



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Instituto de Investigaciones Biomédicas

EFFECTO ADVERSO DE LA CONTAMINACIÓN DEL
AIRE SOBRE LA FUNCIÓN OLFATIVA Y LA
SENSIBILIDAD TRIGEMINAL NASAL

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)**

P R E S E N T A

MARCO ANTONIO GUARNEROS RONIGER

DIRECTORA DE TESIS: DRA. ROBYN ELIZABETH HUDSON

MÉXICO, D.F.

NOVIEMBRE, 2009



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.

Dr. Isidro Ávila Martínez
Director General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 14 de septiembre de 2009, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)** del alumno **GUARNEROS RONIGER MARCO ANTONIO** con número de cuenta **99128449** con la tesis titulada **"EFECTO ADVERSO DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE SOBRE LA FUNCIÓN OLFATIVA Y LA SENSIBILIDAD TRIGEMINAL NASAL"**, realizada bajo la dirección de la **DRA. ROBYN ELIZABETH HUDSON**:

Presidente: DR. OSCAR PROSPÉRO GARCÍA
Vocal: DRA. MAHARA VALVERDE RODRÍGUEZ
Secretario: DRA. ROBYN ELIZABETH HUDSON
Suplente: DR. GABRIEL ROLDÁN ROLDÁN
Suplente: DR. ROMÁN VIDAL TAMAYO

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

Atentamente
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, D.F., a 13 de octubre de 2009.


Dr. Juan Nuñez Farfán
Coordinador del Programa

Agradecimientos

Primeramente, al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM.

Al CONACYT por la beca de maestría (CVU228879) que recibí durante el periodo del semestre 2008-1 al 2009-2.

Al Programa de Apoyo a los Estudios de Posgrado (PAEP) por el financiamiento para una estancia en la Universidad de Dresde, Alemania en 2008, y también por el apoyo para asistir al Summer School on Human Olfaction, 2009 en la misma universidad.

A los miembros de mi comité tutorial Dra. Robyn E. Hudson, Dr. René Drucker Colín y Dr. Emilio Rojas del Castillo por todo el apoyo académico durante la maestría.

Agradecimientos a título personal

A Robyn Hudson, mi maestra, por las horas de trabajo y por las anécdotas. Por ayudar a resolver las dificultades a medida que se presentaban y por enseñarme a responder con los recursos disponibles. Por guiar el camino y hacerlo más eficiente, rápido, interesante, placentero, divertido. Por sus consejos sobre cómo manejar las relaciones de trabajo, y por despertar, estimular y enseñar a usar la creatividad.

A René Drucker por el generoso apoyo que me ha brindado desde que hace siete años me dio la oportunidad de tener mis primeros acercamientos con la investigación científica.

A Emilio Rojas por su constante disposición para contribuir al proyecto como miembro de mi comité tutorial. Por los comentarios y por el tiempo invertido como revisor del proyecto.

A Thomas Hummel, mi tutor a distancia, por hacerme conocer diferentes técnicas útiles del área, y por todo su apoyo durante mi estancia en Alemania y durante el curso de olfato humano. Por las charlas y las cervezas que en más de una ocasión tuvo a bien invitarnos a mí y a sus otros estudiantes.

A Oscar Próspero, Román Vidal, Gabriel Roldán y Mahara Valverde por la revisión de la tesis y por sus comentarios y sugerencias.

A José Esquivelzeta por ayudar en la edición de imágenes y en el uso del programa de estadística.

A Alejandra Contreras por haber sido mi principal apoyo para conseguir voluntarios para las pruebas olfativas en el DF, y por haber asistido varias de las pruebas.

A mi papá por toda la ayuda con las figuras de la tesis.

A Carolina Rojas Castañeda por la asistencia técnica.

A Marina Leal (Betty) y a Luisa T Molina del Centro Molina para la Energía y el Medio Ambiente por darme la oportunidad de participar en sus proyectos, y también a Chayo, Marisa, Angélica y Adela del Instituto Nacional de Ecología por todos los buenos momentos.

A María Teresa Torres Peralta, quizás la persona más eficiente que yo haya conocido, por todo su apoyo y amabilidad.

A Rhys Tom del World Resources Institute por el video que, junto con su equipo, realizó sobre mi proyecto de tesis.

A Hans Distel por sus comentarios en el artículo que surgió a partir de esta tesis.

A Cecilia Cuautianquiz, y Dora Luz Corona Quintanilla por su hospitalidad en Tlaxcala; por haberme ofrecido sus casas y su ayuda para conseguir voluntarios para las pruebas.

A Lourdes Arteaga y Margarita Martínez Gómez por haberme facilitado las instalaciones del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta para que pudiera realizar mis experimentos.

A Beatriz Vera Cano, Blanca Huerta, Lilia Judith Espinosa, Lilia Jiménez Solís y María de Jesús Sánchez Salazar, porque gracias a ellas los trámites fueron más fáciles y soportables, y eso se valora mucho.

A Ana María Sánchez Mora y a Ana Luisa Guzmán por el excelente curso de redacción que mucho me sirvió para escribir esta tesis.

A Luis de Pablo, Alva Sánchez, Nacho Lozano, Lorena Sánchez, Jovan Vite, Gina Raihani y mi hermana Daniela por sus comentarios en el texto.

A todos mis amigos y amigos de amigos que fueron sujetos de las pruebas.

Al Instituto de Ciencia y Tecnología del Gobierno del Distrito Federal por permitirme los espacios y recursos para dar las pláticas sobre mi proyecto.

A mi familia por todo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
Contaminación del aire.....	3
<i>Contaminación del aire en las grandes ciudades</i>	3
<i>Contaminación del aire en la Ciudad de México</i>	4
<i>Efectos de la contaminación del aire en la salud</i>	5
El sistema olfativo.....	7
<i>Anatomía y fisiología del sistema olfativo</i>	7
<i>Alteraciones funcionales del olfato</i>	10
El sistema trigeminal intranasal	10
<i>Anatomía y fisiología del sistema trigeminal intranasal</i>	11
Efectos de los agentes tóxicos ambientales en el sistema olfativo y en el sistema trigeminal intranasal	12
<i>Daños en el tejido de la cavidad nasal</i>	12
<i>Efectos en la percepción de estímulos olfativos y trigeminales</i>	14
ANTECEDENTES	16
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
OBJETIVO	19
PREDICCIONES	19
MÉTODOS	20
Áreas de estudio	20
Sujetos	21
Lineamientos éticos.....	21
Procedimiento de las pruebas.....	21
<i>Desempeño olfativo</i>	22
<i>Sensibilidad trigeminal intranasal</i>	26
Tratamiento y análisis de los datos	27
RESULTADOS	28
Desempeño olfativo.....	28
Sensibilidad trigeminal intranasal	29
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	31
ANEXOS	35
Anexo I. Estándares de calidad del aire ambiental.....	36
Anexo II. Principales fuentes de contaminantes atmosféricos en México	37
Anexo III. Inventario de Emisiones	38
Anexo IV. Carta de consentimiento informado	40
Anexo V. Cuestionario.....	42
Anexo VI. Ejemplo de hoja de registro de la prueba olfativa	43
Anexo VII. Hoja de registro de la prueba de sensibilidad trigeminal	44
Anexo VIII. Detalle de los resultados de la prueba de discriminación	45
Anexo IX. Detalle de los resultados de la prueba de identificación	46
REFERENCIAS	47

RESUMEN

Se sabe poco acerca de los efectos de la contaminación del aire de las grandes ciudades sobre la función olfativa, y menos aún acerca de los efectos en el sistema trigeminal intranasal. Éste se encarga de producir sensaciones tales como quemantes, picantes, de escozor y de frescura y con ello contribuye a la experiencia quimiosensorial completa. Usando pruebas psicofísicas estandarizadas para evaluar el olfato y la percepción trigeminal intranasal, comparamos el desempeño olfativo y la sensibilidad trigeminal de residentes de la Ciudad de México, una región con altos niveles de contaminación del aire, con el desempeño de una población control del estado de Tlaxcala, una región geográficamente comparable pero menos contaminada. Comparamos la habilidad de 30 sujetos adultos (15 hombres y 15 mujeres) de cada locación para detectar el olor de rosas (2-fenil etanol) para discriminar entre diferentes olores y para identificar otros olores comunes. Los sujetos control de Tlaxcala detectaron el 2-fenil etanol a concentraciones significativamente más bajas que los sujetos de la Ciudad de México y tuvieron mejores resultados en la discriminación de olores. Los sujetos del grupo control también superaron a los sujetos de la Ciudad de México en la prueba de sensibilidad trigeminal. Concluimos que, incluso en adultos jóvenes y saludables, la contaminación del aire de la Ciudad de México deteriora la función olfativa y la sensibilidad trigeminal intranasal.

ABSTRACT

Little is known about the effect of big city air pollution on olfactory function, and even less about its effects on the intranasal trigeminal system, which elicits sensations like burning, stinging, pungent or fresh, and contributes to the overall chemosensory experience. Using well established psychophysical olfactory and trigeminal tests, we compared the olfactory performance and trigeminal sensitivity of residents of Mexico City, a region with high air pollution, with the performance of a control population from the Mexican state of Tlaxcala, a geographically comparable but less polluted region. We compared the ability of 30 young adults (15 men and 15 women) from each location to detect the odor of roses (2-phenyl ethanol), to discriminate between different odorants and to identify several other common odorants. The control subjects from Tlaxcala detected 2-phenyl ethanol at significantly lower concentrations than the Mexico City subjects and could discriminate between odorants better. The control subjects also outperformed the Mexico City subjects in the test of trigeminal sensitivity. We conclude that even in otherwise healthy young adults, Mexico City air pollution impairs olfactory function and intranasal trigeminal sensitivity.

INTRODUCCIÓN

Contaminación del aire

Contaminación del aire en las grandes ciudades

El desarrollo económico, la urbanización, el consumo de energía, el transporte y el rápido crecimiento de la población son los principales factores que agravan la contaminación del aire en las grandes ciudades (Chen y Kan 2008). Alrededor del año 1800, 3% de la población mundial vivía en áreas urbanas (Salas 1981); hoy estas áreas concentran cerca de la mitad de la población del mundo. Muchos de estos centros urbanos se han convertido en megaciudades, las cuales están definidas como áreas metropolitanas con poblaciones que exceden los 10 millones de habitantes. Estas concentraciones de personas están generando cada vez más presión sobre el ambiente natural, con impactos negativos sustanciales a nivel urbano, regional y global (Decker et al. 2002; revisado en Molina y Molina 2004a, b).

Se entiende por contaminación del aire cualquier alteración de las condiciones de la atmósfera por la presencia de sustancias que se encuentran a una concentración suficiente para causar daño en seres humanos, animales, vegetación y materiales (Buell y Girard 2003). Inicialmente, los contaminantes atmosféricos de mayor preocupación eran compuestos azufrados, los cuales eran generados principalmente por la quema de carbón; sin embargo, el *smog* fotoquímico, proveniente principalmente de emisiones vehiculares y de actividades industriales, se ha convertido en la principal amenaza para la calidad del aire (Romieu et al. 1991; Ezcurra y Mazari-Hiriart 1996; Ghose et al. 2004; Goyal et al. 2006).

En general, existe una tendencia mundial a la reducción de las concentraciones de contaminantes dadas las restricciones cada vez más fuertes impuestas por organizaciones internacionales y por los gobiernos nacionales y locales (De Leo et al. 2001); sin embargo, en las ciudades de países en desarrollo, los niveles de contaminación exceden los lineamientos de calidad del aire recomendados internacionalmente (Baldasano et al. 2003), como es el caso de las grandes ciudades latinoamericanas (Romieu et al. 1991; Lacasaña-Navarro et al. 2000; Bell et al. 2006; O'Neill et al. 2008) (Anexo I).

Contaminación del aire en la Ciudad de México

En la década de 1980, la capital mexicana se había convertido en una de las regiones urbanas más contaminadas del mundo: se excedían continuamente los estándares establecidos de calidad del aire de todos los contaminantes criterio, que son aquéllos para los que (por tener efectos adversos en los humanos, plantas y ciertos materiales) se han establecido concentraciones límites aceptables con el afán de proteger la salud y el bienestar de la población (revisado en Molina y Molina 2002, 2004a).

A partir de diciembre de 1994, la Secretaría de Salud del Gobierno de México estableció las normas oficiales mexicanas para la evaluación de la calidad del aire con respecto al ozono (NOM-020-SSA1-1993), dióxido de nitrógeno (NOM-023-SSA1-1993), dióxido de azufre (NOM-022-SSA1-1993), monóxido de carbono (NOM-021-SSA1-1993), partículas suspendidas (NOM-024-SSA1-1993) y plomo (NOM-026-SSA1-1993). Estas normas de calidad del aire establecen los niveles máximos permisibles de concentraciones de los contaminantes para garantizar la protección de la salud de la población (Anexo I).

En 32 sedes específicas de la Ciudad de México existen sistemas que monitorean la calidad del aire y proporcionan las concentraciones de los principales contaminantes atmosféricos. Estos sistemas indican que los habitantes de la ciudad han estado expuestos a concentraciones elevadas de contaminantes atmosféricos, tales como PM10 (partículas de hasta 10 micras), PM2.5 (partículas de hasta 2.5 micras), monóxido de carbono (CO), ozono (O₃), dióxido de nitrógeno (NO₂), dióxido de azufre (SO₂) e hidrocarburos, pues las fuentes de estos contaminantes son precisamente actividades que comúnmente se llevan a cabo en la ciudad (Instituto Nacional de Ecología 2006a) (Anexo II).

En el año 1900, la población de la Ciudad de México era de tan solo 345 mil habitantes, y desde entonces ha aumentado de forma desorbitada (Camposortega-Cruz 1991); hoy tiene cerca de 20 millones de residentes, cifra que representa el 19% del total nacional. Además, “goza” de un parque vehicular de más de 3.5 millones de vehículos automotores y 52 mil industrias que en conjunto consumen diariamente 49 millones de litros de combustible, lo que genera una enorme concentración de

diferentes agentes tóxicos atmosféricos como el ozono (Secretaría de Medio Ambiente, Gobierno del Distrito Federal 2008).

Los niveles de contaminación en la Ciudad de México varían dependiendo de la época del año. Durante la temporada de lluvias, que se presenta desde mediados de mayo hasta octubre, las nubes inhiben las reacciones que proceden por la absorción de la luz del sol. Además, el agua de lluvia remueve muchos contaminantes, de modo que los episodios de altas concentraciones de ozono y de otras emisiones son menos frecuentes (Secretaría de Medio Ambiente, Gobierno del Distrito Federal 2008).

