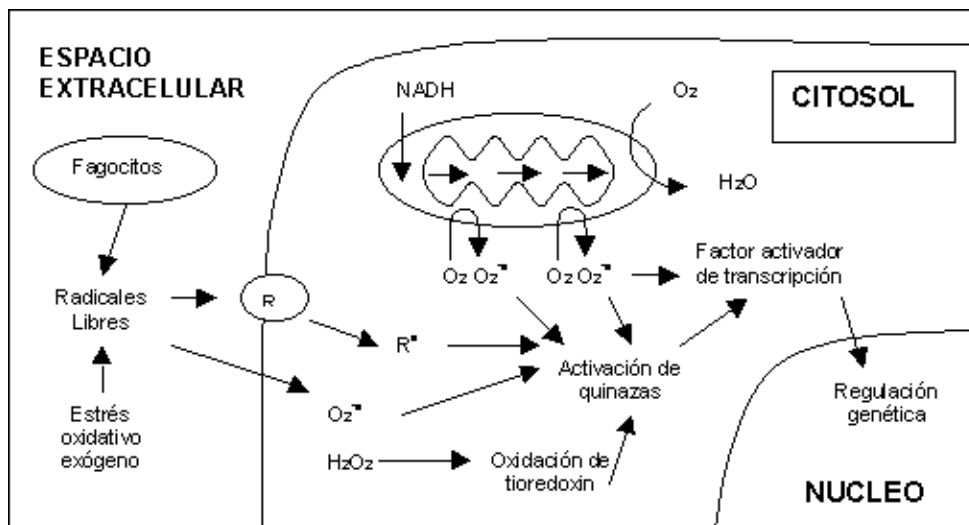
Las partículas suspendidas a diferencia del ozono generan radicales libres de forma indirecta, el tipo de radicales que generan depende del origen químico de las partículas, cuando estas son de procedencia orgánica, al entrar al organismo activan la respuesta inmune y por tanto la fagocitosis principalmente macrófagos y leucocitos polimorfonucleares.<sup>39</sup>

Al activarse las células fagocíticas estas sufren lo que se denomina “estallido respiratorio” produciendo una gran cantidad de anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) así como ácido hipocloroso (HClO) y oxígeno singulete ( $^1O_2$ ) en eosinófilos con el fin de destruir microorganismos invasores, pero cuando este mecanismo es muy intenso y/o prolongado se produce un daño oxidativo secundario en las biomoléculas.<sup>66, 73</sup>

Las partículas suspendidas de tipo inorgánico favorecer los procesos inflamatorios que estimulan la respuesta inmune llevando a cabo el estallido respiratorio produciendo daño oxidativo en las biomoléculas, además algunos de estos metales, en específico los metales de transición son capaces de catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) con lo que produce el radical hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ ) al reaccionar el  $H_2O_2$  con las sales ferrosas mediante la reacción de “Fenton”.<sup>39, 55</sup>



Como podemos ver el efecto de los radicales provenientes del urbanismo no se detiene en la vil molécula afectada, por el contrario lo hace extensivo a múltiples sitios celulares al desencadenar la generación de nuevos radicales que a su vez hacen extensivo el daño hacia otras células. (Figura 3.3.2.6.)<sup>55</sup>



**Figura 3.3.2.6.** Representación del mecanismo de daño a biomoléculas en distintos niveles celulares por RL. Tomado de: McCord 2000<sup>55</sup>

### **3.4 DAÑO OXIDATIVO AL ADN Y RADICALES LIBRES**

Aún cuando el ADN es un biopolímero relativamente simple, constituido por solo cuatro diferentes bases nitrogenadas, el mantener su integridad es vital para la llevar a cabo la división y supervivencia celular, puesto que esta molécula contiene la información genética que codifica para la síntesis de proteínas. Las alteraciones derivadas del efecto oxidante de los RL, producen cambios en la transcripción y transducción del ADN aumentando el riesgo de acumular mutaciones de tipo maligno, senescencia y muerte celular.<sup>70, 74, 75</sup>

En las células podemos encontrar dos tipos de ADN mitocondrial y nuclear. El ADN mitocondrial es de gran importancia ya que cada célula posee miles de genomas vulnerables al daño oxidativo capaces sufrir deleciones durante el envejecimiento y de mutar, provocando una acumulación de 8-OHdG y otros residuos provenientes de la reparación de estas mutaciones, con el paso del tiempo esta acumulación afecta el genoma mitocondrial, presentándose como principal consecuencia un abastecimiento inadecuado de energía.<sup>76, 77</sup>

En contraste, el genoma nuclear al ser dañado por los RL, es capaz de inducir síndromes que aceleran el envejecimiento al modificar el metabolismo de los telómeros debido a la desregulación de los genes. Sin embargo no hay que perder de vista la posibilidad de que al ocurrir mutaciones en el genoma mitocondrial, se realicen mutaciones en la producción de proteínas que favorezcan una ineficiencia en la cadena respiratoria oxidativa de la misma, lo que puede resultar en un considerable aumento de la producción de EROs capaces de afectar tanto el ADN nuclear como mitocondrial.<sup>76, 78, 79</sup>

En condiciones fisiológicas normales el daño se hace altamente extensivo ya que se ha estimado que la alteración de una de las bases puede modificar 130,000 bases en el núcleo y en el caso del ADN mitocondrial la alteración de una de las bases puede modificar 8,000 bases, dando como resultado la posibilidad de que aparezca un proceso canceroso con la edad.<sup>74</sup>

Uno de los radicales que más frecuentemente se ha visto involucrado en reacciones con la molécula de ADN es radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) ya que su naturaleza electrofílica le confiere alta reactividad. Este radical extrae átomos de hidrógeno de manera eficiente, agregándose igual o más rápido a dobles enlaces. También es capaz de reaccionar con los grupos fosfato presentes en el ADN pero esta reacción es más lenta y menos frecuente.<sup>80</sup>

Este daño oxidativo hacia la molécula del ADN ocurre por medio de cuatro principales procesos endógenos, que son reacciones de oxidación, metilación, desaminación y despurinización que conllevan a la ruptura de hebras.<sup>70</sup>

Investigaciones anteriores, se han propuesto un sin número de mecanismos, mediante los que se daña la molécula de ADN por acción de los RL. Estos mecanismos se pueden dividir en dos grupos principales:

- Ataque a los azúcares
- Ataque a las bases

El sitio donde se efectúe el ataque, depende de la reactividad del radical involucrado y del tipo de base (púrica o pirimídica).<sup>80</sup>

La desoxirribosa, que es el azúcar del ADN, al oxidarse puede inducir el rompimiento del enlace entre esta y el grupo fosfato del siguiente nucleótido, mecanismo que propicia las rupturas de cadena sencilla, La reactividad del radical hidroxilo hacia los diferentes átomos de hidrógeno de la desoxirribosa varía considerablemente, siendo los carbonos 4' y 5' los principales sitios de ataque, ya que en la molécula de ADN son los que quedan más expuestos.<sup>80-83</sup>



Algunas de estas reacciones resultan en la interrupción de enlaces fosfodiéster, arriesgando así la integridad de la cadena sencilla de ADN, al crear una muesca, la cual puede presentarse en diferentes configuraciones y sitios. Si esta muesca no es reparada de forma adecuada se produce un rompimiento de la cadena sencilla.<sup>84</sup>

Aún cuando los rompimientos de cadena sencilla no son considerados como lesiones letales o mutagénicas, dado que son reparados muy rápidamente, la acumulación de estas lesiones y la sobreexposición a RL puede generar daños irreparables (figura 8).<sup>85</sup>

La primera causa de ruptura de cadena doble del ADN, es a partir de rupturas previas del ADN de cadena sencilla, por la creación de cúmulos de EROs en estos sitios por el viaje de estas partículas desde diversos sitios del cuerpo.<sup>85</sup>

La segunda causa se presenta, cuando una gran cantidad de RL atacan una parte restringida de la molécula de ADN, efectuándose numerosos rompimientos de cadena sencilla, que dada su cercanía pueden provocar rompimientos en la cadena doble propiciando un daño de tipo permanente en el material genético.<sup>85</sup>

La tercera causa es por medio de la replicación del ADN. Estas rupturas se presentan cuando sucede un retraso de la cadena, durante la síntesis replicativa del ADN. Las causas de este tipo de rupturas pueden ser fuentes tanto exógenas como endógenas. Esta poderosa fuente de rupturas de cadena doble, solo surge cuando la célula se encuentra en división o en la última etapa de la síntesis del ADN (Figura 3.4.1).<sup>85</sup>



### **3.5. URBANISMO, DAÑO OXIDATIVO AL ADN Y ENVEJECIMIENTO.**

Los RL producidos de manera directa e indirecta por el urbanismo como el proceso normal de envejecimiento genera un desbalance iónico intracelular y en la configuración estérica de la cromatina mediante la formación de puentes disulfuro y enlaces iónicos entre las proteínas, este fenómeno favorece la disminución en el grado de condensación de la cromatina, produciendo cambios en la expresión genética al cambiar su configuración espacial.<sup>86</sup>

Aunado a esto se ha observado que durante el envejecimiento disminuye el número de receptores celulares, se forman proteínas anormales, hay alteraciones en la regulación de oncogenes y en los procesos de replicación y traducción; así mismo procesamiento del ARN se ve menguado produciendo un desgaste gradual del genoma.<sup>86-88</sup>

Al respecto existe suficiente evidencia científica que muestra que la acumulación de daño oxidativo del ADN durante el envejecimiento aumenta el número de enlaces iónicos entre proteínas no histonas y grupos fosfatos del ADN, al igual que aumenta la concentración de productos de la degradación del mismo y sus precursores como desoxiguanosina-malonaldehído y 8-hidroxiguanosina (8-OhdG) provenientes tanto del ADN nuclear como mitocondrial.<sup>89</sup>

También se han reportado una serie de alteraciones cromosómicas de linfocitos humanos como isocromosomas, deleciones, cromosomas en anillo e intercambio asimétrico. Estas alteraciones en el material genético han sido medidas mediante las técnicas de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, índice mitótico, cinética del ciclo celular y la electroforesis celular alcalina.<sup>90-93</sup>

En este sentido, la electroforesis unicelular alcalina. (Ensayo cometa) es una técnica confiable, con una alta sensibilidad, bajo costo y emplea un tamaño de muestra muy pequeño de 5 a 10 $\mu$ L. Además de que permiten evaluar rompimientos de cadena doble y sencilla así como sitios sensibles al álcali. Así mismo hace posible determinar la frecuencia de daño al ADN, la magnitud y el grado de daño al mismo.<sup>95</sup>

Utilizando la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa) es posible realizar la cinética de reparación que es de gran utilidad para evaluar de forma indirecta la eficiencia del sistema antioxidante, por medio de la velocidad de reparación del ADN al someter previamente los linfocitos al efecto oxidante del peróxido de hidrógeno.<sup>96</sup>

Por su utilidad esta técnica ha sido empleada para evaluar el efecto de diversos factores pro-oxidantes de tipo externo como radiación UV, niveles de ozono, contaminación del agua e incluso se ha empleado para monitorear el suministro de sustancias antioxidantes como la vitamina E y vitamina C, así como la modificación del daño oxidativo en algunos padecimientos crónico-degenerativos. En algunos estudios se ha empleado como marcador de daño oxidativo, en los cuales se ha detectado estrés oxidativo en recién nacidos con peso bajo y también en desordenes hematológicos como en los casos de linfoma, leucemia y síndrome mielodisplásico.<sup>92-94, 97, 98</sup>

### 3.6 SISTEMA ANTIOXIDANTE Y REPARACIÓN DEL ADN.

Las células poseen diversos mecanismos de protección, en los que por medio de reacciones enzimáticas y no enzimáticas capturan, previenen la formación de RL, inhibe su propagación y repara el daño producido por estos. Esta respuesta antioxidante, esta dada por un sistema compuesto por tres mecanismos de defensa que el organismo ha desarrollado para combatir el efecto de los radicales libres.<sup>61, 99-101</sup>

El mecanismo de acción de estas sustancias antioxidantes, se basa en el hecho de que poseen electrones que son cedidos a la molécula oxidante, con la finalidad de completar la falta de un electrón en su orbital externo, transformando así la molécula oxidante en una molécula estable e inofensiva para la célula.<sup>64</sup>

Para llegar a comprender como esta conformado el sistema antioxidante y como actúan estos tres niveles de defensa, es preciso definir un antioxidante. Antioxidante es *“toda aquella sustancia, la cual se encuentra presente en concentraciones bajas en comparación con los sustratos oxidables, que tendrá como efecto el retardar o prevenir significativamente la oxidación de dichos sustratos”*. Es decir son sustancias que emplea la célula para protegerse de la acción de los radicales libres, transformándolos en productos menos tóxicos o no tóxicos.<sup>61, 102,103</sup>

El sistema antioxidante es uno de los moduladores de la homeostasis fundamental para el organismo y esta compuesto por tres mecanismos principales de defensa que son:

- Antioxidantes primarios.-neutralizan radicales libres o limitan su actividad dando origen a moléculas menos dañinas y esta conformado por:
  - Superóxido dismutasa. (SOD)
  - Glutación peroxidasa y glutación reductasa. (GSH-Px)
  - Catalasa.
  - Proteínas de unión a metales: transferrina y ceruloplasmina.<sup>54, 63</sup>
  
- Antioxidantes secundarios.- capturan radicales libres con lo que evitan las reacciones en cadena entre los que encontramos compuestos como:
  - $\beta$ -carotenos (Vitamina A)
  - $\alpha$ -tocoferol (vitamina E)
  - Ácido ascórbico (vitamina C)
  - Albúmina
  - Glutación
  - Ácido úrico
  - Bilirrubina
  - Melatonina
  - Flavonoides<sup>54,104,105</sup>
  
- Antioxidantes terciarios.- degradan, reparan o remplazan las biomoléculas dañadas formado por:
  - Enzimas reparadoras de lípidos
  - Enzimas reparadoras de proteínas
  - Enzimas reparadoras de ADN.<sup>9</sup>

La reparación de la molécula del ADN es una de las más importantes y complejas esta es realizada por enzimas específicas para cada tipo de base dañada, esta reparación es realizada por tres principales grupos de enzimas que son:

- Exo y endonucleasas: Se encargan de eliminar los segmentos del ADN que han sido dañados.
- Ligasas: Unen los extremos de la cadena cuando ya ha sido corregido el daño.
- Glicosilasas y polimerasas: Su función es rellenar los huecos dejados por las exo y endonucleasas.

Estos tres grupos de enzimas conforman la llamada vía de reparación de escisión de bases. Esta vía inicia la reparación por medio de una N-ADN glicosilasa, que rompe el enlace N-glicosilico entre la base dañada y la desoxirribosa, formando así un sitio abásico (AP apurinico/apirimidimico), que al no ser informativo debe ser eliminado, de esta manera, el esqueleto del ADN próximo al sitio AB es escindido por una AP-endonucleasa, que rompe en el carbón 3' del sitio AB y al mismo tiempo remueve los fragmentos del azúcar generados durante la ruptura de la hebra ya que posee una actividad nucleolítica de 3' y 5'. A estas nucleasas que intervienen en la reparación del ADN también se les conoce como redoxiendonucleasas.<sup>106</sup>

Como ultimo mecanismo de reparación se realiza la unión de los fragmentos reparados con el resto del esqueleto del ADN por medio de una AP-liasa. Otro grupo de enzimas que desempeñan un papel importante en la reparación de los patrones de metilación del ADN es el de las ADN-metilasas, puesto que uno de los procesos que produce daño oxidativo es el de la desmetilación.<sup>74, 106, 107</sup>

Sin embargo este sistema reparador no es perfecto y aun cuando resulta efectivo en un 99% de las veces, el 1 % restante se acumula en el organismo confirmando a las células características de haber envejecido y contribuyendo a la aparición de procesos crónico-degenerativos.<sup>1</sup>

### 3.1 URBANISMO

El urbanismo es considerado por algunos investigadores como un factor de riesgo de los padecimientos más frecuentemente observados en los AM, debido a que engloba un gran número de factores pro-oxidantes, derivados del estilo de vida de cada individuo.

El término urbano se refiere esencialmente a ciudades, pueblos y otras áreas densamente pobladas. La demarcación de zonas urbanas es generalmente definida por los países como parte de sus procedimientos censales y se basa usualmente en el tamaño de las localidades o en función a criterios especiales, como densidad poblacional o tipo de actividad económica de sus residentes. No existe una definición de área urbana internacionalmente consensuada y las definiciones operacionales nacionales pueden variar de país a país. En México se clasifica como zona urbana, en base al tamaño del núcleo, expresado en número de habitantes, que debe oscilar entre 2.000 y 3.000 habitantes.<sup>19-21</sup>

La ciudad de México D.F. es considerada como zona urbana ya que presenta niveles altos de contaminación, específicamente niveles altos de ozono y partículas suspendidas por lo que ha sido motivo de un gran número de estudios relacionados con el efecto de estos contaminantes sobre la salud.<sup>21-24</sup>

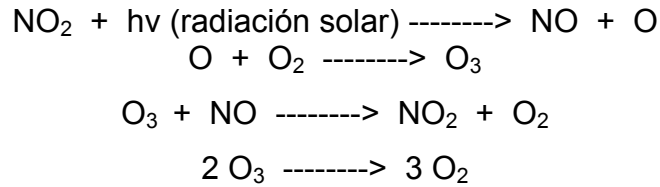
#### 3.1.1 Ozono

El **ozono** es una forma alotrópica del oxígeno formada por 3 átomos de oxígeno, es un gas de color azul pálido y al licuarse forma un líquido azul oscuro. Químicamente es muy activo, es un oxidante muy fuerte por lo que se usa como germicida, diluido se usa para esterilizar el agua, purificar el aire y llevar a cabo reacciones de oxidación en química orgánica. Se descompone rápidamente en oxígeno a temperaturas mayores a 100° C y a temperatura ambiente en presencia de catalizadores como el dióxido de manganeso, MnO<sub>2</sub>. Tanto el oxígeno atómico (O<sub>2</sub>) como el ozono (O<sub>3</sub>) son muy reactivos y al reaccionar con los hidrocarburos olefínicos producen aldehídos, cetonas y alcoholes.<sup>25, 26</sup>



El ozono atmosférico lo producen principalmente los motores eléctricos, los relámpagos y la radiación ultravioleta solar con el oxígeno del aire.

Las reacciones químicas de formación y descomposición del ozono son:



En la Ciudad de México y otras zonas ampliamente pobladas como Guadalajara, Monterrey con frecuencia se rebasan los límites de ozono tolerables para la salud. La Comisión Metropolitana para la Prevención de la Contaminación estima que esta contaminación es producida en estas ciudades, principalmente por vehículos, autotransportes, industria y producción de energía. (Tabla 3.1.)<sup>27</sup>

---

<b>FUENTE</b>	<b>CONTRIBUCIÓN %</b>
Vehículos	34.9
Autotransportes	41.7
Industria	20.0
Producción de energía	4.0

---

Tabla 3.1. Porcentaje de las principales fuentes de ozono en ciudades altamente pobladas de México. Tomado de: <http://www.sma.df.gob.mx/sma/index.php><sup>27</sup>

La inhalación del ozono presente en el smog fotoquímico ocasiona tos, dificultad para respirar, irritación en la nariz y la garganta, aumenta las molestias y agrava las enfermedades crónicas como el asma, bronquitis, enfisema (es incurable y reduce la capacidad de los pulmones para transferir oxígeno a la sangre) y trastornos cardiacos.

Los efectos sobre la salud, de la exposición prolongada a una atmósfera con ozono, indican que los niños, los ancianos y aquellas personas que tienen una salud frágil, resienten rápidamente problemas respiratorios, ronquera, náuseas y congestión pulmonar. Algunos estudios indican que el ozono tiene una influencia importante sobre los glóbulos rojos, limitando el transporte de oxígeno a las células del organismo. No obstante, quedan pendientes aún detalles importantes acerca de la forma en que el ozono afecta la salud.<sup>25, 28-30</sup>

En México el criterio para evaluar la calidad del aire con respecto al "ozono" establecido en la NOM-020-SSA1-1993 indica que:

- La concentración de ozono, como contaminante atmosférico, debe ser menor o igual a 0.110 ppm, promedio horario, para no ser rebasado una vez al año, calculado como se especifica en el numeral 4.3.1 de esta Norma.
- La concentración del promedio de ocho horas de ozono, como contaminante atmosférico, debe ser menor o igual a 0.080 ppm, tomado como el quinto máximo, en un periodo de un año, calculado como se especifica en el numeral 4.3.2 de esta Norma.

Es decir un promedio horario máximo de 216  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  por hora (0.11 ppm) Equivalentes a 100 puntos IMECA.<sup>26, 31, 32</sup>

### 3.1.2. Partículas suspendidas

Las partículas suspendidas se clasifican de acuerdo a su tamaño y suponiéndolas esféricas se clasifican en:

- 1) Inhalables (o partículas de materia inhalable, PMI), cuyo diámetro es menor a 10 micras **PM<sub>10</sub>**.
- 2) Ordinarias (o partículas respirables, RPM), con diámetro menor a 2.5 micras **PM<sub>2.5</sub>**.
- 3) Finas cuyo diámetro es menor a 1.2 micras **PM<sub>1.2</sub>**.

Las partículas emitidas directamente por fuentes contaminantes se denominan primarias y son:

- Partículas entre 0.1 y 2.5 micras, provenientes de procesos naturales como incendios forestales y procesos de combustión industrial.
- Partículas de materiales carbonosos incluyendo carbono elemental y compuestos orgánicos.
- Partículas emitidas por los automotores, principalmente en forma de sulfatos y óxidos de nitrógeno, carbono y azufre.
- Partículas con metales ligeros (sodio, magnesio, aluminio, silicio, potasio y calcio).
- Partículas con metales pesados (titanio, vanadio, cromo, manganeso, hierro, níquel, cobre, zinc, plomo, cadmio, arsénico y selenio).
- Partículas grandes (polvo transportado por el viento).
- Partículas emitidas a partir de actividades industriales.
- Partículas de polen, microorganismos e insectos.
- Partículas eléctricamente cargadas, con diámetros menores a 0.1 micras, formadas por efecto de la radiación solar y cósmica, material radioactivo y procesos de combustión.

Las fuentes de partículas son:

- Incendios forestales o de pastizales.
- Emisiones antropogénicas, provenientes de la combustión de combustible, de basura y de actividades industriales.
- Suspensión del polvo por la acción del viento o vehículos.
- Erupciones volcánicas.
- Fuentes extraterrestres que sólo afectan levemente las concentraciones en la capa planetaria límite, pero contribuyen a las concentraciones de polvo- extraterrestre encontradas arriba de los 30-40 km de altura.
- Emisiones de la sal del océano generadas por los rompimientos de las olas, la acción del viento en las crestas de las olas o burbujas de espuma rompiéndose en la superficie del agua.

Las partículas que se obtienen a partir de reacciones químicas en la atmósfera se denominan secundarias. Los principales procesos de producción de este tipo de partículas son:

- La transformación de  $\text{SO}_2$  en sulfatos.
- La transformación de  $\text{NO}_2$  en nitratos.
- La transformación de componentes orgánicos en partículas orgánicas.

