

00361



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

27

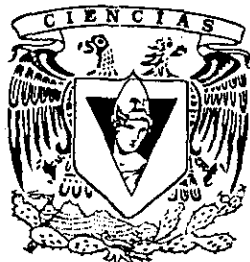
FACULTAD DE CIENCIAS
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

24

EVALUACION DEL RIESGO GENOTOXICO
PRODUCIDO POR CONTAMINACION AMBIENTAL

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADEMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS
(B I O L O G I A)
P R E S E N T A :
BIOL. MARTA CATALINA DEL VALLE VALENCIA



DIRECTOR DE TESIS

DRA. MARIA EUGENIA GONSEBATT BONAPARTE

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

258502

1998



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

Esta tesis se realizó en el laboratorio de Genética y Toxicología Ambiental del Instituto de Investigaciones Biomédicas de la U N A M, bajo la dirección de la Dra . María Eugenia Gonsebatt Bonaparte

Esta tesis fue financiada con beca de PAPIIT No. IN- 207196

Con beca otorgada a servidores públicos de la Subsecretaría de Servicios Educativos para el Distrito Federal (S.E.P) No. 0062387 / 96.

Con beca parcial de la Fundación Miguel Alemán A. C. para el proyecto "Alteraciones funcionales respiratorias y Genotóxicas en habitantes de la Ciudad de México expuestos a mezclas de contaminantes" cuyo investigador responsable es la Dra Teresa I. Fortoul.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México a quien le debo toda mi formación profesional.

A la Dra. María Eugenia Gonsebatt Bonaparte, que me dio la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por su apoyo, por todo lo que aprendí a su lado, por su paciencia, por haber creído en mi y sobre todo por la amistad de muchos años.

A la Dra. Patricia Ostrosky-Wegman por el estímulo que me brindo en mi reingreso a la "ciencia". Gracias por contar con tu amistad.

A la Profra. Rosalía Domínguez, por su intervención para "El otorgamiento de Becas a Servidores Públicos de la Subsecretaría de Servicios Educativos para el Distrito Federal" SEP Gracias maestra.

A los miembros del jurado examinador :Dra. Rosario Rodríguez-Arnaiz, Dra Patricia Ramos, Dra. Teresa I. Fortoul, Dra. Regina Montero, Dr. Mario Altamirano y M en C Patricia Orozco por la revisión y comentarios a este trabajo.

A mis amigos de la Universidad Autónoma de Yucatán Dra. Doris Pinto, Dr. José Miguel Ceballos y QFB Guadalupe García por las facilidades en la toma y envío de las muestras .

A mis compañeros de laboratorio: Carol, Sra. Delfina, Flor, Guadalupe, Lilia, Norma, Patricia Roché, Patricia Ramírez, Luis, Victor y Francisco

A Juliana Blas, Martha Luna, Victoria Espinosa y Patricia Guzmán por su colaboración para la realización de la presente, por escucharme en todo momento, pero sobre todo por la amistad cultivada en estos tres últimos años. Gracias amigas mías.

A mis padres Ernesto y Rita con cariño, por el ejemplo que me han dado.

A mi tía Raquel del Valle, con agradecimiento, quien ha sido mi compañía a lo largo de toda mi vida, por su amor y apoyo incondicional, ya que sin el no hubiera podido lograr esta meta profesional.

A mis hermanos y con mucha ternura a mis sobrinos: Viridiana, Tatiana, Karla, Tania y a Jorge Isaac, por su gran interés hacia la Paleontología, deseando logre ser un gran científico.

A Lucero Madariaga y a TODOS MIS AMIGOS, que tengo la fortuna de contar con muchos y que sería imposible enumerarlos, por todas las experiencias compartidas a lo largo de nuestra vida..

A mi esposo el Sr. Víctor Echandi, por su bondad, cariño, apoyo, comprensión y estímulo para mi realización profesional. Gracias "Bicho mío"

Dije te amo y es para siempre
Así te quiero, así me gustas
Como eres tú, te voy a amar.

Billy Joel.

Gracias a la vida..... que me ha dado tanto.

Violeta Parra.

Todas las cosas ayudan a bien a los que aman a Dios y que conforme a su propósito han sido llamados.

Romanos 8 : 28

Yo soy la luz del mundo, el que me sigue no andará en tinieblas, sino que tendrá la luz de la vida.

Juan 8 : 12

FALTAN PAGINAS

De la:

1

A la:

2

	PAG
ÍNDICE	
TABLAS, FIGURAS Y GRÁFICAS	5
RESUMEN	7
I INTRODUCCIÓN	8
II La Contaminación Atmosférica	10
Contaminación del aire intramuros	10
Contaminantes predominantes extramuros	11
Partículas suspendidas totales	11
Plomo	12
Monóxido de carbono	13
Óxidos de nitrógeno	15
Óxidos de Azufre	19
Hidrocarburos	24
Ozono	25
Radicales libres	30
La contaminación aérea en la ciudad de México	34
ZMCM (Zona metropolitana de la ciudad de México)	34
Calidad del aire en la ciudad de México	38
Contingencias ambientales	41
Lluvia ácida	41
Contaminación atmosférica en la ciudad de Mérida	43
III Enfermedades Pulmonares de Origen Ambiental	46
Medición de la exposición	47
Carcinógenos respiratorios ambientales	48
IV Los indicadores biológicos en la evaluación de la exposición	51
Indicadores de exposición	52
Indicadores de efecto	53
Indicadores de susceptibilidad	55
Consideraciones biológicas	56
Los MN como marcadores de efecto	57
Características de los MN	57

Morfología de los MN	58
Origen	58
Cariorresis	59
Núcleos en gemación o "broken-eggs"	59
El ensayo de MN en tejido epitelial	61
El tejido epitelial como órgano blanco de la contaminación atmosférica	64
Epitelio olfatorio	64
Epitelio bucal	65
Renovación de los epitelios	66
V Planteamiento del Estudio	69
Hipótesis	69
Objetivos	69
VI Materiales y Métodos	70
Población a estudiar	70
Elaboración de Preparaciones	71
Método de tinción	71
Identificación de MN	72
Análisis de los datos	74
VII Resultados	75
VIII Discusión	78
Conclusiones	82
Tablas y gráficas	83
Cuestionario	100
Bibliografía	110

FIGURAS, TABLAS Y GRÁFICAS

- FIGURA 1 Ciclo fotolítico del NO_2
- FIGURA 2 Proceso de transporte, transformación y depósito del SO_2
- FIGURA 3 Origen de los micronúcleos
- FIGURA 4 Procesos y mecanismos que dan origen a células con MN y otras atipias nucleares por exposición a agentes ambientales.
- FIGURA 5 Corte histológico de epitelio cilíndrico pseudo estratificado.
- FIGURA 6 Corte histológico de epitelio plano
- FIGURA 7 Fotografías de atipias nucleares
- TABLA 1 Enfermedades relacionadas con especies reactivas a oxígeno
- TABLA 2 Normatividad de la calidad del aire
- TABLA 3 Equivalencia del IMECA a las concentraciones de los contaminantes atmosféricos
- TABLA 4 Índice metropolitano de la calidad del aire (IMECA)
- TABLA 5 Calidad del aire en la ciudad de México
- TABLA 6 *Concentraciones máximas diarias promedio de Enero a Junio de 1996*
- TABLA 7 Número de días en que el ozono estuvo por arriba de los límites
- TABLA 8 Valores de la acidez de la lluvia en la Ciudad de México
- TABLA 9 pH de lluvia de la ciudad de Mérida
- TABLA 10 Total de partículas suspendidas (94-95) de la ciudad de Mérida
- TABLA 11 Prevalencia de células micronucleadas en Epitelios de descamación
- TABLA 12 Alteraciones celulares degenerativas
- TABLA 13 Datos generales de individuos de la ciudad de México
- TABLA 14 Datos generales de individuos de la Ciudad de Mérida
- TABLA 15 Epitelio nasal de individuos de la Ciudad de México
- TABLA 16 Epitelio nasal de individuos de la Ciudad de Mérida
- TABLA 17 Promedio \pm EE micronúcleos /1000
- TABLA 18 Epitelio bucal de individuos de la Ciudad de México

- TABLA 19 Epitelio bucal de individuos de la Ciudad de Mérida
- TABLA 20 Promedio \pm E E de Atpias /1000
- TABLA 21 Coeficiente de Correlación de Pearson para Epitelios nasal u bucal
- TABLA 22 Valores de Xi cuadrada para las frecuencias de epitelio nasal y bucal de las Ciudades de México y Mérida.
- GRÁFICA 1 Promedio de los máximos diarios de contaminantes
- GRÁFICA 2 Mínimos y máximos de pH
- GRÁFICA 3 Distribución de la frecuencia de MN en células nasales
- GRÁFICA 4 Frecuencia de MN y Broken -Egg /1000 en células nasales
- GRÁFICA 5 Frecuencia de atipias en células nasales
- GRÁFICA 6 Frecuencia de MN y Broken- Egg /1000 en células bucales
- GRÁFICA 7 Distribución de la frecuencia de MN en células bucales
- GRÁFICA 8 Frecuencia de atipias en células bucales

RESUMEN

La contaminación aérea en el valle de México representa un riesgo para la salud humana debido a los altos niveles de ozono, óxidos de azufre y de nitrógeno, metales e hidrocarburos aromáticos policíclicos. Existen estudios epidemiológicos que han reportado un aumento de las enfermedades respiratorias en los residentes de la ciudad de México, así como la presencia de daño histológico y a nivel del ADN en biopsias nasales de individuos que se trasladan a la Ciudad de México desde sitios menos contaminados.

Las células epiteliales que de las mucosas nasal y oral están en contacto directo con el aire y por lo tanto con los contaminantes presentes en el y son blanco de los mismos. Se decidió estudiar la presencia de daño citogenético y citotóxico en estas células utilizando el ensayo de micronúcleos (MN). Se tomaron muestras de células exfoliadas de la nariz y de la boca en dos grupos de adultos jóvenes (18-25 años) que viven en áreas urbanas con diferente nivel de contaminación aérea, uno residente en la ciudad de México y otro en la Ciudad de Mérida, Yucatán. En el material obtenido se analizó la presencia de daño citogenético en la forma de MN, así como la frecuencia de atipias nucleares como binucleación, kariolisis, kariorrhis, picnosis, condensación de la cromatina y gemaciones o "broken-eggs".