La cuenca donde se ubica la Ciudad de México presenta valles montañosos, mesetas, cañadas y terrenos semiplanos, así como prominencias topográficas aisladas como el Cerro de la Estrella y algunas sierras. Estas características geográficas propician el estancamiento de los contaminantes. Por otro lado, la gran altitud a la que se encuentra la ciudad ocasiona que los procesos de combustión operen deficientemente y emitan una mayor cantidad de contaminantes a la atmósfera, esto como consecuencia del bajo contenido de oxígeno del aire, el cual es aproximadamente 23% menor que a nivel del mar (Secretaría de Medio Ambiente, Gobierno del Distrito Federal 2008). La altitud tiene además un efecto fisiológico, con una consecuencia directa en la salud respiratoria: debido a que a grandes altitudes se necesita inhalar más aire para obtener una cantidad equivalente de oxígeno, una mayor dosis de contaminantes atmosféricos también son inhalados. Por lo tanto, para cualquier concentración de contaminantes en la atmósfera, a mayores altitudes, las personas son más susceptibles a inhalar más y ser más gravemente afectadas por los malestares respiratorios (Garza 1996).

Efectos de la contaminación del aire en la salud

La evidencia internacional en cuanto a la asociación entre contaminación del aire y efectos en la salud ha sido contundente, sobre todo cuando las concentraciones de contaminantes exceden los valores límite permisibles (Romieu et al.1991; Molina y Molina 2004a). De hecho, los estudios epidemiológicos realizados en la última década en más de 100 ciudades en el mundo han proporcionado los fundamentos para la revisión de las normas de calidad del aire en los Estados Unidos, Europa y México. Los

resultados de dichos estudios han sido valiosos para desarrollar evaluaciones de impacto y de costo-beneficio fundamentales para la toma de decisiones en materia de gestión de la calidad del aire (Instituto Nacional de Ecología 2007).

Los toxicólogos usualmente dividen las exposiciones en cuatro categorías:(1) aguda – exposición por menos de 24 horas, (2) subaguda – por un mes o menos, (3) subcrónica – por 1-3 meses, y (4) crónica – por más de tres meses. Los efectos directos en los humanos de la contaminación del aire varían de acuerdo con la intensidad y la duración de la exposición, y también de acuerdo con el estado de salud de la población expuesta (Eaton y Klassen 2001).

Existe una gran cantidad de estudios sobre los efectos de la contaminación del aire en la salud, sobre todo en aquellos grupos poblacionales que son más susceptibles: los niños, las personas de la tercera edad y los asmáticos (revisado en Rosales-Castillo et al. 2001). Entre los muchos problemas que se han asociado a la contaminación del aire, se han reportado daños a la piel (Goldsmith 1996), a los ojos (Versura et al. 1999), manifestaciones alérgicas (Schierhorn et al. 1999), aumento en los niveles de ansiedad (Evans et al. 1988), efectos negativos en la memoria a largo plazo (Rivas-Arancibia et al. 1998), desarrollo de procesos degenerativos del sistema nervioso como la enfermedad de Alzheimer (Calderón-Garcidueñas et al. 2004) y otras relacionadas con la conducta locomotora (Rivas-Arancibia et al. 2003), así como una serie de daños en el sistema cardiovascular que incluye problemas en el miocardio, deficiencias en el sistema de vasoconstricción y ataques cardíacos (Bhatnagar 2006; Zanobetti y Schwartz 2006). Por todo esto, la contaminación del aire está relacionada con los índices de hospitalización (Zanobetti y Schwartz 2006) y de mortalidad (Loomis et al. 1996). Sin embargo, son los daños al sistema respiratorio los que parecen haber llamado más la atención en el mundo clínico y epidemiológico (Calderón-Garcidueñas et al. 2000a, 2001a).

La exposición a agentes tóxicos ambientales, aún a niveles por debajo de los límites que establecen las normas, juegan un papel importante en manifestaciones de enfermedades respiratorias (Lippmann 1989). El daño al sistema respiratorio puede incluso afectar los bronquios y los bronquiolos, producir inflamación crónica del parénquima pulmonar, crecimiento anormal del pulmón, retraso en la maduración de los

pulmones y formación de edemas alveolares (acumulación de líquido en el pulmón). También es preocupante el posible incremento en la frecuencia de enfermedades de pulmón en poblaciones de niños expuestos al ambiente de la Ciudad de México, pues éstos tienen un riesgo potencial de desarrollar enfermedades pulmonares crónicas en su vida futura (Calderón-Garcidueñas et al. 2000b, 2001a, 2003a).

El sistema olfativo

Anatomía y fisiología del sistema olfativo

El sistema olfativo es el sistema sensorial que se encarga de la percepción de los olores, y se compone por el epitelio olfativo (ubicado en la parte más interna de la cavidad nasal), el primer par craneal, los bulbos y los tractos olfatorios (que forman parte del cerebro) y numerosas conexiones y vías intracraneales (Hornung 2006).

El epitelio olfativo cuenta con células sensoriales que tienen receptores capaces de unirse a varias moléculas odoríferas (sustancias que percibimos como olores). Del mismo modo, cada una de estas moléculas odoríferas puede unirse con diferentes tipos de receptores (Lancet 1986; Trasguerres 1992). Las células sensoriales son neuronas bipolares que envían una dendrita hacia la superficie de la mucosa y un axón que proyecta al bulbo olfatorio (Figura 1). La dendrita termina en un botón olfativo de donde nacen de 10 a 20 cilios (Lancet 1986; Morrison y Moran 1995; Guyton y Hall 1997), que contienen en sus membranas proteínas receptoras a las cuales se unen las moléculas odoríferas (Morrison y Costanzo 1990; Menco y Morrison 2003). Estas moléculas, al ser difundidas por la mucosa a los cilios, estimulan a los receptores (Shepherd 1994). La información olfativa es enviada por los axones de las neuronas sensoriales hacia el bulbo olfatorio y, mediante conexiones a otras estructuras cerebrales centrales, se produce la percepción del olor en el individuo (Hudson 2000).

Además de las células sensoriales, el epitelio olfativo tiene células basales y células de sostén. Las células basales son progenitoras de las neuronas sensoriales olfativas (Trasguerres 1992; Morrison y Moran 1995), mientras que las células de sostén son células alargadas que dan soporte a la estructura epitelial y contribuyen a la secreción de moco junto con las glándulas olfativas de Bowman. El moco permite la lubricación y protección del epitelio contra agentes patógenos y elementos tóxicos

ambientales, y permite la difusión de las moléculas odoríferas hacia los receptores olfativos (Morrison y Costanzo 1990; Cone y Shusterman 1991; Trasguerres 1992; Morrison y Moran 1995; Menco y Morrison 2003).



Figura 1. Localización de las células receptoras de las moléculas odoríferas y del bulbo olfatorio

Las respuestas evocadas por los olores son inicialmente conducidas desde las neuronas sensoriales del epitelio olfativo hacia el bulbo olfatorio, en donde los axones se dirigen hacia glomérulos discretos (Wilson y Sullivan 2003). Los axones de las células mitrales y de las células en penacho de cada bulbo se fusionan para formar los tractos laterales olfatorios, llamados así por haber uno en cada lado (Price 1973, De Olmos et al. 1978). Los principales blancos del tracto incluyen la corteza piriforme, la amígdala y la corteza entorrinal rostral, que están sustancialmente interconectadas mediante sistemas de fibras intracorticales de asociación (Millhouse y Heimer 1984). Las proyecciones de más alto orden emergen de cada una de estas estructuras y convergen en la corteza orbitofrontal, la ínsula agranular y otros subnúcleos del tálamo, hipotálamo, ganglios basales e hipocampo (Haberly 1998). En conjunto, esta red compleja de conexiones provee la base para la regulación guiada por olores de la conducta, alimentación, emoción, estados autonómicos y memoria (Carmichael et al. 1994).

La percepción olfativa humana es sorprendente, incluso mejor que la de otros mamíferos. Una comparación de los umbrales olfativos de detección en varias especies de mamíferos indica que para algunos compuestos monomoleculares los umbrales humanos son menores (más sensibles) que los umbrales correspondientes en ratas y en primates no humanos (Laska y Seibt 2002). Notablemente, el umbral de detección para muchos olores se encuentra en el rango de partes por billón (Devos et al. 1990). Mediante elegantes estudios psicofísicos realizados por Laska y Teubner (1999), Laska et al. (2000), Laska y Hubener (2001) y Laska y Seibt (2002) se ha mostrado que los humanos pueden discriminar bien entre dos olores que difieren en un solo componente molecular. Por ejemplo, los miembros de nuestra especie no tienen problemas para distinguir aldehídos alifáticos de cadenas de 4 vs. 5 carbonos de longitud (Laska y Teubner 1999). Finalmente, se estima que podemos distinguir miles de olores diferentes. Y si bien tales habilidades de discriminación no son equiparables a las habilidades verbales (Cain 1979), esto no invalida la idea de que la percepción olfativa es altamente sensible y específica.

Las neuronas receptoras olfatorias que expresan un mismo tipo de receptor proyectan a los mismos glomérulos en el bulbo olfatorio. Los patrones de actividad detectados en los glomérulos son únicos para los diferentes olores. Estos patrones de actividad son decodificados en estructuras superiores del cerebro como una calidad de olor particular (Johnson y Leon 2000). La vasta mayoría de los aromas a los que estamos expuestos en la vida cotidiana son, de hecho, mezclas complejas de decenas, cientos o incluso miles de sustancias químicas volátiles individuales. Cabe mencionar que nuestro conocimiento sobre cómo estos estímulos complejos son decodificados en un solo "aroma" es todavía muy limitado (Jinks y Laing 1999; Jinks y Laing 2001; Rawson y Yee 2006).

Alteraciones funcionales del olfato

La pérdida total de las capacidades olfativas se denomina anosmia. Ésta puede ocurrir después de traumatismos craneales dado que el movimiento del cerebro puede provocar que se seccionen los finos nervios olfatorios que atraviesan la lámina cribosa (Costanzo y Miwa 2006). La anosmia temporal puede ocurrir por la acción de sustancias tóxicas o por daño en la cavidad nasal debido a procesos inflamatorios como la rinitis o la sinusitis (Raviv y Kern 2006).

Por otro lado, el término hiposmia se refiere a la disminución de las capacidades olfativas. La hiposmia se observa típicamente cuando existen infecciones virales, o bien por exposición a agentes tóxicos ambientales. Esto ocurre porque ante una infección, lo mismo que en ambientes de exposición crónica a sustancias tóxicas, el reemplazo de las neuronas receptoras se encuentra disminuido, lo que reduce la capacidad olfativa (Halpern 1982; Welge-Lüssen y Wolfensberger 2006). La mayoría de las personas por encima de 80 años presentan cierto grado de hiposmia, pues existe un decremento de las capacidades olfativas asociado a la edad (Doty et al. 1984).

El sistema trigeminal intranasal

Lo que comúnmente se conoce como sentido del olfato está compuesto por múltiples sensaciones mediadas predominantemente por dos vías neurales independientes: el sistema olfativo propiamente dicho y el somatosensorial (trigeminal) (Hudson et al. 1994; Laska et al. 1997). Pocos estimulantes quimiosensoriales producen sensaciones exclusivamente olfatorias o trigeminales, pues, en distinta medida, la gran mayoría produce ambos tipos de sensaciones. Cabe mencionar que aunque ambos sistemas contribuyen a la experiencia sensorial general, parecen haber evolucionado para cubrir necesidades distintas. La función principal del sistema trigeminal intranasal es actuar como centinela de las vías respiratorias, deteniendo la inspiración reflexivamente para prevenir la inhalación de sustancias que podrían representar un riesgo para la salud y la supervivencia (Silver 1991). En contraste, se ha sugerido que el olfato actúa como un mecanismo no verbal de recuperación de la memoria en situaciones particulares, con el fin de producir una respuesta emocional apropiada según la experiencia de cada individuo (Kirk-Smith y Booth 1987).

Anatomía y fisiología del sistema trigeminal intranasal

El tercio anterior de la cavidad nasal está provisto de terminales nerviosas trigeminales sensibles a sustancias químicas (Figura 2). Las fibras trigeminales de la cavidad nasal proyectan hacia los núcleos espinales, y desde ahí van a los núcleos ventromedial posterior, intralaminar y medial dorsal del tálamo. Por último, esta vía termina en la corteza somatosensorial primaria, aunque también llegan fibras a las cortezas insular, orbitoventral y a la amígdala (Trasguerres 1992).

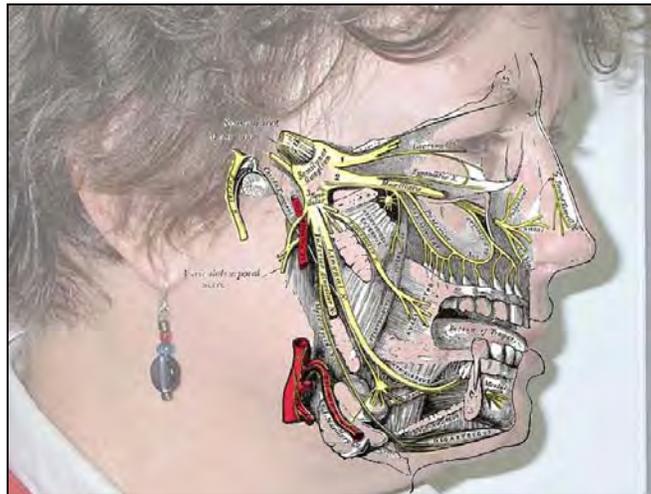


Figura 2. El nervio trigeminal es responsable de diferentes sensaciones en la cara, incluyendo la cavidad nasal. Entre estas sensaciones están la de frescura y la de irritación.

Una diferencia importante entre el sistema olfativo y el trigeminal está en la habilidad para codificar información espacial. Emil von Skramlik (1925) fue el primero en aportar evidencia de que los sujetos no pueden identificar de qué lado de la nariz reciben un estímulo puramente olfatorio, pero pueden hacerlo fácilmente cuando el estímulo activa el sistema trigeminal. Sus hallazgos han sido confirmados varias veces desde entonces (p.ej. Kobal et al. 1989).

Efectos de los agentes tóxicos ambientales en el sistema olfativo y en el sistema trigeminal intranasal

Daños en el tejido de la cavidad nasal

Para evitar que las neuronas olfatorias de la mucosa nasal se pongan en contacto directo con los agentes tóxicos del aire inspirado, tanto el sistema respiratorio como el olfativo cuentan con mecanismos de defensa. El primero de ellos se compone de las terminales nerviosas trigeminales, que detectan y responden a los irritantes transmitidos por el aire; si no es posible alejarse del estímulo, el ritmo de la respiración se altera y minimiza la entrada de los irritantes a los conductos aéreos. Además de epitelio olfativo, en la cavidad nasal hay epitelio escamoso y epitelio respiratorio. Estos epitelios producen anticuerpos y proteínas antimicrobianas para poder combatir los agentes dañinos, lo cual disminuye el efecto de estos sobre el epitelio olfativo. El tercer mecanismo de defensa consiste en la sobreproducción de moco, el cual retiene muchos de los agentes tóxicos dañinos para el sistema. Desafortunadamente, la eficiencia de estos mecanismos de defensa depende en gran parte del ambiente en el que se encuentre el individuo. En el caso de ambientes de exposición crónica a sustancias tóxicas ambientales, el epitelio respiratorio y el epitelio olfativo se pueden ver seriamente dañados, al grado de que pueden desarrollarse tumores (Harkema et al. 1987; Berglund et al. 1992; Lewis y Dahl 1995; Hastings y Miller 2003).