En la atmósfera urbana flota un sinnúmero de partículas suspendidas (sales y óxidos de metales pesados, sustancias orgánicas, etc.), procedentes principalmente de procesos de combustión como: la actividad vehicular, procesos industriales de plantas metalúrgicas y fertilizantes, de almacenamiento y procesado de granos, fabricación de cemento; tolvaneras, o bien, de la formación de nitratos y sulfatos proveniente de aerosoles.<sup>33</sup>

Las partículas inhalables (o partículas de materia inhalable, PMI), cuyo diámetro es menor a 10 micras **PM<sub>10</sub>**.

Producen irritación en las vías respiratorias; su acumulación en los pulmones origina enfermedades como la silicosis y la asbestosis. Agravan el asma y las enfermedades cardiovasculares.<sup>34</sup>

En México el criterio para evaluar la calidad del aire con respecto a partículas suspendidas totales establecido en la NOM-024-SSA1-1993 indica que:

Las partículas suspendidas totales (**PST**) como contaminante atmosférico, no deben rebasar el límite máximo permisible de  $260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , en 24 horas, en un periodo de un año y  $75 \mu\text{g}/\text{m}^3$  en una media geométrica anual, para protección a la salud de la población susceptible.<sup>35</sup>

Al respecto el criterio para evaluar la calidad del aire establece una concentración máxima de  $PM_{10}$  de  $150 \mu\text{g}/\text{m}^3$  en un promedio de 24 horas, equivalentes a 100 puntos IMECA.<sup>34</sup>

Las partículas finas (o partículas respirables, RPM), cuyo diámetro es menor a 2.5 micras **PM<sub>2.5</sub>**.

Por ser tan diminutas, las  $PM_{2.5}$  pueden ingresar y depositarse en las partes del sistema respiratorio más internas, causando serios daños. Estudios recientes en diferentes ciudades del mundo muestran una asociación directa entre el aumento de las concentraciones de  $PM_{2.5}$  y el decremento de la función pulmonar, el incremento de visitas a salas de hospitales, agravamiento de afecciones pulmonares y cardiovasculares preexistentes, y la muerte prematura en personas que padecen esas afecciones.<sup>36</sup>

La Secretaria de Salud Federal contempla la entrada en vigor de una norma ambiental para proteger la salud de la población por exposición a  $PM_{2.5}$ . Su aplicación será de carácter nacional. Esta norma tiene concordancia con la norma equivalente en vigor en los EUA. Los valores propuestos de la NOM son:

$65 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , promedio de 24 horas  $15 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , promedio anual.

$\mu\text{g}/\text{m}^3$  = microgramos por metro cúbico de aire muestreado

Al respecto se ha observado que las partículas suspendidas, principalmente las de plomo, causan anemia, lesión en los riñones y en el sistema nervioso central. De igual manera se ha demostrado que la inhalación de productos de la combustión de hidrocarburos esta asociado a procesos inflamatorios además de aumentar la producción de anticuerpos alergenicos, en este sentido recientemente se ha detectado un aumento en los niveles de lipopolisacaridos derivados de las paredes de bacterias Gram negativas que al ser inhalados representan un factor de riesgo para el asma.<sup>33,</sup>

<sup>37,38</sup>

Aunado a esto encontramos entre los compuestos inorgánicos que conforman las partículas suspendidas como metales pesados derivados de las industrias y vehículos, como el plomo, níquel, hierro y vanadio frecuentemente asociados con procesos inflamatorios y cáncer.<sup>39</sup>

Al respecto la OMS en el año 2002 señaló que la contaminación ambiental fue causante de 0.8 millones de muertes en el mundo lo que representa el 1.4% del total de fallecimientos, atribuyéndole también el 5% del cáncer de traquea, bronquios y pulmones.<sup>40</sup>

Sin embargo se desconocen a ciencia cierta las repercusiones biológicas de dicha exposición ya que en su mayoría las investigaciones realizadas se enfocan en estudiar el factor de riesgo que este representa sobre padecimientos como los de cáncer, enfermedades cardiovasculares y de vías respiratorias. Por ser estos los más asociados al aumento en la morbi-mortalidad.

### **3.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE CONTAMINANTES ATMOSFÉRICOS.**

Los contaminantes del aire penetran en el cuerpo principalmente por los pulmones. Donde algunos son absorbidos por la sangre, otros se eliminan por los pulmones y una fracción queda contenida en el cuerpo.

#### **3.2.1. Mecanismo de acción del ozono.**

La principal forma de entrada del ozono es por medio de la vía respiratoria superior, pero se difunde fácilmente causando daño en diferentes zonas del sistema respiratorio por medio de los siguientes mecanismos:

- Causa respiración superficial y rápida, tos, opresión en el pecho y sequedad de faringe.
- Disminuye la distensibilidad pulmonar.
- Irrita los pulmones y puede causar la muerte por edema de estos órganos.
- Descama el epitelio de todas las vías ciliadas.
- Produce cambios degenerativos en las células alveolares.
- Produce turgencia o rotura del endotelio capilar de los alvéolos.
- Causa engrosamiento de los bronquiólos respiratorios terminales.
- En altas concentraciones produce bronquitis, fibrosis y cambios enfisematosos crónicos.
- Aumenta la sensibilidad a broncoconstrictores y alergenicos.
- Inhibe los sistemas de limpieza y eliminación de partículas.

El mecanismo bioquímico del ozono es debido principalmente a la formación de RL provenientes de la interacción con grupos sulfhídrico o por descomposición oxidativa de los ácidos grasos no saturados. La ozonización de estos induce la lipoperoxidación, formando ciclooxigenasa que es un producto del ácido araquidónico, el cual estimula los neuroreceptores de las vías respiratorias superiores favoreciendo un decremento agudo en la función pulmonar. Al respecto el ozono es capaz de producir mutaciones en el ADN mitocondrial y nuclear asociadas a enfermedades en la arteria coronaria, formación de tumores malignos y cáncer.<sup>41-46</sup>

### 3.2.2 Mecanismo de acción de partículas suspendidas.

Las partículas suspendidas totales (PST) penetran principalmente por los pulmones donde una parte es absorbida en la sangre, otra es eliminada por los pulmones y una fracción queda retenida en el cuerpo, dependiendo del tamaño de partícula:

- Las partículas con un diámetro mayor a 5  $\mu\text{m}$  se depositan en la porción superior de las vías respiratorias.
- Las de 1 a 5  $\mu\text{m}$  se decantan en los alvéolos.
- Las que se depositan en la porción sin cilios de las vías nasales permanecen hasta ser eliminadas al limpiarse la nariz o por medio del estornudo.
- La capa de moco transporta las partículas insolubles hasta la faringe donde son destruidas y deglutidas hacia el tracto gastrointestinal.
- Las partículas solubles en el moco son transportadas a la faringe o absorbidas en el epitelio y de ahí a la sangre.
- La tos y el estornudo desplazan el moco y las partículas hacia la glotis y posteriormente son deglutidas.
- Las partículas de menos de 1  $\mu\text{m}$  quedan suspendidas en el aire inhalado y llegan a los alvéolos donde son absorbidas.

Debido a este gran número de formas de absorción, depósito y eliminación de partículas suspendidas, no es posible definir con exactitud los mecanismos de absorción y eliminación de partículas pero al parecer intervienen tres principales procesos:

- Eliminación física: las partículas depositadas en la capa de líquidos de los alvéolos son aspiradas en la “escala móvil” mucociliar del árbol traqueobronquial.
- Fagocitosis: por mononucleares o macrófagos alveolares; en los cuales se produce una gran cantidad de anión superóxido ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) así como ácido hipocloroso (HClO).
- Absorción en sistema linfático: en él las partículas pueden quedar atrapadas largo tiempo.



Al respecto se ha observado que la eliminación de las partículas desde los alvéolos es relativamente ineficiente. Solo el 20% se desecha en el primer día después de su depósito, su eliminación depende en gran medida de la disolución y absorción en la sangre. Algunas partículas permanecen en los alvéolos por tiempo indefinido, al proliferar las células que las fagocitan forman una placa alveolar o nódulo alveolar al unirse a la red reticular. <sup>41,47</sup>

En este sentido podemos observar que el gran número de interacciones entre los mecanismos de absorción y eliminación de contaminantes propios del urbanismo son capaces de generar una considerable cantidad de RL sin embargo los mecanismos de acción no han sido establecidos por completo, por lo que el siguiente esquema basado en la evidencia científica propone una serie de eventos propiciados por la exposición crónica al ozono y PST (Figura 3.2.2). <sup>48</sup>

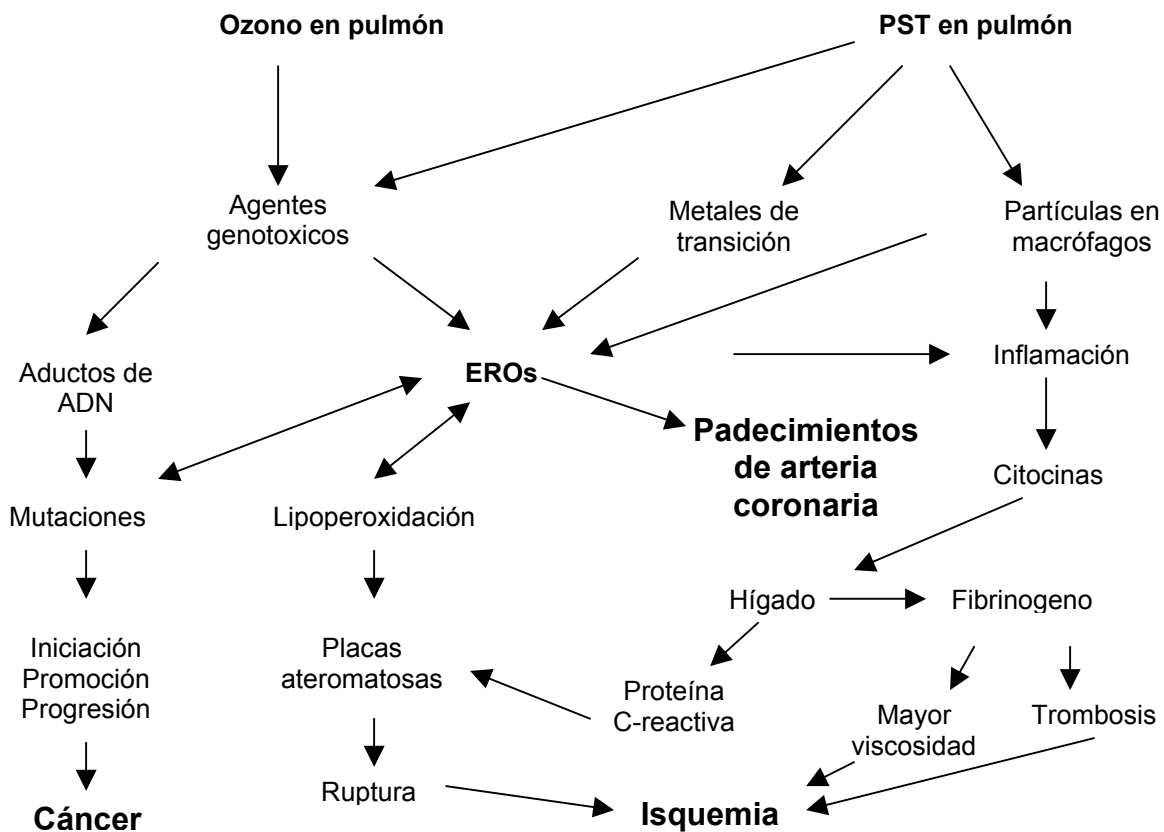


Figura.3.2.2 Diagrama de eventos hipotéticos desencadenados por la exposición a ozono y PST  
Tomado de: Sorensen 2003<sup>48</sup>

Como es posible observar en el esquema anterior las interacciones entre los procesos bioquímicos y fisiológicos derivados de la exposición a contaminantes propios del urbanismo poseen mecanismos muy variados, sin embargo también es posible observar que en todos los casos existe un factor común que es la intervención de las EROs.

### 3.3 ENVEJECIMIENTO, RADICALES LIBRES Y URBANISMO

#### 3.3.1 Envejecimiento

Por consenso internacional, se ha definido como adultos mayores a las personas de 65 años o más, lo cual se aplica a países desarrollados; en cambio en aquellos en los que la esperanza de vida se ve disminuida como es el caso de toda América latina y en particular de México, donde se considera como adultos mayores a partir de los 60 años.<sup>49, 50</sup>

Al respecto el envejecimiento es un proceso multifactorial complejo que involucra mecanismos biológicos, psicológicos y sociales, de ahí que sea individualizado. Por tal motivo, los humanos envejecen de manera distinta y la edad cronológica no siempre es coincidente con la edad biológica.<sup>51</sup>

En busca de explicar la causa del envejecimiento se han propuesto diversas teorías, entre las cuales encontramos a la de los radicales libres, propuesta por Denhan Harman en 1956, esta propone que el envejecimiento es producto de la acumulación de daño oxidativo a las biomoléculas (lípidos, proteínas, hidratos de carbono y ADN) causado por los radicales libres generados en el metabolismo normal aeróbico.<sup>52-55</sup>

En este sentido y bajo el enfoque teórico alostático, definimos el envejecimiento humano como un proceso gradual y adaptativo, caracterizado por una disminución relativa de la respuesta homeostática debido a las modificaciones morfológicas, fisiológicas, bioquímicas y psicológicas, propiciadas por la carga o costo alostático (*allostatic load*) acumulado a lo largo de su historia, como consecuencia de la acción del tiempo en un ambiente determinado.<sup>1</sup>

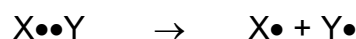
La alostasis es el proceso de adaptación ante retos o desafíos estresantes (acumulación crónica de radicales libres), donde el organismo responde de manera activa con el fin de mantener la homeostasis, este mecanismo de respuesta adaptativa, representa un costo biológico, por lo que, cuando ocurre de forma repetida, propicia una carga alostática (*Allostatic load*), haciendo menos eficiente el proceso de adaptación y favoreciendo la aparición de padecimientos infecciosos y crónico-degenerativos.<sup>2-4</sup>

### 3.3.2 Radicales libres y urbanismo

El termino “radical libre” se refiere a especies químicas con un electrón no apareado en su orbita externa, que pueden considerarse fragmentos de moléculas, siendo por lo general inestables y por tanto altamente reactivas por lo que tienden a asociarse “aparearse” al electrón más cercano, lo que les confiere la capacidad de oxidar y dañar a las biomoléculas, causando daño a nivel celular y tisular, con la consiguiente alteración de su función.<sup>54-57</sup>

Existen tres vías por las que es posible la formación de RL estas son:

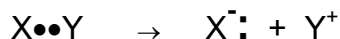
- Por ruptura o fisión homolítica de un enlace covalente en una molécula normal donde cada fragmento retiene a uno de los electrones.



- Por transferencia de un electrón solitario a una molécula normal.



- Por fisión heterolítica en una molécula covalente, en la que uno de los átomos retiene los dos electrones del enlace.



En términos de energía cinética estas tres vías confieren gran inestabilidad al RL formado, el cual busca compensar su energía por dos medios:

- Perdiendo el electrón desapareado, en cuyo caso el radical resultante posee potencial reductor.
- Ganando un electrón, obteniéndose un radical con potencial oxidante.

La transformación de una molécula primaria a RL, requiere de una energía de activación relativamente alta, sin embargo una vez formado inicia reacciones en cadena alternas que representan un peligro para los sistemas vivos.<sup>55, 58-60</sup>

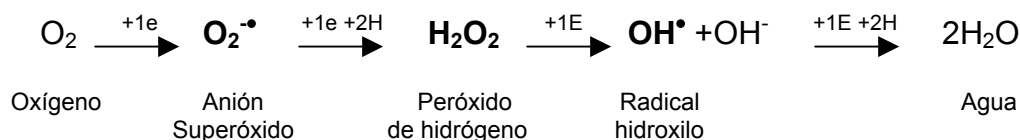
Las reacciones en las que intervienen los RL, pueden tener su origen a en fuentes exógenas, como las radiaciones ionizantes, ultravioleta, la visible o térmica, drogas antitumorales, algunos productos químicos carcinogénicos, pesticidas, también diversos medicamentos inducen la liberación de RL y por supuesto la contaminación ambiental. Pero también son generados en el interior de las células como producto de sus actividades fisiológicas normales como la respiración, hipoxia y la respuesta inmune entre otros. (Tabla. 3.3.2)<sup>61-63</sup>

LUGAR	REACCIÓN
Retículo endoplásmico	Transporte de electrones dependiente del Citocromo P-450 Transporte de electrones dependiente del Citocromo b5
Mitocondria	Transporte de electrones (cadena respiratoria: principales sitios, complejo NADH-CoQ reductasa y formas reducidas de la coenzima Q: $O_2 + e \rightarrow O_2^{\cdot-}$ ) Lipoperoxidación
Lisosomas	Sistema de mieloperoxidasa
Membranas	Lipoperoxidación Lipo-oxigenasa Prostaglandina sintetasa NADPH-oxidasa*
Peroxisomas	Oxidasas Flavoproteínas
Citoplasma	Auto-oxidación de la oxihemoglobina ( $Hemo-Fe^{2+} - O_2 \rightarrow Hemo-Fe^{3+} O_2^{\cdot-}$ ) Auto-oxidación de moléculas pequeñas: adrenalina, tióles, flavín mononucleótido (FMN), flavín adenín dinucleótido (FAD), glucosa Procesos de transferencia de electrones mediados por metales de transición como el hierro y el cobre, o por enzimas

\*Oxida el  $NADP^+$ , con la resultante reducción del oxígeno para formar el radical superóxido, este mecanismo es utilizado por los neutrófilos, monocitos, macrófagos y eosinófilos para eliminar bacterias, proceso durante el cual los tejidos circundantes pueden verse también afectados.

**Tabla 3.3.2.** Sitios de la célula y reacciones químicas a partir de las que se generan radicales libres a partir de procesos fisiológicos normales. Tomado de: González 2000<sup>64</sup>

El oxígeno, es uno de los elementos más abundantes dentro y fuera de nuestro organismo ya sea en forma libre o formando parte de algunos compuestos, este posee la tercera afinidad electrónica más alta, por lo que su reducción secuencial en cuatro pasos es considerada como la principal fuente de especies reactivas de oxígeno (EROs) (Fig. 3.3.2)<sup>1</sup>



**Figura 3.3.2.1** Generación de EROs por reducción secuencial en cuatro pasos del oxígeno molecular. Tomado de: *Sánchez 2003*<sup>1</sup>

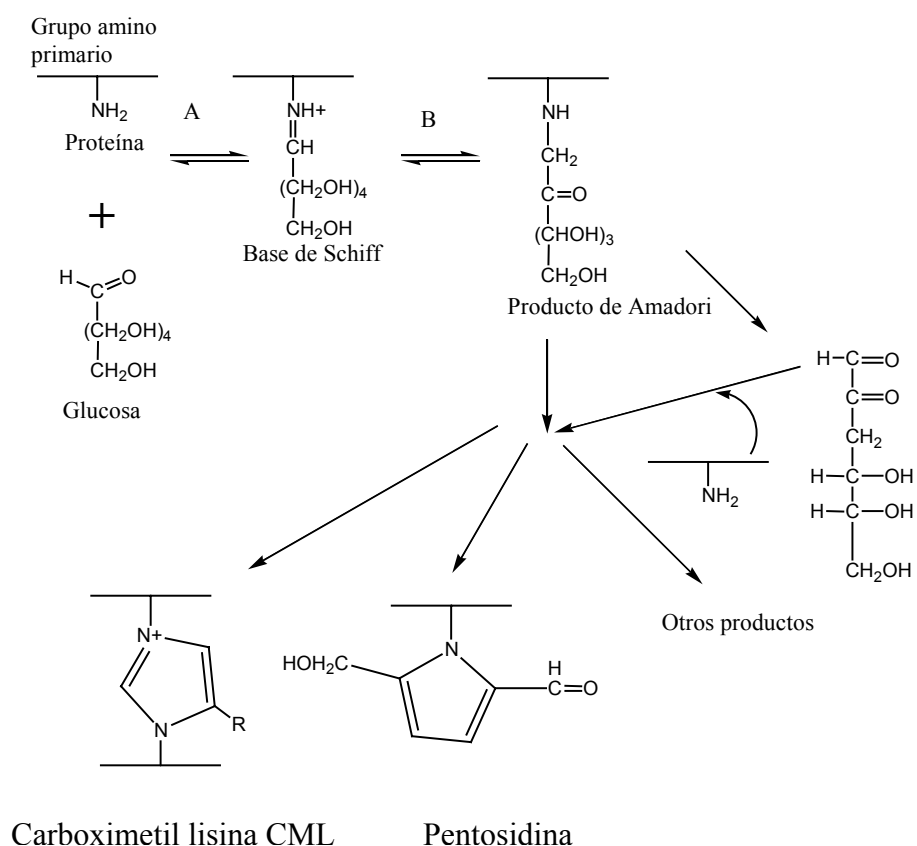
Estas EROs derivadas de la reducción del oxígeno representan la principal fuente de daño oxidativo a las biomoléculas, dado que poseen diversos niveles de reactividad, la cual esta en función del sitio de su formación. Al respecto se sabe que algunas especies se ven mas frecuentemente involucradas con determinado tipo de biomoléculas cuando se presentan las condiciones idóneas. (Tabla 3.3.2.1)<sup>64</sup>

RADICAL	NOMBRE	CARACTERÍSTICAS
$\text{O}_2^{\bullet -}$	Superóxido	Altamente reactivo en medio hidrofóbico, pero no puede atravesar libremente las membranas biológicas, en presencia de la enzima SOD, es transformado en peróxido de hidrógeno, es un importante reductor de iones metálicos de transición y regula la actividad del oxido nítrico.
$\text{H}_2\text{O}_2$	Peróxido de hidrógeno	No es un radical, es un agente oxidante muy reactivo, en los fagosomas en presencia de iones metálicos y la enzima mieloperoxidasa genera rápidamente el RL hidroxilo.
$\text{OH}^{\bullet}$	Hidroxilo	Es considerado él más reactivo ya que frecuentemente se encuentra relacionado con el daño oxidativo del ADN, lípidos y proteínas. Se forma de la reducción del peroxido de hidrógeno por medio de la reacción de Fenton.
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singulete	Se forma como producto de la reacción del glutatión reducido y el radical superóxido y durante la lipoperoxidación.