El análisis de las muestras de 28 residentes del D F y de 31 residentes de la Ciudad de Mérida no mostró diferencias significativas en el daño citogenético en ninguno de los dos epitelios, a pesar de que los individuos del DF tuvieron en promedio una frecuencia de MN un 40 a un 50% más elevada. Las atipias nucleares asociadas a citotoxicidad como las kariorrhis, las cromatinas

condensadas y las cariólisis fueron significativamente más frecuentes entre los voluntarios que viven en el D.F., lo cual podría implicar que el daño citotóxico es el que predomina a nivel de estos tejidos. En el epitelio nasal se observó que la presencia de MN se asoció a la presencia de atipias nucleares indicadoras de citotoxicidad. Ello podría indicar que la toxicidad de la exposición impide observar el daño citogenético.

I INTRODUCCION

Según Moeller (1992), desde hace siglos hemos resentido los efectos de la contaminación en nuestra salud. Los primeros problemas de contaminación del aire se hicieron notar desde el Imperio Romano, y en el siglo XIV las autoridades inglesas prohibieron las fundiciones de plata y de armaduras porque se dieron cuenta de que contaminaban el aire. En 1895 en la ciudad de Pittsburgh se emitieron ordenanzas para reducir la cantidad de contaminantes liberados por las fundidoras de acero. Pero no fue sino hasta 1911 en Boston donde a través de ordenanzas legislativas, se reconoce que la contaminación del aire tiene efectos locales, regionales y hasta nacionales.

Como ocurre a menudo en Toxicología, se requiere de episodios agudos para demostrar de manera concluyente que la contaminación del aire tiene efectos en la salud ya que contaminantes en el aire, que se mantuvieron cerca de la superficie durante una inversión térmica producida por el frío y la humedad, llevaron a la muerte a 60 personas. Las principales causas de la contaminación fueron las operaciones industriales que incluían fundidoras metalúrgicas, plantas de ácido sulfúrico y fábricas de vidrio. La mayoría de las muertes ocurrieron entre las personas de más edad, con una historia previa de enfermedades cardíacas y pulmonares (Goldsmith 1968)

En 1948 en Donora, Pensilvania, otro valle de un río, alrededor de 20 personas murieron como resultado de la mala calidad del aire enviado por fundidoras de hierro, acero, zinc y plantas de ácidos. De nuevo, el frío y la humedad se acompañaron de una inversión térmica.

El acontecimiento más dramático fue la neblina en Londres en 1952, en el que se produjeron 4000 muertes en un período de dos semanas como resultado de la quema de carbón doméstico aunado a cinco días de un intenso frío y una densa niebla. En todos estos episodios

generalmente asociados a bajas temperaturas y estancamiento del aire, los pacientes con enfermedades cardiopulmonares son los que se afectan más gravemente (Harrison 1992). Episodios similares ocurrieron en 1959 y 1962, pero hay datos que reportan situaciones similares desde 1873, 1880, 1882, 1891, y 1892 (Goldsmith, 1968).

Los efectos de la contaminación en la salud humana, a raíz de estos episodios, ha sido reconocida ampliamente. En la mayoría de las naciones industrializadas se han tomado precauciones para prevenir la frecuencia de episodios agudos en la salud debidos a la contaminación ambiental, a pesar de ello se piensa que el 8% de los norteamericanos sufren de bronquitis crónica, enfisema o asma a causa de la contaminación ambiental (Moeller, 1992).

En la zona metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) operan más de 12,000 establecimientos de servicios que utilizan procesos de combustión e incineración. Casi la tercera parte de sus emisiones están constituidas por hidrocarburos y alrededor de la sexta parte por bióxido de azufre. La contaminación del aire por ozono principalmente, por óxidos de nitrógeno y de azufre se asocia con una mayor frecuencia de ataques asmáticos y de admisiones a hospitales por enfermedades respiratorias agudas (ISGMEEPA 1992). Se desconocen los efectos a largo plazo que estos episodios, se conoce poco acerca de sus efectos en tejidos blanco como son los epitelios nasales y bucales. Ellos nos podrían advertir de cambios identificables mediante metodologías sencillas y poco invasivas. El propósito de este trabajo es el investigar el daño citogenético y citotóxico en células de estos tejidos, en un grupo de habitantes de la ZMCM, y compararlo con el observado en un grupo similar que vive en una ciudad con menor contaminación aérea.

II LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA.

La contaminación del aire ha sido definida como la presencia en el aire de sustancias en concentraciones tales que interfieren con la salud, el bienestar y seguridad de los seres vivos. Tales sustancias son consideradas potencialmente contaminantes no únicamente en términos de los efectos sobre la salud humana, sino que también interfieren con los productos agrícolas o alimenticios.

La contaminación del aire puede ser intra o extra muros y causa problemas agudos y crónicos.

La calidad del aire es un elemento esencial para la salud y el bienestar humano y para los ecosistemas. Diversos fenómenos naturales, tales como el vulcanismo y los incendios forestales o la erosión ocasionada por el viento, alteran dicha calidad al introducir un variado número de contaminantes. Pero la dimensión de esta contribución es menor, comparada con la que produce la actividad humana en las áreas urbanas altamente industrializadas y con una gran densidad vehicular. Más aún, este tipo de contaminación ha demostrado no tener fronteras, en forma tal que los contaminantes generados en un país pueden tener impacto indeseable en los países vecinos, e incluso, contribuir al deterioro de la capa de ozono que protege a la Tierra de la radiación ultravioleta del sol, o bien provocar el denominado efecto de invernadero que está ocasionando el calentamiento del planeta (ISGMEPA, 1994; Ostrosky y Gonsebatt, 1996).

Contaminación del Aire Intramuros

Ocurre en lugares cerrados, oficinas, edificios públicos y el hogar, entre otros. Su importancia es grande si se considera que la población urbana pasa el 90% de su tiempo bajo techo y que también en estos niveles, existe contaminación por óxidos de nitrógeno, monóxido de

carbono y partículas orgánicas volátiles. Este tipo de contaminación no es nuevo ya que hace años se cocinaba utilizando carbón, madera o queroseno, que emitían gases y partículas tóxicas además de carcinogénicas, que producen edema pulmonar y broncoconstricción. En los estacionamientos cerrados se produce monóxido de carbono que causa envenenamiento por asfixia. También el humo del tabaco produce contaminación (Moeller, 1992).

Otros contaminantes son las sustancias orgánicas: adhesivos, solventes, cosméticos, amoníaco; el polvo doméstico y las heces fecales de animales domésticos (Moeller, 1992).

El radón es un gas inerte que se produce por las reacciones químicas en los lugares cerrados con aire acondicionado y que a la larga se retiene en los pulmones por exposiciones prolongadas (Moeller, 1992). Los sujetos asmáticos son más susceptibles a los efectos pulmonares de estas sustancias que los no asmáticos, aunque en todos ellos se produce un cierto grado de broncoconstricción especialmente cuando hacen ejercicio. El gas radón es un factor de riesgo para el cáncer de pulmón (Harrison, 1992).

Contaminantes Predominantes Extramuros

A) Partículas suspendidas totales (PST) y Plomo

Dentro de este grupo existe una gran variedad de partículas de naturaleza variada : partículas de origen natural formadas por materiales de los suelos y de origen biológicos como: polen, hongos, esporas y microbios. También se cuentan partículas provenientes de los procesos de combustión (cenizas), las que son producto de actividades de la industria de la construcción y que resultan de las reacciones de los contaminantes como los sulfatos y los nitratos (Moeller, 1992).

B) El Plomo

El plomo (Pb) es uno de los contaminantes más vigilados por su alta toxicidad sobre el organismo humano. El riesgo de intoxicaciones debidas a la ingestión de este metal, obligó a regular su presencia en envases metálicos para alimentos y bebidas, pintura, cerámica y alfarería.

Una de las fuentes más importantes de Pb incluye a la gasolina con plomo, el que se deposita en el ambiente durante su combustión y queda como residuo en el suelo. El plomo acumulado en el suelo es a su vez otra fuente de contaminación, especialmente en las áreas cercanas a fundidoras, minas y otras industrias que lo usan, así como por el reciclaje de baterías (Mc Connell 1995).

En el ambiente de la Zona Metropolitana de la Ciudad de México y en el resto de los estados de la República Mexicana, la reducción o eliminación del tetraetilo de plomo de la gasolina (antidetonante) constituye una de las medidas más efectivas adoptadas para reducir la exposición humana a dicho metal (ISGMEPA 1994).

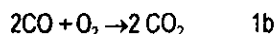
C) Gases:

- 1.-Monóxido de Carbono
- 2.-Óxidos de Nitrógeno
- 3.-Óxidos de Azufre
- 4.-Hidrocarburos
- 5.-Ozono

1.- El Monóxido de Carbono (CO)

Este gas se forma por la incompleta combustión del carbono que reacciona con el oxígeno o de compuestos que contienen carbono (1a). Esto ocurre cuando el oxígeno disponible es menor que la cantidad que se requiere para la combustión, en el cual el dióxido de carbono es el producto(1b) cuando hay una pobre mezcla de combustión en el aire (Landis y Yu, 1995).

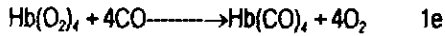
La reacción es:



El monóxido de carbono es un gas incoloro, inodoro, insípido y que se encuentra en altas concentraciones en la atmósfera. Afecta la salud humana y también la de los animales. Se encuentran altas concentraciones de este gas en el ambiente urbano. Su presencia está asociada con el desarrollo industrial, con explosiones y con el uso de lámparas para obtener iluminación. La migración de poblaciones agrícolas a las ciudades aumenta la producción de CO (Landis y Yu, 1995). La exposición ocupacional a CO es mayor en personas que laboran como agentes de tránsito, en la fundición de metales y en hornos de coque (Landis y Yu, 1995).