Las células de la mucosa nasal reducen los daños producidos por los agentes químicos en los tejidos nasales cuando la exposición a los contaminantes es breve. Sin embargo, en el caso de una exposición crónica, la mucosa desarrolla características anormales, lo que disminuye su capacidad de defensa y ocasiona malestares y enfermedades. Los daños más comunes producidos por la exposición a la contaminación atmosférica son, por un lado, el acortamiento y la pérdida total o parcial de cilios; y, por otro, necrosis, displasias, metaplasias e hiperplasias de las células basales y de sostén, además de la pérdida de cohesión entre las células (Calderón-Garcidueñas et al. 1992, 1995, 1998, 2001a; Schierhorn et al. 1999).

Cuando el sistema mucociliar se ve afectado, la retención de partículas tóxicas por parte del moco disminuye, por lo que el resto del sistema se ve afectado (Halpern 1982). Con la pérdida de cilios, los conductos de las glándulas de Bowman (encargadas

de producir el moco y de limpiar los cilios) se exponen directamente al medio ambiente, y, al ser afectados, el epitelio se regenera de una forma más lenta, ya que los conductos de las glándulas de Bowman son indispensables en la eficiencia de la regeneración (Morrison y Costanzo 1990; Hastings y Miller 2003).

El ozono es uno de los contaminantes oxidantes más dañinos dentro de la gran gama de agentes tóxicos atmosféricos, y es quizás al que más atención se le presta (Tyler et al. 1988). Es altamente reactivo e interacciona con una gran variedad de moléculas orgánicas, incluyendo grasas no saturadas, proteínas y ácidos nucleicos. Tanto en el hombre como en animales, la exposición aguda o crónica al ozono produce daños significativos en el epitelio olfativo y en el bulbo olfatorio (Harkema et al. 1987; Calderón-Garcidueñas et al. 1996, 1997, 1998, 1999, 2002, 2009; Colín-Barenque et al. 1999). Entre los efectos adversos de la contaminación del aire en el epitelio olfativo encontramos daño al DNA (Valverde et al. 1997; Calderón-Garcidueñas et al. 1996, 1997, 2003b), necrosis y acortamiento de las células ciliadas, hiperplasia de las células de sostén (Calderón-Garcidueñas et al. 1992, 1999) y engrosamiento del epitelio nasal, esto último debido a la proliferación de células basales y al aumento de neuronas inmaduras (Harkema et al. 1987; Calderón-Garcidueñas et al. 1999).

Un estudio reveló que un 25% de los niños de la Ciudad de México podrían presentar hiperplasia de células basales, disminución en el número de células ciliadas y diversas alteraciones citológicas precancerosas (Calderón-Garcidueñas et al. 2001c). También se han reportado lesiones intranasales en los residentes de la Ciudad de México, las cuales son el resultado de la exposición al ozono en combinación con otros agentes tóxicos. Muchos de los agentes químicos inhalados han demostrado ser sustancias altamente dañinas, pues provocan inflamación, degeneración y necrosis de la superficie epitelial y, en algunos casos, carcinomas (Calderón-Garcidueñas et al. 1998). Por otro lado, los compuestos azufrados producen cambios patológicos en el epitelio respiratorio y, cuando las concentraciones no son muy altas, provocan un aumento en la secreción de moco; sin embargo, a concentraciones altas provocan una reducción en el flujo de las secreciones nasales (Halpern 1982). Sustancias tóxicas como el formaldehído y el dióxido de azufre causan una formación estructural y funcional anormal en los cilios, que reduce su movimiento y su capacidad de

eliminación de partículas tóxicas (Boat y Carson 1990; Calderón-Garcidueñas et al. 2001b). Tanto el formaldehído como el acetaldehído inducen tumores nasales, mientras que elementos irritantes como el amoníaco causan inflamación, hiperplasias, metaplasias y displasias del epitelio nasal (Harkema et al. 1987).

Efectos en la percepción de estímulos olfativos y trigeminales

El mal funcionamiento del epitelio olfativo, provocado por la exposición a contaminantes, puede tener como efecto algún grado de pérdida en el sentido del olfato (Schiffman y Nagle 1992). La pérdida de la sensibilidad olfativa provocada por la inhalación de agentes tóxicos puede ir desde una hiposmia o pérdida parcial, hasta una anosmia o pérdida total (Murphy et al. 2003). A pesar de que la anosmia puede ocurrir por la exposición a sustancias tóxicas, la hiposmia es lo más frecuente (Hastings y Miller 2003).

Las alteraciones funcionales del olfato provocadas por la exposición a elementos tóxicos constituyen un problema al que se le ha dado importancia sólo en años recientes, pero que ha estado presente durante mucho tiempo. Por ejemplo, a principios del siglo XX, el sulfuro de zinc era utilizado para irrigar la nariz con el objetivo de prevenir ataques de virus y bacterias al cerebro. En los pacientes tratados con esta sustancia se observó el desarrollo de anosmia (Menco y Morrison 2003). Igualmente, muchos de los primeros casos de pérdida o disminución de la función del olfato y molestias nasales se reportaron en personas crónicamente expuestas a concentraciones elevadas de sustancias de uso industrial como el dióxido de azufre, destilados de petróleo, cadmio, plomo, cromo, solventes y polvo, entre otros (Cone y Shusterman 1991; Schiffman y Nagle 1992; Hastings y Miller 2003). Desafortunadamente, no hay tratamientos disponibles que puedan revertir el daño permanente causado por la exposición a estos agentes, aunque en algunos casos la remoción de la fuente de sustancias tóxicas puede permitir la reparación del sistema olfativo y la recuperación de su función normal (Upadhyay y Holbrook 2004).

Por otro lado, existen muy pocos trabajos acerca de las deficiencias en la sensibilidad trigeminal. Sin embargo, uno de los hallazgos más importantes es la relación entre la disminución de la sensibilidad olfativa y la reducción de la sensibilidad

trigeminal; existe evidencia de que una pérdida adquirida del sentido del olfato provoca una reducción en la sensibilidad trigeminal debido a la falta de interacción a nivel central (Hummel y Livermore 2002). Tanto la corteza orbitofrontal como la ínsula rostral parecen ser importantes en la amplificación de la información trigeminal, y esta amplificación no se da en pacientes anósmicos, mientras que en pacientes hipósmicos se encuentra reducida. Sin embargo, a nivel periférico, los mecanismos adaptativos provocan un incremento en la respuesta trigeminal de los pacientes con hiposmia o anosmia (Frasnelli y Hummel 2007). Por otro lado, procesos inflamatorios como la rinitis alérgica (que en muchos casos se empeora en ambientes de exposición crónica a contaminantes ambientales) están relacionados con alteraciones en la sensibilidad trigeminal nasal (Doerfler et al. 2006). El envejecimiento también se ha relacionado con la disminución de la sensibilidad trigeminal y, aunque no se sabe hasta qué punto esta disminución tenga lugar debido a factores centrales, sí se sabe que, al menos en parte, la reducción de la sensibilidad tiene lugar en la periferia del sistema (Frasnelli y Hummel 2003).

Muchos agentes tóxicos ambientales que provocan procesos inflamatorios pueden afectar el epitelio de la cavidad nasal, y eventualmente pueden destruir las terminales nerviosas del trigémino. Entre las sustancias que se ha visto que afectan el epitelio encontramos el humo de tabaco y el alcohol (Vent et al. 2003; 2004). También se ha visto que la acroleína, una sustancia que se utiliza como herbicida, produce inflamación y tumores en la cavidad nasal (Dorman et al. 2008). Sin embargo, el efecto de los agentes tóxicos ambientales sobre el sistema trigeminal es a la fecha un tema poco estudiado.

ANTECEDENTES

A pesar de que existen algunos trabajos sobre los efectos de los agentes tóxicos ambientales en la función olfativa en diferentes contextos laborales, sólo recientemente se publicó el primer trabajo sobre el efecto de la contaminación del aire de las grandes ciudades sobre el olfato. En este estudio (Hudson et al. 2006) se comparó la capacidad olfativa (detectar, describir e identificar olores) de residentes de la Ciudad de México, un ambiente con alta contaminación del aire, con el desempeño de residentes del estado de Tlaxcala, una región con bajos niveles de contaminación (Instituto Nacional de Ecología 2006b). Los residentes de Tlaxcala detectaron olores de la vida diaria, como naranja y café, a concentraciones significativamente más bajas que los residentes de la Ciudad de México. También tuvieron un mejor desempeño al discriminar olores diferentes. Las diferencias entre los dos grupos fueron significativas, incluso en adultos jóvenes, lo cual nos indica que la contaminación del aire de las ciudades podría estar afectando la función olfativa aun a edades muy tempranas. Por otro lado, las diferencias no fueron significativas en la capacidad para identificar olores, una tarea que implicaba una mayor participación de procesos cognitivos (Hudson et al. 2006).

Como una extensión a este estudio, en un trabajo posterior (Guarneros 2007; Guarneros y Hudson 2009), se comparó la habilidad de adultos jóvenes de la Ciudad de México y de Tlaxcala para detectar y describir el olor de leche, de dimetil disulfuro (un producto de la descomposición de la leche), y de dimetil disulfuro agregado a la leche. Los sujetos de la Ciudad de México detectaron y describieron los estímulos odorantes a concentraciones significativamente más altas que los sujetos control de Tlaxcala, y detectaron y juzgaron negativamente la leche contaminada con dimetil disulfuro a concentraciones significativamente más altas del contaminante que los sujetos control. Estos hallazgos indican que el daño en el sistema olfativo causado por la contaminación del aire tiene relevancia en situaciones cotidianas como la de evaluar la calidad de los alimentos antes de la ingestión.

En otro estudio (Morera-Serna et al. 2006), se evaluó el efecto de la exposición crónica a los contaminantes atmosféricos de la ciudad de Madrid sobre la sensibilidad olfativa en mujeres sanas de mediana edad. En este estudio no se encontraron

diferencias significativas entre los grupos. El hecho de que no se hayan encontrado diferencias en el estudio de Madrid, pero sí en el caso de los estudios de la Ciudad de México, puede deberse a distintas causas; quizá la más importante sea la relativa a la particular geografía de la capital mexicana y a la magnitud de su población, factores que contribuyen a que nuestra ciudad sea una de las más contaminadas del mundo (ver apartado *Contaminación del aire en la Ciudad de México* para la explicación más detallada de este fenómeno) no así en el caso de Madrid (Baldasano et al. 2003).

En un estudio más reciente llevado a cabo por Calderón-Garcidueñas y colaboradores (2009), en el cual se utilizó la metodología de identificación de 40 olores diseñada por la Universidad de Pensilvania (Doty 1984, 1995), se reportan diferencias significativas entre el olfato de sujetos de la Ciudad de México y los de un grupo control de una zona con bajos niveles de contaminación. Las diferencias indican que los sujetos de la Ciudad de México tienen una menor capacidad para identificar olores cotidianos.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Aunque los resultados de estudios previos (Hudson et al. 2006; Guarneros 2007) proveen apoyo a la predicción de que la contaminación atmosférica de la Ciudad de México afecta la función olfativa, los métodos utilizados tenían ciertas limitaciones. Los estímulos no estaban estandarizados de tal forma que permitieran la comparación con otros estudios, y el método de preparación y de administración de los estímulos pudo no haber sido suficientemente preciso para detectar diferencias en tareas más cognitivas. En el presente estudio, por lo tanto, se reinvestigó el efecto de la contaminación del aire de una gran ciudad sobre la función olfativa utilizando un método estandarizado, la prueba de *Sniffin' Sticks* (Hummel et al. 1997, Kobal et al. 2000). Adicionalmente, se investigó de manera más completa el efecto de la contaminación del aire en la función quimiosensorial al averiguar si el daño también se encuentra presente en el sistema trigeminal intranasal.

OBJETIVO

Determinar si personas expuestas diariamente a la contaminación atmosférica de la Ciudad de México tienen una menor capacidad para percibir olores y para responder a sustancias que estimulan el sistema trigeminal intranasal que personas de una zona con bajos niveles de contaminación del aire.

PREDICCIONES

Comparados con los residentes de una zona con bajos niveles de contaminación del aire, los residentes permanentes de la Ciudad de México tendrán puntajes menores en las pruebas psicofísicas de olfato y de sensibilidad trigeminal intranasal.

MÉTODOS

Áreas de estudio

Las áreas de estudio fueron dos; la Ciudad de México, una región con altos niveles de contaminación del aire (Instituto Nacional de Ecología 2006a, b), y el Estado de Tlaxcala, una región con bajos niveles de contaminación (Instituto Nacional de Ecología 2006b). Tlaxcala posee características geográficas y climáticas semejantes a las de la Ciudad de México. Ambas regiones son muy cercanas (Figura 3), pero están separadas por una cadena montañosa, lo cual reduce el transporte de contaminantes desde la ciudad hacia el estado de Tlaxcala. Por estas razones, el estado de Tlaxcala ha sido seleccionado como región control en diferentes estudios clínicos acerca de los efectos de la contaminación del aire en la salud (p. ej. Calderón-Garcidueñas et al. 2003a, b, 2006; también Hudson et al. 2006). En el anexo III se muestra el resumen del más reciente Inventario Nacional de Emisiones (Instituto Nacional de Ecología 2006b) en donde pueden compararse las emisiones de Tlaxcala y del Distrito Federal para algunos contaminantes.

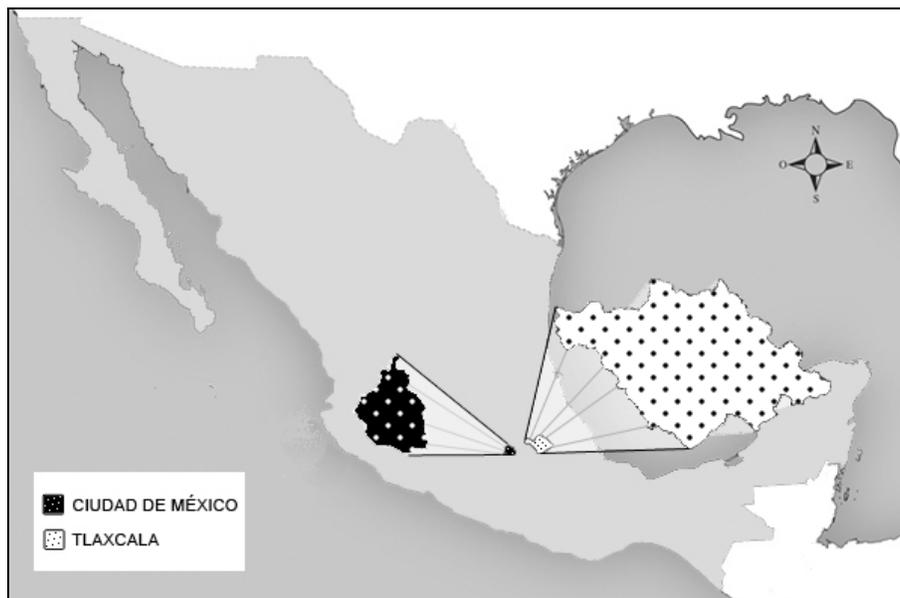


Figura 3. Localización de la Ciudad de México y del Estado de Tlaxcala en la República Mexicana. Estas zonas fueron agrandadas para su mejor apreciación.