**Tabla 3.3.2.1** EROs y sus principales características. Tomado de: *González 2000*<sup>64</sup>



Las proteínas aunque en menor medida también son susceptibles al ataque por RL, cuando estas son oxidadas sufren procesos de fragmentación, agregación, desnaturalización y entrecruzamiento provocando una distorsión en las estructuras secundaria y terciaria, haciéndolas más susceptibles a la proteólisis y a la pérdida de su funcionalidad. Una de las reacciones más frecuentes donde se pierde la funcionalidad de las proteínas es el entrecruzamiento con la glucosa esta reacción se lleva a cabo entre un grupo aldehído (CHO) de la glucosa y un grupo amino (NH<sub>2</sub>) de una proteína. Al combinarse estas moléculas forman la denominada base de **Schiff**, que es muy inestable y de manera espontánea forma un compuesto reversible conocido como producto de **Amadori** este producto se deshidrata con el paso del tiempo dando lugar a formas irreversibles conocidas como productos finales de glicosilación avanzada (AGEs). (Figura 3.3.2.3)<sup>67</sup>



**Figura 3.3.2.3.** Formación de AGEs a partir de la glucosilación no enzimática de proteínas. (A) formación de la base de Schiff. (B) Reordenamiento de Amadori. Estos pueden dar origen a derivados con estructura imidazólica (C), pirrólica(D) y otras (iminas, furanos, piridinas, etc.)

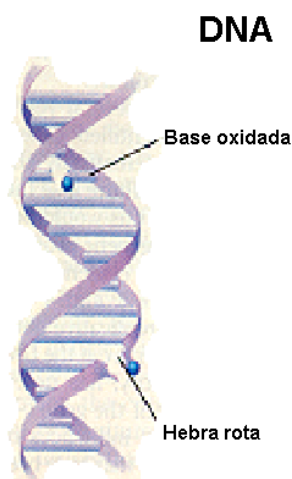
Tomado de: González 2000<sup>67</sup>



Al respecto el efecto de los RL sobre los carbohidratos, parece estar limitado a las reacciones de glucosilación con proteínas pues otros efectos son poco conocidos.<sup>64</sup>

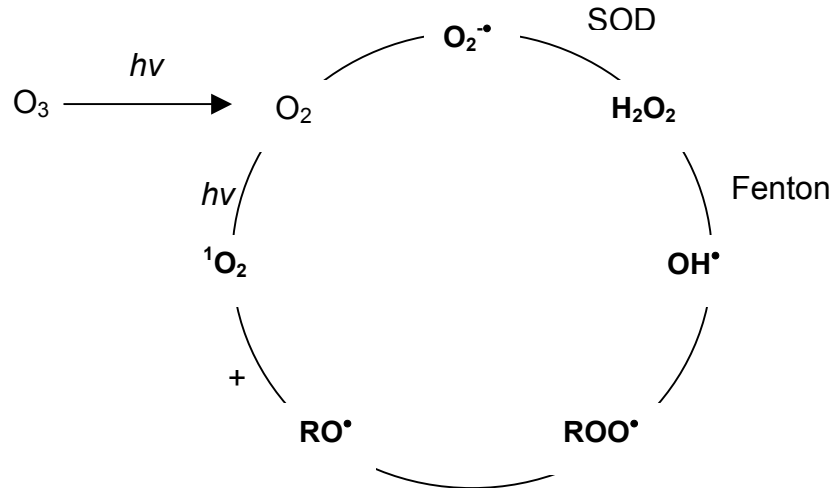
El material genético ADN no está exento del ataque de los radicales libres ya que en la mitocondria alrededor del 2 a 3% del oxígeno consumido por la célula es transformado en iones superóxido y peróxido de hidrógeno lo que se traduce en 10,000 golpes oxidativos al ADN por día. Lo que puede causar entrecruzamiento de proteínas-ADN, intercambio de cromátidas hermanas, daño a la estructura de desoxirribosa-fosfato y oxidación de las cuatro bases nitrogenadas.<sup>66, 68, 69</sup>

Estas modificaciones oxidativas pueden producir mutaciones, mientras que al oxidarse a desoxirribosa puede liberar bases y producir rompimiento de la cadena sencilla del ADN (Figura 3.3.2.4)<sup>66,68-71</sup>



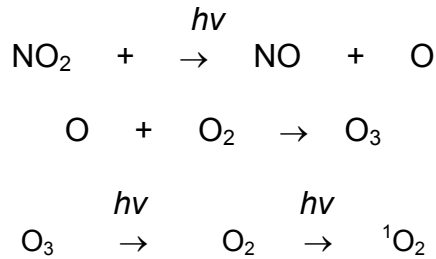
**Figura 3.3.2.4** Daño oxidativo al ADN producido por RL

En este sentido se sabe que el ozono es una de las sustancias contaminantes más abundantes en zonas urbanas, el estar constituido por tres átomos de oxígeno le confiere cierta inestabilidad, haciéndolo susceptible a sufrir reacciones de reducción secuenciales y mediante estas forma un gran número de especies reactivas de oxígeno (EROs) y RL. (Figura 3.3.2.5)<sup>72</sup>



**Figura 3.3.2.5** Generación secuencial de EROs y RL por reducción del ozono. Tomado de: Nohl 1993<sup>72</sup>

Cuando el  $O_3$  reacciona por fotólisis en presencia de dióxido de nitrógeno da origen a una especie reactiva de oxígeno considerada como RL altamente reactiva.

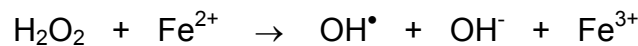


El oxígeno singlete ( ${}^1\text{O}_2$ ) se forma cuando un electrón periférico de la estructura del oxígeno se excita y cambia su posición hacia un orbital arriba del que normalmente ocupa presentando spines paralelos es decir apareados dando como resultado una molécula altamente reactiva capaz de oxidar muchas otras incluyendo ácidos grasos poliinsaturados por medio de lipoperoxidación.<sup>60, 65, 66</sup>

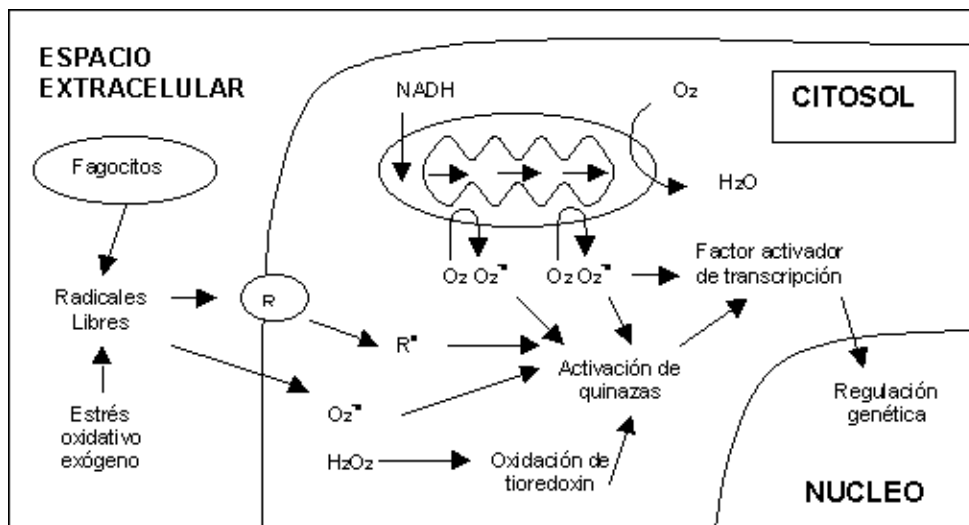
Las partículas suspendidas a diferencia del ozono generan radicales libres de forma indirecta, el tipo de radicales que generan depende del origen químico de las partículas, cuando estas son de procedencia orgánica, al entrar al organismo activan la respuesta inmune y por tanto la fagocitosis principalmente macrófagos y leucocitos polimorfonucleares.<sup>39</sup>

Al activarse las células fagocíticas estas sufren lo que se denomina “estallido respiratorio” produciendo una gran cantidad de anión superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) así como ácido hipocloroso (HClO) y oxígeno singlete ( $^1O_2$ ) en eosinófilos con el fin de destruir microorganismos invasores, pero cuando este mecanismo es muy intenso y/o prolongado se produce un daño oxidativo secundario en las biomoléculas.<sup>66, 73</sup>

Las partículas suspendidas de tipo inorgánico favorecer los procesos inflamatorios que estimulan la respuesta inmune llevando a cabo el estallido respiratorio produciendo daño oxidativo en las biomoléculas, además algunos de estos metales, en específico los metales de transición son capaces de catalizar la descomposición del peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) con lo que produce el radical hidroxilo ( $OH^{\bullet}$ ) al reaccionar el  $H_2O_2$  con las sales ferrosas mediante la reacción de “Fenton”.<sup>39, 55</sup>



Como podemos ver el efecto de los radicales provenientes del urbanismo no se detiene en la vil molécula afectada, por el contrario lo hace extensivo a múltiples sitios celulares al desencadenar la generación de nuevos radicales que a su vez hacen extensivo el daño hacia otras células. (Figura 3.3.2.6.)<sup>55</sup>



**Figura 3.3.2.6.** Representación del mecanismo de daño a biomoléculas en distintos niveles celulares por RL. Tomado de: McCord 2000<sup>55</sup>

### 3.4 DAÑO OXIDATIVO AL ADN Y RADICALES LIBRES

Aún cuando el ADN es un biopolímero relativamente simple, constituido por solo cuatro diferentes bases nitrogenadas, el mantener su integridad es vital para la llevar a cabo la división y supervivencia celular, puesto que esta molécula contiene la información genética que codifica para la síntesis de proteínas. Las alteraciones derivadas del efecto oxidante de los RL, producen cambios en la transcripción y transducción del ADN aumentando el riesgo de acumular mutaciones de tipo maligno, senescencia y muerte celular.<sup>70, 74, 75</sup>

En las células podemos encontrar dos tipos de ADN mitocondrial y nuclear. El ADN mitocondrial es de gran importancia ya que cada célula posee miles de genomas vulnerables al daño oxidativo capaces sufrir deleciones durante el envejecimiento y de mutar, provocando una acumulación de 8-OHdG y otros residuos provenientes de la reparación de estas mutaciones, con el paso del tiempo esta acumulación afecta el genoma mitocondrial, presentándose como principal consecuencia un abastecimiento inadecuado de energía.<sup>76, 77</sup>

En contraste, el genoma nuclear al ser dañado por los RL, es capaz de inducir síndromes que aceleran el envejecimiento al modificar el metabolismo de los telómeros debido a la desregulación de los genes. Sin embargo no hay que perder de vista la posibilidad de que al ocurrir mutaciones en el genoma mitocondrial, se realicen mutaciones en la producción de proteínas que favorezcan una ineficiencia en la cadena respiratoria oxidativa de la misma, lo que puede resultar en un considerable aumento de la producción de EROs capaces de afectar tanto el ADN nuclear como mitocondrial.<sup>76, 78, 79</sup>

En condiciones fisiológicas normales el daño se hace altamente extensivo ya que se ha estimado que la alteración de una de las bases puede modificar 130,000 bases en el núcleo y en el caso del ADN mitocondrial la alteración de una de las bases puede modificar 8,000 bases, dando como resultado la posibilidad de que aparezca un proceso canceroso con la edad.<sup>74</sup>

Uno de los radicales que más frecuentemente se ha visto involucrado en reacciones con la molécula de ADN es radical hidroxilo ( $\cdot\text{OH}$ ) ya que su naturaleza electrofílica le confiere alta reactividad. Este radical extrae átomos de hidrógeno de manera eficiente, agregándose igual o más rápido a dobles enlaces. También es capaz de reaccionar con los grupos fosfato presentes en el ADN pero esta reacción es más lenta y menos frecuente.<sup>80</sup>

Este daño oxidativo hacia la molécula del ADN ocurre por medio de cuatro principales procesos endógenos, que son reacciones de oxidación, metilación, desaminación y despurinización que conllevan a la ruptura de hebras.<sup>70</sup>

Investigaciones anteriores, se han propuesto un sin número de mecanismos, mediante los que se daña la molécula de ADN por acción de los RL. Estos mecanismos se pueden dividir en dos grupos principales:

- Ataque a los azúcares
- Ataque a las bases

El sitio donde se efectúe el ataque, depende de la reactividad del radical involucrado y del tipo de base (púrica o pirimídica).<sup>80</sup>

La desoxirribosa, que es el azúcar del ADN, al oxidarse puede inducir el rompimiento del enlace entre esta y el grupo fosfato del siguiente nucleótido, mecanismo que propicia las rupturas de cadena sencilla, La reactividad del radical hidroxilo hacia los diferentes átomos de hidrógeno de la desoxirribosa varía considerablemente, siendo los carbonos 4' y 5' los principales sitios de ataque, ya que en la molécula de ADN son los que quedan más expuestos.<sup>80-83</sup>

Algunas de estas reacciones resultan en la interrupción de enlaces fosfodiéster, arriesgando así la integridad de la cadena sencilla de ADN, al crear una muesca, la cual puede presentarse en diferentes configuraciones y sitios. Si esta muesca no es reparada de forma adecuada se produce un rompimiento de la cadena sencilla.<sup>84</sup>

Aún cuando los rompimientos de cadena sencilla no son considerados como lesiones letales o mutagénicas, dado que son reparados muy rápidamente, la acumulación de estas lesiones y la sobreexposición a RL puede generar daños irreparables (figura 8).<sup>85</sup>

La primera causa de ruptura de cadena doble del ADN, es a partir de rupturas previas del ADN de cadena sencilla, por la creación de cúmulos de EROs en estos sitios por el viaje de estas partículas desde diversos sitios del cuerpo.<sup>85</sup>

La segunda causa se presenta, cuando una gran cantidad de RL atacan una parte restringida de la molécula de ADN, efectuándose numerosos rompimientos de cadena sencilla, que dada su cercanía pueden provocar rompimientos en la cadena doble propiciando un daño de tipo permanente en el material genético.<sup>85</sup>

La tercera causa es por medio de la replicación del ADN. Estas rupturas se presentan cuando sucede un retraso de la cadena, durante la síntesis replicativa del ADN. Las causas de este tipo de rupturas pueden ser fuentes tanto exógenas como endógenas. Esta poderosa fuente de rupturas de cadena doble, solo surge cuando la célula se encuentra en división o en la última etapa de la síntesis del ADN (Figura 3.4.1).<sup>85</sup>



### **3.5. URBANISMO, DAÑO OXIDATIVO AL ADN Y ENVEJECIMIENTO.**

Los RL producidos de manera directa e indirecta por el urbanismo como el proceso normal de envejecimiento genera un desbalance iónico intracelular y en la configuración estérica de la cromatina mediante la formación de puentes disulfuro y enlaces iónicos entre las proteínas, este fenómeno favorece la disminución en el grado de condensación de la cromatina, produciendo cambios en la expresión genética al cambiar su configuración espacial.<sup>86</sup>

Aunado a esto se ha observado que durante el envejecimiento disminuye el número de receptores celulares, se forman proteínas anormales, hay alteraciones en la regulación de oncogenes y en los procesos de replicación y traducción; así mismo procesamiento del ARN se ve menguado produciendo un desgaste gradual del genoma.<sup>86-88</sup>

Al respecto existe suficiente evidencia científica que muestra que la acumulación de daño oxidativo del ADN durante el envejecimiento aumenta el número de enlaces iónicos entre proteínas no histonas y grupos fosfatos del ADN, al igual que aumenta la concentración de productos de la degradación del mismo y sus precursores como desoxiguanosina-malonaldehído y 8-hidroxiguanosina (8-OhdG) provenientes tanto del ADN nuclear como mitocondrial.<sup>89</sup>

También se han reportado una serie de alteraciones cromosómicas de linfocitos humanos como isocromosomas, deleciones, cromosomas en anillo e intercambio asimétrico. Estas alteraciones en el material genético han sido medidas mediante las técnicas de aberraciones cromosómicas, intercambio de cromátidas hermanas, índice mitótico, cinética del ciclo celular y la electroforesis celular alcalina.<sup>90-93</sup>



En este sentido, la electroforesis unicelular alcalina. (Ensayo cometa) es una técnica confiable, con una alta sensibilidad, bajo costo y emplea un tamaño de muestra muy pequeño de 5 a 10 $\mu$ L. Además de que permiten evaluar rompimientos de cadena doble y sencilla así como sitios sensibles al álcali. Así mismo hace posible determinar la frecuencia de daño al ADN, la magnitud y el grado de daño al mismo.<sup>95</sup>

Utilizando la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa) es posible realizar la cinética de reparación que es de gran utilidad para evaluar de forma indirecta la eficiencia del sistema antioxidante, por medio de la velocidad de reparación del ADN al someter previamente los linfocitos al efecto oxidante del peróxido de hidrógeno.<sup>96</sup>

Por su utilidad esta técnica ha sido empleada para evaluar el efecto de diversos factores pro-oxidantes de tipo externo como radiación UV, niveles de ozono, contaminación del agua e incluso se ha empleado para monitorear el suministro de sustancias antioxidantes como la vitamina E y vitamina C, así como la modificación del daño oxidativo en algunos padecimientos crónico-degenerativos. En algunos estudios se ha empleado como marcador de daño oxidativo, en los cuales se ha detectado estrés oxidativo en recién nacidos con peso bajo y también en desordenes hematológicos como en los casos de linfoma, leucemia y síndrome mielodisplásico.<sup>92-94, 97, 98</sup>

### 3.6 SISTEMA ANTIOXIDANTE Y REPARACIÓN DEL ADN.

Las células poseen diversos mecanismos de protección, en los que por medio de reacciones enzimáticas y no enzimáticas capturan, previenen la formación de RL, inhibe su propagación y repara el daño producido por estos. Esta respuesta antioxidante, esta dada por un sistema compuesto por tres mecanismos de defensa que el organismo ha desarrollado para combatir el efecto de los radicales libres.<sup>61, 99-101</sup>

El mecanismo de acción de estas sustancias antioxidantes, se basa en el hecho de que poseen electrones que son cedidos a la molécula oxidante, con la finalidad de completar la falta de un electrón en su orbital externo, transformando así la molécula oxidante en una molécula estable e inofensiva para la célula.<sup>64</sup>

Para llegar a comprender como esta conformado el sistema antioxidante y como actúan estos tres niveles de defensa, es preciso definir un antioxidante. Antioxidante es *“toda aquella sustancia, la cual se encuentra presente en concentraciones bajas en comparación con los sustratos oxidables, que tendrá como efecto el retardar o prevenir significativamente la oxidación de dichos sustratos”*. Es decir son sustancias que emplea la célula para protegerse de la acción de los radicales libres, transformándolos en productos menos tóxicos o no tóxicos.<sup>61, 102,103</sup>

El sistema antioxidante es uno de los moduladores de la homeostasis fundamental para el organismo y esta compuesto por tres mecanismos principales de defensa que son:

- Antioxidantes primarios.-neutralizan radicales libres o limitan su actividad dando origen a moléculas menos dañinas y esta conformado por:
  - Superóxido dismutasa. (SOD)
  - Glutación peroxidasa y glutación reductasa. (GSH-Px)
  - Catalasa.
  - Proteínas de unión a metales: transferrina y ceruloplasmina.<sup>54, 63</sup>
  
- Antioxidantes secundarios.- capturan radicales libres con lo que evitan las reacciones en cadena entre los que encontramos compuestos como:
  - $\beta$ -carotenos (Vitamina A)
  - $\alpha$ -tocoferol (vitamina E)
  - Ácido ascórbico (vitamina C)
  - Albúmina
  - Glutación
  - Ácido úrico
  - Bilirrubina
  - Melatonina
  - Flavonoides<sup>54,104,105</sup>
  
- Antioxidantes terciarios.- degradan, reparan o remplazan las biomoléculas dañadas formado por:
  - Enzimas reparadoras de lípidos
  - Enzimas reparadoras de proteínas
  - Enzimas reparadoras de ADN.<sup>9</sup>

La reparación de la molécula del ADN es una de las más importantes y complejas esta es realizada por enzimas específicas para cada tipo de base dañada, esta reparación es realizada por tres principales grupos de enzimas que son:

- Exo y endonucleasas: Se encargan de eliminar los segmentos del ADN que han sido dañados.
- Ligasas: Unen los extremos de la cadena cuando ya ha sido corregido el daño.
- Glicosilasas y polimerasas: Su función es rellenar los huecos dejados por las exo y endonucleasas.

Estos tres grupos de enzimas conforman la llamada vía de reparación de escisión de bases. Esta vía inicia la reparación por medio de una N-ADN glicosilasa, que rompe el enlace N-glicosilico entre la base dañada y la desoxirribosa, formando así un sitio abásico (AP apurinico/apirimidimico), que al no ser informativo debe ser eliminado, de esta manera, el esqueleto del ADN próximo al sitio AB es escindido por una AP-endonucleasa, que rompe en el carbón 3' del sitio AB y al mismo tiempo remueve los fragmentos del azúcar generados durante la ruptura de la hebra ya que posee una actividad nucleolítica de 3' y 5'. A estas nucleasas que intervienen en la reparación del ADN también se les conoce como redoxiendonucleasas.<sup>106</sup>

Como ultimo mecanismo de reparación se realiza la unión de los fragmentos reparados con el resto del esqueleto del ADN por medio de una AP-liasa. Otro grupo de enzimas que desempeñan un papel importante en la reparación de los patrones de metilación del ADN es el de las ADN-metilasas, puesto que uno de los procesos que produce daño oxidativo es el de la desmetilación.<sup>74, 106, 107</sup>

Sin embargo este sistema reparador no es perfecto y aun cuando resulta efectivo en un 99% de las veces, el 1 % restante se acumula en el organismo confirmando a las células características de haber envejecido y contribuyendo a la aparición de procesos crónico-degenerativos.<sup>1</sup>

#### 4. PROBLEMA

La contaminación ambiental y el estrés psicológico propiciado por el urbanismo son causantes de un gran número de alteraciones bioquímicas que afectan la integridad celular, por la elevada producción de RL que generan y su consecuente asociación a padecimientos crónico-degenerativos.

Al respecto la disminución significativa en los niveles de antioxidantes séricos asociados con el urbanismo, son factores determinantes para la presencia de cambios fisiológicos que propician la ineficiente capacidad de reparación del ADN. En este sentido, la técnica de electroforesis unicelular alcalina ha sido empleada en diversos estudios que evalúan el daño al ADN y su capacidad de reparación, tanto en poblaciones sanas como afectadas con padecimientos crónico-degenerativos. Sin embargo en los estudios que relacionan el daño al ADN en poblaciones de diferentes zonas geográficas han reportado resultados inconsistentes y contradictorios, incluso algunos de estos estudios reportan que la exposición al aire contaminado no muestra incrementos detectables de daño al material genético. Por lo anterior nos formulamos las siguientes preguntas de investigación:

¿Existen diferencias estadísticamente significativas en la frecuencia, porcentaje, magnitud y grado de daño oxidativo al ADN en adultos mayores con residencia en el área urbana, sub-urbana y rural?

¿Cuál es la diferencia en la cinética de reparación del ADN de linfocitos expuestos a daño oxidativo de los adultos mayores de cada lugar de residencia?

## 5. HIPÓTESIS

Tomando en cuenta las evidencias científicas que muestran la influencia del lugar de residencia sobre el daño oxidativo a la molécula de ADN en los adultos mayores, suponemos que se observará una frecuencia, magnitud y grado de daño oxidativo al ADN, significativamente mayor en los adultos mayores del área urbana, con respecto a los del área sub-urbana y rural.