Efectos Toxicológicos

El efecto fisiológico más conocido del CO es su interferencia en la transferencia del oxígeno. Ello trae como consecuencia la combinación del gas CO con la hemoglobina dando como resultado la "carboxi-hemoglobina" (HbCO o COHb) (1c, 1d, 1e).



El CO tiene 200 veces más afinidad de combinación con la hemoglobina que con el oxígeno. Además, el sitio de unión de la molécula de hemoglobina no puede ser ocupado al mismo tiempo por CO y oxígeno (Landis y Yu, 1995).

Elevadas concentraciones de carboxi-hemoglobina producen:

Dolor de cabeza, disnea y alteración de la frecuencia respiratoria, si la concentración de COHb es mayor de 20%

Desvanecimientos y/o vértigos y ataxia, a concentraciones > de 30-40%

Síncope, ataque apopléjico y posteriormente estado de coma, si los niveles son > del 50% (Seger y Welch 1992).

Mecanismo de Acción

Como ya se mencionó el CO compite con el oxígeno para unirse a la hemoglobina, pero además se une a otras proteínas tales como: la mioglobina, la citocromo c oxidasa y el citocromo P-450. El monóxido de carbono dificulta la difusión del oxígeno a la mitocondria, desplazando la curva de disociación de la oxihemoglobina hacia la izquierda de tal manera que se dificulta la liberación de oxígeno a los tejidos (Landis y Yu, 1995).

La exposición a CO proviene principalmente de 3 fuentes:

- Gases de automóviles que afectan a la salud humana y motores de combustión interna, por intoxicación accidental (incendios), donde la concentración de CO es mayor de 500,000 ppm y por problemas antropogénicos tales como: hornos defectuosos en casas con mala ventilación, garajes que tienen conexión con habitaciones y la calefacción que se utiliza en las tiendas de campaña. Por las condiciones de altitud de la ciudad de México los procesos de combustión son menos eficientes y a menudo incompletos debido a la menor cantidad de oxígeno, lo que favorece la producción de monóxido de carbono. Durante el día las concentraciones altas se relacionan con las llamadas "horas pico"; cuando el tráfico vehicular es más intenso (ISGMEEPA 1992).

- Exposición ocupacional como es el caso de los bomberos expuestos a concentraciones mayores de 10,000 ppm de CO, agentes de tránsito, mineros y trabajadores de la fundición.

- Los Fumadores, estas personas tienen niveles más altos de carboxi-hemoglobina que aquellos que no son fumadores. Sin embargo los no fumadores inhalan CO cuando conviven con fumadores (Landis y Yu, 1995).

2.- Oxidos de Nitrógeno (NO)

Son un producto de la combustión, precursores del ozono. Una vez en la atmósfera pueden reaccionar para formar ácidos y sales que contribuyen también a la lluvia ácida y a la disminución de la visibilidad(Landis y Yu ,1995).

Existen 6 formas de óxidos de nitrógeno:

Oxido nitroso (N_2O)

Oxido nítrico (NO)

Dióxido de nitrógeno (NO₂)

Trióxido de nitrógeno (N₂O₃)

Tetraóxido de nitrógeno (N₂O₄)

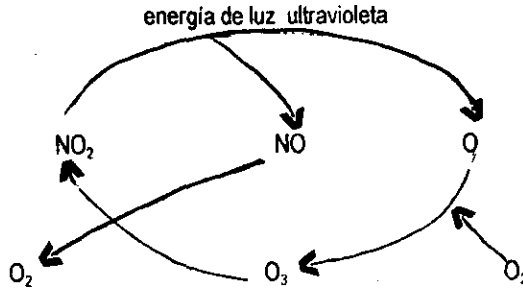
Pentóxido de nitrógeno (N₂O₅)

De todos los anteriores el dióxido de nitrógeno es el más tóxico y ubicuo, mientras que el óxido nitroso, el trióxido de nitrógeno y el tetraóxido de nitrógeno tienen baja toxicidad. Las reacciones químicas involucradas en la formación de NO₂ son (Landis y Yu, 1995):



El NO formado (2a), persiste cuando la temperatura baja rápidamente, como ocurre en el invierno. La ecuación 2b describe una de las pocas reacciones que son retardadas con el aumento de temperatura. De las varias especies de N que incluyen al NO, NO₂, HNO₃ que se encuentran en la tropósfera, es el NO₂ el importante desde el punto de vista ambiental, porque juega un papel esencial en la producción de oxidantes fotoquímicos. Absorbe la energía de la luz ultravioleta y se descompone formando NO y oxígeno atómico. Este oxígeno energizado reacciona con el oxígeno molecular y forma ozono, el cual reacciona después con el NO para formar oxígeno molecular y NO₂, terminando de esta manera el ciclo fotolítico del NO₂ (Landis y Yu, 1995) (Figura 1)

Figura 1

CICLO FOTOLITICO DEL NO_2 

Además de NO y NO_2 , el ácido nítrico es también un componente de N importante en la tropósfera. Se forma principalmente a través de la oxidación de NO_2 a NO_3 , que luego es nuevamente oxidado por NO_2 a N_2O_5 . Este último en presencia de una molécula de agua genera HNO_3 . Este ácido puede precipitarse con la lluvia o como partícula.

Efectos de los Óxidos de Nitrógeno en el hombre y en los animales.

Los efectos patológicos y fisiológicos del NO se han estudiado en animales a concentraciones mayores que las que se encuentran en el medio ambiente. La acción tóxica del NO_2 ocurre principalmente en el pulmón y en los pasajes aéreos periféricos. La exposición de varias especies de animales a concentraciones de 10-25 ppm de NO_2 durante 24 horas, produjo la presencia de pequeños trozos de fibrina en los pasajes aéreos así como un aumento en el número de macrófagos, observándose una alteración en la apariencia de las células de los pasajes aéreos distales y de los alvéolos pulmonares. Los bronquiolos terminales presentaron hiperplasia e hipertrofia, pérdida de cilios y por lo tanto una ciliogénesis alterada. En las células cuboidales aparecen depósitos cristaloides. La exposición continua a lo largo de algunos meses,

produce un engrosamiento de las membranas basales, lo que produce un angostamiento y fibrosis de los bronquiolos. Se desarrollan alteraciones similares al enfisema en los pulmones seguida de la muerte de los animales (Freeman y Haydon, 1964; Landis y Yu, 1995).

Toxicidad Aguda por Óxidos de Nitrógeno

La relativa baja solubilidad de los óxidos de nitrógeno produce irritación mínima en la membrana de la mucosa de la membrana superior respiratoria siendo el principal sitio de toxicidad el tracto inferior respiratorio. El olor de NO_2 es detectable entre 1 y 3 ppm, mientras que la irritación de la membrana mucosa no ocurre a concentraciones menores de 13 ppm. Los individuos no familiarizados con el olor de este gas pueden tener riesgo de sufrir toxicidad respiratoria. La seriedad de los efectos clínicos depende primariamente de la concentración de los óxidos de nitrógeno inhalados y no de la duración de la exposición. La exposición a concentraciones masivas de óxidos de nitrógeno puede producir muerte repentina debido a bronco y laringo espasmo o asfixia (Lypsett 1992).

Toxicidad Crónica

Los estudios epidemiológicos realizados con NO_2 bajo techo sobre los efectos respiratorios en población humana, se ve incrementada para enfermedades respiratorias y déficit en la función pulmonar. La exposición al aire libre del NO_2 (la cual es menor bajo techo) demuestra un efecto de exposición crónica. Repetidas exposiciones a NO_2 causan daño en el sistema inmune. El NO_2 genera reacciones de radicales libres, es genotóxico *in vitro* y potencialmente carcinogénico o cocarcinogénico (Lypsett 1992).

Efectos Bioquímicos

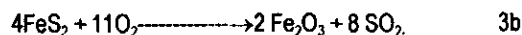
Los extractos de lípidos de pulmón de ratas expuestas a NO_2 mostraron efectos oxidativos. La peroxidación de lípidos fue más severa en animales alimentados con una dieta deficiente en vitamina E (Roehm et al., 1971). La exposición a NO_2 puede causar cambios en la estructura molecular del colágeno del pulmón (Landis y Yu, 1995).

3.- Óxidos de Azufre

Los óxidos de azufre incluyen tanto al dióxido de azufre (SO_2) como al trióxido de azufre (SO_3), el SO_2 es el más importante como contaminante del aire. El trióxido de azufre puede formarse en calderas por la reacción entre azufre y oxígeno, o entre SO_2 y O_2 . El dióxido de azufre es probablemente el más peligroso de todos los contaminantes gaseosos (Landis y Yu, 1995).

Fuentes de SO_2

Las emisiones de óxidos de azufre son el resultado de la combustión de aceite y carbón. En el carbón los rangos de azufre son de 0.3 a 7% encontrándose en ambas formas orgánica e inorgánica. Mientras que en el aceite el contenido de azufre se encuentra entre el 0.2 y el 1.7% en forma orgánica. El más importante compuesto de azufre en el carbón es el disulfuro de hierro o pirita (FeS_2) (3a). Cuando la pirita reacciona a altas temperaturas produce: (3b)



En los procesos de fundición, los minerales de sulfuro de cobre, plomo y zinc son oxidados de tal manera que por ejemplo el sulfuro de zinc (ZnS), después del proceso de oxidación en la fundidora forma ZnO y SO₂. (3c)

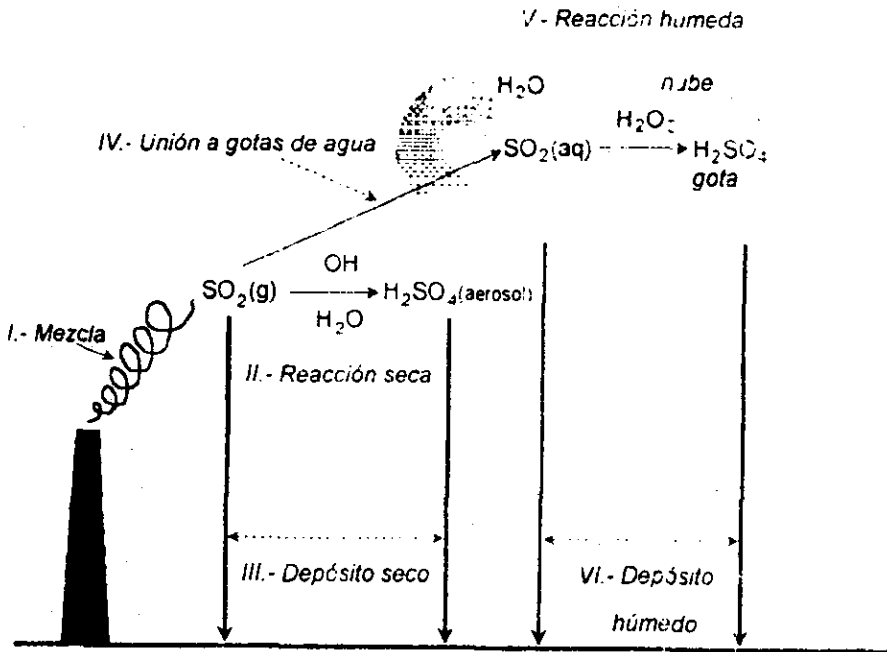
La reacción es la siguiente:



En los países industrializados como en los Estados Unidos, la emisión de SO₂ por este tipo de fuentes estacionarias representa el 95% del total de la emisión de dióxido de azufre (Landis y Yu, 1995). En nuestro país, la principal fuente de dióxido de azufre son las plantas generadoras de electricidad. Se forma a partir de la combustión de petróleo, diesel y combustóleo, así como en los procesos de refinación del petróleo (ISGMEEPA 1992).