Sujetos

Participaron 60 voluntarios no fumadores de entre 18 y 35 años de edad. Los participantes fueron 30 estudiantes de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Ciudad de México (expuestos a los altos niveles de la contaminación del aire característicos del sur de la ciudad en donde el campus principal de la UNAM se localiza; edad media 25.53, DE 4.36), y 30 estudiantes de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UAT) (edad media 24.5, DE 3.82). Los grupos fueron similares en términos socioeconómicos y cada uno estuvo integrado por 15 mujeres y 15 hombres, ninguno de los cuales reportó historia de enfermedades mayores relacionadas con el olfato.

Lineamientos éticos

Los procedimientos se apegaron a los lineamientos de la Declaración de Helsinki para Investigación Médica con Seres Humanos y estuvo supervisado y aprobado por el Comité de Ética para Investigación con Seres Humanos del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. Todos los sujetos firmaron una carta de consentimiento informado antes del inicio de la prueba (Anexo IV).

Procedimiento de las pruebas

Los sujetos de la Ciudad de México realizaron las pruebas en un cuarto con buena ventilación en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, y los sujetos de Tlaxcala en un cuarto con buena ventilación en el Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UAT. Obtuvimos información demográfica (edad, sexo, historia de tabaquismo, periodo de residencia en la Ciudad de México o Tlaxcala e historia médica; Anexo V).

El estudio tuvo dos partes: una medición del desempeño olfativo usando la prueba estandarizada de *Sniffin' Sticks* (Burghart Medizintechnik, Alemania; Hummel et al. 1997), seguido de una medición de la sensibilidad trigeminal nasal usando un diseño experimental que ha sido utilizado en otros estudios (Kobal et al. 1989; Berg et al. 1998; Hummel et al. 2003). Cada sujeto realizó las pruebas en una sola sesión que tuvo una duración máxima de 58 minutos. Las pruebas fueron conducidas de noviembre del 2008 a febrero del 2009 con el fin de evitar influencias diferenciales por la estación del año

entre las dos poblaciones, pues las condiciones de temperatura y humedad pueden afectar la función olfativa (Kuehn et al. 2008).

Desempeño olfativo

Los estímulos odorantes fueron presentados a sujetos con los ojos vendados (excepto para la prueba de identificación, ver más adelante) siguiendo un procedimiento establecido (Hummel et al. 1997; Kobal et al. 2000). Los estímulos estaban contenidos en dispositivos en forma de plumón, con una longitud de 14 cm y un diámetro interior de 1.3 cm. En vez de tinta, los plumones eran llenados con 4 ml de la sustancia odorante en estado líquido o disuelto en propilenglicol. En el momento de la prueba, la tapa era removida por el experimentador, el cual sostenía el plumón de tal manera que la punta quedara aproximadamente a 2 cm de distancia de las narinas de los sujetos por aproximadamente 2-3 segundos. Los sujetos fueron instruidos para que supieran en qué momento oler, y se les indicó que olfatearan cada estímulo sólo una vez (Figura 4). Todos los datos fueron recolectados con ayuda de un programa de computadora diseñado para esta prueba (*Olaf – Olfactory test using Sniffin' Sticks*) con una interfaz interactiva que permitía registrar los aciertos y errores de los sujetos. Al terminar, el programa mostraba un reporte detallado de la prueba (Anexo VI).

Prueba de umbral. Se determinó la habilidad de los sujetos para detectar 2-fenil etanol usando un procedimiento de selección forzada de tres alternativas. Dieciséis disoluciones fueron preparadas en una serie geométrica comenzando con una disolución a una concentración de 4% (diluida por un factor de 2:1 en propilenglicol). En cada intento tres plumones fueron presentados individualmente en orden aleatorio, dos de ellos contenían sólo el solvente, y el tercero contenía el estímulo en la concentración más baja de la serie de disoluciones. La tarea de los sujetos consistía en identificar el plumón que olía diferente (el que contenía el estímulo objetivo). El intervalo entre presentación de los plumones con un triplete fue de aproximadamente 3 s, y entre tripletes aproximadamente de 20 s. Si los sujetos fallaban en la tarea, entonces se les presentaba otro triplete de plumones en el cual el plumón objetivo tenía la disolución en la siguiente (mayor) concentración. La dirección del cambio de concentración presentada era revertida cuando el olor era identificado en dos intentos sucesivos; es

decir que si acertaban dos veces sucesivas, entonces se les presentaba el plumón con la concentración anterior (menor), y nuevamente se revertía la dirección del cambio de concentración presentada cuando fallaban en la tarea. El umbral fue definido como la media de los últimos cuatro (de un total de siete) puntos de reversa. Los puntajes de los sujetos, por lo tanto, podían ir de 1 (mínima sensibilidad/anósmico para 2-fenil etanol) a 16 (máxima sensibilidad).



Figura 4. Para las pruebas olfativas, los plumones eran colocados aproximadamente a 2 cm de las narinas para que el sujeto los oliera.

Discriminación. Una vez más, usando un paradigma de selección forzada de tres alternativas, 16 tripletes de plumones contenían concentraciones de sustancias odorantes muy por encima del umbral para normósmicos, y los tripletes fueron presentados en orden un orden establecido. En cada triplete, dos de los plumones contenían un mismo olor, mientras que el tercero tenía uno diferente (Tabla 1). Los sujetos tenían que determinar cuál de los tres plumones era el que tenía el olor distinto. Como en la determinación del umbral, el intervalo entre presentaciones de los plumones

de un triplete fue aproximadamente de 3 s, y entre tripletes de aproximadamente 20 s. Dado que se hizo la prueba con 16 tripletes, los puntajes de los sujetos podían ir de 0 a 16.

Tabla 1. Estímulos (objetivos y distractores) utilizados en la prueba de discriminación.

	Estímulo objetivo	Estímulos distractores
1	Butanol	2-fenil etanol
2	Isoamilacetato	Anetol
3	Anetol	Eugenol
4	Limoneno	Fenchona
5	L-5-isopropenil-2-metil-2 ciclohexanona	D-5-isopropenil-2-metil-2-ciclohexanona
6	Eugenol	Canela-Aldehido
7	Dihidro rosenoxido	Mentol
8	Acetaldehido	Isoamilacetato
9	Citronelal	Linalool
10	Piridina	Limoneno
11	Limoneno	Citronelal
12	Eucaliptol	Dipiridil
13	Dipiridil	Ciclopentadecanoato
14	Butanol	Fenchona
15	Octilacetato	Canela-Aldehido
16	Carvona	Acetaldehido

Identificación. Los sujetos fueron presentados con 16 odorantes comunes y se les pidió que escogieran el descriptor más apropiado de una lista de cuatro posibilidades (ejemplo: limón como objetivo contra manzana, durazno y toronja como distractores; Tabla 2). Los odorantes estaban a concentraciones supraumbrales para normósmicos. El intervalo entre la presentación de un plumón y otro fue de aproximadamente 10 s y, una vez más, los puntajes de los sujetos iban de 0 a 16.

Desempeño general. Para cada sujeto, los resultados de las tres pruebas fueron sumados para dar un puntaje de desempeño general (máximo de $16 + 16 + 16 = 48$; Wolfensberger et al. 2000; Hummel et al. 2007). Los puntajes iguales o mayores a 31 representan una habilidad olfatoria normal (normosmia), los puntajes entre 30.75 y 16

son indicativos de hiposmia, y los puntajes por debajo de 16 representan anosmia funcional (Kobal et al. 2000).

Tabla 2. Prueba de identificación. Para cada uno de los 16 intentos, el estímulo odorante objetivo está indicado en negritas para distinguirlo de los tres distractores.

1	naranja	mora azul	fresa	piña
2	humo	cuero de zapato	pegamento	pasto
3	miel	Vainilla	chocolate	canela
4	ajo	Menta	pino	cebolla
5	coco	Plátano	nuez	cereza
6	durazno	Manzana	limón	toronja
7	regaliz	ositos de goma	chicle	galletas
8	mostaza	Hule	mentol	trementina
9	cebolla	Col	ajo	zanahoria
10	cigarro	Café	vino	humo de vela
11	melón	Durazno	naranja	manzana
12	clavo	Pimiento	canela	mostaza
13	pera	Ciruela	durazno	piña
14	manzanilla	Frambuesa	rosa	cereza
15	anís	Ron	miel	pino
16	pan	Pez	queso	jamón

Sensibilidad trigeminal intranasal

Después de las tareas olfativas, los sujetos realizaron una prueba de sensibilidad trigeminal intranasal utilizando un método al cual se ha recurrido en estudios previos (Kobal et al. 1989; Roscher et al. 1996; Berg et al. 1998; Hummel et al. 2003). Para esto, se les presentaron dos botellas de polietileno de 250 ml con boquillas que se insertaban en las fosas nasales. Las boquillas fueron cubiertas con piezas de plástico desechables con un orificio que permitía que el olor saliera. Por razones de higiene, estas piezas fueron reemplazadas para cada sujeto. Mientras que la botella objetivo contenía 30 ml de eucaliptol ($\geq 98\%$; Fluka), un estímulo que provoca respuestas tanto olfatorias como trigeminales y que ha sido previamente usado en pruebas de lateralización (Doty et al. 1978; Berg et al. 1998; Hummel et al. 2003), la botella control contenía sólo aire. El espacio de cabeza de las botellas fue usado para estimular ambos lados de la nariz de manera independiente pero simultáneamente durante la misma inhalación, y la tarea del sujeto era identificar la fosa nasal que recibía el estímulo). A los sujetos se les presentó un aparato que permitía que se suministrara un volumen constante de aire (15 ml) en cada fosa nasal (Figura 5). El lado de estimulación y el orden de administración de los estímulos fueron pseudo-aleatorizados de la misma manera para todos los sujetos (Anexo VII). Los sujetos recibieron 40 estimulaciones (20 de eucaliptol en cada fosa nasal) de las cuales se calculó el porcentaje de respuestas correctas. Este método está basado en el hallazgo ya bien establecido de que, mientras que los estímulos puramente olfatorios y no irritantes casi no pueden ser lateralizados, los estímulos trigeminales sí pueden ser lateralizados. Por esta razón, la habilidad para lateralizar (detectar el lado en el que se recibe el estímulo) es usada como una medida de la respuesta trigeminal intranasal que excluye, casi totalmente, la influencia del sistema olfativo (Wysocki et al. 2003; Hummel et al. 2003).

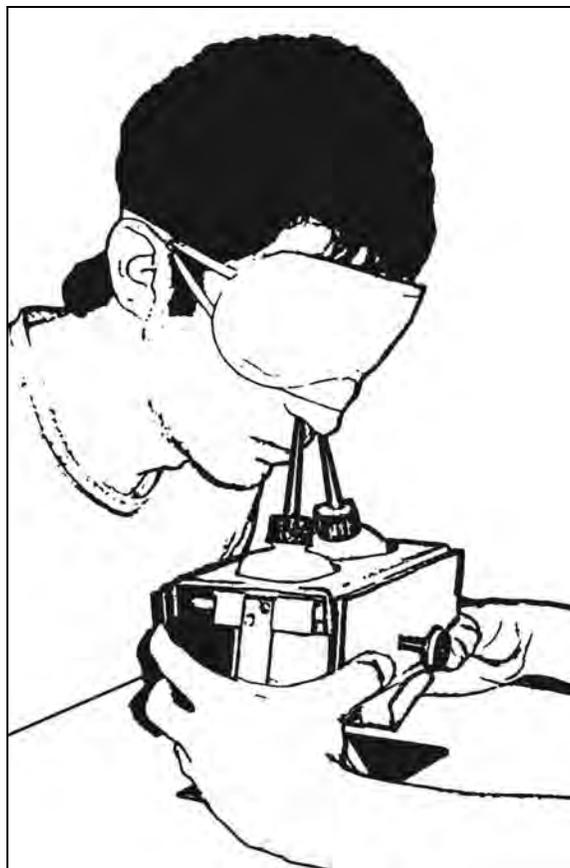


Figura 5. Aparato que permitía que se suministrara un volumen constante de aire en cada fosa nasal. Se estimularon ambos lados de la nariz de manera independiente pero simultáneamente durante la misma inhalación. La tarea del sujeto era identificar la fosa nasal que recibía el estímulo de eucaliptol.

Tratamiento y análisis de los datos

Las características de los sitios de estudios y de los grupos de la Ciudad de México y de Tlaxcala están reportadas como medias y desviaciones estándares (DE), y fueron comparadas usando pruebas t para muestras independientes. Dado que los puntajes de los desempeños en las pruebas no estuvieron siempre normalmente distribuidos (pruebas de Kolmogorov-Smirnov), los datos del desempeño para ambos grupos están dados como medianas y rangos intercuartiles, y fueron comparados usando pruebas U de Mann Whitney. Las pruebas de dos colas se llevaron a cabo utilizando el programa estadístico SYSTAT© versión 12 para Windows. Los datos se analizaron con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$.

RESULTADOS

No se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos en la hora del día a la cual las pruebas se llevaron a cabo ($t_{58} = 0.392$, $P = 0.696$) ni en la duración de la sesión ($t_{58} = 1.054$, $P = 0.296$). Dado que no encontramos ninguna diferencia entre los géneros en ninguna de las pruebas olfativas ni en la prueba trigeminal, los puntajes para hombres y mujeres fueron combinados.

Desempeño olfativo

Umbral. Los sujetos de la Ciudad de México detectaron el 2-fenil etanol en la prueba de escalera de selección forzada a concentraciones significativamente más altas que los sujetos de Tlaxcala. Esto es, los sujetos de la Ciudad de México tuvieron puntajes más bajos que los de Tlaxcala (Figura 6a, Ciudad de México: media 9.57, DE 2.86; Tlaxcala: media 11.42, DE 1.65. Prueba U de Mann-Whitney: $U = 653_{30, 30}$ $P < 0.003$). Considerando las diferencias de las medianas (1.25 pasos de concentración), los sujetos de la Ciudad de México necesitaron una concentración entre 2 y 4 veces mayor para detectar la presencia del estímulo.

Discriminación. Los sujetos de la Ciudad de México fueron, en general, menos eficientes para distinguir el estímulo objetivo en las pruebas de selección forzada que los sujetos de Tlaxcala (Figura 6b). Esta diferencia fue significativa (Ciudad de México: media 11.83, DE 2.05; Tlaxcala: media 13.03, DE 1.43. $U = 601_{30, 30}$ $P < 0.023$). En el Anexo VIII se muestran los resultados de esta prueba con mayor detalle.

Identificación. Aunque los estímulos odorantes en esta prueba fueron seleccionados por ser familiares para sujetos europeos, con la excepción del olor a trementina (aguarrás) y el olor a manzana, los sujetos tuvieron poca dificultad para identificar los olores. No se encontró una diferencia significativa entre los dos grupos en esta prueba (Figura 6c; Ciudad de México: media 12.73, DE 1.68; Tlaxcala: media 12.63, DE 1.45. $U = 428.5_{30, 30}$ $P = 0.745$). En el Anexo IX se muestran los resultados de esta prueba con mayor detalle.