Considerando que el urbanismo propicia EOx crónico con daño al ADN que requiere mecanismos de reparación frecuentes, suponemos que los adultos mayores del área urbana tendrán una capacidad de reparación disminuida con respecto a la de las otras dos áreas.

## 6. OBJETIVOS.

### 6.1 OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el daño oxidativo al ADN en adultos mayores, mediante la técnica de electroforesis unicelular alcalina (ensayo cometa) con respecto al lugar de residencia, así como el efecto de esta sobre la capacidad de reparación en linfocitos expuestos a peróxido de hidrógeno.

### 6.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Determinar la frecuencia, la magnitud y el grado de daño oxidativo al ADN en adultos mayores residentes del área urbana vs. Sub-urbana y rural.

Evaluar la capacidad de reparación del ADN, al exponer los linfocitos de los adultos mayores de cada lugar de residencia, al daño oxidativo inducido por peróxido de hidrógeno.

## 7. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1. POBLACIÓN Y DISEÑO

Se realizó un estudio observacional, transversal y comparativo en una población de 112 adultos mayores, 31 del área rural de Actopan, Hidalgo, 35 del área sub-urbana de Los Reyes, Estado de México y 46 del área urbana de la ciudad de México.

Los sujetos fueron seleccionados conforme a los siguientes criterios de inclusión:

#### Grupo 1 (adultos mayores del área urbana)

- Sujetos mayores de 60 años.
- Residentes de la ciudad de México.
- Sin distinción de sexo.
- Negativos a la ingesta de antioxidantes exógenos.
- Clínicamente sanos desde el punto de vista gerontológico

#### Grupo 2 (adultos mayores del área sub-urbana)

- Sujetos mayores de 60 años.
- Residentes de Los Reyes, Estado de México.
- Sin distinción de sexo.
- Negativos a la ingesta de antioxidantes exógenos.
- Clínicamente sanos desde el punto de vista gerontológico

#### Grupo 3 (adultos mayores del área rural)

- Sujetos mayores de 60 años.
- Residentes del municipio de Actopan, Hidalgo.
- Sin distinción de sexo.
- Negativos a la ingesta de antioxidantes exógenos.
- Clínicamente sanos desde el punto de vista gerontológico.



## 7.2 VARIABLES

### 7.2.1 Independiente

➤ Lugar de residencia: conjunto de factores físicos, químicos, biológicos y psicológicos que determinan el ambiente donde puede vivir una determinada población.

- Urbana: lugar o ciudad con un número de habitantes, entre 2.000 y 3.000
- Sub-urbana: lugar aledaño a una zona urbana, con costumbres e infraestructura parcialmente similar a la rural.
- Rural: lugar con una amplia actividad agropecuaria.

### 7.2.2 Dependiente

➤ Daño al ADN: Ruptura de cadena doble y/o sencilla del ADN de linfocitos. Cantidad de ADN roto que forma la cola del cometa (estela).

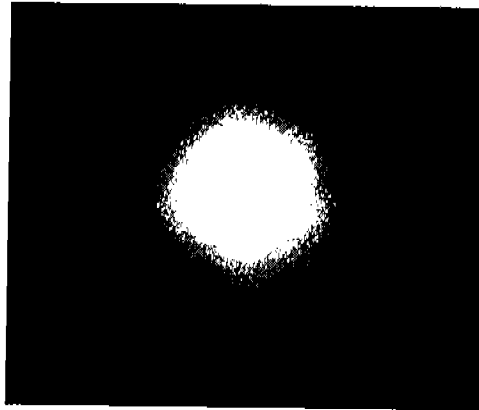
- Porcentaje de células con daño.
- Grado de daño al ADN se emplearon los criterios de Anderson (1994) y la variable se reagrupó de la siguiente manera:

- Sin daño < 5%	}	$5 \leq 40\%$
- Daño bajo 5-20%		
- Daño medio 21-40%		
- Daño alto 41-95%	}	$>40\%$
- Daño total >96%		

Las siguientes fotografías ilustran los criterios de Anderson 1994.

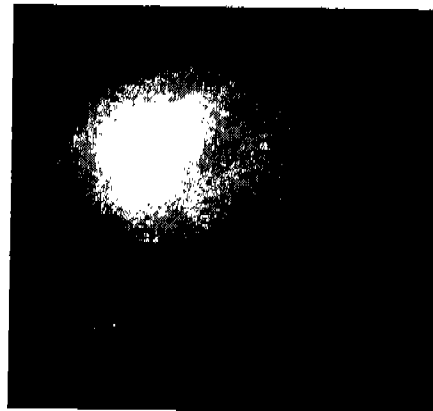
La fotografía 7.2.2.1 muestra el núcleo de un linfocito normal es decir sin daño o con una estela menor al 5% del diámetro del núcleo que en este caso es de  $16\mu\text{m}$  y no presenta estela alguna.

**Fotografía 7.2.2.1** Linfocito sin daño (célula normal)



La fotografía 7.2.2.2 muestra un linfocito con daño bajo es decir la estela mide entre 5 y 20% que tomando en cuenta el tamaño del núcleo y la estela presenta una longitud total de  $20.5\mu\text{m}$

**Fotografía 7.2.2.2** Linfocito con daño al ADN (daño bajo)



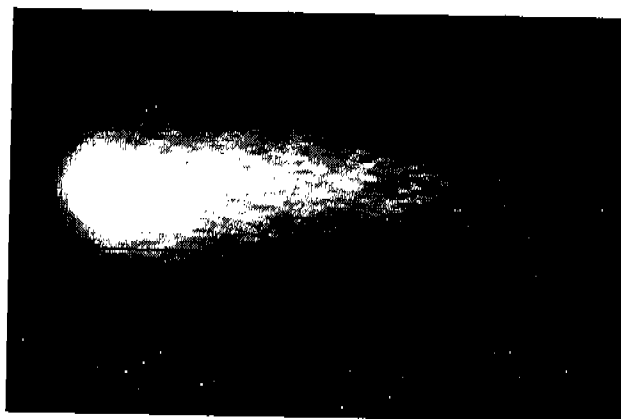
La fotografía 7.2.2.3 muestra un linfocito con daño medio es decir la estela mide entre 21 y 40% que tomando en cuenta el tamaño del núcleo y la estela presenta una longitud total de 23.5 $\mu$ m.

**Fotografía 7.2.2.3** Linfocito con daño al ADN (daño medio)



La fotografía 7.2.2.4 muestra un linfocito con daño alto es decir la estela mide entre 41 y 95% que tomando en cuenta el tamaño del núcleo y la estela presenta una longitud total de 32.7 $\mu$ m.

**Fotografía 7.2.2.4** Linfocito con daño al ADN (daño alto)

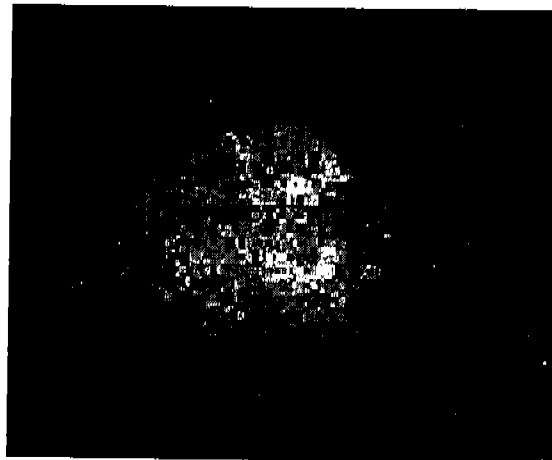


La fotografía 7.2.2.5 muestra un linfocito con daño total, es decir la estela mide más del 95% que tomando en cuenta el tamaño del núcleo y la estela presenta una longitud total de 65 $\mu$ m.



**Fotografía 7.2.2.5** Linfocito con daño al ADN (daño total)

La fotografía 7.2.2.6 muestra otro tipo de daño total también conocido como nube debido a que no es posible diferenciar un núcleo puesto que todo el material genético se encuentra fragmentado y disperso por lo que aun cuando el diámetro que abarca en la mayoría de los casos no es mayor de la longitud establecida para mas del 95% se considera como daño de más del 95%.



**Fotografía 7.2.2.6** Linfocito con daño total al ADN (Nube)

- Magnitud de daño al ADN la variable se agrupó en dos categorías:
  - De 1 – 5 células con daño al ADN
  - De 6 a más células con daño al ADN
- Capacidad de reparación de linfocitos: Cantidad de ADN roto que se repara al minuto cero, treinta y sesenta después de haber inducido daño con peróxido de hidrógeno.
  - Porcentaje, grado y magnitud de daño al ADN evaluados al minuto cero, treinta y sesenta después de haber inducido daño con peróxido de hidrógeno acorde a los criterios de Anderson (1994).

### 7.3 TÉCNICAS

Se tomaron muestras sanguíneas por venopunción en tubos de vacío sistema Vacutainer. Se utilizó heparina como anticoagulante, las muestras se tomaron entre las 7am y las 9 AM con un ayuno previo de por lo menos 8 horas.

#### 7.3.1 Daño al ADN

La técnica de electroforesis unicelular alcalina o ensayo cometa se realizó acorde a Singh (1988).

Se prepararon laminillas en portaobjetos esmerilados nuevos y limpios a los cuales se les adicionó una capa de aproximadamente 120 $\mu$ L de agarosa regular (0.75% disuelta en PBS libre de Ca<sup>+2</sup> y Mg<sup>+2</sup>) cuando la agarosa solidifica se marcan con un lápiz duro. A continuación 10 $\mu$ L de cada muestra de sangre se mezcló con 75 $\mu$ L de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% disuelta en PBS libre de Ca<sup>+2</sup> y Mg<sup>+2</sup>) y se colocó sobre el portaobjetos preparado y marcado, una vez solidificada la mezcla se agregó una tercera capa de 75 $\mu$ L de agarosa de bajo punto de fusión. Finalmente las laminillas se sumergieron en solución fresca de lisis fría (1% lauril sarcosianato de Na, 2.5M NaCl, 10mM Na<sub>2</sub> EDTA, 10Mm Tris-HCl pH 10, 1% tritón y 10% DMSO) y se colocaron a 4°C por lo menos una hora.

Posteriormente las laminillas se colocaron en una cámara de electroforesis, la cual contenía un amortiguador pH 13 (1mM Na<sub>2</sub> EDTA, 300mM NaOH) que cubría totalmente las laminillas permitiendo que el ADN se desenrollara por 20 minutos, después se ajustó la fuente de poder a 25 volts y 300 miliampers para efectuar la electroforesis por 20 minutos (es importante señalar que los pasos anteriores se realizaron protegidos de la luz). Una vez apagada la fuente de poder se retiró cuidadosamente las laminillas de la cámara de electroforesis y se lavaron tres veces con amortiguador de neutralización (0.4 M Tris-HCl, pH 7.5) durante 5 minutos. Posteriormente se sumergieron 5 minutos en MeOH para desecar.

Se escurrieron las laminillas del exceso de MeOH, una vez evaporado se guardaron en cajas para portaobjetos en un lugar oscuro y fresco. Para su observación al microscopio de fluorescencia se tiñeron con 50µL de bromuro de etidio 1x (1mL de "Stock" 10x [1mg/10mL] con 9mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) cubriendo cuidadosamente con un cubreobjeto.

Las laminillas se observaron al microscopio de fluorescencia con un filtro de excitación de 515-560nm utilizando un aumento de 40x. Finalmente con un ocular graduado y calibrado, se midió el diámetro del núcleo y la longitud de la estela del cometa de 100 células.

### **7.3.2 Cinética de reparación**

Se prepararon laminillas en portaobjetos esmerilados nuevos y limpios de igual forma que para la técnica de ensayo cometa. Se colocó una alícuota de 20µL de sangre, 90µL de medio de cultivo RPMI y L-glutamina y 50µL de solución Stock (0.1mL H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> y 0.9mL de medio de cultivo RPMI y L-glutamina). Se dejaron reposar las mezclas durante 20 minutos en agua fría en oscuridad, pasado el tiempo se centrifugaron las muestras a 3000rpm/3minutos y se desechó el sobrenadante.

A las muestras de tiempo cero de inmediato se les agregaron 150 $\mu$ L de agarosa de bajo punto de fusión (0.5% disuelta en PBS libre de Ca<sup>+2</sup> y Mg<sup>+2</sup>) y se colocó una alícuota de 75 $\mu$ L de esta mezcla sobre el portaobjetos preparado y marcado, una vez solidificada la mezcla se agregó una tercera capa de 75 $\mu$ L de agarosa de bajo punto de fusión. Finalmente las laminillas se sumergieron en solución fresca de lisis fría y se colocaron a 4°C por lo menos una hora.

A las muestras de los tiempos treinta y sesenta se les agregaron 200 $\mu$ L de medio de cultivo RPMI y L-glutamina, se resuspendieron las muestras y se incubaron en baño metabólico a 37°C.

A cada tiempo concluido se centrifugaron las muestras a 3000rpm/3minutos, se desechó el sobrenadante y se agregaron 150 $\mu$ L agarosa de bajo punto de fusión y se colocó una alícuota de 75 $\mu$ L de esta mezcla sobre el portaobjetos preparado y marcado, una vez solidificada la mezcla se agregó una tercera capa de 75 $\mu$ L de agarosa de bajo punto de fusión.

Finalmente las laminillas se sumergieron en solución fresca de lisis fría con las mismas condiciones empleadas en la técnica de ensayo cometa.

Posteriormente las laminillas se sometieron a electroforesis, se realizaron los lavados, desecado, almacenamiento, tinción, observación y lectura bajo las mismas condiciones empleadas en la técnica de ensayo cometa.

En ambas técnicas los resultados se analizaron analizando tomando en cuenta el tamaño de las estelas de los cometas y el tamaño de los núcleos.

#### **7.4 DISEÑO ESTADÍSTICO**

Los datos fueron analizados a través de las pruebas  $\chi^2$ , t de Student al 95%, ANOVA pos hoc Dunnett y asumiendo una significancia estadística de  $p < 0.05$ , para tal efecto se empleó el paquete estadístico SPSS 11.0.

## 8. RESULTADOS

### 8.1 DAÑO AL ADN EN ADULTOS MAYORES CON RELACIÓN AL LUGAR DE RESIDENCIA.

#### 8.1.1 Frecuencia de daño al ADN

El 76% de los adultos mayores del área urbana, 63% del área sub-urbana y el 68% del área rural presentaron daño al ADN (tabla 8.1.1.1).

#### 8.1.2. Media de migración del ADN.

Al comparar los promedios totales de migración de las estelas del cometa, considerando el núcleo, de los tres grupos se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los AM del área rural  $41.4 \pm 22.25 \mu\text{m}$  con respecto a los del área urbana  $30.5 \pm 13.22 \mu\text{m}$  y sub-urbana  $29.5 \pm 13.22 \mu\text{m}$ . ( $p < 0.05$ ) (Tabla 8.1.2.1).

#### 8.1.3. Magnitud de células dañadas.

De los 21 AM con daño al ADN del área rural, el 64.5% presentaron de 1 a 5 células con daño en comparación con el 28.5% para el área sub-urbana y el 32.6% para el área urbana. Para más de 6 células con daño, los del área rural mostraron un 3.3%, para el área sub-urbana un 34.3% y un 30.43% para el área urbana ( $p < 0.05$ ) (Tabla 8.1.3.1).

#### 8.1.4. Grado de daño al ADN.

En relación con el grado de daño al ADN, observamos que para más de 40%, los del área rural presentaron un 64.5% de daño al ADN, en el área sub-urbana 54.3% y en el área urbana 56.5% al relacionar rural con las otras dos ( $p < 0.05$ ) (Tabla 8.1.4.1).



## 8.2 CINÉTICA DE REPARACIÓN

### 8.2.1. Media de migración en la cinética de reparación por área

Al comparar los promedios de migración en la cinética de reparación del área rural se observó diferencia estadísticamente significativa entre la media del tiempo cero  $47.4 \pm 6.2$ , con respecto al tiempo sesenta  $43.13 \pm 5.5$  y entre el tiempo treinta  $48.0 \pm 8.6$ , con respecto al tiempo sesenta  $43.13 \pm 5.5$  ( $p < 0.05$ )

Los promedios de migración en la cinética de reparación del área sub-urbana se observó diferencia estadísticamente significativa entre la media del tiempo cero  $45.7 \pm 6$ , con respecto al tiempo treinta  $41.8 \pm 4.2$  y entre el tiempo cero  $48.0 \pm 8.6$ , con respecto al tiempo sesenta  $40.0 \pm 6.4$  ( $p < 0.05$ )

En el área urbana se observó diferencia estadísticamente significativa entre la media del tiempo cero  $43.7 \pm 6.5$ , con respecto al tiempo treinta  $42.2 \pm 4.0$  y entre el tiempo cero  $43.7 \pm 6.5$ , con respecto al tiempo sesenta  $40.0 \pm 5.8$  ( $p < 0.05$ ) (Tabla 8.2.1.1).

### 8.2.2. Cinética de reparación de ADN para el área rural

Se observó al tiempo cero que el porcentaje de células sin daño era de 34.7%. De las células dañadas el 21.5% correspondía al daño bajo, el 11.7% al daño medio, el 8.0% a daño alto y el 24% al daño total.

En el tiempo treinta el porcentaje de células sin daño aumentó en un porcentaje mínimo de 39.0%. De las células dañadas se observó que el 19.0% correspondía al daño bajo y el 22% al daño total, el daño medio y alto no sufrieron cambios importantes.

Al tiempo sesenta el porcentaje de células sin daño alcanzó el 79.3%. De las células dañadas se observó que el 8.5% correspondía al daño bajo y el 11.0% al daño

total, las células con daño medio y alto casi desaparecen al presentar valores menores al 1%.(Grafica 8.2.2.1)

### **8.2.3 Cinética de reparación de ADN para el área sub-urbana.**

Se observó al tiempo cero que el porcentaje de células sin daño era de 25.0%. De las células dañadas el 29.0% correspondía al daño bajo, el 11.5% al daño medio, el 5.0% a daño alto y el 29.5% al daño total.

En el tiempo treinta el porcentaje de células sin daño aumentó considerablemente hasta un 48%. De las células dañadas el 20.7% correspondía al daño bajo y el 21.0% al daño total, el daño medio y alto disminuyeron a 7.0% y 3.4%.

Al tiempo sesenta el porcentaje de células sin daño alcanzó el 67%. De las células dañadas se observó que el 11.6% correspondía al daño bajo y el 15.0% al daño total, el daño medio y alto juntas no superaron el 7%.(Grafica 8.2.3.1)

### **8.2.4 Cinética de reparación de ADN para el área urbana.**

Se observó al tiempo cero el porcentaje de células sin daño era de 39.0%. De las células dañadas el 17.1% correspondía al daño bajo y el 31.6% al daño total, el 8.0% al daño medio, el 4.4% a daño alto.

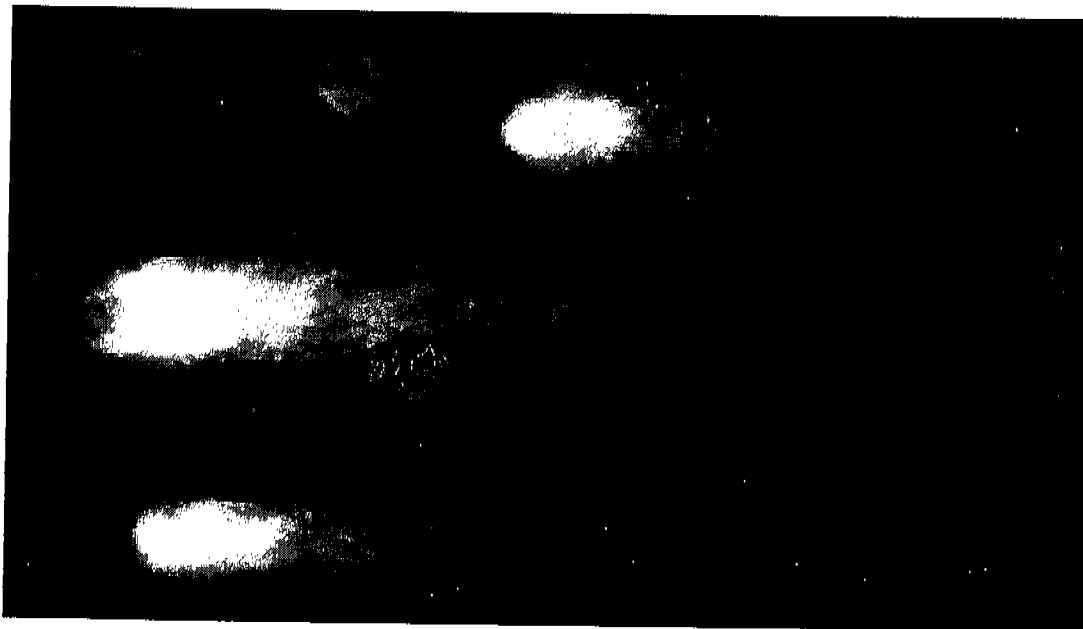
En el tiempo treinta el porcentaje de células sin daño aumentó considerablemente hasta un 63.0%. De las células dañadas el 12.5% correspondía al daño bajo y el 17.5% al daño total, el daño medio y alto disminuyeron a la mitad sus porcentajes iniciales.

Al tiempo sesenta el porcentaje de células sin daño alcanzó el 78.5%. De las células dañadas el 8.5% correspondía al daño bajo y el 9.3% al daño total, el daño

medio y alto disminuyeron a la mitad de los porcentajes del tiempo treinta. (Grafica 8.2.4.1)

Es importante resaltar que en la población rural aun cuando el porcentaje de células con daño por individuo fue ampliamente mayor en la categoría de 1-5 células se observó mayor número de células con daño alto y total sin embargo estas células con daño total en su mayoría fueron cometas bien definidos y no nubes como en las otras poblaciones motivo por el cual el valor medio de migración presento un valor superior y estadísticamente significativo con respecto a las otras poblaciones.