Características físicas y químicas del SO₂

Es muy soluble en agua. Una vez en la atmósfera, el SO₂ puede sufrir oxidación en la fase gaseosa formando un aerosol de H₂SO₄ (ácido sulfúrico). El SO₂ gaseoso puede también disolverse en gotas de agua y después de su oxidación formar gotas de aerosol de ácido sulfúrico. Estas dos formas de ácido sulfúrico así formado son removidas de la atmósfera al precipitarse en la superficie terrestre, contribuyendo a la formación de la lluvia ácida (Fig 2). Por otra parte, los sulfatos generados en reacciones secundarias del dióxido de azufre en la atmósfera son capaces de favorecer el incremento de las concentraciones de partículas suspendidas en el aire, disminuyendo así la visibilidad (Landis y Yu, 1995).



Landis y Yu. 1995

Figura 2.-

Proceso de Transformación, transporte, y depósito del SO₂

- I. Inicialmente el SO₂ se mezcla en la atmósfera.-
- II. El gas de SO₂ puede sufrir oxidación con la subsecuente formación de aerosoles de H₂SO₄.
- III. Los gases de SO₂ y aerosol de H₂SO₄ pueden ser depositados en la superficie de la tierra
- IV. El gas de SO₂ puede disolverse en gotas de agua.
- V. Al disolverse el SO₂ puede ser oxidado en solución para formar aerosoles de H₂SO₄.
- VI. El aerosol y las gotas de H₂SO₄ pueden ser removidos de la superficie de la tierra por depósitos húmedos (Landis y Yu 1995).

Lluvia Ácida -

El agua de lluvia se considera ácida cuando su pH es inferior a 5.6 aunque en estudios recientes se han considerado a las precipitaciones ácidas cuando su pH es menor de 5.0 ya que factores naturales como las emisiones de ácidos orgánicos, compuestos de azufre y nitrógeno emitidos por fuentes naturales traen como consecuencia que el pH de la lluvia no contaminada este más cerca de 5.0 que de 5.6. La ligera acidéz que presenta el agua de lluvia en condiciones normales es causada por la formación de ácido carbónico cuando la humedad atmosférica alcanza un equilibrio con el dióxido de carbono presente en el aire (ISGEMEEPA,1994).

En la actualidad, las precipitaciones ácidas adquieren gran importancia, pues sus efectos pueden ser irreversibles y acabar con lagos, ríos, bosques, zonas arqueológicas, así como los ecosistemas asociados a ellos (ISGEMEEPA,1994).

Efectos del SO₂ en humanos:

El dióxido de azufre es rápidamente absorbido en la región nasofaríngea. Las personas expuestas a 5 ppm de este gas presentan un aumento en la frecuencia respiratoria y disminución en el volumen respiratorio. Se han llevado al cabo observaciones similares en animales. La exposición a SO₂ en seres humanos altera la manera de respirar, manifestándose como un aumento en la frecuencia y un descenso del flujo inspiratorio y expiratorio. Se ha demostrado sinergismo y una elevada resistencia por vía respiratoria provocada por SO₂ y aerosoles de agua y solución salina (Landis y Yu, 1995).

Se piensa que el SO₂ emitido es oxidado lentamente por el oxígeno atmosférico a SO₃, el cual rápidamente se combina con agua para formar H₂SO₄. Los aerosoles reaccionan con las partículas atmosféricas o superficiales para formar sulfatos. La Organización Mundial de la Salud

recomienda que las normas de la calidad del aire reflejen la presencia simultánea de SO_2 y de sus sulfatos ácidos. Los recientes datos experimentales y epidemiológicos no dan una evidencia clara de efectos específicos atribuibles a los aerosoles de sulfatos, sin embargo, a nivel individual la reacción varía dependiendo de cada persona. Por ejemplo, en las personas con hiperactividad en las vías respiratorias como los asmáticos, se incrementa la resistencia al flujo aéreo pulmonar cuando se exponen a SO_2 por vía oral, mientras que el aumento es menor cuando la exposición ocurre al respirarlo por la nariz (Frank et al., 1962).

Toxicidad Aguda

Por su alta solubilidad el SO_2 es muy irritante para los ojos y el tracto superior respiratorio. Su olor es detectable a 0.5 ppm, mientras que a 6 ppm produce irritación instantánea de la mucosa y sus síntomas son lagrimeo, rinoirrea, tos, sangrado por la nariz, falla en la respiración y dolor en el pecho. Los síntomas asociados con SO_2 en el tracto respiratorio bajo son: broncoconstricción y sensación de asfixia.

En accidentes industriales en donde se presentó una exposición elevada a altas concentraciones de SO_2 , Charan et al (1979) reportaron el caso de 2 trabajadores que murieron en pocos minutos, encontrándose en sus pulmones una degradación extensiva de la mucosa bronquial y broncoquilar; Galea et al (1964) reportaron un caso de un empleado en una fábrica de papel quien murió 17 días después de haberse expuesto durante 15-20 minutos a vapores de SO_2 (Lyppsett, 1992).

Toxicidad Crónica

En experimentos realizados con perros expuestos a 200 ppm de SO₂ la exposición causó síndromes similares a los que se observaron en seres humanos tales como bronquitis con obstrucción crónica en las vías aéreas, tos, e hipersecreción mucosa. Personas que han sobrevivido a exposiciones masivas a SO₂ han presentado daño en su función pulmonar con hiperreactividad pulmonar. Los niveles a los que las exposiciones recurrentes ocupacionales y/o ambientales producen efectos adversos en los seres humanos no están claros. En parte porque en ambos casos hay exposiciones combinadas a partículas y/o a otros irritantes. Algunas investigaciones parecen sugerir que las exposiciones ocupacionales aún por debajo de los límites permitidos se asocian con un incremento de síntomas en las porciones altas y bajas del tracto respiratorio y descensos en varios índices espirométricos (Lypsett, 1992).

Los resultados de algunos estudios en comunidades, resultan algo sorprendentes porque la exposición a SO₂ está asociada no únicamente con síntomas de aumento en la frecuencia respiratoria y decremento en la función pulmonar, sino también con un aumento en la mortalidad diaria. Tales efectos aparecen en 24 horas con exposiciones menores a 0.10 ppm. En estas situaciones el SO₂ parece ser un indicador de una compleja mezcla de contaminantes, incluyendo probablemente sulfatos ácidos y otras partículas (Lypsett 1992).

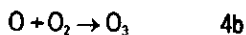
4.- Hidrocarburos

Son precursores en la formación de ozono, pasan al aire como vapor de gasolina. Estos son producidos en las refinerías de petróleo, gasolineras y tintorerías. La cantidad de estos contaminantes varía geográficamente. Las concentraciones de monóxido de carbono; óxidos de

nitrógeno e hidrocarburos, son más altas en áreas urbanas debido a que existe un mayor número de vehículos (ISGMEEPA, 1992).

5.- El Ozono (O_3)

Es un constituyente natural de la atmósfera superior. Existen cantidades traza en las capas inferiores de la atmósfera. La formación de O_3 en las capas superiores de la atmósfera ocurre por pasos, por ej. una molécula de oxígeno es separada en dos átomos de oxígeno(4a) y el oxígeno atómico resultante reacciona con otra molécula de oxígeno, formando ozono(4b)



El ozono en las capas inferiores de la atmósfera es también producido por la tecnología moderna. Los equipos que producen chispas eléctricas, arcos voltaicos, descargas estáticas, radiación ultravioleta o de otro tipo, incluyendo las formas comerciales de los purificadores de aire y desodorantes ambientales en los hogares, hospitales y oficinas, así como en ambientes confinados como las cabinas aeroespaciales y las cámaras en los submarinos, son ejemplos de fuentes productoras de O_3 (Landis y Yu, 1995).

El ozono es un contaminante que se encuentra en todas partes ya que es un producto de reacciones atmosféricas muy complejas en las que intervienen los óxidos de nitrógeno, los hidrocarburos y la luz solar. Como vimos en el caso de los óxidos de nitrógeno, la ruptura del ciclo

fotolítico del NO_2 (figura 1, ecuaciones 4c, 4d y 4e) por los hidrocarburos atmosféricos es la causa principal del esmog fotoquímico (Victorin 1992; Landis y Yu, 1995).

Debido a que el ozono no es un contaminante emitido directamente por los escapes de los vehículos, sino que es el producto de una reacción fotoquímica que tiene lugar en la atmósfera, su concentración es mas homogénea en el aire libre urbano.