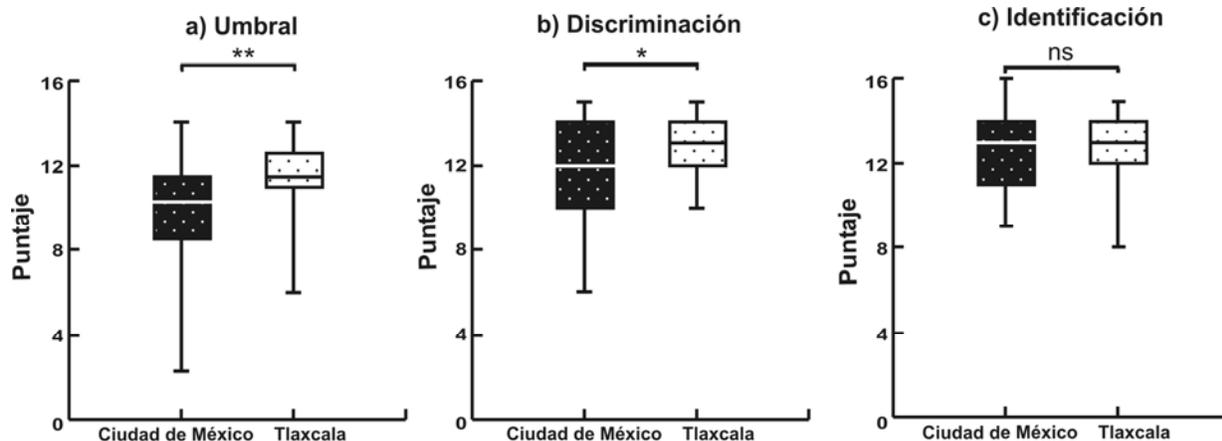


Figura 6. Desempeño de los sujetos de la Ciudad de México y de Tlaxcala en las tres pruebas de desempeño olfativo. Diagramas de cajas: líneas horizontales dentro de las cajas = medianas, límites horizontales de las cajas = rangos intercuartiles, bigotes = rangos absolutos, ** $P < 0.01$, * $P < 0.05$, ns = no significativo (pruebas U de Mann-Whitney).

Desempeño general. Los sujetos de la Ciudad de México fueron superados por los de Tlaxcala en el desempeño general, expresado como la suma de los puntajes obtenidos en el umbral, discriminación e identificación anteriormente reportados (Figura 7; Ciudad de México: media 34.13, DE 4.21; Tlaxcala: media 37.01, DE 2.53. $U = 637.5$ _{30, 30} $P = 0.006$). De hecho, seis sujetos de la Ciudad de México (20%) tuvieron puntajes por debajo del sujeto de Tlaxcala con menor puntaje, y cuatro sujetos de Tlaxcala (13%) tuvieron puntajes por encima del sujeto de la Ciudad de México con más alto puntaje. Mientras que seis sujetos de la Ciudad de México tuvieron puntajes que los identifican como hipósicos, ningún sujeto de Tlaxcala tuvo un puntaje que entrara dentro de esta categoría.

Sensibilidad trigeminal intranasal

También en la prueba de lateralización el desempeño de los sujetos de la Ciudad de México fue significativamente inferior que el de los sujetos de Tlaxcala (Figura 8; Ciudad de México: media 28.02, DE 7.42; Tlaxcala: media 32.33, DE 6.07. $U = 603.5$ _{30, 30} $P = 0.023$).

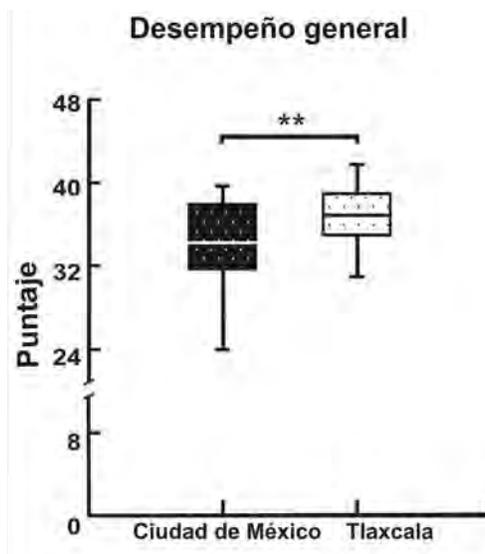


Figura 7. Desempeño general obtenido a partir de la suma de los puntajes de las tres pruebas mostradas en la Figura 6 de los sujetos de la Ciudad de México y de Tlaxcala. Diagramas de cajas: líneas horizontales dentro de las cajas = medianas, límites horizontales de las cajas = rangos intercuartiles, bigotes = rangos absolutos, ** $P < 0.01$ (prueba U de Mann-Whitney).

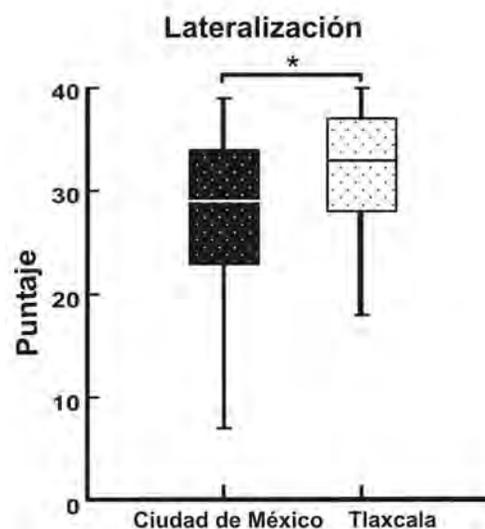


Figura 8. Habilidad de los sujetos de la Ciudad de México y de Tlaxcala para identificar correctamente la fosa nasal que recibía el estímulo trigeminal de eucaliptol cuando era presentado como se muestra en la Figura 5. Diagramas de cajas: líneas horizontales dentro de las cajas = medianas, límites horizontales de las cajas = rangos intercuartiles, bigotes = rangos absolutos, * $P < 0.05$ (prueba U de Mann-Whitney).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los hallazgos de este trabajo confirman los resultados de estudios previos que indican que los sujetos expuestos crónicamente a los altos niveles de contaminación atmosférica de la Ciudad de México reportan una reducción significativa en la sensibilidad olfativa pero no en la habilidad para identificar estímulos odorantes comunes (Hudson et al. 2006; Guarneros y Hudson 2009). La similitud entre los resultados de éste y los estudios previos, a pesar de las diferencias en las pruebas empleadas y en los estímulos, sugiere la confiabilidad de estas conclusiones. Además, el presente estudio extiende los hallazgos previos al demostrar, por primera vez, el efecto adverso de la contaminación del aire de las grandes ciudades sobre la función trigeminal. Esto es potencialmente importante dada la contribución del sistema trigeminal a la percepción de los olores (p. ej. Hudson et al. 1994; Laska et al. 1997; Boyle et al. 2007; Frasnelli et al. 2009) y a la advertencia de la presencia de sustancias tóxicas o de otros estímulos que están asociados a situaciones que representan una amenaza para la supervivencia, tales como el humo (Silver 1991).

Los sujetos del estudio, además de ser no fumadores y saludables, provenían de un estrato socioeconómico caracterizado por una buena calidad de nutrición, higiene y atención médica. No sería sorprendente que entre los sectores pobres de la heterogénea población de la Ciudad de México el daño de la pérdida quimiosensorial fuera mayor. Esta es una posibilidad porque las personas de más bajos estratos sociales corren mayores riesgos de salud asociados a la exposición de contaminantes (O'Neill et al. 2008).

Además de un estudio reciente en donde se asocian los altos niveles de la contaminación del aire de la Ciudad de México con daños en el bulbo olfatorio y en la percepción de olores (Calderón-Garcidueñas et al. 2009), se sabe poco acerca de la naturaleza precisa del daño que la contaminación provoca en el sistema olfativo y trigeminal. Sin embargo, la evidencia de los notables efectos negativos sobre el tejido de la cavidad nasal (p. ej. Calderón-Garcidueñas et al. 1996, 1997, 1998, 2001a, b; Valverde et al. 1997) sugiere que los déficits en la percepción se deben principalmente

al daño en la periferia del sistema olfativo. Consistente con esto último, encontramos que el desempeño en la prueba de identificación fue igualmente bueno en los dos grupos. Esto puede ser explicado por el hecho de que la identificación de sustancias odorantes a concentraciones supra-umbral involucra funciones centrales asociativas y de memoria en mayor grado que la prueba de umbral o la de discriminación (Lötsch et al. 2008), y estas funciones podrían estar compensando las deficiencias periféricas una vez que las concentraciones de los estímulos han rebasado el umbral (Hudson et al. 2006). El buen desempeño de los dos grupos en la tarea de identificación de olores también sugiere que ambos estaban igualmente motivados y que fueron igualmente capaces de manejar la situación de las pruebas.

Calderón-Garcidueñas y colaboradores (2009) reportaron una pequeña deficiencia en sujetos de la Ciudad de México en la capacidad para identificar olores en comparación con sujetos de una población control. Sin embargo, las diferencias reportadas se derivaron de una cuestionable interpretación estadística de los datos: las desviaciones estándares calculadas a partir de los errores estándares de las medias (SEM) reportados en este estudio [medias (SEM) 34.24 (0.42) vs 35.76 (0.40)] revelan que los valores se traslapan de modo tal que no es posible explicar la significancia reportada ($P=0.03$), sobre todo al considerar las diferencias en los tamaños de los grupos comparados (62 vs. 25).

La evidencia de déficits en la función olfativa y en la sensibilidad trigeminal intranasal en sujetos jóvenes saludables expuestos a altos niveles de contaminación urbana nos lleva irremediablemente a querer dar respuestas a cuestiones relevantes para la salud pública de la población: ¿a qué edad se manifiestan los primeros síntomas?, ¿hasta qué punto ciertas actividades cotidianas (como hacer deporte al aire libre) pueden empeorar estos efectos?, ¿hasta qué grado la disminución de la sensibilidad quimiosensorial es reversible?

Tampoco sabemos hasta qué punto la disminución de la sensibilidad olfativa que hemos reportado pueda deberse a desórdenes crónicos inflamatorios de la mucosa y de los senos paranasales. Este tipo de enfermedades crónicas provocan obstrucción nasal, y son una causa común de disfunción olfativa (Doty 1999; Cullen y Leopold 1999; Seiden y Duncan 2001; Welge-Lüssen 2009). La posibilidad de que, al menos en parte,

la disminución olfativa provocada por la contaminación se deba a problemas de inflamación crónicas resulta inteligible dado que la incidencia de estos desórdenes es especialmente alta en ciudades con problemas de contaminación atmosférica (Arnedo-Peña et al. 2009; Liao et al. 2009; Lindgren et al. 2009; Wichmann et al. 2009) como es el caso de la Ciudad de México (Meza-Morales et al. 1998).

A pesar de que en los últimos años se ha observado una reducción en la contaminación de la Ciudad de México, se siguen rebasando las normas de calidad del aire para el ozono (O₃) y para partículas con diámetro aerodinámico menor a 10 micras (PM₁₀), y no han cumplido ni con la norma de 24 h ni con la norma anual en los últimos años (Instituto Nacional de Ecología 2007). Es interesante que las autoridades hayan dado gran importancia a las partículas suspendidas más finas, PM_{2.5}, que de acuerdo a varios estudios afectan gravemente la salud (Borja-Aburto et al. 1997, 1998) pues se llegan a depositar en la periferia del pulmón, los bronquiolos respiratorios y los alvéolos. Por otro lado, las partículas más gruesas, PM₁₀, atacan mayoritariamente las vías respiratorias superiores (área de cabeza y cuello), y difícilmente llegan a depositarse en los pulmones, por lo que han sido consideradas comparativamente menos dañinas que las partículas más finas (revisado en Molina y Molina 2002). Sin embargo, es muy probable que el epitelio olfativo sí esté siendo directamente afectado por las altas concentraciones de PM₁₀. En este sentido, se han realizado varios estudios sobre la relación entre los altos niveles de PM₁₀ en la atmósfera de la Ciudad de México y sus efectos en la salud. Estos estudios revelan que los niveles de estas partículas están relacionados con la mortalidad diaria y representan un riesgo de salud para los ciudadanos (O'Neill et al. 2004) como lo ha demostrado el análisis de estudios epidemiológicos (Rosales-Castillo et al. 2001).

Un panorama más completo nos lo daría el conocer la relación entre el desempeño de los sujetos en las pruebas y los niveles de contaminación de cada uno de los sitios de estudio en los días en los que se conduzcan futuras investigaciones. También los registros históricos de contaminación en las áreas de estudio y las exposiciones personales de los sujetos podrían aportar elementos que nos permitan descifrar de qué manera la contaminación afecta al sistema olfativo, hasta qué punto la disminución de la sensibilidad se debe al efecto agudo de la exposición a los

contaminantes y hasta qué punto al efecto crónico. Futuros estudios en este sentido nos permitirán comprender mejor cómo la contaminación del aire afecta al sistema olfativo y al sistema trigeminal así como las implicaciones conductuales que pudieran surgir a partir de este fenómeno.

El estudio descrito en esta tesis fue recientemente publicado:

Guarneros M, Hummel T, Martinez-Gomez M and Hudson R (2009). Mexico City Air Pollution Adversely Affects Olfactory Function and Intranasal Trigeminal Sensitivity. *Chemical Senses* 34:819-826.

ANEXOS

Anexo I. Estándares de calidad del aire ambiental

Se muestran los estándares de calidad del aire para la Organización Mundial de la Salud (OMS), para los Estados Unidos (EU), para la ciudad de Los Ángeles y para México. Los valores están expresados en términos de una concentración dada del contaminante, se indica entre paréntesis el periodo de tiempo correspondiente para esa concentración.

	CO	SO₂	O₃	NO₂	PM₁₀	PM_{2.5}	Plomo
	-ppm-	-ppm-	-ppm-	-ppm-	microg/m³	Microg/m³	Microg/m³
OMS	26 (1h) 9 (8h)	0.13 (24h)	0.08 (1h) 0.06 (8h)	0.21 (1h)			0.5-1 (1 año)
EU (nacional)	35 (1h) 9 (8h)	0.14 (24h)	0.12 (1h) 0.08 (8h)	0.21 (1h)	150 (24h)	65 (24h)	1.5
Los Angeles			0.09 (1h)				
Mexico	11 (8h)	0.13 (24h)	0.11 (1h)	0.21 (1h)	150 (24h)		1.5

Fuentes. World Health Organization (2000); California Air Resources Board (2001); Instituto Nacional de Ecología (2000).