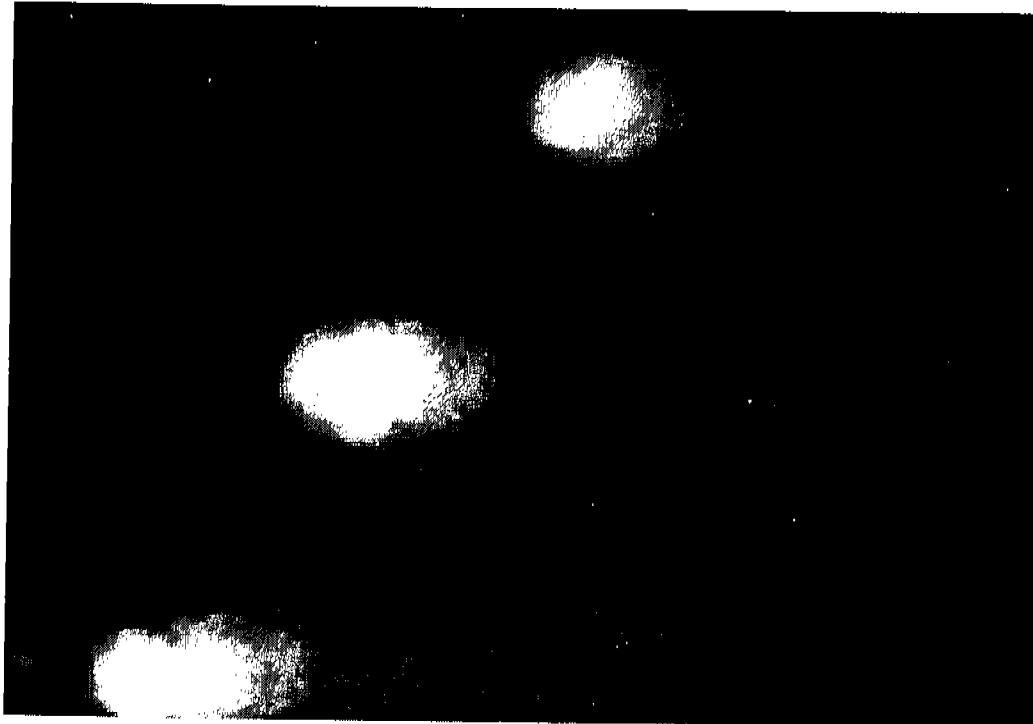
(Fotografía 8.2.1.1)



**Fotografía 8.2.1.1** Muestra la distribución característica presentada en el área rural donde podemos observar tres cometas con estelas particularmente largas características de esta población los cometas marcados con las letras **a** y **c** se encuentran en la clasificación de células con daño alto mientras que el cometa marcado con la letra **b** en la parte central posee una longitud que sobrepasa el 95% de daño por lo que es clasificado como daño total.

En contraste tanto en el área urbana como sub-urbana observamos que el porcentaje de células con daño por individuo se distribuyo, casi de manera equitativa en

las categorías de 1-5 células, de 6 a más e incluso en células sin daño, aunado a esto se observó mayor porcentaje de células con daño alto, porcentaje seguido por células sin daño y por ultimo con daño medio y bajo motivo por el cual el valor medio de migración de ambas poblaciones fue similar entre si y además fue menor de manera estadísticamente significativa con respecto al área rural. (Fotografía 8.2.1.2)



**Fotografía 8.2.1.2** Muestra la distribución característica presentada tanto en el área urbana como sub-urbana donde podemos observar tres cometas con diferente longitud de estelas el marcado con la letra **d** presenta una estela muy pequeña por lo que se le considera como una célula sin daño, el cometa marcado con la letra **e** presenta una estela de mayor longitud que pertenece la daño bajo y con la letra **f** podemos observar una célula con daño total.

Tabla 8.1.1.1 FRECUENCIA DE DAÑO AL ADN CON RELACIÓN AL LUGAR DE RESIDENCIA.

Lugar de residencia	Adultos mayores con daño al ADN		
	Positivo(%)	Negativo(%)	Total (%)
Rural	21(68)	10(32)	31(100)
Sub-urbana	22(63)	13(37)	35(100)
Urbana	29(76)	17(24)	46(100)

$\chi^2$  al 95%

Rural vs. Urbana  $p=0.430$

Rural vs. Sub-urbana  $p=0.438$

Urbana vs. Sub-urbana  $p= 0.580$

Tabla 8.1.2.1 MEDIA DE MIGRACIÓN DEL ADN CON RELACIÓN AL LUGAR DE RESIDENCIA.

Migración ( $\mu\text{m}$ )	Lugar de residencia		
	Rural	Sub-Urbana	Urbana
Migración total	41.4 $\pm$ 22.25	29.5 $\pm$ 13.22	30.5 $\pm$ 13.22

**ANOVA pos hoc Dunnett**

Rural vs. Urbana  $p=0.009$

Rural vs. Sub-Urbana  $p=0.007$

Urbana vs. Sub-urbana  $p>0.05$

Tabla 8.1.3.1 MAGNITUD DE CÉLULAS DAÑADAS CON RELACIÓN AL LUGAR DE RESIDENCIA.

Lugar de residencia	Magnitud de daño al ADN (%)			
	Células sin daño	1-5 células	6 y más células	Total
Rural	10(32.2)	20(64.5)	1(3.3)*	31(100)
Sub-Urbana	13(37.2)	10(28.5)	12(34.3)	35(100)
Urbana	17(36.9)	15(32.6)	14(30.4)	46(100)

X<sup>2</sup> al 95%

\*Rural vs. Urbana p=0.0009

\*Rural vs. Sub-Urbana p=0.0004

Urbana vs. Sub-urbana p>0.05

Tabla 8.1.4.1 GRADO DE DAÑO AL ADN CON RELACIÓN AL LUGAR DE RESIDENCIA.

Lugar de residencia	Grado de daño al ADN (%)			Total
	Sin daño	5 ≤ 40 %	> 40%	
Rural	10(32.2)	1(3.2)	20(64.5)*	31(100)
Sub-Urbana	13(37.1)	3(8.6)	19(54.3)	35(100)
Urbana	17(37.0)	3(6.5)	26(56.5)	46(100)

X<sup>2</sup> al 95%

\*Rural vs. Urbana p=0.47

\*Rural vs. Sub-Urbana p=0.030

Urbana vs. Sub-urbana p=0.031



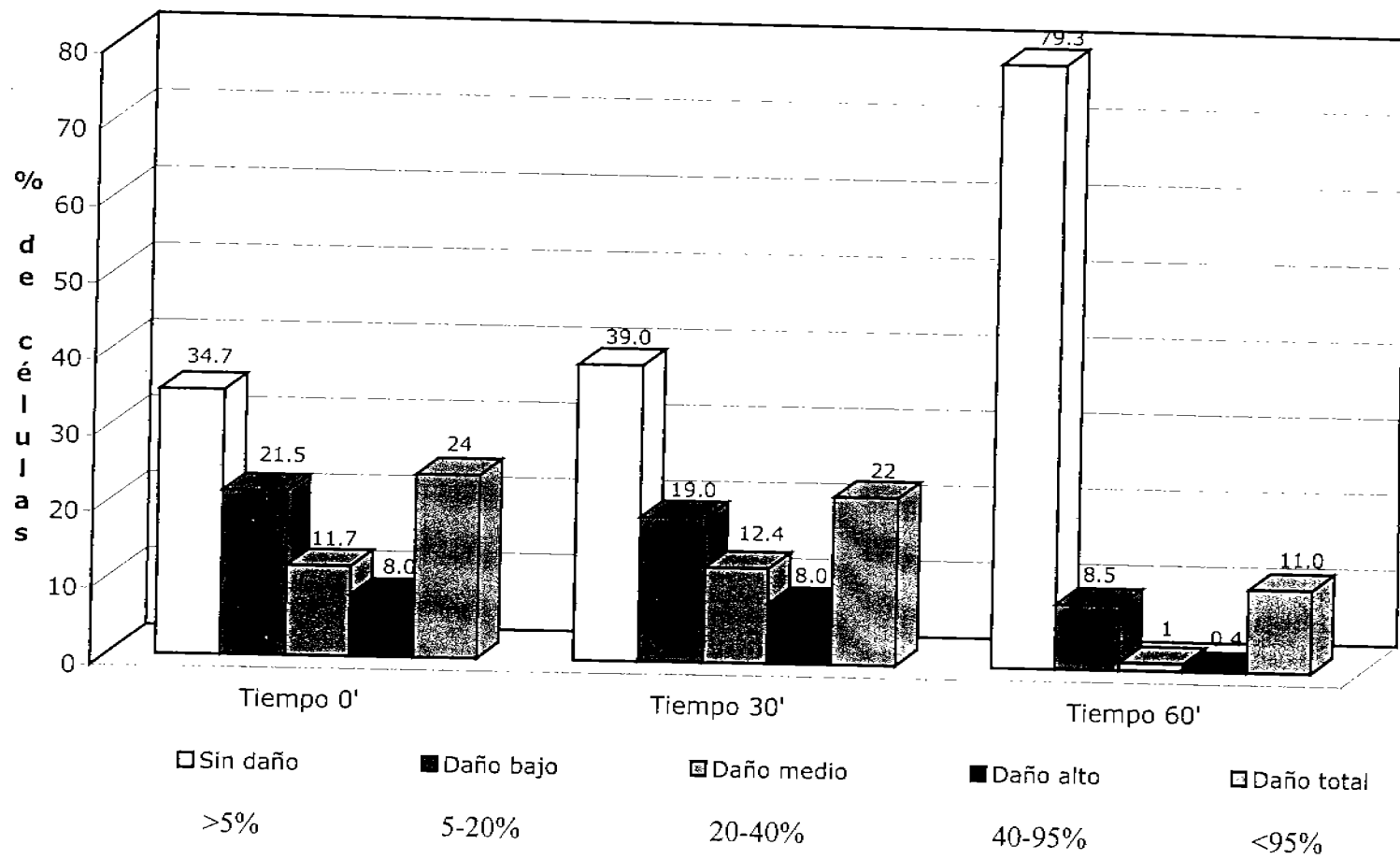
Tabla 8.2.1.1 PROMEDIOS DE MIGRACIÓN EN LOS TIEMPOS CERO, TREINTA Y SESENTA DE LA CINÉTICA DE REPARACIÓN DEL ADN CON RELACIÓN AL LUGAR DE RESIDENCIA.

Migración ( $\mu\text{m}$ )	Lugar de residencia		
	Rural	Sub-Urbana	Urbana
Tiempo cero	47.4 $\pm$ 6.2	45.7 $\pm$ 6	43.7 $\pm$ 6.5
Tiempo treinta	48.0 $\pm$ 8.6	41.8 $\pm$ 4.2	42.2 $\pm$ 4.0
Tiempo sesenta	43.13 $\pm$ 5.5	40.0 $\pm$ 6.4	40.0 $\pm$ 5.8

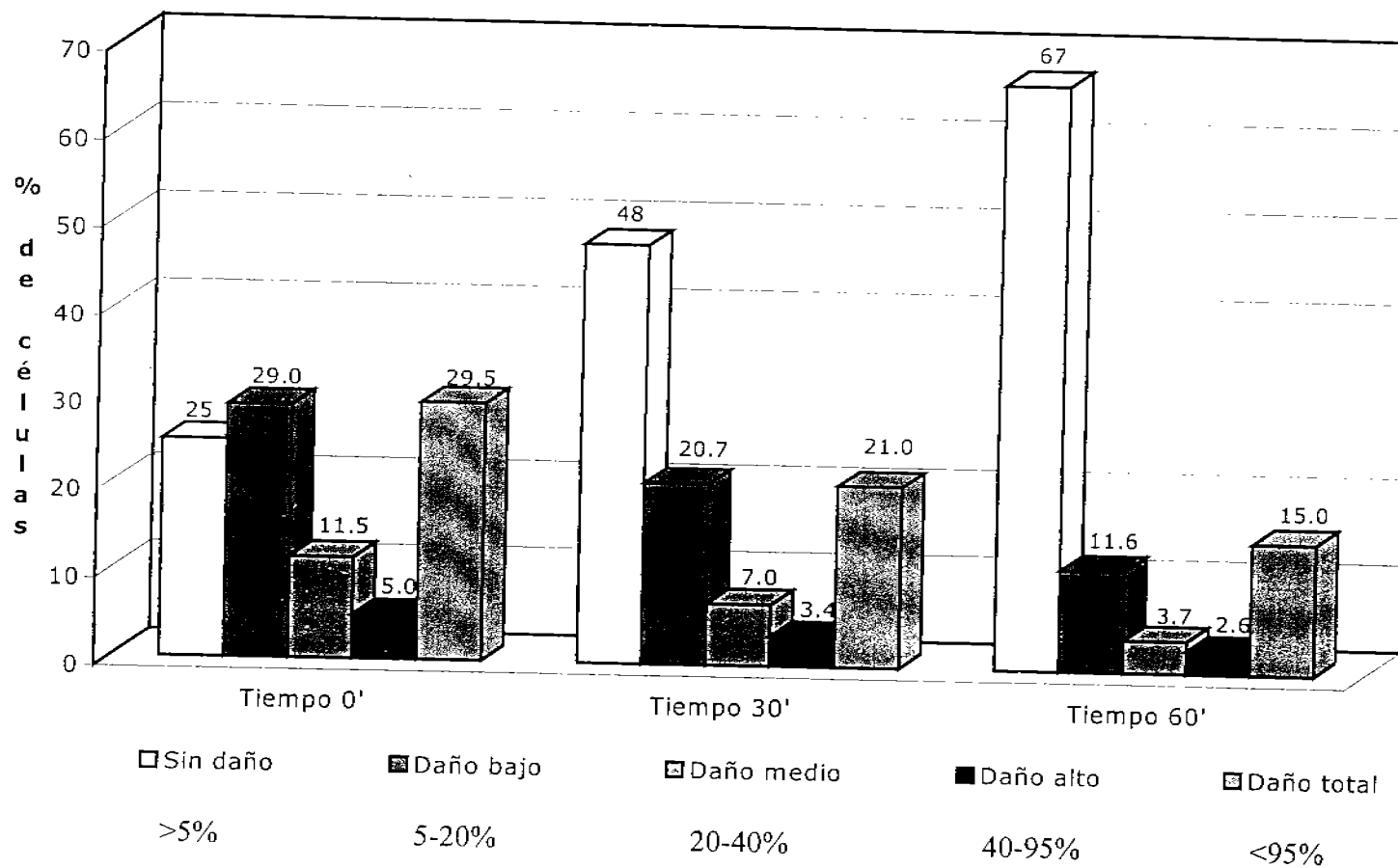
**ANOVA pos hoc Dunnett**

Rural	Cero vs. sesenta p=0.043 Treinta vs. sesenta p=0.017
Sub-urbana	Cero vs. treinta p=0.012 Cero vs. sesenta p=0.0001
Urbana	Cero vs. sesenta p=0.011

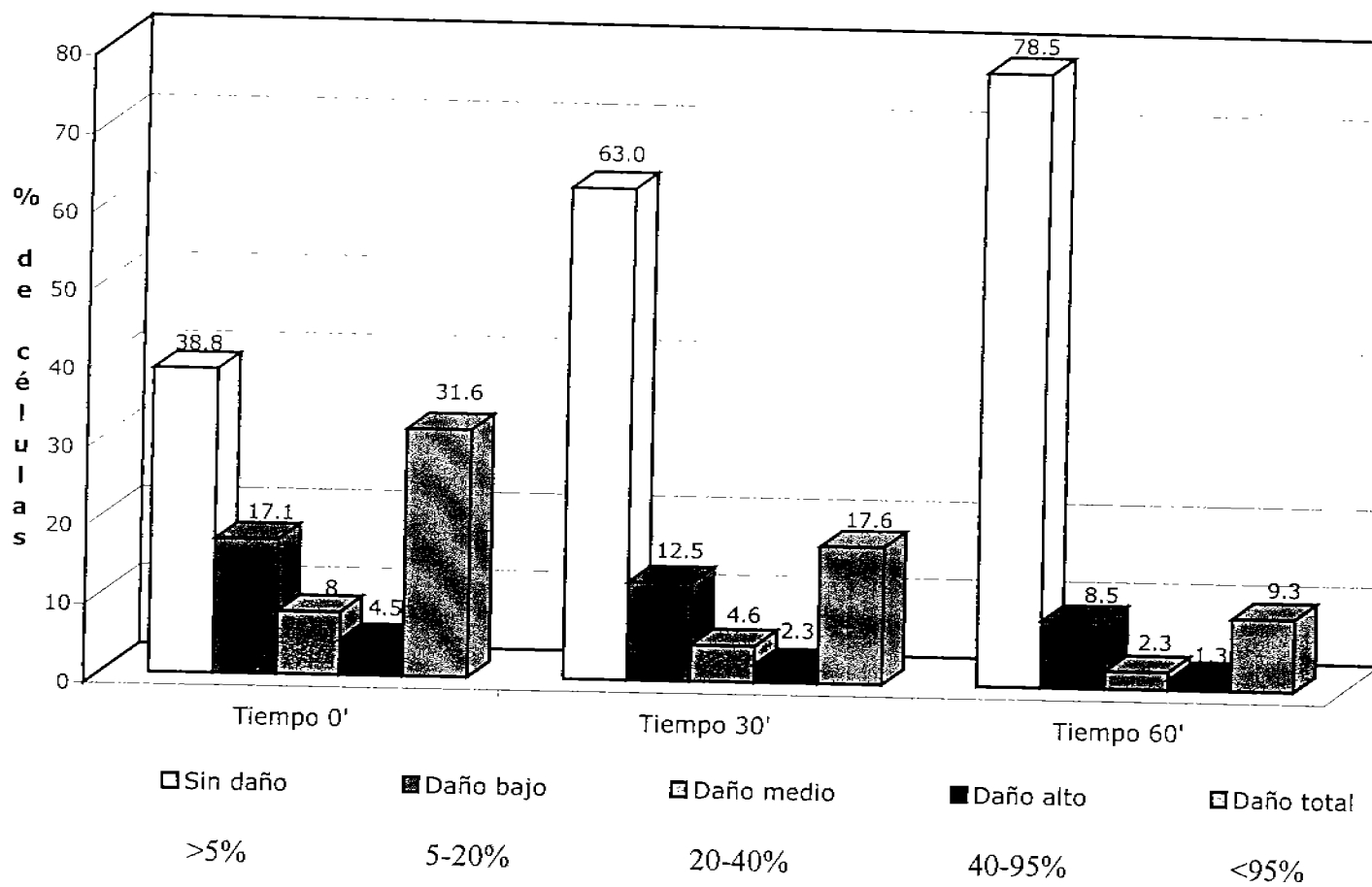
Grafica 8.2.2.1 CINÉTICA DE REPARACIÓN DE ADN PARA EL ÁREA RURAL.



Grafica 8.2.3.1 CINÉTICA DE REPARACIÓN DE ADN PARA EL ÁREA SUB-URBANA.



Grafica 8.2.4.1 CINÉTICA DE REPARACIÓN DE ADN PARA EL ÁREA URBANA



## 9. DISCUSIÓN

El urbanismo exige adaptaciones biológicas frecuentes dentro del organismo, generando carga alostática de ahí que se haya asociado a un gran número de padecimientos que van desde ronquera, náuseas, congestión pulmonar, irritación en las vías respiratorias, gripe, influenza hasta padecimientos más dañinos como la silicosis, asbestosis, procesos inflamatorios crónicos, el asma y diversos tipos de cáncer (de traquea, bronquios y pulmonar).<sup>22, 23, 29, 30,108-111</sup>

Así mismo se ha observado que los contaminantes ambientales presentes agravan enfermedades respiratorias y cardiovasculares ya que debilitan el sistema inmunológico, limitando el transporte de oxígeno al dañar los glóbulos rojos e incluso se ha observado que algunos compuestos que conforman las partículas suspendidas aumentan la producción de anticuerpos.<sup>24, 109</sup>

Por otro lado, durante el proceso normal de envejecimiento existe un aumento en la acumulación de RL al mismo tiempo que disminuye la respuesta de las enzimas antioxidantes como la SOD y GPx, cuyas características se ven alteradas por la exposición crónica de contaminantes lo cual se traduce como un envejecimiento acelerado de las células. En este sentido, el EOx esta vinculado con la fisiopatología de padecimientos crónico-degenerativos como diabetes mellitus, cáncer, artritis reumatoide, hipertensión arterial, así como la enfermedad de Alzheimer y el mal de Parkinson.<sup>18, 112-114</sup>

Se ha demostrado que la evaluación del daño oxidativo al ADN y la capacidad de reparación conforman un buen marcador biológico del EOx y del sistema antioxidante encargado de la reparación de las biomoléculas, por lo que podrían ser considerados como buenos indicadores de fragilidad en los adultos mayores, así como para detectar el daño producido por contaminantes.<sup>107-116</sup>

Al respecto se ha demostrado *in vitro* que la exposición a factores contaminantes (ozono, partículas suspendidas) aumenta el daño al ADN en linfocitos siendo las EROs, metales pesados y partículas orgánicas las principales fuentes de RL, no obstante los resultados reportados en la literatura científica no son del todo consistentes, ya que se ha señalado que la exposición a factores pro-oxidantes como el aire contaminado no muestra un incremento detectable de daño al material genético de las células sanguíneas y atribuyen este a otros factores que involucran el estilo de vida (Carere 2002),<sup>90</sup> lo cual no puede generalizarse ya que todas las áreas urbanas presentan distinto grado de contaminación y tipo de contaminantes, incluso estudios realizados en diferentes zonas dentro del área urbana muestran diferencias significativas en el grado de daño celular (Alfaro 2002; Mendoza 1999).<sup>46,117</sup>

En estudios realizados en poblaciones expuestas a niveles altos de ozono y partículas suspendidas se ha observado un aumento en el número de aberraciones cromosómicas, inducción de intercambio de cromátidas hermanas, acumulación de aductos de ADN y rompimientos de cadena doble y sencilla. Al igual que se han propuesto diversos mecanismos de inducción de daño al material genético por la generación directa e indirecta de RL al metabolizar los contaminantes. Sin embargo los resultados son inconsistentes ya que algunas poblaciones muestran cierto grado de adaptación a estas sustancias contaminantes mientras otras presentan una elevada sensibilidad confiriéndoles un alto grado mutagénico y cancerígeno.

El interés del presente trabajo se enfoca en conocer la influencia del lugar de residencia, las características citogenéticas en adultos mayores, como consecuencia de la contaminación ambiental propia de cada lugar y por lo tanto el EOx en cada grupo, empleando como marcadores el daño al ADN y su capacidad de reparación con la finalidad de aportar conocimientos nuevos que permitan generar estrategias encaminadas a mejorar la calidad de vida de los individuos de los tres grupos de estudio.

## **9.1. DAÑO AL ADN.**

### **9.1.1. Frecuencia de daño al ADN con relación al lugar de residencia.**

La frecuencia de daño al ADN observada en el presente estudio no muestra una diferencia estadísticamente significativa ( $p > 0.05$ ). Sin embargo es posible observar una tendencia de mayor porcentaje de daño al ADN en el área urbana. Al respecto Calderon 2003,<sup>22,23</sup> señala que la exposición a la atmósfera contaminada de la ciudad de México induce daño al ADN por medio de ruptura de cadena sencilla en el epitelio nasal además señala que el deterioro en el sistema respiratorio juega un papel importante en algunas neuropatologías, sugiriendo que la enfermedad de Alzheimer puede ser una secuela de la exposición al aire contaminado como resultado de la inflamación crónica al igual que ocurre al presentarse esta enfermedad durante el envejecimiento normal.

### **9.1.2 Media de migración del ADN con relación al lugar de residencia.**

Al comparar los promedios totales de migración de las estelas del cometa, considerando el núcleo, se observó una mayor migración en el área rural. En este sentido, se ha observado que algunas poblaciones presentan un proceso de adaptación conocido como hormesis, por lo que la exposición a factores estresantes en bajas concentraciones lo cual puede ir aminorando el daño, propiciado por estos factores (Masoro 2000; Neafsey 1999),<sup>6-8</sup> lo cual concuerda con lo que ocurre en el proceso normal de envejecimiento en residentes de zonas urbanas y sub-urbanas en específico de la ciudad de México, ya que el constante aumento en el número de habitantes y de contaminantes como el ozono y las partículas suspendidas incrementa considerablemente en el número de factores estresantes, por lo que probablemente las estelas de los cometas son más pequeñas que las del área rural, debido a dicho proceso.