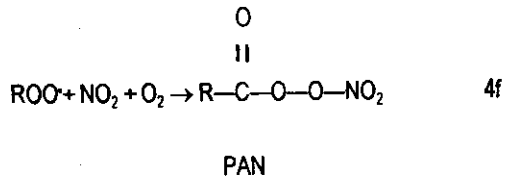
Resultando:



En esta ecuación, la reacción hacia la izquierda es más rápida que la inicial, de tal manera que el ozono debería desaparecer rápidamente, pero los radicales libres formados por los hidrocarburos y las otras especies presentes en el ambiente urbano reaccionan con (y remueven) el NO, deteniendo la reacción hacia la izquierda. Esto lleva a la acumulación de ozono.

El esmog fotoquímico

Los radicales libres de hidrocarburos como RO_2 en la ecuación 4i, pueden reaccionar posteriormente con otros hidrocarburos o con especies como NO, NO_2 , O_2 y O_3 . El radical libre de hidrocarburos ROO^\cdot puede reaccionar con O_2 y con NO_2 dando lugar a peroxiacilnitrato (PAN), uno de los principales componentes del esmog fotoquímico (4f).



Que también puede formarse de la reacción de RO_3 y NO_2 (4g)



Una gran cantidad de reacciones químicas ocurren en la atmósfera, lo que da por resultado la formación de muchos contaminantes secundarios. En las áreas en donde la abundancia de luz solar se une a condiciones topográficas únicas como ocurre en el valle de México, este tipo de contaminantes se acumulan dando origen al esmog fotoquímico. Muchas grandes urbes en el mundo se enfrentan a este problema. Los principales componentes del esmog fotoquímico son el ozono (hasta un 90%), el NO_x (principalmente NO_2 10%), PAN (0.6%), diferentes formas de radicales libres y otros compuestos orgánicos como aldehídos, cetonas y alquilnitrosos (Landis y Yu, 1995).

Las concentraciones de ozono ambiental son usualmente más altas en las ciudades durante el día y en los seis meses del verano. Las concentraciones del ozono y del esmog fotoquímico, disminuyen durante la noche. Los valores máximos se alcanzan poco después del medio día. Es uno de los gases más frecuentes en la atmósfera de la ZMCM (ISGMEEPA, 1992; Victorin, 1992; Landis y Yu, 1995).

Se ha calculado que los niveles de fondo de ozono se encuentran en un rango de 40 a 60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ lo que equivale a 0.02 - 0.03 ppm. como promedio de 24 horas, sin embargo, se han medido niveles máximos promedio de 24 horas de 120 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (0.06 ppm) a nivel del mar en el océano Atlántico y en otras áreas remotas (Victorin, 1992).

Efectos del Ozono.

En solución acuosa, el ozono se descompone para producir peróxido de hidrógeno, radicales superóxido e hidroxilo. Se cree que algunos de los radicales libres inducidos por el ozono en los sistemas biológicos son derivados de la descomposición oxidativa de los ácidos grasos poliinsaturados. En las reacciones del ozono con los ácidos grasos se forman epóxidos y dialdehídos. Es posible que los productos de estas reacciones secundarias causen daño en sitios alejados de los pulmones (Mustafa, 1990; Steinberg, 1990).

La inhalación de ozono afecta primariamente a los bronquiolos y a los alvéolos. Las células ciliadas y las del epitelio alveolar tipo I son dañadas y son más tarde reemplazadas con células de Clara que proliferan en los conductos aéreos y con las células epiteliales tipo II de los alvéolos, respectivamente (Victorin, 1992).

Cuando se exponen animales de laboratorio pocas horas al día a los efectos del ozono, se producen alteraciones bioquímicas y morfológicas en el pulmón y una poderosa relación bacteriana, cuando los niveles son de 0.08-0.2 ppm (Victorin 1992). En estudios con seres humanos controlados con una exposición de ozono de 1 a 3 horas, en niveles inferiores a 0.12 ppm, se han reportado daños en la función pulmonar acompañados por síntomas respiratorios. Estudios epidemiológicos y de campo han identificado un número de efectos agudos del O_3 y de otros oxidantes fotoquímicos tales como irritación en ojos, nariz, y garganta, molestias en el

pecho, tos y dolor de cabeza, disminución de la función pulmonar en niños y asmáticos. Estos efectos han ocurrido en niveles por debajo de 0.1 ppm. Sólo una muy pequeña fracción del O₃ inhalado aparece en sangre. Sin embargo, un amplio rango de efectos extrapulmonares han sido identificados después de la exposición a ozono tales como cambios bioquímicos y morfológicos en los glóbulos rojos y cambios en las actividades enzimáticas (Victorin, 1992).

En un estudio en el que se revisaron los pulmones de 107 jóvenes sanos no fumadores, muertos por causa accidental, se encontraron severos daños de inflamación de los bronquios (en más del 25% de los casos) y cambios por inflamación moderada en más de la mitad (Sherwin y col 1990). Los cambios encontrados son comparables a los registrados en los pulmones de fumadores y similares a los efectos causados en los pulmones de primates por exposición prolongada a ozono durante estudios de laboratorio. El mismo hallazgo de daños pulmonares similares a los causados por el tabaquismo ha sido encontrado en jóvenes no fumadores de la Ciudad de México (Sodi, 1993).

Daño Genético por Exposición a Ozono

Se han realizado algunos estudios de daño cromosómico en linfocitos de individuos con exposición a ozono. Merz (1975) estudió a 2 individuos expuestos a 0.5 ppm durante 6 horas y a 4 individuos a 0.5 ppm durante 10 hrs. Cada uno de ellos sirvieron como su propio control ya que se analizaron las muestras antes y después de la exposición. El daño se analizó 2 y 6 semanas después de la exposición en el grupo de 4 individuos. La mayoría de los individuos presentaron un incremento en las lesiones de tipo acromáticas (brechas) y de tipo cromatídicas, sin embargo no

se encontró ninguna aberración de tipo cromosómica. El número de deleciones cromatídicas fue mayor dos semanas después de la exposición. Un estudio similar pero en un número mayor de individuos (McKenzie et al., 1977) no encontró incrementos significativos de aberraciones cromatídicas, cromosómicas o de brechas en 26 no fumadores expuestos a 0.4 ppm durante 4 horas. Las muestras fueron tomadas inmediatamente, a los 3 días y dos y cuatro semanas después de la exposición. Guerrero et al. (1979) no encontraron asociación entre la frecuencia de intercambios de cromátidas hermanas y la exposición a 0.5 ppm por dos horas. El análisis fue realizado 24 horas después de la exposición. Sarto y Viola (1980) notaron un incremento estadísticamente significativo en las brechas cromatídicas en 10 trabajadores expuestos a casi 0.3 ppm de ozono por un periodo de 1 a 3 años, aunque no mencionan si los individuos fumaban o estaban expuestos a otros compuestos en el área de trabajo (Victorin, 1992).

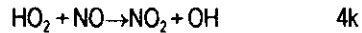
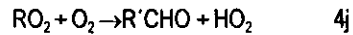
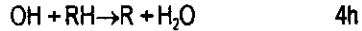
Por otro lado, Calderón Garcidueñas et al., (1996) reportaron la presencia de rompimientos a nivel de la cadena de ADN en células del epitelio nasal de adultos y niños que vivían en el suroeste de la ZMCM y que los investigadores atribuyen a la presencia de ozono. Encontraron asimismo la presencia de cambios metaplásicos en el tejido nasal. En este estudio también se observó que las personas que tienen una dieta pobre de frutas y verduras tienen mayor daño nasal que aquellos con una dieta balanceada.

Los radicales libres

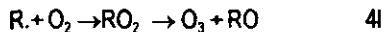
Los radicales libres están involucrados en la toxicidad del ozono. Los radicales libres son los fragmentos no cargados de moléculas estables, por ejemplo el radical hidroxilo, OH, el radical hidroxiperoxilo, HO₂, el oxígeno atómico, O¹D, y homólogos mas complejos, RO y RO₂, donde R es un grupo de hidrocarburos. Los radicales libres participan en las reacciones en cadena en la

atmósfera. La cadena OH-HO₂ es particularmente efectiva para oxidar hidrocarburos y NO.

Algunos ejemplos que ilustran estas reacciones son:



Es de hacer notar que el proceso comienza con un radical OH. Después de un pasaje a través del ciclo, dos moléculas de NO son oxidadas a NO₂. El radical OH formado en el último paso puede iniciar el ciclo nuevamente. Por otro lado el O₃ puede también formarse del O₂ que reacciona con los radicales libres (Landis y Yu, 1995),



Los radicales libres se definen como especies químicas que poseen un electrón no apareado, pueden ser considerados como fragmentos de moléculas con una poderosa capacidad de reacción. Son producidos continuamente en las células ya sea como producto accidental y natural de las reacciones metabólicas o deliberadamente, por ejemplo, durante la fagocitosis. El reactivo más importante en la bioquímica de los radicales libres en las células aeróbicas es el

oxígeno y los radicales que de él se derivan (el radical superóxido y el hidroxilo), el peróxido de hidrógeno y los metales de transición. Los radicales libres que se forman dentro de las células pueden oxidar biomoléculas y producir muerte celular y daño a los tejidos (Cheeseman y Slater, 1993).

Las biomoléculas son vulnerables al daño por radicales libres y el ADN no es la excepción. Las consecuencias del daño cromosómico producido por los radicales libres son variadas y en estrecha relación con la dosis. Generalmente el daño producido a bajas dosis es reparado y la célula sobrevive. Cuando el daño es masivo, la capacidad de reparación se sobrepasa y hay citotoxicidad, enmascarándose el potencial mutagénico. Grados intermedios de daño condicional facilitarán la aparición de errores en la reparación, con la posibilidad de mutaciones trayendo como consecuencia a largo plazo carcinogenicidad (Dreosti, 1991). En los tejidos con capacidad de regeneración, la muerte celular por toxicidad estimula la proliferación, lo que representa un evento necesario para la promoción en el proceso de carcinogénesis (Blas, J., 1995).

Radicales libres y enfermedad del pulmón

Las exposición a altas concentraciones de los gases arriba descritos y a las especies reactivas que se generan, producen lesiones en el tracto respiratorio, que incluye la acumulación de macrófagos en los alvéolos y daño en las células epiteliales. El pulmón es un órgano blanco para la toxicidad por radicales libres. Las especies llamadas reactivas de oxígeno (ROS) están involucradas con enfermedades del pulmón. Se cree que son generadas por los leucocitos (particularmente neutrófilos). Las ROS inducen efectos tóxicos tales como el estrés oxidativo.