Anexo II. Principales fuentes de contaminantes atmosféricos en México

Tipo de fuente	Contaminantes
Grandes fuentes fijas: plantas de generación de energía eléctrica, refinerías y terminales de almacenamiento de combustibles	Monóxido de carbono (CO), óxidos de azufre (SOx), óxidos de nitrógeno (NOx), partículas de 10 µm o menos (PM10), material particulado fino (PM2.5), compuestos orgánicos volátiles (COV)
Otras fuentes fijas: industrias de alimentos, bebidas y tabaco, productos minerales no metálicos, textiles y curtido de pieles, manufactura de cerámica, entre otras	CO, SOx, NOx, PM10, PM2.5, COV
Fuentes de área	CO, SOx, NOx, PM10, PM2.5, COV, amoniaco (NH3)
Otras fuentes de área, excluyendo polvo de caminos pavimentados y no pavimentados	CO, SOx, NOx, PM10, PM2.5, COV, NH3
Fuentes móviles (que transitan por carreteras)	CO, SOx, NOx, PM10, PM2.5, COV, NH3
Otras fuentes móviles (no carreteras): equipo de construcción y agrícola.	CO, SOx, NOx, PM10, PM2.5, COV
Fuentes naturales	NOx, COV, CO

Tomado de Instituto Nacional de Ecología (2007).

Anexo III. Inventario de Emisiones

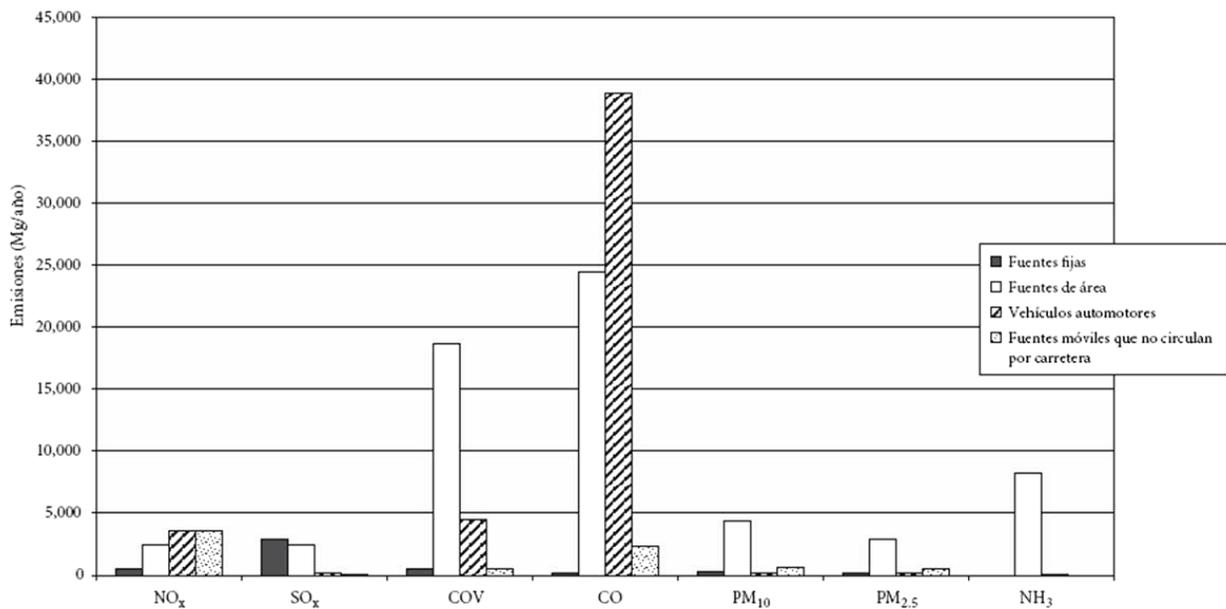
Resumen del Inventario Nacional de Emisiones, INEM, 1999 por entidad federativa (Mg/año). El Distrito Federal y Tlaxcala se muestran enmarcados.

ENTIDAD FEDERATIVA	NO _x	SO _x	COV	CO	PM ₁₀	PM _{2.5}	NH ₃
Aguascalientes	9,668	7,060	27,593	54,848	3,560	1,895	22,917
Baja California	41,213	44,401	85,071	162,207	10,780	8,500	10,363
Baja California Sur	13,042	20,600	8,515	17,443	2,166	1,649	5,669
Campeche	43,236	151,756	19,795	74,437	10,814	8,045	14,650
Coahuila	157,200	175,090	65,201	147,824	31,609	29,328	26,839
Colima	22,959	192,149	13,654	27,502	12,495	8,773	6,163
Chiapas	22,411	94,126	108,030	380,490	50,804	39,204	93,976
Chihuahua	64,782	91,301	91,021	222,901	23,450	16,592	41,975
Distrito Federal	89,549	6,389	213,084	769,830	7,114	6,202	9,783
Durango	20,796	27,342	50,671	101,912	12,664	7,994	45,967
Guanajuato	50,102	134,055	106,184	269,784	24,132	16,784	52,624
Guerrero	31,622	191,124	77,017	250,905	35,060	28,112	52,280
Hidalgo	63,323	358,640	54,430	154,950	35,675	26,312	25,058
Jalisco	84,237	39,560	172,690	607,440	33,753	20,824	138,024
México	113,950	47,311	327,553	999,795	32,671	24,906	49,105
Michoacán	47,362	30,976	87,060	254,970	30,734	22,407	75,909
Morelos	14,610	13,863	35,639	88,760	8,320	5,553	11,974
Nayarit	9,826	2,856	19,135	54,942	7,603	4,635	23,987
Nuevo León	77,114	99,901	137,352	407,386	18,650	15,627	23,104
Oaxaca	32,155	61,820	95,963	332,013	45,595	35,911	61,770
Puebla	36,109	18,134	129,347	361,073	37,691	30,261	61,225
Querétaro	13,158	8,717	34,344	79,215	7,525	5,571	15,413
Quintana Roo	12,247	3,136	19,856	65,578	6,221	4,717	4,897
San Luis Potosí	30,232	85,457	57,515	180,805	25,669	18,338	34,390
Sinaloa	38,946	105,531	50,614	141,443	23,591	14,055	62,128
Sonora	41,279	159,775	54,187	148,133	41,804	23,335	49,155
Tabasco	28,805	148,836	58,576	137,538	29,218	19,306	40,841
Tamaulipas	56,592	155,267	92,847	173,518	19,683	12,196	37,514
Tlaxcala	10,010	5,631	24,338	65,714	5,337	3,826	8,342
Veracruz	110,520	342,392	209,048	547,964	129,871	93,646	124,393
Yucatán	20,402	29,828	45,367	142,937	15,151	13,000	36,372
Zacatecas	17,172	3,495	27,958	69,656	14,942	6,887	38,637
Total	1,424,628	2,856,516	2,599,654	7,493,909	794,349	574,387	1,305,442

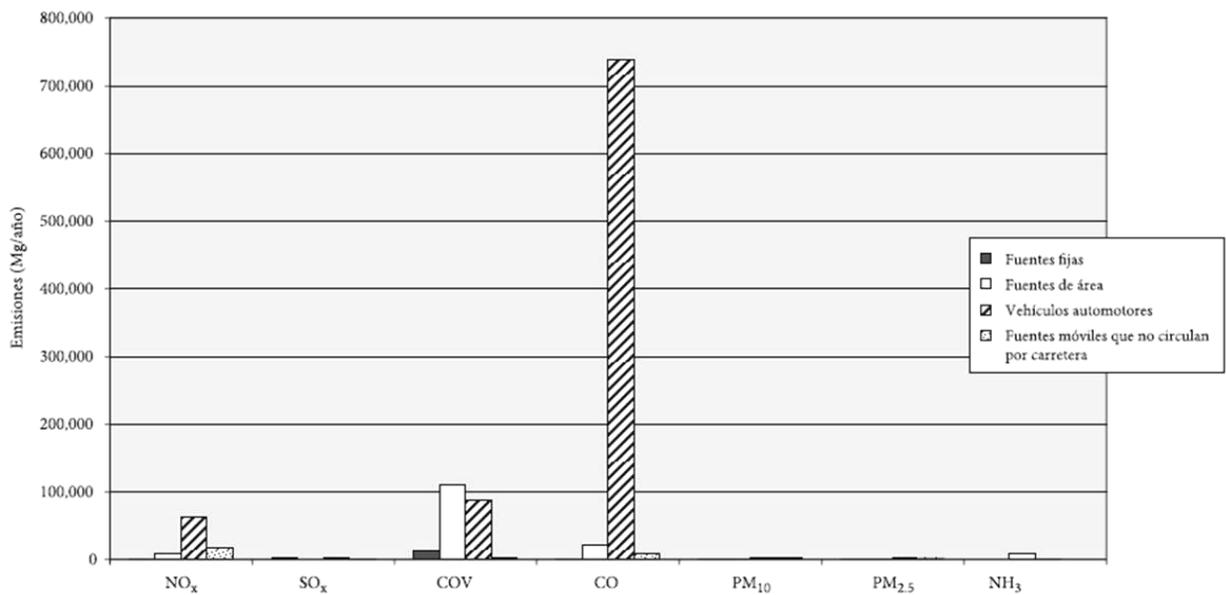
Tomado de: Instituto Nacional de Ecología 2006b

Anexo III

INVENTARIO DE EMISIONES PARA TLAXCALA, 1999



INVENTARIO DE EMISIONES PARA DISTRITO FEDERAL, 1999



Tomado de: Instituto Nacional de Ecología 2006b

Anexo IV. Carta de consentimiento informado

“Efecto de la contaminación del aire en la sensibilidad olfativa y trigeminal nasal”

Proyecto de Investigación

De acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki y con La ley General de Salud, Título Segundo. De los Aspectos Éticos de la Investigación en Seres Humanos CAPITULO I Disposiciones Comunes. Artículo 13 y 14. En toda investigación en la que el ser humano sea sujeto de estudio, deberá prevalecer el criterio del respeto a su dignidad y la protección de sus derechos y bienestar.

Mediante el siguiente estudio se busca determinar si la contaminación atmosférica con la que vive la población de la Ciudad de México tiene efectos sobre el sistema olfativo y trigeminal a nivel sensorial. Para esto es necesario aplicar pruebas a personas que vivan en la ciudad y también a personas que residan en una región geográfica con características semejantes pero sin problemas de contaminación atmosférica; la región seleccionada fue el estado de Tlaxcala.

Su participación como voluntario consistirá en dos partes: 1) una prueba psicofísica de olores y 2) un cuestionario. Las dos partes tendrán una duración total de no más de 60 minutos y, si usted así lo deseara, puede abandonar el proyecto en cualquier momento.

1) Prueba de olores

Como voluntario, se le presentarán diferentes olores y deberán responder preguntas sobre los olores. Los olores que utilizamos son muy utilizados en pruebas olfativas y son totalmente inofensivos.

2) Cuestionario

Al final, usted deberá responder un breve cuestionario en donde proporcionará información sobre su edad, residencia, historial médico de enfermedades olfatorias o relacionadas con el olfato, y hábitos relacionados al consumo de tabaco. Las mujeres, además, deberán indicar si han utilizado anticonceptivos en los últimos días y la fase del ciclo menstrual en la que se encuentran.

Es importante que el voluntario sea no fumador y que no ingiera alimentos ni bebidas distintas de agua al menos una hora antes del comienzo de la prueba, ya que esto puede afectar la percepción de los olores.

En caso que usted tuviera alguna duda siéntase libre de hacérsela saber. Nosotros estamos para dar respuesta a cualquier pregunta y aclaración que usted tuviera.

Los resultados obtenidos serán confidenciales, por lo que se utilizarán códigos para su captura. Usted, como los demás voluntarios, será informado de los resultados de sus pruebas y de la identidad de los estímulos utilizados, una vez que se hayan analizado los datos. En el caso de que detectáramos indicios de que usted tiene algún problema severo con su sistema olfativo, se lo haremos notar y le recomendaremos acudir a un especialista.

Con fecha _____, habiendo comprendido lo anterior y una vez que se me aclararon todas las dudas que surgieron con respecto a mi participación en el proyecto, acepto participar en el estudio titulado
“Efecto de la contaminación del aire en la sensibilidad olfativa y trigeminal nasal”

Nombre del voluntario _____

Firma _____

Anexo VII. Hoja de registro de la prueba de sensibilidad trigeminal

Nombre del sujeto _____ Clave _____
 Encuestador _____ Hora de Inicio _____

PRUEBA TRIGEMINAL

Estímulo: Eucaliptol

Trial	Lado derecho	Lado izquierdo
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		
8		
9		
10		
11		
12		
13		
14		
15		
16		
17		
18		
19		
20		

Trial	Lado derecho	Lado izquierdo
21		
22		
23		
24		
25		
26		
27		
28		
29		
30		
31		
32		
33		
34		
35		
36		
37		
38		
39		
40		

PUNTAJE _____

Hora _____
 Duración _____

Comentarios:

Anexo VIII. Detalle de los resultados de la prueba de discriminación

	DISCRIMINACIÓN NÚMERO DE TAREA								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
CM INCORRECTO	6	6	3	3	4	8	3	21	7
TX INCORRECTO	3	12	3	3	3	4	6	14	5
CM INCORRECTO (%)	20.0	20.0	10.0	10.0	13.3	26.7	10.0	70.0	23.3
TX INCORRECTO (%)	10.0	40.0	10.0	10.0	10.0	13.3	20.0	46.7	16.7

CM CORRECTO	24	24	27	27	26	22	27	9	23
TX CORRECTO	27	18	27	27	27	26.0	24	16	25
CM CORRECTO (%)	80.0	80.0	90.0	90.0	86.7	73.3	90.0	30.0	76.7
TX CORRECTO (%)	90.0	60.0	90.0	90.0	90.0	86.7	80.0	53.3	83.3

	10	11	12	13	14	15	16
CM INCORRECTO	9	10	3	16	10	9	5
TX INCORRECTO	5	5	2	12	3	4	4
CM INCORRECTO (%)	30.0	33.3	10.0	53.3	33.3	30.0	16.7
TX INCORRECTO (%)	16.7	16.7	6.7	40.0	10.0	13.3	13.3

CM CORRECTO	21	20	27	14	20	21	25
TX CORRECTO	25	25	28	18	27	26	26
CM CORRECTO (%)	70.0	66.7	90.0	46.7	66.7	70.0	83.3
TX CORRECTO (%)	83.3	83.3	93.3	60.0	90.0	86.7	86.7

Tx= Grupo de Tlaxcala; CM= Grupo de la Ciudad de México

Anexo IX. Detalle de los resultados de la prueba de identificación

IDENTIFICACIÓN								
	1- naranja	2- cuero de zapato	3- canela	4-menta	5- plátano	6- limón	7-regaliz	8- trementina
CM INCORRECTO	8	1	12	1	0	12	4	17
TX INCORRECTO	12	2	9	0	0	12	4	14
CM INCORRECTO (%)	26.7	3.3	40.0	3.3	0.0	40.0	13.3	56.7
TX INCORRECTO (%)	40.0	6.7	30.0	0.0	0.0	40.0	13.3	46.7

CM CORRECTO	22	29	18	29	30	18	26	13
TX CORRECTO	18	28	21	30	30	18	26	16
CM CORRECTO (%)	73.3	96.7	60.0	96.7	100.0	60.0	86.7	43.3
TX CORRECTO (%)	60.0	93.3	70.0	100.0	100.0	60.0	86.7	53.3