### 9.1.3. Magnitud y grado de daño al ADN con relación al lugar de residencia

Al analizar los resultados de la magnitud y grado de daño al ADN observamos que los AM del área urbana y sub-urbana, los porcentajes se distribuyeron casi de manera equitativa en las categorías de 1-5 células, de 6 a más e incluso en células sin daño sin embargo un alto porcentaje de las células con daño total presentadas en estas dos áreas es del tipo conocido como nubes donde el daño es irreversible, en contraste el área rural presenta un número de células dañadas pequeño, pero el tamaño de las estelas de los cometas es grande y casi no presentaron nubes lo que indica que este daño puede ser reparado.

Los resultados apoyan nuestra hipótesis respecto a que la exposición crónica al ambiente contaminado representa un factor de riesgo para el elevado grado de daño al ADN en un mayor número de células por individuo. En este sentido, algunos autores han demostrado que la exposición al aire contaminado aumenta la concentración de proteínas y la expresión del mRNA y de IL-6 en células alveolares, presentando una relación dosis-efecto, cuyo proceso sugiere que la elevada contaminación y la toxicidad de esta producen gran daño y lo hace extensivo a las demás células por efecto de los radicales libres producidos durante el proceso inflamatorio con la consecuente acumulación de aductos derivados de la degradación del ADN como la 8-OhdG (Bonner 1998 Sorensen 2003).<sup>39,47</sup>

## 9.2. CINÉTICA DE REPARACIÓN

### 9.2.1 Promedios de migración en la cinética de reparación del ADN con relación al lugar de residencia.

Al comparar los promedios totales de migración en la cinética de reparación se observó que el área rural requirió de un periodo de adaptación mayor después de enfrentarlos al reto estresante que en el área sub-urbana, en la que se observó una disminución considerable en la media de la longitud de las estelas desde el tiempo treinta, sin embargo al tiempo sesenta la media del área rural disminuyó de forma estadísticamente significativa. En el área sub-urbana fue posible observar una



reparación gradual en los tiempos treinta y sesenta mostrando diferencia estadísticamente significativa en cada caso. Mientras tanto el área urbana no presentó cambios significativos al comparar la media del tiempo cero al treinta como tampoco entre la media del tiempo treinta al sesenta.

De tal forma que podemos decir que aún cuando el área rural presentó dificultades para iniciar la reparación del ADN, esta fue capaz de reparar eficientemente con respecto a las áreas sub-urbana y urbana, este periodo de adaptación presentado por el área rural muy posiblemente se deba a que las células de estos adultos no se encuentran habituadas a recibir retos estresantes de esta magnitud, en contraparte al área urbana en donde no se observaron cambios significativos entre los tiempos de la cinética de reparación, tal vez debido al tipo de alimentación y al continuo estrés al que están sometidos.

#### **9.2.2. Cinética de reparación de ADN para el área rural**

Se observó que el área rural al tiempo cero el porcentaje de células sin daño era superior al presentado por cada tipo de daño. De las células dañadas se observó que estas se agruparon en los dos extremos de daño en daño bajo y en daño total.

En el tiempo treinta el porcentaje de células sin daño aumentó muy poco, ya que las células dañadas no sufrieron cambios significativos en sus porcentajes y continuaron con su agrupación en daño bajo y total.

Al tiempo sesenta, el porcentaje de células sin daño aumentó considerablemente disminuyendo proporcionalmente las células con daño medio y alto. Estos resultados concuerdan con las medias de migración y ofrecen un panorama más amplio de lo ocurrido en la cinética de reparación ya que podemos observar de manera clara que al tiempo treinta el sistema de reparación del ADN no fue capaz de reparar de manera rápida, presentando valores de daño bajo y total casi idénticos a los reportados en el tiempo cero y además mostrando un incremento leve en las células con daño medio lo

que aumentó el valor medio de las estelas de los cometas al tiempo treinta. Pese a esto el sistema de reparación fue más eficiente en el tiempo sesenta.

### **9.2.3. Cinética de reparación de ADN para el área sub-urbana.**

Se observó que el área sub-urbana al tiempo cero presentó la misma característica del área rural de agrupar sus células con daño en daño bajo y total, sin embargo en este caso el porcentaje de células sin daño fue menor al de estos dos grupos.

A diferencia del área rural en el tiempo treinta el porcentaje de células sin daño aumentó considerablemente y se observó una disminución en todos los niveles de daño (bajo, medio alto y total), pero persistiendo con la agrupación de las células en daño bajo y total.

Al tiempo sesenta el porcentaje de células sin daño aumentó nuevamente de manera considerable y una vez más se observó una disminución en todos los niveles de daño, con lo que podemos establecer que esta población a diferencia del área rural inicialmente presentó gran cantidad de células dañadas que sobrepasaban por mucho a las células sin daño, pero ésta inició de manera rápida y eficiente la reparación del ADN, la cual prosiguió hasta el tiempo sesenta, pero además esta población nos muestra una característica en particular que es visible en la alta permanencia de células con daño total, es decir, el sistema reparador sólo se encarga de las células reparables si el daño es muy grande opta por la muerte celular.

### **9.2.3 Cinética de reparación de ADN para el área urbana.**

A diferencia de las otras dos áreas en el área urbana al tiempo cero se presentó un alto porcentaje de células sin daño, en esta población también se observó una agrupación en el porcentaje de células con daño bajo y total pero más inclinada hacia las células con daño total.

En el tiempo treinta el porcentaje de células sin daño aumentó considerablemente y de manera rápida, mientras las células dañadas disminuían proporcionalmente conservando esa agrupación desequilibrada característica de esta población.

Al tiempo sesenta, el porcentaje de células sin daño aumentó hasta alcanzar un porcentaje casi tan alto como el del área rural y al igual que en esta todos los niveles de daño disminuyeron, y fue hasta este tiempo que se equilibró la agrupación en daño bajo y total.

Los resultados anteriores, nos permiten observar que la población del área urbana presenta una adaptación mayor a los retos estresantes al mostrar un menor porcentaje de células sin daño y además cuenta con una respuesta igual de eficiente del sistema de reparación del ADN que el presentado por el área rural, explicado por el proceso de adaptación denominado hormesis. Al respecto, algunos estudios reportan que aproximadamente el 50% del daño se repara en los primeros 15 minutos y la reparación total se efectúa en una o dos horas, no obstante otros investigadores reportan que cuando el daño es producido por partículas suspendidas  $PM_{10}$  el tiempo en que tarda la célula en regresar a su estado basal es de alrededor de 24 horas (Tice 1992; Gabelota 2004).<sup>94, 116</sup> De ahí que los tres diferentes lugares de residencia reparen diferentes porcentajes del ADN dañado durante la cinética de reparación.<sup>6-8</sup>

No obstante, a primera vista pareciera que los resultados obtenidos en el presente estudio indican que no existe diferencia entre residir en un área rural y una urbana puesto que ambas reparan el daño oxidativo del ADN de manera eficiente, sin embargo cabe recordar que la exposición continua a los retos estresantes propiciados por el urbanismo propician una carga alostática que con el tiempo terminará por menguar los sistemas antioxidantes favoreciendo la presencia de padecimientos crónico-degenerativos.

## 10. CONCLUSIONES

### Hipótesis

*Tomando en cuenta las evidencias científicas que muestran la influencia del lugar de residencia sobre el daño oxidativo a la molécula de ADN en los adultos mayores, suponemos que se observará una frecuencia, magnitud y grado de daño oxidativo al ADN, significativamente mayor en los adultos mayores del área urbana con respecto a los del área sub-urbana y rural.*

### Los resultados nos permiten concluir lo siguiente:

- El porcentaje de daño al ADN fue mayor en los AM del área urbana, sin embargo las diferencias no fueron estadísticamente significativas con respecto al área sub-urbana y rural.
  
- Aun cuando el área rural presentó una media de migración mayor, con respecto al área sub-urbana y urbana, cuya diferencia fue estadísticamente significativa, los resultados obtenidos de la magnitud y grado de daño, sugieren que la población más vulnerable al daño oxidativo al ADN es el área urbana, ya que aún que ésta posee una media de migración menor a la del área rural, presentó un alto porcentaje de células con daño total del tipo nube, donde el daño es tan grande que no es reparado.

### Hipótesis

*Considerando que el urbanismo propicia EOX crónico con daño al ADN que requiere mecanismos de reparación frecuentes, suponemos que los adultos mayores del área urbana tendrán una capacidad de reparación disminuida con respecto a la de las otras dos áreas.*

### Los resultados nos permiten concluir lo siguiente:

- Las medias de migración observadas a los diferentes tiempos de la cinética de reparación del área rural demuestran que ésta presenta un periodo de adaptación más amplio, lo cual posiblemente se deba a que esta población no está habituada a retos estresantes de esta magnitud, a diferencia del área sub-urbana en donde se observó una reparación gradual y el área urbana donde la reparación fue mínima.
- Se observó que los AM del área rural presentan una mayor capacidad de reparación del ADN, seguidos por los AM del área urbana, siendo los AM del área sub-urbana los que presentaron menor capacidad de reparación del ADN.

## 11. PERSPECTIVAS

- Es conveniente proseguir con el estudio aumentando el tamaño de muestra con el fin de obtener resultados estadísticamente significativos y concluyentes.
- Los resultados justifican la propuesta de un ensayo clínico enfocado a determinar la concentración adecuada de suplementos antioxidantes necesarios para mitigar el daño al ADN en los adultos mayores en cada zona de residencia.
- Sería conveniente determinar de manera simultánea el daño al ADN por medio de la cuantificación de la 8-hidroxiguanosina en orina, así como incluir la evaluación de enzimas antioxidantes como la SOD, GPx, Catalasa y cuantificar los niveles de vitaminas con efecto antioxidante (A, E y C) para lograr una interpretación completa del complejo proceso fisiopatológico presente en la tríada del envejecimiento, lugar de residencia y daño oxidativo al ADN.

## RECOMENDACIONES

- Para una obtención óptima de resultados se recomienda que todas las soluciones a emplear sean frescas.
- Para evitar daño celular por choque térmico, se recomienda que la solución de azarosa (de bajo punto de fusión) no se agregue, demasiado caliente, para lo cual se recomienda que esta posea una temperatura de 37°C.
- Se recomienda emplear estos tres tiempos dado que se ha observado que hasta el minuto treinta empieza la reparación real y después del tiempo sesenta la reparación total se alcanza hasta transcurridas 2 horas.
- La lectura debe realizarse lo mas pronto posible, para evitar que las muestras se dañen por almacenamiento.

## 12. REFERENCIAS

1. Sánchez M, Mendoza V. Envejecimiento, Enfermedades Crónicas y Antioxidantes. Facultad de estudios superiores Zaragoza UNAM 2003. 1ra Ed. Pág.15
2. McEwen SB. Allostatic Load, and the aging nervous system: Role of excitatory Amino Acids and Excitotoxicity. *Neurochem Res* 2000; 25: 1219-1231.
3. Seeman ET, McEwen SB, Rowe WJ, Singer HB. Allostatic load as a marker of cumulative biological risk: MacArthur studies of successful aging. *Proc Natl Acad Sci* 2001; 98:4770-4775.
4. Karlamangla SA, Singer HB, McEwen SB, Rowe WJ, Seeman ET. Allostatic load as a predictor of functional decline MacArthur studies of successful aging. *J Clin Epidemiol* 2002; 55:696-710
5. Hawley AH. Teoría de la Ecología Humana. Madrid:Tecnos; 1991.
6. Masoro EJ. Commentary. *Hum Exp Toxicol.* 2000; 19: 340-1.
7. Masoro EJ. Hormesis and the anti-aging action of caloric restriction. *Experimental Gerontology.* 1988; 33: 61-6
8. Neafsey PJ. Longevity hormesis. A review. *Mechanism of Ageing and Development* 1900; 51: 1-31.
9. Anderson D. Antioxidant defenses against reactive oxygen species causing genetic and other damage. *Mutat Res* 1996; 350:103-8
10. Campisi, J. The biology of replicative senescence. *Eur J. Cancer.* 1997;33:703-9.
11. Bondar, A.etr al. Extension of life-span by introduction of telomerase into normal human cells. *Science*1998; 279: 349-52
12. Ji LL. Exercise at old age: Does it increase or alleviate oxidative stress. *Ann N Y Acad Sci* 2001; 928:236-247.
13. Nicolas A, Andrieu S, Nourhashémi F, Rolland Y, Vellas B. Successful aging and nutrition. *Nutr Rev* 2001; 59: S88-S92.
14. Panda K, Chattopadhyay R, Chattopadhyay D J, Chatterjee I B. Vitamin C prevents cigarette smoke-induced oxidative damage in vivo. *Free Radic Biol Med* 2000; 29:115-124.
15. Cederbaum AI. Alcohol, oxidative stress and cell injury. *Free Radic Biol Med* 2001; 31:1524-1526.
16. Dinges DF. Stress, fatigue, and behavioral energy. *Nutr Rev* 2001; 59: S30-S32.
17. Romay PCH, Capacidad antioxidante total del suero en la diabetes mellitus. *Rev Cubana Inves Biomed* 1996; 15: 6-11.
18. Sánchez RM. Niveles de antioxidantes totales en una población de ancianos de la ciudad de México. En: González MF, editor. *Memorias del XII Congreso Nacional de Gerontología y Geriatria*; 1997 Oct 2-5; Acapulco (Méx) Asociación Mexicana de Gerontología y Geriatria , 1997: 28-29.
19. <http://www.bvs.org.ar/glosario.htm>
20. Terán M. La definición de lo urbano. *Estudios Geográficos*, 1975;138: 265-301
21. [www.inegi.gob.mx/inegi](http://www.inegi.gob.mx/inegi)
22. Calderon G.L, et al. DNA damage in nasal and brain tissues of canines exposed to air pollutants is associated with evidence of chronic brain inflammation and neurodegeneration. *Toxicol Pathol.* 2003;31(5):524-38.

23. Calderon G.L, et al. DNA strand breaks in human nasal respiratory epithelium are induced upon exposure to urban pollution. *Environ Health Perspect.* 1996 Feb;104(2):160-8.
24. Navarro M. R, Lifshitz A, Wachter N, Hicks JJ. Changes in human serum antioxidant capacity and peroxidation after four months of exposure to air pollutants. *Arch Med Res.* 1997 Summer;28(2):205-8
25. The Merck Index 7116
26. <http://www.sagan-gea.org/hojared/Hoja7.htm>
27. <http://www.sma.df.gob.mx/sma/index.php>
28. NIOSH Pocket Guide to Chemical Hazards (DHHS/NIOSH 90-117, 1990) p 172.
29. Romieu I, Meneses F, Ramírez M, Ruíz S, Pérez-Padilla R, Sienna JJ, gerber M, Grievink L, Dekker R, Walda I, Brunekreef B. Antioxidant supplementation and respiratory functions among workers exposed to high levels of ozone. *Am J Respir Crit Care Med* 1998; 158:226-232.
30. Samet MJ, Hatch EG, Horstman D, Steck-Scott S, Arab L, Bromberg AP, Levine M, McDonnell FW, Devlin BR. Effect of antioxidant supplementation on ozone-induced lung injury in human subjects. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 164:819-825.
31. [http://www.sima.com.mx/valle\\_de\\_mexico/ozono.asp](http://www.sima.com.mx/valle_de_mexico/ozono.asp)
32. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-020-SSA1-1993, Salud ambiental. Criterio para evaluar el valor limite permisible para la concentracion de ozono (O<sub>3</sub>) de la calidad del aire ambiente. Criterio para evaluar la calidad del aire.
33. <http://www.elementos.buap.mx/num34/htm/35.htm>
34. [http://www.sima.com.mx/valle\\_de\\_mexico/particul.asp](http://www.sima.com.mx/valle_de_mexico/particul.asp)
35. PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-024-SSA1-1993, Salud Ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire, partículas suspendidas totales (PST). Valor permisible para la concentración de partículas suspendidas totales en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población.
36. [http://www.sma.df.gob.mx/imecaweb/mapas/descrip\\_pm.html](http://www.sma.df.gob.mx/imecaweb/mapas/descrip_pm.html)
37. Saxon A, Díaz S. D. Diesel exhaust as a model xenobiotic in allergic inflammation. *Inmunopharmacology.* 2000; 48: 325-7.
38. Schwartz D. A. Does inhalation of endotoxin cause asthma? *Am J Respir Crit Care Med.* 2001; 163:305-13.
39. Bonner JC, Rice AB, et al. Induction of the lung myofibroblast PDGF receptor system by urban ambient particles from México City. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1998; 19: 672-80.
40. World Health Organization. The world health report 2002.Reducing risks, promoting healthy life. Geneva: WHO; 2002. p 65-6.
41. Goodman and Gilman's *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9:1783-4.
42. Lippmann, M. Health effects of ozone: a critical review. *J. Air Pollut. Control Assoc.* 1989, 39:672-695.
43. Andrews, L.S., and Snyder, R. Toxic effects of solvents and vapors. In, Casarett and Doull's *Toxicology: The Basic Science of Poisons*, 4th ed. (Amdur, M.O., Doull, J., and Klaassen, C.D., eds.) Pergamon Press, New York, 1991, pp. 681-722.
44. Kinney, P.L, Ware, J.H., and Spengler J.D. A critical evaluation of acute ozone epidemiology results. *Arch. Environ. Health*, 1988, 43:168-173.



45. Palli D, Saieva C, et. Al. DNA bulky adducts in a Mediterranean population correlate with environmental ozone concentration, an indicator of photochemical smog.. *Int J Cancer* 2004;109(1):17-23.
46. Alfaro ME, Martínez L, García CC, Bonner JC, Murray JC, Rosas I, et al. Biologic Effects Induced in vitro by PM<sub>10</sub> from Three Different Zones of México City. *Enviromental Health Perspectives* 2002 vol.110. 7:715-720.
47. Sorensen M, Autrup H, Moller P, Hertel O, Jensen SS, Vinzents P, et al. Linking exposure to enviromental pollutants with biological effects. *Mutat Res* 2003; 544: 255-71.
48. Organización de naciones unidas. Reunión sobre envejecimiento. Kiev, URSS:ONU;1979.
49. Organización de naciones unidas. Plan de acción internacional de Viena sobre el envejecimiento. New York:ONU;1983.
50. Semsei I. On the nature of aging. *Mech Ageing Dev* 2000; 117: 93-108.
51. Harman D. The aging proces.*Proc Natl Acad Sci* 1981;78:7124-28.
52. Medvedev AZ. An attempt at a rational classification of theories of ageing. *Biol Rev* 1990;65:375-98.
53. Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry and role in human disease. *Am J Med* 1991; 91: S14-S22.
54. Harman D. Free radical theory of aging. *Mutat Res* 1992; 275: 257-266.
55. Gutteridge J. Free radicals and aging. *Rev Clin Gerontol*1994;4:279-88.
56. Chesseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-93.
57. Pierrefiche G, Laborit H. Oxygen free radical, melatonin and aging. *Exp Gerontol*; 30:213-27
58. Halliwell B, Gutteridge JMC. *Free radicals in Biology and Medicine*, 2a ed. Gran Bretaña: Oxford University Press, 1989: 10-2.
59. Rodríguez P, Menéndez R, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y el estrés oxidativo. *Rev Cubana Med Milit* 2001; 30: 36-44.
60. Bunker VW. Free radicals, antioxidants and ageing. *Med Lab Sci* 1992; 49:299-312.
61. Retel J, Hoedee B, Braun J, Lutgerink J, Van den Akker E, Wanamarta H, et al. Mutational specificity of oxidative DNA damage. *Mutat Res* 1993; 299 165-82.
62. Vilar-Rojas C, Guzmán-Grenfell AM, Hicks JJ. Participation of oxigen-free radicals in the oxido-reduction of proteins. *Arch Med Res* 1996; 27: 1-6.
63. González T M, Betancourt R M, Ortiz M R. Daño oxidativo y antioxidantes. *Bioquimia* 2000; 98: 3-9
64. Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarquer of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41:1819-28.
65. Knight JA. Free radicals: their presence in biological systems. In: *Free radicals, antioxidants, aging, & disease*. Washington: AACC Press. 1999. p.21-43.
66. González FL, Castello PR, Gagliardino JJ. La glucosilación no enzimática de proteínas. Mecanismo y papel de la reacción en la diabetes y el envejecimiento. *Ciencia al día internacional* 2000;3:1-17.
67. Aust AE, EveleighJF. Mechanism of DNA oxidation. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999;222:246-52.

68. Ames BN, Gold LS. Endogenous mutagens and the causes of aging and cancer. *Mutat Res* 1991;250:3-16.
69. Ames BN. Cancer, Aging, and endogenous DNA damage. Department of biochemistry university of California USA 1998; 291-8
70. Sohal RS, Weindruch R. Oxidative stress, caloric restriction, and aging. *Science* 1996;273:59-63.
71. Nohl H. Involvement of free radicals in ageing: a consequence or cause of senescence. *British Medical Bulletin*. 1993; 49(3): 653-67.
72. Knight JA. Chronic inflammation. In: *Laboratory medicine and the aging process*. Chicago ASCP Press. 1996. p.46-7.
73. Pacifici RE, Kelvin JA. Protein, lipid and DNA repair systems in oxidative stress, the free-radical theory of aging revisited. *Toxicology* 1991;37:166-80.
74. Lenaz G. Role of mitochondria in oxidative stress and ageing. *Biochim Biophys Acta* 1998;1366:53-67.
75. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science* 1999; 283:1482-8.
76. Barja G, Herrero A. oxidative damage to mitochondrial DNAs is inversely related to maximum lifespan in the heart and brain of mammals. *FASEB J*. 2000; 14: 312-8.
77. Kanaar R, Hoeijmakers J. Recombination and joining: different means to the same ends. *Genes Funct* 1997;1:165-74.
78. VanGent DC, Hoeijmakers J, Kanaar R. chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. *Nat Rev Genet* 2001;2:196-206.
79. Anthony P, Breen and John A. Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Rad Biol Med* 1995;Vol 18, No 6:1033-77.
80. Song BB, Sha SH, Schacht J. Iron chelators protect from aminoglycoside-induced cochleo- and vestibulo-toxicity, *Free radic Bio Med* 1998; 25: 189-95.
81. Ward JF. Biochemistry of DNA lesions. *Radiat Res* 1985; 104: S103-S11.
82. Blasburbanian B, Pogozelski WR, Tullius TD. DNA strand breaking by the hydroxyl radical is governed by the accessible surface areas of the hydrogen atoms of the DNA backbone. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998; 95: 9738-43.
83. Imlay JA, Linn S. DNA damage and oxygen radical toxicity. *Science* 1988; 240:1302-7.
84. Karanjawala Z, Lieber M. DNA damage and aging. *Mech of Aging Dev*. 2004;125:405-16.
85. Shibutani, S. Takeshita, M. Grollman, A. Insertion of specific bases during DNA synthesis past the oxidation damage base 8-oxodG. *Nature* 1991; 349: 431-4.
86. Ide, H. Kow, Y. Wallace, S. Thymine glycosylated urea residues in M13 DNA constitute replicative blocks in vitro *Nucleic Acids Res*. 1985;13:8035-52.
87. Hatahet, Z. Purmal, A. Wallace, S. Oxidative DNA lesions as blocks to in vitro transcription by phage T7 RNA polymerase. *Ann NY Acad Sci*. 1994;726: 346-8.
88. Bohr V. Repair of oxidative DNA damage in nuclear and mitochondrial DNA, and some changes with aging in mammalian cells. *Free Rad Biol Med*. 2002; 32:804-12.
89. Farmer P, Singh R. Et al. Molecular epidemiology studies of carcinogenic environmental pollutants Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in environmental pollution on endogenous and oxidative DNA damage. 2003;544:397-402.