Tabla 1. Enfermedades Asociadas con Especies reactivas a Oxígeno (Ryrdfeldt 1983)

CONTAMINANTE	ENFERMEDAD
-Contaminación del aire- -Óxidos nitrógeno -Ozono	-Produce peroxidación lipídica e hiperactividad en asmáticos y daño pulmonar
Humo de cigarro	-Enfisema pulmonar y cáncer
-Asbesto y sílice	-Actividad en macrófagos (asbestosis)
Herbicidas	Fibrosis pulmonar

La Contaminación aérea en la Ciudad de México

Los problemas de contaminación atmosférica urbana se presentan principalmente en las megalópolis de las llamadas "naciones en desarrollo". El crecimiento demográfico, la concentración industrial y el acelerado incremento del parque vehicular, provoca que sus habitantes estén expuestos a problemas graves de la contaminación. La Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) en su estudio "La contaminación del Aire en las megalópolis del mundo (WHO,1992), señalan que las ciudades de Latinoamérica tienden a presentar una mayor concentración de vehículos que en otras regiones en desarrollo y por lo tanto, la contribución de los vehículos motorizados a la contaminación es mayor.

ZMCM (Zona metropolitana de la ciudad de México)

La zona Metropolitana de la ciudad de México está situada a 2240 m sobre el nivel del mar y cubre un área de 255 kilómetros cuadrados. Su población en 1990 fue mayor a 15 millones de personas que producen el 36% del producto interno bruto del país y que consumen el 17% de la energía generada en él (ISGMEEPA, 1992). Cuenta con una densidad de población que varia desde casi 7000 personas por km² en la zona centro hasta 500 personas por km² en zonas circundantes. De esta población el 55% reside en el Distrito Federal y el 45 % en los municipios del Estado de México. La temperatura en la Ciudad de México es en promedio de 15°C (12°C en Enero y 17°C en Mayo). La precipitación durante el verano (de junio a septiembre) es de 725 mm por año. La ventilación es pobre dadas sus características geográficas, ya que está rodeada por montañas, lo cual no facilita la dispersión de contaminantes (ISGMEEPA, 1994).

La concentración demográfica, así como el acelerado desarrollo industrial y la gran demanda de servicios que esto produce, colocan a la ZMCM entre las megalópolis con mayor

problemática ambiental del mundo. La contaminación atmosférica es una consecuencia de este tipo de desarrollo y a manera de ejemplo de la variable orográfica puede citarse que más del 60% de la población urbana se asienta en localidades ubicadas a más de 500 m sobre el nivel del mar donde las condiciones ambientales son menos favorables. En la ZMCM existe una gran concentración urbano-industrial en donde, el creciente uso de vehículos automotores, la existencia de grandes áreas erosionadas y zonas agrícolas de temporal y la excesiva demanda de energía han sido factores determinantes en el deterioro de la calidad del aire (ISGMEEPA, 1994).

Mientras que la norma mexicana para el ozono ambiental es que éste no debe sobrepasar 0.11 ppm por hora promedio, la Organización Mundial de la Salud para la calidad del aire en Europa establece una norma de (0.076-0.1 ppm) por hora promedio y de 0.05-0.06 ppm para 8 horas (WHO, 1987). En Estados Unidos la norma federal es de 0.12ppm para una hora en promedio que no debe excederse más de una vez al año (EPA 1991). En México, para la ZMCM se estableció en 0.11 como promedio máximo horario o 110 ppb como promedio para una hora una vez al año, las que son rebasadas en forma casi permanente y provocan el mayor grado de exposición conocido en cualquier ciudad del mundo (ISGMEEPA 1992; Secretaría de Salud, 1994).

La contaminación atmosférica está ligada estrictamente al consumo de combustibles. En la ciudad de México el consumo promedio diario de gasolinas presenta un crecimiento acelerado. En 1989 se consumieron en promedio cada día un total de 15 millones de litros de gasolina. En 1994 el consumo fue de 19 millones de litros. Entre 1989 y 1994 el consumo anual aumentó a 800,000 litros, incrementándose en 4 millones de litros en un lapso de solamente 5 años.

Se estima que en la ZMCM operan 12,000 establecimientos de servicios que utilizan procesos de combustión e incineración. La producción, almacenamiento y distribución de combustibles genera alrededor del 14% de la contaminación proveniente de fuentes fijas. Casi la tercera parte de estas emisiones están constituidas por hidrocarburos y alrededor de la sexta parte por bióxido de azufre. Se sabe que los vapores de gasolina y combustibles en general son especialmente nocivos para la salud. La contaminación del aire por ozono, óxidos de nitrógeno y azufre se asocia con una mayor frecuencia de ataques asmáticos y de admisiones a hospitales por enfermedades respiratorias agudas (ISGMEEPA 1992).

Las normas con las que se cuantifican estos contaminantes (tabla 2) fueron establecidas por el sector salud mediante un decreto publicado el 29 de Noviembre de 1982 (ISGMEEPA 1994)

Tabla 2. Normatividad de la Calidad del Aire (ISGMEEPA, 1994)

CONTAMINANTE	NORMAS 1994
Monóxido de Carbono	11 ppm en 8 Hrs
Bióxido de Azufre	0.13 ppm en 24 Hrs. 0.03 ppm en un año
Bióxido de Nitrógeno	0.21ppm en 1 hora
Ozono	0.11ppm en 1 hora
Partículas menores a 10 micras	150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en 24 horas 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en un año
Partículas suspendidas totales	260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en 24 horas 75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en un año
Plomo	1.50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (promedio de 3 meses)

La equivalencia de los valores IMECA y las concentraciones atmosféricas de los contaminantes se expresan a través del Índice Metropolitano de Calidad del Aire (IMECA) como se muestra en las tablas 3 y 4.

Tabla 3. Equivalencia del IMECA a la concentración de los contaminantes atmosféricos ISGMEEPA (1994)

CONTAMINANTE	IMECA 0	IMECA 100	IMECA 500
Monóxido de Carbono(ppm)	0	13	50
Dióxido de Nitrógeno (ppm)	0	0.21	2
Dióxido de Azufre(ppm)	0	0.13	1
Partículas suspendidas totales(ppm) $\mu\text{g}/\text{m}^3$	0	0.11	0.60

Tabla 4. Índice Metropolitano de la Calidad del Aire(IMECA) (ISGMEEPA 1994)

IMECA	CALIDAD DEL AIRE	INDICACIONES Y EFECTOS
0-100	Satisfactoria	Situaciones favorables para la realización de todo tipo de actividades físicas
101-200	No satisfactoria	Molestias menores en personas sensibles
201-300	Mala	Aumento de molestias e intolerancia relativa al ejercicio en personas con padecimientos respiratorios.
301-500	Muy mala	Aparición de diversos síntomas e intolerancia al ejercicio de la población sana.

El sistema de monitoreo atmosférico de la ZMCM se compone de 5 elementos, siendo el principal la Red de Monitoreo Atmosférico (RAMA) mientras que las estaciones piloto, las unidades móviles de monitoreo atmosférico, la red manual y la red meteorológica son los elementos que la complementan. El Instituto Nacional de Ecología es el encargado de realizar

estas auditorías a los sistemas y a su vez, es auditado por agencias extranjeras, principalmente por la agencia de Protección ambiental de Estados Unidos de Norteamérica (ISGMEEPA 1994).

Calidad del Aire en la Ciudad de México

Los principales contaminantes de la ciudad de México son el monóxido de carbono, el dióxido de azufre, los óxidos de nitrógeno, el ozono, las partículas suspendidas y el plomo. La emisión de contaminantes estimados en 1993 para el Distrito Federal fue (Tabla 5).

Tabla 5. Calidad del Aire en la Ciudad de México (SGMEEPA 1994.)

Partículas suspendidas totales	49 010 toneladas por año
Dióxido de Azufre	380 377 toneladas por año
Monóxido de Carbono	12 735 toneladas por año
Óxidos de Nitrógeno	155 064 toneladas por año
Hidrocarburos	19 648 toneladas por año

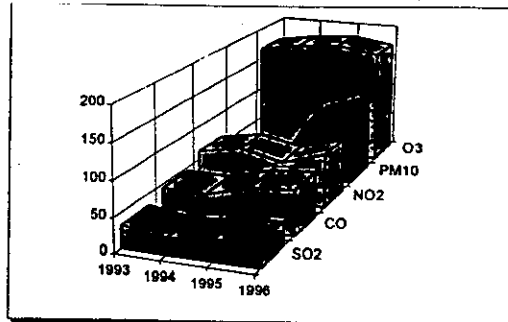
En la tabla 6 se muestra el promedio de las concentraciones máximas diarias en el periodo de enero a junio de 1996, por contaminante y zona.

Tabla 6. Concentraciones Máximas Diarias Promedio (ppm) durante el periodo de Enero a Junio de 1996 (RCAM 1996)

ZONAS	O3	SO2	NO2	CO	PM 10
Suroeste	0.172	0.019	0.110	3.78	83
Sureste	0.140	0.026	0.113	4.89	109
Centro	0.150	0.025	0.123	5.79	97
Noroeste	0.152	0.026	0.128	5.84	136
Noreste	0.109	0.029	0.092	5.19	174

Con excepción de la zona noreste, pero muy cercano, el promedio de las concentraciones máximas diarias de ozono fue superior al valor de su norma de calidad del aire en todas las zonas de la ciudad, alcanzando el mayor valor en el suroeste (0.172 ppm) y siendo parecida en las 3 zonas restantes (entre 0.140 y 0.152 ppm), lo cual indica una uniformidad de los niveles de ozono en ellas. El promedio de las concentraciones máximas diarias de partículas PM-10 varía de una zona a otra, siendo el mayor en la zona noreste y cuyo valor promedio es mayor al establecido por la norma respectiva (150 microgramos por metro cúbico), el resto de las zonas no exceden en su promedio a la norma. El promedio de las concentraciones máximas diarias de SO₂, NO₂ y CO se encuentra por debajo del valor de sus normas respectivas.