CM DESCRIPTORES INCORRECTOS	mora azul (3); piña (5)	Pasto(1)	miel(6); vainilla (6)	pino (1)	NINGUNO	toronja (8); manzana (3); durazno (1)	ositos de goma (2); goma de mascar (2)	mentol(15); hule (2)
TX DESCRIPTORES INCORRECTOS	Mora azul (10); piña (2)	humo (1); pasto (1)	miel(3); vainilla (5); chocolate (1)	NINGUNO	NINGUNO	toronja (9); manzana (2); pear (1)	sitos de goma (2); goma de mascar (2)	mentol(12); hule(1); mostaza (1)

	9- ajo	10- café	11-manzana	12- clavo	13-piña	14- rosa	15- Anís	16- pezcardado
CM INCORRECTO	3	8	14	7	6	2	2	0
TX INCORRECTO	5	4	24	5	4	3	3	0

CM INCORRECTO (%)	10.0	26.7	46.7	23.3	20.0	6.7	6.7	0.00
TX INCORRECTO (%)	16.7	13.3	80.0	16.7	13.3	10.0	10.0	0.00

CM CORRECTO	27	22	16	23	24	28	28	30
TX CORRECTO	25	26	6	25	26	27	27	30
CM CORRECTO (%)	90.0	73.3	53.3	76.7	80.0	93.3	93.3	100.0
TX CORRECTO (%)	83.3	86.7	20.0	83.3	86.7	90.0	90.0	100.0

CM DESCRIPTORES INCORRECTOS	cebolla (3)	cigarro(5); humo de vela (2); vino (1)	durazno (12); melón (2)	pimienta (5); mostaza (2)	ciruela (3); pera(2); durazno (1)	manzanilla (1); frambuesa (1)	pino (2)	NINGUNO
TX DESCRIPTORES INCORRECTOS	cebolla(5)	Humo de vela (3); vino (1)	durazno (20); naranja (3); melón (1)	pimienta (4); mostaza (1)	ciruela (2); pera (2)	frambuesa (2); cereza (1)	pino (1); ron (2)	NINGUNO

Tx= Grupo de Tlaxcala; CM= Grupo de la Ciudad de México

REFERENCIAS

Arnedo-Peña A, García-Marcos L, Carvajal-Ureña I, Busquets-Monge R, Morales-Suárez-Varela M, Miner-Canflanca I, Batlles-Garrido J, Blanco-Quirós A, López-Silvarrey-Varela A, García-Hernández G, Aguinaga-Ontoso I, González-Díaz C (2009). Air pollution and recent symptoms of asthma, allergic rhinitis, and atopic eczema in school children aged between 6 and 7 years. *Archivos de Bronconeumología* (English version) 45:224-229.

Baldasano JM, Valera E, Jiménez P (2003). Air quality data from large cities. *Science of the Total Environment* 307:141-165.

Bell ML, Davis DL, Gouveia N, Borja-Aburto VH, Cifuentes LA (2006). The avoidable effects of air pollution in three Latin American cities: Santiago, São Paulo, and Mexico City. *Environmental Research* 100:431-440.

Berg J, Hummel T, Huang G, Doty RL (1998). Trigeminal impact of odorants assessed with lateralized stimulation. *Chemical Senses* 23:587.

Berglund B, Lindvall T, Nordin S (1992). Environmentally induced changes in sensory sensitivities. *Annals of the New York Academy of Sciences* 64:304-321.

Bhatnagar A (2006). Environmental cardiology: studying mechanistic links between pollution and heart disease. *Circulation Research* 99:692-705.

Boat T, Carson J (1990). Ciliary dysmorphology and dysfunction – primary or acquired? *The New England Journal of Medicine* 323:1700-1702.

Borja-Aburto VH, Loomis DP, Bangdiwala SI, Shy CM, Rascon-Pacheco RA (1997). Ozone, suspended particles, and daily mortality in Mexico City. *American Journal of Epidemiology* 145:258-268.

Borja-Aburto VH, Castillejos M, Gold DF, Bierzwinski S, Loomis D (1998). Mortality and ambient fine particles in southwest Mexico City 1993-1995. *Environmental Health Perspectives* 106:849-855.

Boyle JA, Frasnelli J, Gerber J, Heinke M, Hummel T (2007). Cross-modal integration of intranasal stimuli: a functional magnetic resonance imaging study. *Neuroscience* 149:223-231.

Buell P, Girard J (2003). *Chemistry fundamentals- An environmental perspective*. Second Edition. Jones and Bartlett, Sudbury, Massachusetts p. 326.

Cain WA (1979). To know with the nose: keys to odor identification. *Science* 203:467-470.

Calderón-Garcidueñas L, Osorno-Velázquez A, Bravo-Álvarez H, Delgado-Chávez R, Barrios-Márquez R (1992). Histopathological changes of the nasal mucosa in southwest metropolitan Mexico City inhabitants. *The American Journal of Pathology* 140:225-232.

Calderón-Garcidueñas L, Rodríguez-Alcaraz A, García R, Ramírez L, Barragán G (1995). Nasal inflammatory responses in children exposed to a polluted urban atmosphere. *Journal of Toxicology and Environmental Health* 45:427-437.

Calderón-Garcidueñas L, Osnaya N, Ramírez-Martínez L, Villareal-Calderón A (1996). DNA strand breaks in human nasal respiratory epithelium are induced upon exposure to urban pollution. *Environmental Health Perspectives* 104:160-168.

Calderón-Garcidueñas L, Osnaya N, Rodríguez-Alcaraz A, Villareal-Calderón A (1997). DNA damage in nasal respiratory epithelium from children exposed to urban air pollution. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 30:11-20.

Calderón-Garcidueñas L, Rodríguez-Alcaraz A, Villareal-Calderón A, Lyght O, Janszen D, Morgan K (1998). Nasal epithelium as a sentinel for airborne environmental pollution. *Toxicological Sciences* 46:352-364.

Calderón-Garcidueñas L, Rodríguez-Alcaraz A, García R, Barragán G, Villareal-Calderón A, Madden MC (1999). Cell proliferation in nasal respiratory epithelium of people exposed to urban pollution. *Carcinogenesis* 20:383-389.

Calderón-Garcidueñas L, Devlin RB, Miller FJ (2000a). Respiratory tract pathology and cytokine imbalance in clinically healthy children chronically and sequentially exposed to air pollutants. *Medical Hypotheses* 55:373-378.

Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Chung C, Valencia G, Fordham L, García R, Osnaya N, Romero L, Acuña H, Villareal-Calderón A (2000b). Exposure to air pollution is associated with lung hyperinflation in healthy children and adolescents in southwest Mexico City: a pilot study. *Inhalation Toxicology* 12:537-561.

Calderón-Garcidueñas L, Valencia-Salazar G, Rodríguez-Alcaraz A, Gambling MT, García R, Osnaya N, Villareal-Calderón A, Devlin R, Carson J (2001a). Ultrastructural nasal pathology in children chronically and sequentially exposed to air pollutants. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 24:132-138.

Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Fordham L, Chung C, García R, Osnaya N, Hernández J, Acuña H, Gambling MT, Villareal-Calderón A, Carson J, Koren HS, Devlin RB (2001b). Canines as sentinel species for assessing chronic exposures to air pollutants: Part 1. Respiratory pathology. *Toxicological Sciences* 61:342-355.

Calderón-Garcidueñas L, Rodríguez-Alcaraz A, Valencia-Salazar G, Mora-Tascareno A, García R, Osnaya N, Villarreal-Calderón A, Devlin RB, VanDyke T (2001c). Nasal biopsies of children exposed to air pollutants. *Toxicologic Pathology* 29:558-564.

Calderón-Garcidueñas L, Azzarelli B, Acuña H, García R, Gambling T, Osnaya N, Monroy S, Tizapantzi M, Carson J, Villareal-Calderón A, Rewcastle B (2002). Air pollution and brain damage. *Toxicologic Pathology* 30:373-389.

Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Fordham LA, Valencia-Salazar G, Chung CJ, Rodríguez-Alcaraz A, Paredes R, Variakojis D, Villareal-Calderón A, Flores-Camacho L, Antúnez-Solís A, Henríquez-Roldán C, Hazucha MJ (2003a). Respiratory damage in children exposed to urban pollution. *Pediatric Pulmonology* 36:148-161.

Calderón-Garcidueñas L, Maronpot RR, Torres-Jardón R, Henríquez-Roldán C, Schoonhoven, Acuña-Ayala H, Villareal-Calderón A, Nakamura J, Fernando R, Reed W, Azzarelli B, Swenberg JA (2003b). DNA damage in nasal and brain tissues of canines exposed to air pollutants is associated with evidence of chronic brain inflammation and neurodegeneration. *Toxicologic Pathology* 31:524-538.

Calderón-Garcidueñas L, Reed W, Maronpot RR, Henríquez-Roldán C, Delgado-Chávez R, Calderón-Garcidueñas A, Dragustinovis I, Franco-Lira M, Aragón-Flores M, Solt AC, Altenburg M, Torres-Jardón R, Swenberg JA (2004). Brain inflammation and Alzheimer's-like pathology in individuals exposed to severe air pollution. *Toxicologic Pathology* 32:650-658.

Calderón-Garcidueñas L, Mora-Tiscareño A, Fordham LA, Chung CJ, Valencia-Salazar G, Flores-Gómez S, Solt AC, Gomez-del-Campo A, Jardón-Torres R, Henríquez-Roldán C, Hazucha MJ, Reed W (2006). Lung radiology and pulmonary function of children chronically exposed to air pollution. *Environmental Health Perspectives* 114:1432-1437.

Calderón-Garcidueñas L, Franco-Lira M, Henríquez-Roldán C, Osnaya N, González-Maciel A, Reynoso-Robles R, Villarreal-Calderón R, Herit L, Brooks D, Keefe S, Palacios-Moreno J, Villarreal-Calderón R, Torres Jardón-R, Medina-Cortina H, Delgado-Chávez R, Aiello-Mora M, Maronpot RR, Doty RL (2009). Urban air pollution: Influences on olfactory function and pathology in exposed children and young adults. *Experimental and Toxicologic Pathology* doi:10.1016/j.etp.2009.02.117.

California Air Resources Board (2001) The 2001 California almanac of emissions and air quality. Disponible en <http://www.arb.ca.gov>

Camposortega-Cruz S (1991) Demografía de la Ciudad de México. Los mismos problemas con menos población. *Demos* 4:23-24.

Carmichael ST, Clugnet MC, Price JL (1994). Central olfactory connections in the macaque monkey. *Journal of Comparative Neurology* 346:403-434.

Chen B, Kan H (2008). Air pollution and population health. *Environmental Health and Preventive Medicine* 13:94-101

Colín-Barenque L, Ávila-Costa MR, Fortoul T, Rugerio-Vargas C, Machado-Salas JP, Espinosa-Villanueva J, Rivas-Arancibia S (1999). Morphologic alterations of the olfactory bulb after acute ozone exposure in rats. *Neuroscience Letters* 274:1-4.

Cone EJ, Shusterman D (1991). Health effects of indoor odorants. *Environmental Health Perspectives* 95:53-59.

Costanzo RM, Miwa T (2006). Posttraumatic olfactory loss. En Hummel T, Welge-Lüssen A (editors). Taste and smell. An update. *Advances in Otorhinolaryngology*. Karger, Basel, 63:99-107.

Cullen MM, Leopold DA (1999). Disorders of smell and taste. *Medical Clinics of North America* 83:57-74.

De Leo GA, Rizzi L, Caizzi A, Gatto M (2001). Carbon emissions. The economic benefits of the Kyoto Protocol. *Nature* 413:478-479.

De Olmos J, Hardy H, Heimer L (1978). The afferent connections of the main and the accessory olfactory bulb formations in the rat: an experimental HRP-study. *Journal of Comparative Neurology* 181:213-144.

Decker EH, Elliot S, Smith FA (2002). Megacities and the environment. *The Scientific World Journal* 2:374-386.

Devos M, Patte F, Rouault J, Laffort P, van Gemert LJ (1990). Standardized human olfactory thresholds. Oxford University Press. Oxford, IRL Press.

Doerfler H, Hummel T, Klimek L, Kobal G (2006). Intranasal trigeminal sensitivity in subjects with allergic rhinitis. *European Archives of Otorhinolaryngology* 263:86-90.

Dorman DC, Struve MF, Wong BA, Marshall MW, Gross EA, Willson GA (2008). Respiratory tract responses in male rats following subchronic acrolein inhalation. *Inhalation Toxicology* 20:205-216.

Doty RL, Brugger WPE, Jurs PC, Orndorff MA, Snyder PJ, Lowry LD (1978). Intranasal trigeminal stimulation from odorous volatiles: psychometric responses from anosmic and normal humans. *Physiology and Behavior* 20:175-185.

Doty RL (1984). Development of the University of Pennsylvania smell identification test: a standardized microencapsulated test of olfactory function. *Physiology and Behavior* 32:489-502.

Doty RL, Shaman P, Applebaum SL, Giberson R, Sikorski L, Rosenberg L (1984). Smell identification ability: changes with age. *Science* 226:1441-1443.

Doty RL. The smell identification test™ administration manual (1995). Third Edition. Haddon Heights., New Jersey: Sensonics, Inc.

Doty RL (1999). Olfaction. En: Linholdt T (editor). *Nasal polyposis: An inflammatory disease and its treatment*. Copenhagen, Munksgaard. pp. 153-159.

Eaton DL, Klassen CD (2001). Principles of toxicology, en Klassen CD (editor). Cassaret and Doull's Toxicology. The basic science of poisons. McGraw Hill Medical Publishing Division, New York. pp. 11-3.

Evans GW, Colome SD, Shearer DF (1988). Psychological reactions to air pollution. *Environmental Research* 45:1-15.

Ezcurra E, Mazari-Hiriart M (1996). Are megacities viable? A cautionary tale from Mexico City. *Environment* 38:6-15, 26-35.

Frasnelli J, Hummel T (2003). Age-related decline of intranasal trigeminal sensitivity: is it a peripheral event? *Brain Research* 987:201-206.

Frasnelli J, Hummel T (2007). Interactions between the chemical senses: trigeminal function in patients with olfactory loss. *International Journal of Psychophysiology* 65:177-181.

Frasnelli J, Charbonneau G, Collignon O, Lepore F (2009). Odor localization and sniffing. *Chemical Senses* 34:139-144.

Garza G (1996). Uncontrolled air pollution in Mexico City. *Cities* 13:315-328.

Ghose MK, Paul R, Banerjee SK (2004). Assessment of the impacts of the vehicular pollution on urban air quality. *Journal of Environmental Science and Engineering* 46:33-40.

Goldsmith LA (1996). Skin effects of air pollution. *Otolaryngology and Head and Neck Surgery* 114:217-219.

Goyal SK, Ghatge SV, Nema P, M Tamhane S (2006). Understanding urban vehicular pollution problem vis-a-vis ambient air quality – case study of a megacity (Delhi, India). *Environmental Monitoring and Assessment* 119:557-569.

Guarneros M (2007). Efecto adverso de la contaminación del aire sobre una función olfativa cotidiana en los habitantes de la Ciudad de México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México.

Guarneros M, Hudson R (2009). La contaminación del aire deteriora la función olfativa cotidiana en residentes de la Ciudad de México. *El Residente* (Enviado).