90. Carere A, Andreoli C, Galati R, Leopardi P, et al. Biomonitoring of exposure to urban air pollutants: analysis of sister chromatid exchanges and DNA lesions in peripheral lymphocytes of traffic policemen. *Mutat Res* 2002; 518: 215-24.
91. Saito S, Yamauchi H, Hasui Y, Kurashige J, Ochi H, Yoshida K. Quantitative determination of urinary 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OH-dg) by using ELISA. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2000; 107:39-44.
92. Shimimoi K, Kasai H, Yokota N, Toyokuni S, and Kinae N. Comparison between high-performance liquid chromatography and enzyme immunoassay for the determination of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine in human urine. *Cancer epidemiol Biomark Prevent* 2002;11:767-70.
93. Chiou C, Chang P, Chan E, Wu T, Tsao K, Wu J. Urinary 8-hydroxydeoxyguanosine and its analogs as DNA marker of oxidative stress: development of an ELISA and measurement in both bladder and prostate cancers. *Clinica Chimica Acta* 2003;334:87-94.
94. Tice R, Andrews P. Protocol for the application of the alkaline single gel (SCG) assay to the detection of DNA damage in eukaryote cells. *Res Triangle Park*.1992;919:544-57.
95. Barnett YA, King CM. An investigation of antioxidant status, DNA repair capacity and mutation as a function of age in humans. *Mutat Res*. 1995 ;338:115-28.
96. Matsubasa T, Uchino T, Karashima S, Kondo Y, Maruyama K, Tanim M, Endo F. Oxidative stress in very low birth weight infants as measured by urinary 8-OHdG. *Free Radic Res* 2002;36:189-93.
97. Honda M, Yamada Y, Tomonaga M, Ichinose H, and Kamihira S. Correlation of urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-HOdG), a biomarker of oxidative DNA damage, and clinical features of hematological disorders: a pilot study. *Leukemia Research* 2000 ; 24 : 461-8.
98. Oberley TD, Oberley LW. Antioxidant enzyme levels in cancer. *Histol Histopathol* 1997; 12: 525-35.
99. Mc Lean AEM, Nuttal L. An in vitro model of liver injury using paracetamol treatment of liver slices and prevention of injury by some antioxidants. *Biochem Pharmacol* 1978; 27: 425-30.
100. Ames BN, Shigenago MK, Hagen TM. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging. *Proc Natl acad Sci USA* 1993; 90: 7915-22.
101. Halliwell B. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. *Free Radic Biol Med* 1995;18:135-6.
102. Gutteridge J. Free radicals and aging 1991; 53: 373S-379S.
103. Lawrence J, Bendich A. Free Radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. *FASEB J* 1087;1 :441-5.
104. Frei B. reactive oxygen species and antioxidant vitamins: mechanisms of action. *Am J Med* 1994; 97:3A/5S-3A/13S.
105. Laval J, Bauche C, Jurado J, Paillard F, Sapparbaev M, Sidrkina O. Repair of DNA damaged by free radicals. In: Dizdaroglu M, Karataya AE [Eds]. *Advances in DNA damage and repair*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 1999. p. 237-50.

106. Ozer NK, Azzi A. Beyond antioxidant function: other biochemical effects of antioxidants. In: Papas AM. Antioxidant status, diet, nutrition, and health. New York: CRC Press. 1999. p.450
- Harman D. Role of free radicals in aging and disease. En Physiopathological processes of aging. Ann NY Acad Sci 1992; 673:126-141.
107. Cheng TJ, Kao HP, Chan CC, Chang WP. Effects of ozone on DNA single-strand breaks and 8-oxoguanine formation in A549 cells. Environ Res. 2003;93:279-84.
108. Fortoul TI, Valverde M, Lopez Mdel C, Bizarro P, Lopez I, Sanchez I, Colin-Barenque L, Avila-Costa MR, Rojas E, Ostrosky-Shejet P. Single-cell gel electrophoresis assay of nasal epithelium and leukocytes from asthmatic and nonasthmatic subjects in Mexico City. Arch Environ Health. 2003 ;58:348-52.
109. Palli D, Saieva C, Grechi D, Masala G, Zanna I, Barbaro A, Decarli A, Munnia A, Peluso M. DNA bulky adducts in a Mediterranean population correlate with environmental ozone concentration, an indicator of photochemical smog. Int J Cancer. 2004;109:17-23.
110. Georgiadis P, Topinka J, Stoikidou M, Kaila S. Biomarkers of genotoxicity of air pollution (the AULIS project): bulky DNA adducts in subjects with moderate to low exposures to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and their relationship to environmental tobacco smoke and other parameters Carcinogenesis.2001; 22: 1447-1457.
111. Bridges J, Davis H, Damodarasamy M, Kuroki Y, Howles G. Pulmonary Surfactant Proteins A and D Are Potent Endogenous Inhibitors of Lipid Peroxidation and Oxidative Cellular Injury. J. Biol. Chem.2000;275:38848-55.
112. Harman D. Aging and oxidative stress. IFCC 1998; 10: 25-28.
113. Susan S.W. Biological consequences of free radical damaged DNA bases. Free Rad Biol Med. 2002;33(1): 1-14.
114. Gensler HL, Bernstein H. DNA damage as the primary cause of aging Q Rev Biol. 1981 Sep;56(3):279-303.
115. Bermudez E, Ferng SF, Castro CE, Mustafa MG. DNA strand breaks caused by exposure to ozone and nitrogen dioxide. Environ Res. 1999;81:72-80.
116. Gabelova A, Valovicova Z, Horvathova E, Slamenova D, Binkova B, Sram RJ, Farmer PB. Genotoxicity of environmental air pollution in three European cities: Prague, Kosice and Sofia. Mutat Res. 2004 ;563:49-59.
117. Mendoza V, Retana R, Sánchez M, Altamirano M. DNA damage in lym,phocytes of elderly patients in relation with total antioxidant levels. Mechanism of ageing and development. 1999; 108:9-23.

### 13. ANEXO

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

MODIFICACION A LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-020-SSA1-1993, SALUD AMBIENTAL. CRITERIOS PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AIRE AMBIENTE CON RESPECTO AL OZONO (O<sub>3</sub>). VALORES NORMADOS PARA LA CONCENTRACION DE OZONO (O<sub>3</sub>) EN EL AIRE AMBIENTE COMO MEDIDA DE PROTECCION A LA SALUD DE LA POBLACION, PARA QUEDAR COMO NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-020-SSA1-1993, SALUD AMBIENTAL. CRITERIO PARA EVALUAR EL VALOR LIMITE PERMISIBLE PARA LA CONCENTRACION DE OZONO (O<sub>3</sub>) DE LA CALIDAD DEL AIRE AMBIENTE. CRITERIO PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AIRE.

ERNESTO ENRIQUEZ RUBIO, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 4 de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 3o. fracción XIII, 13 apartado A fracción I; 116 y 118 fracción I de la Ley General de Salud; 41, 43, 47 fracción IV y 51 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 28 y 34 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 2 literal C fracción II, 34 y 36 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, y 2 fracciones VII y VIII, 7 fracción XVI y 12 fracciones I y VI del Decreto por el que se crea la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** de la siguiente:

Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-1993, Salud Ambiental. Criterios para evaluar la calidad del aire ambiente con respecto al ozono (O<sub>3</sub>). Valores normados para la concentración de ozono (O<sub>3</sub>) en el aire ambiente como medida de protección a la salud de la población, para quedar como Norma Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-1993, Salud Ambiental. Criterio para evaluar el valor límite permisible para la concentración de ozono (O<sub>3</sub>) de la calidad del aire ambiente. Criterio para evaluar la calidad del aire, y

#### CONSIDERANDO

Considerando con fecha 31 de julio de 2000, en cumplimiento del acuerdo del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, y lo previsto en el artículo 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, se publicó en el **Diario Oficial de la Federación** el proyecto de la presente Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-1993, a efecto de que dentro de los siguientes sesenta días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios a dicho Comité.

Que con fecha previa, fueron publicadas en el **Diario Oficial de la Federación** las respuestas a los comentarios recibidos por el mencionado Comité, en términos del artículo 47 fracción III de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

Que en atención a las anteriores consideraciones, contando con la aprobación del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, se expide la siguiente:

MODIFICACION A LA NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-020-SSA1-1993, SALUD AMBIENTAL. CRITERIOS PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AIRE AMBIENTE CON RESPECTO AL OZONO (O<sub>3</sub>). VALORES NORMADOS PARA LA CONCENTRACION DE OZONO (O<sub>3</sub>) EN EL AIRE AMBIENTE COMO MEDIDA DE PROTECCION A LA SALUD DE LA POBLACION, PARA QUEDAR COMO NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-020-SSA1-1993, SALUD AMBIENTAL. CRITERIO PARA EVALUAR EL VALOR LIMITE PERMISIBLE PARA LA CONCENTRACION DE OZONO (O<sub>3</sub>) DE LA CALIDAD DEL AIRE AMBIENTE. CRITERIO PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AIRE

#### PREFACIO

En la elaboración de la presente Modificación participaron las siguientes dependencias, instituciones y organismos:

**SECRETARIA DE SALUD**

Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios  
Dirección General de Salud Ambiental  
Instituto Nacional de Salud Pública Centro Nacional de Salud Ambiental  
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**SECRETARIA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES**

Dirección General de Gestión e Información Ambiental  
Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental  
Instituto Nacional de Ecología

**SECRETARIA DE GOBERNACIÓN**

Centro Nacional de Prevención de Desastres

**GOBIERNO DEL DISTRITO FEDERAL**

Secretaría del Medio Ambiente  
Dirección General de Prevención y Control de la Contaminación  
Dirección General de Proyectos Ambientales

**GOBIERNO DEL ESTADO DE MÉXICO**

Secretaría de Ecología  
Dirección General de Planeación Ambiental

**GOBIERNO DEL ESTADO DE NUEVO LEON**

Secretaría de Ecología

**GOBIERNO DEL ESTADO DE CHIHUAHUA**

Secretaría de Ecología  
Dirección General de Ecología y Protección Civil de Ciudad Juárez

**INSTITUTO MEXICANO DEL PETROLEO**

Gerencia de Ciencias del Ambiente

**INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES NUCLEARES**

Gerencia de Ciencias Ambientales

**UNIVERSIDAD AUTONOMA METROPOLITANA-XOCHIMILCO**

Departamento de Atención a la Salud

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO**

Programa Universitario del Medio Ambiente

Centro de Ciencias de la Atmósfera

División de Estudios de Posgrado de la Facultad de Ingeniería

COLEGIO DE INGENIEROS AMBIENTALES DE MEXICO, A.C.

CENTRO DE ESTUDIOS DEL SECTOR PRIVADO PARA EL DESARROLLO SUSTENTABLE

UNION DE GRUPOS AMBIENTALISTAS, I.A.P.

MOVIMIENTO ECOLOGISTA MEXICANO, A.C.

CONSEJO NACIONAL DE INDUSTRIALES ECOLOGISTAS, A.C.

CAMARA DE LA INDUSTRIA NACIONAL DEL HIERRO Y ACERO

0. Introducción
1. Objetivo y campo de aplicación
2. Referencias
3. Definiciones
4. Especificaciones
5. Métodos de prueba
6. Concordancia con normas internacionales y mexicanas
7. Bibliografía
8. Observancia de la Norma
9. Vigencia
0. **Introducción**

Durante las últimas décadas, la calidad del aire en las principales ciudades del país y sus zonas conurbadas muestra una clara tendencia al deterioro. Asimismo, la capacidad de renovación y recuperación del medio ambiente y de los recursos naturales también se ha visto afectada. En consecuencia, la salud de la población de las principales zonas conurbadas del país está en riesgo o ya está siendo afectada por la contaminación ambiental provocada por diversos contaminantes, como el ozono ( $O_3$ ), los cuales pueden rebasar los límites normales de concentración ambiental ocasional o sistemáticamente.

En materia de los efectos que el ambiente puede tener en la salud, la Ley General de Salud considera que se deben establecer normas, tomar medidas y realizar actividades tendientes a la protección de la salud humana ante los riesgos y daños que representa el deterioro ambiental; esta Ley también especifica que se deben determinar los valores de concentración máxima permisible de los contaminantes en el ambiente para el ser humano.

La norma es un instrumento regulatorio que pretende contribuir a que se cumplan los objetivos de mejoramiento de la calidad del aire en el territorio nacional.

En cuanto al contaminante objeto de esta Norma, el ozono, puede decirse que su presencia en el aire ambiente se atribuye a diversos procesos físico-químicos, los cuales contribuyen en mayor o menor grado a su formación según varíen las condiciones físicas y químicas en las que se produzca la reacción. Se considera que el proceso más importante para la formación del ozono es la combinación de los óxidos de nitrógeno y los hidrocarburos volátiles que actúan como precursores en presencia de radiación ultravioleta. Existen también otros procesos de generación de ozono cuya contribución a la contaminación del aire aún no se ha cuantificado; sin embargo, en ciertas condiciones podrían ser significativos.

El ozono es un alótropo reactivo del oxígeno formado por tres átomos ( $O_3$ ). Sus efectos sobre los seres vivos se han estudiado desde diferentes perspectivas: estudios epidemiológicos, toxicológicos, experimentales en seres humanos y en animales, y clínicos. Los resultados de estos estudios son complementarios y han permitido detectar los procesos biológicos involucrados en el daño que este contaminante provoca en la salud humana y que se resumen a continuación.

En virtud de que el ozono es un compuesto altamente oxidante, es capaz de afectar materiales orgánicos e inorgánicos. Su toxicidad biológica es muy compleja, pues son muchos los sistemas que pueden resultar afectados por la interacción entre éste y los componentes celulares. Los mecanismos de toxicidad propuestos tienen que ver con la modificación de los sistemas de oxidación celular, en la que participan diferentes enzimas, algunas de las cuales aún no están bien identificadas.

De acuerdo con el tiempo que transcurre entre la exposición y la aparición de los efectos, los daños a la salud asociados con el ozono pueden clasificarse como de corto plazo (de una a tres horas), prolongados (de seis a ocho horas) y de largo plazo (meses o años). Los efectos agudos se han observado en concentraciones de ozono de 0.12 partes por millón (en adelante, ppm), cuando los individuos realizan ejercicio moderado o intenso o en concentraciones más bajas (de 0.08 ppm) después de exposiciones prolongadas, tras un ejercicio moderado o bajo.

Los efectos adversos van desde cambios transitorios de la función pulmonar, aumento en la incidencia de enfermedades y síntomas respiratorios, mayor susceptibilidad para la aparición de infecciones respiratorias, lo que indirectamente se refleja en el aumento de ingresos hospitalarios y de visitas a salas de emergencia. Estudios recientes también han encontrado asociaciones entre la exposición al ozono y el aumento de la mortalidad diaria que se presenta particularmente entre personas con enfermedades respiratorias o cardiovasculares previas.

Los cambios de la función pulmonar se caracterizan por la disminución de la Capacidad Vital Forzada (CVF) y el Volumen Espiratorio Forzado del primer segundo ( $VEF_1$ ). Los cambios de la CVF se deben a una disminución de la capacidad inspiratoria, al parecer tras una inhibición neurológica. En relación con la disminución del  $VEF_1$ , lo que se ha observado en múltiples estudios realizados en diferentes países del mundo, incluido México, es que en promedio el  $VEF_1$  disminuye cuando aumentan las concentraciones de ozono, sin pasar por alto la gran variación individual.

Estos efectos son transitorios, pero dado que existen muchas poblaciones expuestas cotidianamente a este contaminante, podría considerarse que la exposición es permanente. Los hallazgos en los estudios epidemiológicos y experimentales son muy similares y se refieren tanto a los niños como a los adultos.

Es importante mencionar que las pruebas espirométricas utilizadas en la mayoría de estos estudios no miden el impacto del contaminante en las vías aéreas más pequeñas, situadas en la región donde se lleva a cabo el intercambio gaseoso. Los estudios realizados en animales han mostrado que en esta región del pulmón puede haber necrosis de las células epiteliales y remodelación de los bronquiolos respiratorios, cuyas consecuencias a largo plazo aún no se conocen con precisión. Se requieren más estudios para saber si los resultados obtenidos en animales son extrapolables a los seres humanos y si por ende estos cambios pueden dar lugar a enfermedades crónicas del pulmón en el hombre.

Otro efecto frecuentemente asociado con este contaminante es la presencia de síntomas respiratorios transitorios, entre los cuales los más frecuentes son la tos, la irritación de las vías aéreas -caracterizada por una sensación de comezón en la garganta y por molestias atrás del esternón-, malestar a la inspiración profunda -que las personas describen como dolor o sensación de opresión en el pecho-. Los asmáticos presentan con más frecuencia sibilancias, además de los síntomas ya descritos. Generalmente las personas con enfermedades pulmonares previas están en mayor riesgo de ser afectadas por el ozono, ya que a sus limitaciones funcionales preexistentes se suman las provocadas por éste. Además, algunas personas son genéticamente más susceptibles que otras; tal es el caso de los propios asmáticos, los pacientes con enfermedad pulmonar obstructiva crónica y las personas con otras enfermedades respiratorias crónicas.

Otro aspecto asociado con la exposición al ozono es el incremento de la susceptibilidad a las infecciones respiratorias, que se explica por la inflamación de las vías aéreas periféricas y se caracteriza por el aumento importante de los leucocitos polimorfonucleares y la concentración de moléculas proinflamatorias como la IL-8. Dicha inflamación afecta a los linfocitos que normalmente se encargan de los mecanismos celulares de defensa del tracto respiratorio, y de esta manera se facilita la presencia de infecciones respiratorias.

Los estudios sobre ingresos hospitalarios y visitas a salas de emergencia han permitido medir no sólo la presencia de síntomas respiratorios, sino también su gravedad. De acuerdo con estudios realizados en los Estados Unidos, estos efectos se han observado después de exposiciones prolongadas a concentraciones de ozono tan bajas como 0.080 ppm. Los grupos más susceptibles son los niños y las personas que por motivos de trabajo permanecen mayor tiempo en los exteriores, así como los individuos con enfermedades respiratorias previas. Es importante hacer hincapié en que algunos individuos responden de manera inusual al ozono y pueden presentar efectos funcionales o síntomas respiratorios más acentuados que la población general.

La Secretaría de Salud inició en 1996 un estudio de las contingencias atmosféricas, en la zona metropolitana del Valle de México. Los datos preliminares obtenidos de más de 519,000 individuos entrevistados mostraron que al rebasarse las 0.281 ppm de ozono, se incrementó por arriba de los valores basales la proporción de signos y síntomas oculares y respiratorios entre la población. Esos resultados preliminares permitieron en 1998 ajustar el Programa de Contingencias Ambientales Atmosféricas en el Valle de México, mediante el cual se llevaban a cabo las acciones urgentes de control.

Otro efecto frecuentemente descrito al exponer a las personas al ozono es su impacto sobre el desempeño físico-atlético, que se manifiesta en la reducción del nivel de actividad máximo sostenible o del tiempo de actividad que puede tolerarse en un nivel particular de trabajo físico. Atletas expuestos a concentraciones por arriba de 0.18 ppm han reportado incapacidad para realizar esfuerzos máximos en competencias atléticas; trabajadores o personas activas expuestas han visto aumentar los síntomas respiratorios, lo que puede provocar disminución en el desempeño del trabajo.

En relación con los efectos de largo plazo (crónicos), la bibliografía existente todavía no es concluyente. Los estudios toxicológicos realizados en animales muestran que los daños producidos por el ozono sobre el pulmón son similares en diferentes especies (monos, ratas y ratones) y que la respuesta fundamentalmente depende de la dosis de exposición. Las evidencias sugieren que los efectos encontrados en animales también pueden estar presentes en los seres humanos. Hasta ahora los datos recolectados muestran que es biológicamente posible que la inflamación crónica que produce este contaminante provoque un daño pulmonar capaz de disminuir, durante la vida adulta, la calidad de vida de las personas expuestas.

En nuestro país, buena parte de los estudios realizados en este campo del conocimiento han sido epidemiológicos; en ellos se ha estudiado la asociación entre el ozono y otros contaminantes atmosféricos y los cambios en la función pulmonar, el aumento de síntomas respiratorios, el ausentismo escolar, las visitas a salas de emergencia y la mortalidad diaria. Existen algunos estudios básicos realizados en animales y seres humanos que han mostrado daños severos de la mucosa del aparato respiratorio desde la nariz hasta los bronquiolos. La mayoría de dichos estudios se han efectuado en la Ciudad de México. En general, los resultados obtenidos coinciden con los hallazgos ya mencionados, aun cuando existen algunas particularidades derivadas de que muchas personas en esta ciudad han estado expuestas de manera cotidiana a niveles muy altos de ozono y, por lo tanto, los efectos agudos no siempre son tan marcados como en aquellos individuos que nunca han estado expuestos a él.



Los datos derivados de las investigaciones más recientes sobre los daños agudos y de mediano plazo que puede producir el ozono sobre la salud humana -y que se han resumido en los párrafos anteriores-, al ponerse en correspondencia con la gran variación de concentraciones de ozono que pueden existir en las diferentes regiones del país, nos dicen que las poblaciones pueden estar expuestas a concentraciones por arriba de las 0.11 ppm durante periodos cortos de tiempo, pero que su promedio de ocho horas excede las 0.08 ppm; tal sería el caso de las zonas metropolitanas de las ciudades de México y Guadalajara. En otros lugares las personas sólo están expuestas a concentraciones cuyos promedios de ocho horas rebasan las 0.08 ppm; finalmente en otras regiones sólo están expuestos a niveles por arriba de 0.11 ppm, por periodos cortos de tiempo. Considerando todas estas posibilidades y con el fin de prevenir los efectos adversos sobre la población más sensible, se plantea modificar la Norma.

La NOM-020-SSA1-1993 establece como límite horario permisible una concentración de 0.11 ppm en un periodo de tres años. La modificación del periodo de evaluación de la norma a un año se debe a que gran parte de las zonas urbanas del país no cuentan con datos trianuales para verificar su cumplimiento y en las zonas rurales prácticamente no existen datos sobre los niveles y el comportamiento del ozono.

Asimismo, se decidió mantener la concentración horaria de 0.11 ppm, ya que basándose en esta concentración se han instrumentado los diferentes planes de contingencia ambiental que operan en ciudades con altos niveles de ozono.