Con el fin de examinar las tendencias de cada uno de los contaminantes considerando el primer semestre de los años de 1993 a 1996, la gráfica 1 presenta los valores promedio de los máximos diarios de IMECA con ozono, bióxido de azufre, monóxido de carbono, bióxido de nitrógeno y partículas PM 10. En el caso del ozono se aprecia una ligera disminución en 1996 (171) con respecto a 1994 y 1995 (177 y 182 respectivamente). Por el contrario existe un ligero



Gráfica 1.-

Promedio de los máximos diarios de O₃, SO₂, NO₂ y CO
(Enero-Junio 1993-1996) (RCAM 1996)

incremento tanto en el caso del dióxido de azufre (24 en 1994, 30 en 1995, y 36 en 1996) y en el monóxido de carbono (44 en 94, 61 en 95 y 66 en 96) De igual manera, hay un incremento de partículas finas PM 10, (91 en 1995 a 113 IMECAS en 1996) y NO_2 (73 en 1994, 60 en 1995 y 78 en 1996).

Resulta interesante llevar al cabo el análisis de cada contaminante individual. En el caso del ozono se observa una disminución en el número de días que se rebasó su norma con respecto a los tres años precedentes y como esta tendencia se da en general para los niveles de IMECA 150, 200 y 250 (RCAM 1996).

Tabla 7. Número de días en que el ozono estuvo por encima de los 100,150, 200 y 250 puntos IMECA en la ZMCM durante el periodo enero a junio de 1990 a 1996(RCAM 1996)

AÑO	>100	>150	>200	>250
1990	173	118	43	13
1991	176	136	76	28
1992	163	137	67	24
1993	169	122	37	6
1994	177	135	51	2
1995	177	151	50	5
1996	164	123	29	1

Contingencias Ambientales

En el primer semestre del año, únicamente en la zona noroeste se presentó un evento de más de 250 puntos IMECA, el cual ocurrió el 19 de enero de 1996 alcanzándose 269 puntos IMECA de ozono, debiéndose aplicar la fase I del plan de contingencias atmosféricas por tres días. Cabe mencionar que a partir de esta contingencia el mecanismo de inicio de aplicación del plan se estableció con el requisito único de que los niveles de contaminación alcancen o rebasen los 250 puntos IMECA (RCAM 1996).

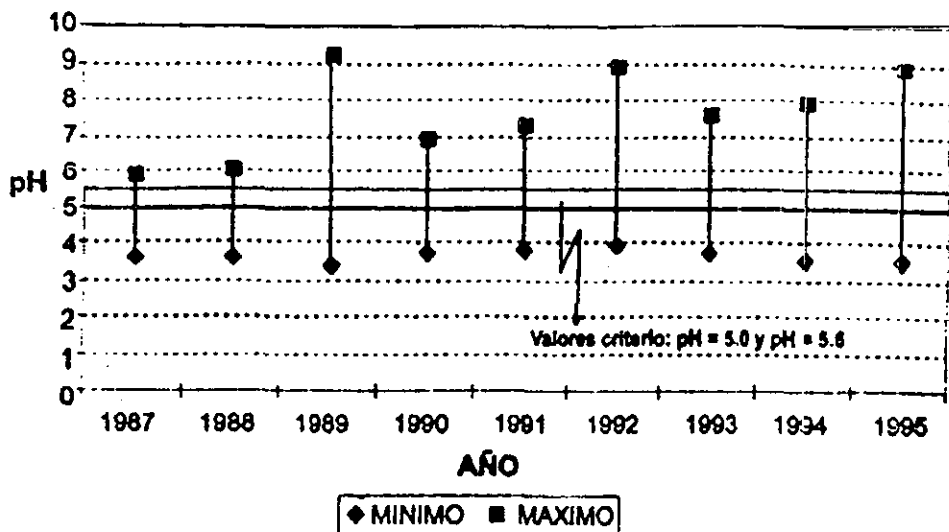
Lluvia Ácida

Las estaciones ubicadas en la zona suroeste de la ciudad registraron la mayor frecuencia de valores ácidos y el promedio de mayor acidez de 1987 a 1992 (tabla 8).

Tabla 8. Valores de Acidez de la Lluvia
en la Ciudad de México (1987-1993)

(ISGMEEPA, 1994)

AÑO	RANGO de pH
1987	3.6-5.9
1988	3.3-6.1
1989	3.4-8.7
1990	4.3-6.8
1991	4.4-6.3
1992	4.4-6.1
1993	4.4-6.0



Gráfica 2

Mínimos y máximos de pH. Técnica de Muestreo Depósito Total (RAMA, 1995)

Los valores mínimos y máximos de pH corresponden frecuentemente a áreas específicas de la ZMCM. Las concentraciones mínimas de pH generalmente se registran en la zona suroeste, lugar en el que en los sitios de monitoreo se ubican viento abajo de las fuentes de emisión de compuestos precursores. Las concentraciones máximas de pH, corresponden en su mayoría a la zona noreste de la ciudad y se asocian con la presencia de partículas y polvos alcalinos que contribuyen a neutralizar los compuestos ácidos (RAMA, 1995).

Contaminación atmosférica en la Ciudad de Mérida

Se han realizado estudios, a fin de caracterizar la composición química del agua de lluvia de la Ciudad de Mérida. Uno de ellos fue realizado durante el periodo comprendido de Julio de 92 a Diciembre de 1993, con la finalidad de asociarla a posibles fuentes de contaminación atmosférica a fin de caracterizar, la que aun cuando las condiciones geográficas de dicha ciudad favorecen la prevalencia de una atmósfera libre de contaminantes, hay que hacer notar que existen actividades antropogénicas, tales como la combustión generada en los basureros municipales, la inadecuada combustión en los vehículos automotores y de los calentadores domésticos e industriales, las emisiones de humos y gases de ciertas industrias, que pueden considerarse como importantes fuentes de contaminación atmosférica y que de alguna manera podrían ocasionar cambios en las características químicas del agua de lluvia caída sobre la región.

Los resultados mostraron que la concentración iónica del agua de lluvia varió de sitio a sitio, debido probablemente a las condiciones existentes en los lugares o cerca de ellos y que los valores de pH se consideran normales en un 80%. El 79.5% de los valores de pH medidos varió de 5.7 a 8.0, valores considerados "normales" para las aguas de precipitación pluvial. El 5.4% tuvo valores por arriba de 8.0, los cuales pueden estar asociados a polvos de los carbonatos que abundan en la región. El 15.1% restante presentó valores iguales o menores a 5.6, los que pueden ser considerados como eventos de "lluvia ácida". Las características químicas de las aguas de precipitación pluvial, caídas sobre la ciudad de Mérida, demuestra la presencia de una atmósfera aún no contaminada, dadas las concentraciones relativamente bajas de los iones sulfato y la ausencia de los iones nitrato (Cabrera-Sansores 1996).

Tabla 9. pH de la lluvia de la Ciudad de Mérida

Julio de 1992 a Dic de 1993 (en 164 muestras)

(Cabrera-Sansores 1996)

% de muestras	Rango de pH (promedio)
79.5	5.7-8.0
5.4	> 8
15.1	< 5.6

Aire

La entidad no presenta problemas significativos de contaminación atmosférica, sin embargo la presencia en Mérida de una cementera y una termoeléctrica generan gran cantidad de partículas en suspensión y bióxido de azufre. Estas emisiones inciden en forma directa sobre su visibilidad. En particular en la zona donde se ubica el aeropuerto internacional (SO de la Ciudad). Aunque no es un problema agudo, representa un impacto negativo, acumulable en el tiempo, que afecta el entorno.

En la ciudad de Mérida se han desarrollado estudios sobre monitoreo Atmosférico a través del gobierno del estado (SEDESOL) quien llevó a cabo un programa denominado "Monitoreo de Partículas Suspensas totales en el aire de 3 puntos de la Ciudad de Mérida". Este estudio se llevo a cabo de Febrero de 1994 a Marzo de 1995 (Yerves 1995)

PST(Partículas suspendidas Totales)

Febrero a Diciembre de 1994 58.03 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

Enero a Marzo de 1995. 73.60 $\mu\text{g}/\text{m}^3$.

Tabla 10. Total de partículas suspendidas (1994-1995)

(Yerves 1995)

Promedio	75.67 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
Máxima	151.8 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
Mínima	29.08 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
Límite recomendado	274 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

III ENFERMEDADES PULMONARES DE ORIGEN AMBIENTAL

Se desconoce la magnitud exacta del problema, pero no hay duda de que existe un gran número de individuos con riesgo de sufrir enfermedades respiratorias graves a consecuencia de una exposición profesional o ambiental a algún tipo de contaminantes. Cálculos recientes sugieren que 2.3 millones de trabajadores han estado expuestos a contaminantes tal es el caso del sílice o polvo de asbesto en la minería y en industrias no mineras (Speizer, 1994).

El pulmón es una puerta de entrada primaria para diversos agentes tóxicos que afectan a otros órgano y sistemas. Es la ruta de entrada del benceno (médula ósea), del disulfuro de carbono (aparato cardiovascular y sistema nervioso), del cadmio (riñón) y del mercurio (riñón y sistema nervioso central). Por lo tanto, es importante considerar los posibles agentes ambientales involucrados en cualquier enfermedad de origen desconocido. Además, la identificación en un paciente de una enfermedad asociada a un factor ambiental, puede conducir a tomar medidas preventivas en otros individuos con una exposición similar, que todavía no han presentado la enfermedad. Si no se consideran específicamente las exposiciones ambientales, este tipo de enfermedades pasarán desapercibidas (Speizer, 1994).

En los lugares donde los trabajadores están expuestos es necesario realizar pruebas de función pulmonar y radiografías del tórax, otros procedimientos diagnósticos que se utilizan también para la identificación de las enfermedades pulmonares por causas ambientales, son la valoración de las concentraciones urinarias de metales pesados (arsénico en los trabajadores de la fundición y cadmio en los trabajadores de fábricas de baterías) (Speizer, 1994).

Medición de la Exposición

Si se dispone de una muestra confiable del ambiente se debe emplear esta medición para valorar la exposición del paciente.