Guyton A, Hall JE. (1997). Tratado de fisiología médica. 9ª edición, Interamericana – McGraw-Hill. México.

Haberly LB (1998). Olfactory cortex. En Shepherd GM (editor). *The synaptic organization of the brain*. Oxford University Press, New York, pp. 377-416.

Halpern PB (1982). Environmental factors affecting chemoreceptors: an overview. *Environmental Health Perspectives* 44:101-105.

Harkema RJ, Plopper C, Hyde D, George J, Wilson D, Dungworth D (1987). Response of the macaque nasal epithelium to ambient levels of ozone. *The American Journal of Pathology* 128:29-44.

Hastings L, Miller ML (2003). Influence of environmental toxicants on olfactory function. En Doty RL (editor). *Handbook of olfaction and gustation*. Second Edition, Marcel Dekker, Philadelphia, pp. 575-592.

Hornung DE (2006). Nasal anatomy and the sense of smell. En Hummel T, Welge-Lüssen A (editors). *Taste and smell. An update. Advances in Otorhinolaryngology*. Karger, Basel, 63:1-22.

Hudson R (2000). Odor and odorant: a terminological clarification. *Chemical Senses* 25:693.

Hudson R, Laska M, Berger T, Heye B, Schopohl J, Danek A (1994). Olfactory function in patients with hypogonadotropic hypogonadism: an all-or-none phenomenon? *Chemical Senses* 19:57-69.

Hudson R, Arriola A, Martínez-Gómez M, Distel H (2006). Effect of air pollution on olfactory function in residents of Mexico City. *Chemical Senses* 31:79-85.

Hummel T, Sekinger B, Wolf S, Pauli E, Kobal G (1997). 'Sniffin' Sticks': olfactory performance assessed by the combined testing of odor identification, odor discrimination and olfactory threshold. *Chemical Senses* 22:39-52.

Hummel T, Livermore A (2002). Intranasal chemosensory function of the trigeminal nerve and aspects of its relation to olfaction. *International Archives of Occupational and Environmental Health* 75:305-313.

Hummel T, Futschik T, Frasnelli J, Hüttenbrink KB (2003). Effects of olfactory function, age, and gender on trigeminally mediated sensations: a study based on the lateralization of chemosensory stimuli. *Toxicology Letters* 140-141:273-280.

Hummel T, Kobal G, Gudziol H, Mackay-Sim A (2007). Normative data for the "Sniffin' Sticks" including tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds: an upgrade based on a group of more than 3,000 subjects. *European Archives Otorhinolaryngology* 264:237-243.

Instituto Nacional de Ecología (2000). *Gestión de la calidad del aire en México*. DF, México.

Instituto Nacional de Ecología (2006a). *Segundo almanaque de datos y tendencias de la calidad del aire en seis ciudades mexicanas*. pp. 7-43. Disponible en: www.ine.gob.mx

Instituto Nacional de Ecología (2006b). *Inventario nacional de emisiones de México, 1999*. Primera edición. Ed. SyG. pp. 344, 354.

Instituto Nacional de Ecología (2007). La investigación ambiental para la toma de decisiones: Instituto Nacional de Ecología 2001-2006. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. DF, México.

Jinks A, Laing DG (1999). A limit in the processing of components in odour mixtures. *Perception* 28:395-404.

Jinks A, Laing DG (2001). The analysis of odor mixtures by humans: evidence for a configurational process. *Physiology and Behavior* 72:51-63.

Johnson BA, Leon M (2000). Modular representations of odorants in the glomerular layer of the rat olfactory bulb and the effects of stimulus concentration. *Journal of Comparative Neurology* 422:496-509.

Kirk-Smith MD, Booth DA (1987). Chemoreception in human behaviour: an experimental analysis of the social effects of fragrances. *Chemical Senses* 12:159-166.

Kobal G, van Toller S, Hummel T (1989). Is there directional smelling? *Experientia* 45:130-132.

Kobal G, Klimek L, Wolfensberger M, Gudziol H, Temmel A, Owen CM, Seeber H, Pauli E, Hummel T (2000). Multicenter investigation of 1,036 subjects using a standardized method for the assessment of olfactory function combining tests of odor identification, odor discrimination, and olfactory thresholds. *European Archives of Otorhinolaryngology* 257:205-211.

Kuehn M, Welsch H, Zahnert T, Hummel T (2008). Changes of pressure and humidity affect olfactory function. *European Archives of Otorhinolaryngology* 265:299-302.

Lacasaña-Navarro M, Aguilar-Garduño C, Romieu I (2000). Evolución de la contaminación del aire e impacto de los programas de control en tres megaciudades de América Latina. *Salud Pública de México* 42:271-273.

Lancet D (1986). Vertebrate olfactory reception. *Annual Review of Neuroscience* 9:329-355.

Laska M, Distel H, Hudson R (1997). Trigeminal perception of odorant quality in congenitally anosmic subjects. *Chemical Senses* 22:447-456.

Laska M, Teubner P (1999). Olfactory discrimination ability for homologous series of aliphatic alcohols and aldehydes. *Chemical Senses* 24:263-270.

Laska M, Ayabe-Kanamura, Hubener F, Saito S (2000). Olfactory discrimination ability for aliphatic odorants as a function of oxygen moiety. *Chemical Senses* 25:189-197.

Laska M, Hubener F (2001). Olfactory discrimination ability for homologous series of aliphatic ketones and acetic esters. *Behavioural Brain Research* 119:193-201.

Laska M, Seibt A (2002). Olfactory sensitivity for aliphatic esters in squirrel monkeys and pigtail macaques. *Behavioural Brain Research* 134:165-174.

Lewis JL, Dahl AR (1995). Olfactory mucosa: composition, enzymatic localization, and metabolism. En Doty RL (editor). *Handbook of clinical olfaction and gustation*. Second Edition, Marcel Dekker, New York, pp. 33-52.

Liao MF, Liao MN, Lin SN, Chen JY, Huang JL (2009). Prevalence of allergic diseases of school children in central Taiwan: From ISAAC surveys 5 years apart. *Journal of Asthma* 46: 541-545.

Lindgren A, Stroh E, Nihlén U, Montnémery P, Axmon A, Jakobsson K (2009). Traffic exposure associated with allergic asthma and allergic rhinitis in adults: A cross-sectional study in southern Sweden. *International Journal of Health Geographics* 8:25.

Lippmann M (1989). Effective strategies for population studies of acute air pollution health effects. *Environmental Health Perspectives* 81:115-119.

Loomis DP, Borja-Aburto VH, Bangdiwala SI, Shy CM (1996). Ozone exposure and daily mortality in Mexico City: a time-series analysis. *Research Report (Health Effects Institute) Oct*: 1-45.

Lötsch J, Reichmann H, Hummel T (2008). Different odor tests contribute differently to the diagnostics of olfactory loss. *Chemical Senses* 33:17-21.

Menco BP, Morrison EE (2003). Morphology of the mammalian olfactory epithelium: form, fine structure, function and pathology. En Doty RL (editor). *Handbook of olfaction and gustation*. Second Edition, Marcel Dekker, Philadelphia, pp. 17-49.

Meza-Morales A, Arreguín-Osuna L, Navarrete F, Huerta-López JG, Medina G (1998). Morphological features of the nasal mucosa in healthy children exposed to different concentrations of atmospheric pollution. *Revista Alergia México* 45:22-26.

Millhouse OE, Heimer L (1984). Cell configurations in the olfactory tubercle of the rat. *Journal of Comparative Neurology* 228:571-597.

Molina LT, Molina MJ (2002). Air quality impacts: local and global concern. En: Molina LT, Molina MJ (editors). *Air quality in the Mexico megacity. An integrated assessment*. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands. pp.1-19.

Molina MJ, Molina LT (2004a). Megacities and atmospheric pollution. *Journal of the Air and Waste Management Association* 54:644-680.

Molina LT, Molina MJ (2004b). Improving air quality in megacities: Mexico City case study. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1023:42-158.

Morera-Serna E, Toledano-Muñoz A, Bernáldez-Millán R (2006). Efectos de la contaminación ambiental sobre el olfato en mujeres de la ciudad de Madrid. *Acta de Otorrinolaringología y Cirugía de Cabeza y Cuello* 34:67-75.

Morrison EE, Costanzo RM (1990). Morphology of the human olfactory epithelium. *The Journal of Comparative Neurology* 297:1-13.

Morrison EE, Moran DT (1995). Anatomy and ultrastructure of the human olfactory neuroepithelium. En Doty RL (editor). *Handbook of olfaction and gustation*. Second Edition, Marcel Dekker, Philadelphia, pp. 75-101.

Murphy C, Doty RL, Heather JD (2003). Clinical disorders of olfaction. En Doty RL (editor). *Handbook of olfaction and gustation*. Second Edition, Marcel Dekker, New York, pp. 461-478.

O'Neill MS, Loomis D, Borja-Aburto VH, Gold D, Hertz Piccioto I, Castillejos M (2004). Do associations between airborne particles and daily mortality in Mexico City differ by measurement method, region, or modeling strategy? *Journal of Exposure Analysis and Environmental Epidemiology* 14:429-439.

O'Neill MS, Bell ML, Ranjit N, Cifuentes LA, Loomis D, Gouveia N, Borja-Aburto VH (2008). Air pollution and mortality in Latin America: the role of education. *Epidemiology* 19:810-819.

Price JL (1973). An autoradiographic study of complementary laminar patterns of termination of afferent fibers to the olfactory cortex. *Journal of Comparative Neurology* 150:87-108.

Raviv JR, Kern RC (2006). Chronic rhinosinusitis and olfactory dysfunction. En Hummel T, Welge-Lüssen A (editors). *Taste and smell. An update. Advances in Otorhinolaryngology*. Karger, Basel, 63:108-124.

Rawson N, Yee KK (2006). Transduction and coding. En: Hummel T, Welge-Lüssen A (editors). *Taste and smell. An update. Advances in Otorhinolaryngology*. Basel, Karger, 63:22-43.

Rivas-Arancibia S, Vazquez-Sandoval R, González-Kladiano D, Schneider-Rivas S, Lechuga-Guerrero A (1998). Effects of ozone exposure in rats on memory and levels of brain and pulmonary superoxide dismutase. *Environmental Research* 76:33-39.

Rivas-Arancibia S, Dorado Martínez C, Colín-Barenque L, Kendrick KM, de la Riva C, Guevara-Guzmán R (2003). Effect of acute ozone exposure on locomotor behavior and striatal function. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 74:891-900.

Romieu I, Weitzenfeld H, Finkelman J (1991). Urban air pollution in Latin America and the Caribbean. *Journal of the Air and Waste Management Association* 41:1166-1170.

Rosales-Castillo JA, Torres-Meza VM, Olaiz-Fernández G, Borja-Aburto VH (2001). Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud Pública de México* 43:544-555.

Roscher S, Glaser C, Hummel T, Kobal G (1996). An easy method for separating olfactory from trigeminal stimulation. *Chemical Senses* 21:492-493.

Salas RM (1981). Population and the urban future. *Draper Fund Report* 10:1-4.

Secretaría de Medio Ambiente, Gobierno del Distrito Federal (2008). Inventario de emisiones de contaminantes criterio de la Zona Metropolitana del Valle de México 2006. pp.13-33. Disponible en: <http://www.sma.df.gob.mx>

Seiden AM, Duncan HJ (2001). The diagnosis of a conductive olfactory loss. *Laryngoscope* 111:9-14.

Schierhorn K, Zhang M, Matthias C, Kunkel G (1999). Influences of ozone and nitrogen dioxide on histamine and interleukin formation in a human nasal mucosa culture system. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology* 20:1013-1019.

Schiffman S, Nagle T (1992). Effect of environmental pollutants on taste and smell. *Otolaryngology and Head and Neck Surgery* 106:693-700.

Shepherd GM (1994). *Neurobiology*. Third Edition. Oxford University Press, New York, pp. 238-245.

Silver WL (1991). Physiological factors in nasal trigeminal chemoreception. In: Green BG, Mason JR, Kare MR (editors). *Chemical Senses*, vol 2, Irritation. Marcel Dekker. New York, pp. 21-37.

Trasguerras J (1992). *Fisiología humana*. Ed. Interamericana Mc-Graw-Hill, Barcelona, pp. 329-341.

Tyler WS, Tyler NK, Last JA, Gillespe MJ, Barstow TJ (1988). Comparison of daily and seasonal exposures of young monkeys to ozone. *Toxicology* 50:131-144.

Upadhyay UD, Holbrook EH (2004). Olfactory loss as a result of a toxic exposure. *Otolaryngologic Clinics of North America* 37:1185-1207.

Valverde M, López MC, López I, Sánchez I, Fortoul TI, Ostrosky-Wegman P, Rojas E (1997). DNA damage in leukocytes and bucal and nasal epithelial cells of individuals exposed to air pollution in Mexico City. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 30:147-152.

Vent J, Bartels S, Haynatzki G, Gentry-Nielsen MJ, Leopold DA, Hallworth R (2003). The impact of ethanol and tobacco smoke on intranasal epithelium in rat. *American Journal of Rhinology* 17:241-247.

Vent J, Robinson A, Gentry-Nielsen MJ, Conley DB, Hallworth R, Leopold DA, Kern RC (2004). Pathology of the olfactory epithelium: smoking and ethanol exposure. *Laryngoscope* 114:1383-1388.

Versura P, Profazio V, Cellini M, Torreggiani A, Caramazza R (1999). Eye discomfort and air pollution. *Ophthalmologica* 213:103-109.

von Skramlik E (1925). Über die Lokalisation der Empfindungen bei den niederen Sinnen [On the localization of sensation in the lower senses]. *Zeitschrift für Sinnesphysiologie* 56:69-140.

Welge-Lüssen A, Wolfensberger M (2006). Olfactory disorders following upper respiratory tract infections. En Hummel T, Welge-Lüssen A (editors). *Taste and smell. An update. Advances in Otorhinolaryngology*, Karger, Basel, 63: 1-22.

Welge-Lüssen A (2009). Psychophysical effects of nasal and oral inflammation. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1170:585-589.

Wichmann FA, Müller A, Busi LE, Cianni N, Massolo L, Schlink U, Porta A, Sly PD (2009). Increased asthma and respiratory symptoms in children exposed to petrochemical pollution. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 123:632-638.

Wilson DA, Sullivan RM (2003). Sensory physiology of central olfactory pathways. En Doty RL (editor). *Handbook of olfaction and gestation. Second Edition*. New York. Dekker, pp.165-180.

Wolfensberger M, Schnieper I, Welge-Lüssen A (2000). Sniffin' Sticks: a new olfactory test battery. *Acta Otolaryngologica* 120:303–306.

World Health Organization (2000). *Guidelines for air quality*. World Health Organization. Geneva, Switzerland. Disponible en http://www.who.int/topics/air_pollution/en/

Wysocki CJ, Cowart BJ, Radil T (2003). Nasal trigeminal chemosensitivity across the adult life span. *Perception and Psychophysics* 65:115-122.

Zanobetti A, Schwartz J (2006). Air pollution and emergency admissions in Boston, MA. *Journal of Epidemiology and Community Health* 60:890-895.