### 1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana tiene por objeto establecer los valores límites permisibles de concentración de ozono (O<sub>3</sub>) en el aire ambiente para la protección de la salud humana.

1.2 Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y deberá ser la referencia para que las dependencias, organismos e instituciones los apliquen en sus respectivos ámbitos de competencia en las acciones de prevención y control de la contaminación ambiental.

### 2. Referencias

Para la correcta aplicación de esta Norma es conveniente consultar la siguiente Norma Oficial Mexicana:

NOM-036-ECOL/1993, Que establece los métodos de medición para determinar la concentración de ozono en el aire ambiente y los procedimientos para la calibración de los equipos de medición.

### 3. Definiciones, símbolos y abreviaturas

Para los efectos de esta Norma se entiende por:

Definiciones

3.1 Aire ambiente, a la mezcla de elementos y compuestos gaseosos, líquidos y sólidos, orgánicos e inorgánicos, presentes en la atmósfera.

3.2 Partes por millón, a la expresión de la concentración en unidades de volumen del gas contaminante relacionado con el volumen de aire ambiente. Para el ozono su equivalente en unidades de peso por volumen es igual a 1,960 microgramos por metro cúbico, a 25°C de temperatura y con una atmósfera de presión.

3.3 Microgramo por metro cúbico, a la expresión de concentración en masa del contaminante (en microgramos) en un volumen de aire (metro cúbico) a 25°C de temperatura y con una atmósfera de presión.

3.4 Ozono, a la molécula compuesta por tres átomos de oxígeno.

Símbolos y abreviaturas

ppm	partes por millón
(O <sub>3</sub> )	ozono
(###/m <sup>3</sup> )	microgramo por metro cúbico
%	por ciento
°C	grados Celsius

### 4. Especificaciones

Para efectos de protección a la salud de la población más susceptible, se determinó establecer una norma que contempla dos valores:

**4.1** La concentración de ozono, como contaminante atmosférico, debe ser menor o igual a 0.110 ppm, promedio horario, para no ser rebasado una vez al año, calculado como se especifica en el numeral 4.3.1 de esta Norma.

**4.2** La concentración del promedio de ocho horas de ozono, como contaminante atmosférico, debe ser menor o igual a 0.080 ppm, tomado como el quinto máximo, en un periodo de un año, calculado como se especifica en el numeral 4.3.2 de esta Norma.

**4.3** Manejo de datos. En este punto se describe el manejo de los datos para determinar el cumplimiento de la norma mexicana para el ozono en el aire ambiente, en cada uno de los sitios de monitoreo, empleando los métodos descritos en la Norma NOM-036-ECOL-1993.

**4.3.1** Cálculo del promedio de una hora para el límite de 0.110 ppm. Para cada sitio de monitoreo el valor de la concentración horaria de ozono se reportará en partes por millón; si se cuenta con valores de cuatro o más cifras decimales, el valor de la tercera cifra decimal será redondeado (del 1 al 5 no se incrementa, del 6 al 9 se incrementa al inmediato superior). El valor del promedio horario se considerará como válido cuando se calcule con al menos 75% de la hora (45 minutos).

**4.3.1.1** Determinación del cumplimiento del límite de 0.110 ppm. Para determinar el cumplimiento del límite de 0.110 ppm en cada sitio de monitoreo del aire ambiente, se tomarán en cuenta los días que tengan al menos 75% de los valores horarios del día (18 horas). Un sitio cumplirá con la norma cuando cada uno de los valores horarios sea menor o igual a 0.110 ppm. En el caso en el que se cuente con menos de 75% de los valores horarios, se incumplirá la norma cuando uno de los valores horarios sea mayor a 0.110 ppm.

**4.3.2** Cálculo del promedio de ocho horas para el límite de 0.080 ppm. Para cada sitio de monitoreo el valor de la concentración horaria de ozono se reportará en partes por millón hasta la tercera cifra decimal. Si la concentración horaria se reporta con valores de cuatro o más cifras decimales, el valor será redondeado. Para obtener el valor de ocho horas se promediarán los valores horarios de las ocho horas previas continuas, registrando el resultado en la última hora promediada. Este cálculo se aplicará a cada una de las horas del día. Un promedio será considerado válido cuando se haya calculado con al menos 75% de los posibles valores horarios (seis horas). Cuando se tengan menos de ocho horas, el promedio se calculará usando como divisor seis o siete, según sea el caso.

**4.3.2.1** Obtención del promedio máximo diario de ocho horas. Para cada día de muestreo se obtendrán 24 valores, uno por cada hora. Un día será considerado válido cuando cuente con al menos 75% de los 24 valores posibles (18 valores). En caso de tener menos de 75% de los valores, cuando el promedio máximo de ocho horas sea mayor al valor del límite de 0.080 ppm, el día se considerará como válido aun cuando se cuente con menos de 75% de los valores. El promedio máximo diario será el valor promedio más alto registrado durante el día.

**4.3.2.2** Determinación del cumplimiento del límite de 0.080 ppm. Para determinar el cumplimiento del límite en cada sitio de monitoreo del aire ambiente se tomarán únicamente los promedios máximos diarios. Para un año calendario, se obtendrán 365 valores (366 para años bisiestos). Un sitio cumplirá con la norma cuando cuente con más de 75% de los datos válidos (274 datos) y el valor del quinto máximo del año sea menor o igual a 0.080 ppm.

**4.4** Reporte del índice de calidad del aire. Para fines de información al público, el algoritmo del índice de calidad del aire para el ozono deberá calcularse con base en el promedio horario obtenido, como se menciona en el numeral 4.3.1.1 de esta Norma. El promedio de ocho horas de 0.080 ppm no podrá utilizarse como base para calcular dicho índice, ya que su periodo de evaluación es anual.

## **5. Métodos de prueba**

El método de prueba para la determinación de la concentración de ozono en el aire ambiente y el procedimiento para la calibración de los equipos de medición, estaciones o sistemas de monitoreo de la calidad del aire con fines de difusión o cuando los resultados tengan validez oficial, es el establecido en la Norma Oficial Mexicana NOM-036-ECOL-1993, Que establece los métodos de medición para determinar la concentración de ozono en el aire ambiente y los procedimientos para la calibración de los equipos de medición.

## **6. Concordancia con normas internacionales y mexicanas**

Esta Norma no es equivalente a ninguna norma internacional ni mexicana, por no existir referencia al momento de su elaboración.

## **7. Bibliografía**

**7.1** Bates, D. V., y R. Sizto 1983 "Relationship between air pollution levels and hospital admissions in southern Ontario", Can. J. Publ. Health, vol. 74, pp. 117-122.

- 7.2** Bates, D. V., y R. Sizto 1986 "A Study of hospital admissions and air pollutants in southern Ontario", en S. D. Lee, T. Schneider, L. D. Grant, P. J. Verkerk, editores, *Aerosols*, Lewis Pub., Chelsea, pp. 767-777.
- 7.3** Borja-Aburto, V. H., M. Castillejos, D. R. Gold, S. Bierzwinski, D. Loomis 1998 "Mortality and ambient fine particles in southwest Mexico City", *Environ. Health Perspect.*, vol. 106, pp. 849-855.
- 7.4** Brimblecombe, P. 1996 *Air composition & chemistry*, 2a. ed., Cambridge University Press.
- 7.5** Calderón Garcidueñas, L., A. Rodríguez Alcaraz, R. García, L. Ramírez, G. Barragán 1995 "Nasal inflammatory responses in children exposed to a polluted urban atmosphere", *J. Toxicol. Environ. Health*, vol. 45, pp. 427-437.
- 7.6** Castillejos, M., D. Gold, A. Damokosh *et al.* 1995 "Acute effects of ozone on the pulmonary function of exercising schoolchildren from Mexico City", *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, vol. 152, pp. 1501-1507.
- 7.7** Committee on the Epidemiology of Air Pollutants 1985 *Epidemiology on air pollution*, National Academy Press, Washington, D.C.
- 7.8** Gold, D., A. Damokosh, III Pope Arden, D. W. Dockery, W. F. McDonnell, P. Serrano, A. Retama, M. Castillejos 1999 "Particulate and ozone pollution effect on the respiratory function", *Epidemiology*, 10, pp. 8-16.
- 7.9** Hazucha, M. 1987 "Relationship between ozone exposure and pulmonary function changes", *J. Appl. Physiol.*, 62, pp. 1671-1680.
- 7.10** Hernández Garduño, E., J. Pérez-Neria, A. M. Paccagnella, M. A. Piña-García, M. Munguía-Castro, M. Catalán-Vázquez, M. Rojas-Ramos 1997 "Air pollution and respiratory health in Mexico City", *J. Occup. Environ. Med.*, vol. 39, pp. 299-307.
- 7.11** Kinney, P., y H. Özkaynak 1991 "Associations of daily mortality and air pollution in Los Angeles country", *Env. Research*, vol. 54, pp. 99-120.
- 7.12** Koenig, J. Q., D. S. Covert *et al.* 1985 "Acute effects of 0.12 ppm ozone or 0.12 ppm nitrogen dioxide on pulmonary function in healthy and asthmatic adolescents", *Am. Rev. Respir. Dis.*, vol. 132, pp. 648-651.
- 7.13** Loomis, D. P., V. H. Borja-Aburto, S. I. Bangdiwala, C. M. SHY 1996 "Ozone and daily mortality in Mexico City: a time series analysis", *Research Report 75*. Health Effects Institute, Cambridge, Massachusetts.
- 7.14** Loomis, D., M. Castillejos, D. R. Gold, W. McDonnell, V. H. Borja-Aburto 1999 "Air pollution and infant mortality in Mexico City", *Epidemiology*, vol. 10, pp. 118-123.
- 7.15** McDonnell, W. F. III, R. S. Chapman, M. W. Leigh, G. L. Strope y A. M. Collier 1985 "Respiratory responses of vigorously exercising children to 0.12 ppm ozone exposure", *Am. Rev. Respir. Dis.*, 132, pp. 875-879.
- 7.16** Romieu, I., M. Cortés *et al.* 1992 "Air Pollution and school absenteeism among children in Mexico City. 1992", *Am. J. Epidemiol.*, 136, pp. 1524-1531.
- 7.17** Romieu, I., F. Meneses, J. J. Sierra Monge, J. Huerta, S. Ruiz Velasco, M. C. White, R. A. Etzel, M. Hernández Avila 1995 "Effects of urban air pollutants on emergency visits for childhood asthma in Mexico City", *Am. J. Epidemiol.*, vol. 141, pp. 546-553.
- 7.18** Schwartz, J., V. Hasselblad, H. Pitcher 1988 "Air pollution and morbidity: a further analysis of the Los Angeles student nurses data", *Japca*, vol. 38, pp. 158-162.
- 7.19** Schwartz, J., D. Gold, D. W. Dockery, S. T. Weiss, F. E. Speizer 1990 "Predictors of asthma and persistent wheeze in a national sample of children in the United States: association with social class, perinatal events and race", *Am. Rev. Resp. Dis.*, vol. 142, pp. 555-562.
- 7.20** Secretaría de Salud (SSA), Programa Nacional de Salud 2001-2006.
- 7.21** Secretaría del Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), Programa Nacional de Medio Ambiente 2001-2006.
- 7.22** Spektor, D. M., M. Lippmann, P. J. Lioy, G. D. Thurston, K. Citak, D. J. James, N. Bocic, F. E. Speizer y C. Hayes 1988 "Effects of ambient ozone on respiratory function in active normal children", *Am. Rev. Respir. Dis.*, 137, pp. 313-320.
- 7.23** Tepper, J. S., D. L. Costa, D. Doerfler, J. R. Lehmann, M. A. Stevens, M. C. Maddern 1994 "The relative contribution of concentration and duration to ozone (O<sub>3</sub>)-induced lung injury", *Fundam. Appl. Toxicol.*, enviado.
- 7.24** Thurston, G. D., K. Ito, C. G. Hayes, D. V. Bates, M. Lippmann 1994 "Respiratory Hospital Admissions and summertime haze air pollution in Toronto, Ontario: consideration the role of acid aerosols", *Environ. Res.*, vol. 65, pp. 271-290.

**7.25** U. S. Environmental Protection Agency 1997 40 CFR Part 50 National Ambient Air Quality Standards for Ozone; Final Rule. Federal Register, vol. 62, núm. 138. U.S.A., pp. 38856-38896.

**7.26** Weiss, K. B., D. K. Wagener 1990 "Changing patterns of asthma mortality: identifying target populations at high risk", J Am. Med. Assoc., vol. 264, pp. 1683-1687.

#### **8. Observancia de la Norma**

La vigilancia del cumplimiento de la presente Norma compete a la Secretaría de Salud y a los gobiernos de los estados en sus respectivos ámbitos de competencia.

#### **9. Vigencia**

**9.1** La presente Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-1993 entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

**9.2** Dentro del plazo de 180 días naturales posteriores a la publicación de esta Modificación a la Norma Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-1993, los gobiernos de las entidades federativas propondrán los planes para la verificación periódica, seguimiento y control de los valores establecidos.

México, D.F., a 1 de agosto de 2002.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **Ernesto Enríquez Rubio**.- Rúbrica.

PROYECTO de Norma Oficial Mexicana NOM-024-SSA1-1993, Salud Ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire, partículas suspendidas totales (PST). Valor permisible para la concentración de partículas suspendidas totales en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.- Subsecretaría de Regulación y Fomento Sanitario.

PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-024-SSA1-1993, SALUD AMBIENTAL. CRITERIO PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AIRE, PARTÍCULAS SUSPENDIDAS TOTALES (PST). VALOR PERMISIBLE PARA LA CONCENTRACION DE PARTICULAS SUSPENDIDAS TOTALES EN EL AIRE AMBIENTE, COMO MEDIDA DE PROTECCION A LA SALUD DE LA POBLACION.

#### COMITE CONSULTIVO NACIONAL DE NORMALIZACION DE REGULACION Y FOMENTO SANITARIO

MERCEDES JUAN LOPEZ, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal, 38 fracción II, 45, 46 fracción II y 47 de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, me permito ordenar la publicación en el Diario Oficial de la Federación del proyecto de norma oficial mexicana NOM-024-SSA1-1993, Salud Ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire, partículas suspendidas totales. Valor criterio permisible para partículas suspendidas totales en el aire ambiente como medida de protección a la salud de la población.

El presente proyecto de norma oficial mexicana se publica a efecto de que los interesados dentro de los siguientes 90 días naturales, contados a partir de la fecha de su publicación, presenten sus comentarios ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, sito en Lieja número 7, 1er. piso, colonia Juárez, código postal 06696, México, D.F.

Durante el plazo mencionado, los análisis que sirvieron de base para la elaboración del proyecto de norma estarán a disposición del público para su consulta en el domicilio del Comité.

México, Distrito Federal, a siete de diciembre de mil novecientos noventa y tres.

#### PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-024-SSA1-1993

SALUD AMBIENTAL. CRITERIO PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AIRE, PARTICULAS SUSPENDIDAS TOTALES. VALOR PERMISIBLE PARA LA CONCENTRACION DE PARTICULAS SUSPENDIDAS TOTALES EN EL AIRE AMBIENTE, COMO MEDIDA DE PROTECCION A LA SALUD DE LA POBLACION

#### 0 INTRODUCCION

El Plan Nacional de Desarrollo 1989 - 1994, señala que la contaminación atmosférica ha sido producto del proceso de la industrialización, así como de las grandes concentraciones urbanas, primordialmente por la emisión de humos, polvos y gases provenientes de fuentes móviles y fijas. Para prevenir, restablecer y mantener la calidad de aire, se realizarán acciones para reducir la emisión de contaminantes.

La Ley General de Salud, contempla que en materia de Efectos del Ambiente en la Salud, las autoridades sanitarias establecerán las normas, tomarán medidas y realizarán las actividades a que se refiere esta Ley tendientes a la protección de la salud humana ante los riesgos y daños dependientes de las condiciones del ambiente, así como determinar, para los contaminantes atmosféricos, los valores de concentración máxima permisible para el ser humano.

La Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en materia de Prevención y Control de la Contaminación de la Atmósfera, señalan que la calidad del aire debe ser satisfactoria en todos los asentamientos humanos y regiones del país, y que la Secretaría de Desarrollo Social, expedirá, en coordinación con la Secretaría de Salud en lo referente a la salud humana, las normas oficiales mexicanas correspondientes, especificando los niveles permisibles de emisión e inmisión por contaminante y por fuente de contaminación, de acuerdo con el reglamento respectivo.

El Programa Nacional para la Protección del Medio Ambiente 1990 - 1994 dicta que en materia de Protección al Ambiente se cuente con los conocimientos científicos y técnicos que permitan incorporar en los procesos productivos, tecnologías que reduzcan al mínimo el impacto sobre el medio ambiente, así como definir e incluir criterios ecológicos para regular y optimizar las actividades productivas.

Como Partículas Suspensas Totales se considera a la contaminación del aire provocada por material sólido o líquido finamente particulado.

Son producto de una gran cantidad de procesos naturales o antropogénicos y consecuentemente el riesgo que constituyen depende de algunas de sus múltiples características por un lado y por otro su constitución específica, pero más en la capacidad de absorber elementos adicionales y aun la posibilidad de absorción de elementos xenobióticos.

Se les considera capaces de bloquear los mecanismos de defensa del aparato respiratorio, tanto a nivel de vías aéreas superiores como en bronquios y en alveolos.

Por su contenido de metales pesados, si es el caso, dan lugar a los cuadros específicos correspondientes (plomo, cadmio.)

Se asocian con mucha frecuencia con elementos ácidos con los que se sinergiza su efecto dañino potencial y finalmente pueden acarrear elementos biológicos que van desde pólenes hasta bacterias, hongos y virus.

El riesgo sanitario lo constituyen aparte de su concentración y tiempo de exposición, las características propias descritas y los individuos susceptibles por excelencia son aquéllos que son portadores de una enfermedad respiratoria crónica que haya dado lugar principalmente a daños del sistema mucociliar.

Los valores criterio de calidad del aire, establecen límites sobre concentraciones de diversos contaminantes, con base en la protección de la salud de la población, iniciando con la más susceptible, y son parámetros de vigilancia de la calidad del aire ambiente. Establecen la referencia para la formulación de programas de control y evaluación de los mismos.

SALUD AMBIENTAL. CRITERIO PARA EVALUAR LA CALIDAD DEL AIRE, PARTICULAS SUSPENDIDAS TOTALES. VALOR PERMISIBLE PARA LA CONCENTRACION DE PARTICULAS SUSPENDIDAS TOTALES EN EL AIRE AMBIENTE, COMO MEDIDA DE PROTECCION A LA SALUD DE LA POBLACION

#### 1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION

##### 1.1 OBJETIVO

Esta norma oficial mexicana establece el valor permisible para la concentración de partículas suspendidas totales en el aire ambiente.

##### 1.2 CAMPO DE APLICACION

Aplicable en todo el territorio mexicano.

Aplicable en las políticas de saneamiento ambiental en lo referente a la salud humana.

Aplicable en actividades o situaciones ambientales que causen o puedan causar riesgos o daños a la salud de las personas.

Aplicable para el desarrollo de investigación permanente y sistemática de los riesgos y daños que, para la salud de la población, origine la contaminación ambiental por partículas suspendidas totales.

#### 2 REFERENCIAS

Esta norma se complementa con la Norma Oficial Mexicana:

NOM-CCAM-002-ECOL/1993, que establece los métodos de medición para determinar la concentración de partículas suspendidas totales en el aire ambiente y los procedimientos para la calibración de los equipos de medición.

### 3 DEFINICIONES

- 3.1 Aire ambiente  
Atmósfera en espacio abierto
- 3.2  $\mu\text{g}/\text{m}^3$   
microgramos por metro cúbico

### 4 ESPECIFICACIONES

Las partículas suspendidas totales, como contaminante atmosférico, no deben rebasar el límite máximo permisible de 260  $\mu\text{g}/\text{m}^3$ , en 24 horas, en un periodo de un año y 75  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  en una media geométrica anual, para protección a la salud de la población susceptible.

### 5 METODOS DE PRUEBA

NOM-CCAM-002-ECOL/1993, que establece los métodos de medición para determinar la concentración de partículas suspendidas totales en el aire ambiente y los procedimientos para la calibración de los equipos de medición.

### 6 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta norma no tiene concordancia con normas internacionales.

### 7 BIBLIOGRAFIA

Sulfur dioxide and particulate matter. Air Quality Guidelines for Europe. WHO regional publications. European series; No. 23 ISBN 92-890-1114-9, 338-360, 1987.

U.S. Environmental Protection Agency (1982) Air Quality Criteria Document for Particulate Matter and Sulfur Oxides. Research Triangle Park, N.C. Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office; EPA Volume I report no. EPA 600/8-82-029 a.

U.S. Environmental Protection Agency (1982) Air Quality Criteria Document for Particulate Matter and Sulfur Oxides. Research Triangle Park, N.C. Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office; EPA Volume II report no. EPA 600/8-82-029 b.

U.S. Environmental Protection Agency (1982) Air Quality Criteria Document for Particulate Matter and Sulfur Oxides. Research Triangle Park, N.C. Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office; EPA Volume III report no. EPA 600/8-82-029 c.

U.S. Environmental Protection Agency (1986) Second Addendum to Air Quality Criteria Document for Particulate Matter and Sulfur Oxides (1982): Assessment of Newly Available Health Effects Information. Research Triangle Park, N.C. Office of Health and Environmental Assessment, Environmental Criteria and Assessment Office; EPA report no. EPA 600/8-86-020 F.

Efectos del ambiente en la salud. Capítulo IV, Ley General de Salud, D.O.F. febrero de 1984, 56-57.

Plan Nacional de Desarrollo 1989-1994. D. O. F. Mayo de 1989. 56-57.

Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en materia de Prevención y Control de la Contaminación de la Atmósfera. D.O.F. enero de 1988.

Rivero S.O. y Cols. Contaminación atmosférica y enfermedad respiratoria. Biblioteca de la Salud. 1993.

Urban Air Pollution in Megacities of the World. Blackwell. WHO/UNEP.

### 8 OBSERVANCIA DE LA NORMA

Esta norma oficial mexicana es de observancia para las autoridades federales y locales, que tengan a su cargo la vigilancia y evaluación de la calidad del aire, con fines de protección a la salud de la población.

La Secretaría de Salud es la autoridad competente para vigilar, en coordinación con la Secretaría de Desarrollo Social y demás autoridades competentes, el cumplimiento de la presente norma oficial mexicana.

La revisión de la presente norma oficial mexicana deberá realizarse con periodicidad trianual.

En la Ciudad de México, Distrito Federal, siendo el décimo sexto día del mes de diciembre de mil novecientos noventa y tres, el suscrito Director de Legislación y Consulta de la Dirección General de Asuntos Jurídicos de la Secretaría de Salud, Ignacio Ibarra Espinosa con fundamento en lo dispuesto por los artículos 10 fracción XVII del Reglamento Interior de esta Secretaría y tercero del Acuerdo Secretarial número 57, CERTIFICA: que el presente Proyecto de Norma Oficial Mexicana es copia fiel de su original que se encuentra en los archivos de esta Dirección General.- Conste.- Rúbrica.