Sin embargo la concentración de cualquier agente ambiental es una compleja interacción de la reacción química, tanto en la fuente de emisión como en la atmósfera ambiental con factores fisiológicos como la frecuencia y profundidad de la ventilación que puede afectar al transporte y depósito de aerosoles y gases al pulmón. La mayor parte de la investigación sobre los efectos de los contaminantes del aire se basan en el control del aire ambiental en estaciones fijas con frecuencia localizada a cierta distancia de los individuos estudiados. Además la mayoría de los individuos pasan menos del 20% de su tiempo al aire libre.

Los gases muy solubles, como el dióxido de azufre, son absorbidos en las vías respiratorias superiores y presumiblemente producen sus efectos por respuestas reflejas a fibrillas nerviosas sensitivas de la tráquea y las vías respiratorias mayores. Por el contrario el bióxido de nitrógeno que es menos soluble, puede llegar a los bronquiolos y alvéolos en cantidad suficiente para provocar una enfermedad aguda grave.

Los principales componentes de los polvos laborales, presuntamente asociados con hipersecreción mucosa, enfermedad pulmonar obstructiva o ambas y otras enfermedades de las vías respiratorias son: antimonio, arsénico, bario, polvo de cadmio, polvo de cemento, grafito, polvo de carbón, polvo de hierro, mica, fósforo y pentóxido de vanadio.

Otros agentes químicos de uso habitual y que causan síntomas similares a los anteriores son: el amoniaco, los cianuros, el formaldehído, el sulfuro de hidrógeno, los halógenos (cloro,

bromo y flúor), el dióxido de nitrógeno, el bióxido de azufre y desde luego el ozono (Harrison 1992).

Carcinógenos respiratorios ambientales

Son ejemplos de este caso: el cáncer de senos nasales y de pulmón en los trabajadores del níquel, los angiosarcomas en los individuos que trabajan con cloruro de vinilo y el adenocarcinoma de nariz en los carpinteros.

El sistema respiratorio humano tiene una variedad de mecanismos para protegerse de la contaminación. Las partículas transportadas por el aire son inhaladas en los pulmones y pueden ser removidas del tracto superior respiratorio por la acción mucociliar siendo engullida y distribuida en la parte baja de los pulmones por los macrófagos. La exposición a gases irritantes puede causar mucosidad o tos y así se previene la entrada a partes más profundas de los pulmones. El cuerpo tiene mecanismos para desintoxicar la mayoría de los gases que entran a los pulmones. Una notable excepción es el monóxido de carbono. En el proceso de desintoxicación intervienen la solubilidad del gas así como la manera en que puedan reaccionar las distintas especies químicas de los tejidos.

Algunas de estas sustancias pueden quedar depositadas en el cuerpo, permanecer en los pulmones causando irritación constante y recurrente y ser acarreados por el torrente sanguíneo a otros órganos del cuerpo, como el pulmón, el riñón, el hígado y el bazo.

Los síntomas y enfermedades asociados a la contaminación del aire son los mismos procesos no oncogénicos que produce el tabaquismo. Diversos estudios han demostrado que las partículas del aire en un domicilio son directamente proporcionales al número de fumadores (Speizer 1994).

Se sabe que algunos contaminantes que se encuentran en el aire son genotóxicos y los PAH (hidrocarburos policíclicos aromáticos) se han correlacionado con problemas como cáncer de pulmón. Los PAH se excretan en la orina, y se pueden encontrar también en la sangre. En estudios de linfocitos se ha visto que se unen al ADN formando aductos (Sram 1996). Por lo tanto se puede concluir que se produce daño en el ADN en individuos expuestos a altas concentraciones de estos contaminantes.

Se ha estudiado el efecto que causan los PAH durante el embarazo y el nacimiento y se ha visto que los recién nacidos tienen bajo peso y que los nacimientos se dan de manera prematura. Estos efectos fueron más comunes en neonatos que fueron concebidos en el invierno y de madres fumadoras (Sram 1996). Por lo que respecta a los hombres se hizo un estudio en líquido seminal y se observó que a altos niveles de contaminación del aire hay un decremento en la calidad del líquido seminal siendo los parámetros evaluados: volumen, concentración y cantidad, morfología y movilidad de los espermatozoides (Sram, 1996).

En estudios histopatológicos realizados en 76 personas clínicamente sanas del suroeste de la ciudad de México, área en la que se supone que la contaminación por ozono es elevada, se encontró que el epitelio nasal presentaba: hiperplasia, células escamosas, queratinización y atrofia. Las características clínicas fueron: obstrucción nasal, rinorrea, resequedad y hemorragia nasal (Calderón-Garcidueñas 1992).

En otro estudio similar, Calderón-Garcidueñas et al., 1997 estudiaron 148 niños (129 expuestos y 19 controles) también provenientes del SO de la ciudad de México y los controles fueron de Manzanillo, Colima. Además de los estudios histopatológicos se realizó un estudio de rompimiento de ADN de cadena sencilla (SSB) y se observó que las células con daño al ADN

migran a mayor distancia en un campo de electroforesis, y los tallos de los cometas causaban una migración mayor.

En Sao Paulo, Brasil se expusieron ratas a contaminantes urbanos (SO_2 , CO_3 , y O_3) y al realizar los estudios histológicos se observó un aumento significativo en el volumen del epitelio, *mayor producción de moco ácido, daño ciliar y daño en las vías aéreas*. Los resultados de este estudio indican que una exposición prolongada a bajos niveles de contaminación aérea deteriora *las defensas respiratorias en contra de agentes infecciosos y puede causar un incremento de patología respiratoria y probablemente la muerte* (Lemos et al 1994)

IV. LOS INDICADORES BIOLÓGICOS EN LA EVALUACION DE LA EXPOSICIÓN

El monitoreo de la contaminación aérea es complejo y problemático, ya que la detección y el análisis químico de todas las sustancias presentes en el aire resulta no sólo extremadamente costoso sino prácticamente imposible. Las pruebas, además, permiten identificar a un número reducido de contaminantes y no describen el impacto que tienen sobre los organismos. Es por ello que el monitoreo del ambiente utilizando indicadores biológicos permite una descripción más adecuada de los efectos y las posibles interacciones de los tóxicos, así como la identificación de los organismos más sensibles.

Los indicadores biológicos pueden ser definidos como alteraciones que son medibles en tejidos biológicos, células o fluidos (Hulka, 1990). La magnitud de la alteración que produce la exposición a sustancias tóxicas dependerá de la naturaleza del compuesto, de la dosis de exposición y de la función que desempeñe en el organismo el (los) tejido (s) afectado (s) (NRC, 1989, 1992; Klassen y Eaton, 1991). Estas alteraciones pueden ser usadas como indicadores internos de exposición ambiental, y también pueden reflejar efectos adversos tempranos, tales como daño o muerte celular. Esto es especialmente importante, en el caso de estudios de cáncer, donde tradicionalmente hay un período de latencia de muchos años antes de que se manifieste el cáncer (Smith, et al 1993).

Los indicadores biológicos se clasifican en:

- indicadores de exposición
- indicadores de efecto

- indicadores de susceptibilidad

Indicador de Exposición

La exposición externa es la cantidad o concentración de material xenobiótico en el ambiente de un organismo, mientras que la dosis interna se refiere a la cantidad de xenobiótico que es transferida o absorbida por el organismo. La dosis biológicamente efectiva, en términos generales, es la dosis interna que está relacionada con un efecto biológico; sin embargo es mucho más preciso considerarla como la cantidad de material xenobiótico que ha interactuado con un receptor celular crítico o con un blanco celular o tisular en donde el efecto biológico se inicia (Elinder, et al 1987; NRC, 1989).

Los sitios de recepción son a menudo desconocidos, o no son accesibles al muestreo, por ello es necesario frecuentemente usar un sitio o compartimento sustituto para el cual la concentración ha sido correlacionada con la dosis biológicamente efectiva con el efecto biológicamente efectivo, o con el efecto biológicamente identificable en el tejido blanco (Elinder, et al 1987 ; NRC 1989).

Las diferencias metabólicas entre especies y entre individuos de una misma especie pueden alterar drásticamente también, las dosis internas de los metabolitos reactivos. La dosis interna de un xenobiótico puede variar con la ruta de exposición, la especie química y la forma física. Para hacer estimaciones cuali o cuantitativas de la exposición mediante marcadores biológicos; la concentración, la duración de la exposición y la naturaleza físico-química de la sustancia tóxica deben ser consideradas en la selección de un marcador apropiado (Gibaldi y Perrier, 1982). Otros factores ambientales como la temperatura, pueden afectar la exposición cambiando la cantidad de consumo de agua y por lo tanto, de la ingesta de los contaminantes contenidos en la misma. La dieta altera la movilidad intestinal y el tiempo de vaciado estomacal, si

como el transporte de sustancias específicas; por ejemplo, dietas bajas en hierro parecen facilitar la absorción intestinal de plomo (Silbergeld, et al 1983).

La selección de indicadores biológicos de exposición o de efecto se basa en un amplio conjunto de datos epidemiológicos históricos *"in vitro e in vivo"* y en la medición a la exposición.

Los indicadores biológicos de exposición pueden obtenerse midiendo la concentración de una sustancia tóxica o sus metabolitos solos o unidos a ADN; ARN, proteínas o receptores en fluidos o tejidos corporales y productos de excreción.

Indicadores de Efecto.

Los marcadores o indicadores para evaluar efecto biológico pueden ser útiles para evaluar la exposición y pueden ser relacionados con el efecto resultante de la exposición. Por ello un indicador biológico de un efecto puede ser cualquier cambio cuali o cuantitativo predictivo de un daño a la salud y que resulta de la exposición a un agente exógeno. El mismo marcador biológico puede también utilizarse como un indicador de la fisiología normal, por ej. la concentración de glucosa o de colinesterasa en sangre.

Los marcadores de efectos biológicos tempranos incluyen alteraciones en las funciones de los tejidos blanco después de la exposición. Como señales de alarma, estos marcadores pueden ser dosímetros para guiar la intervención para reducir o prevenir la exposición. Estas señales tempranas pueden también observarse en órganos o tejidos diferentes de los sitios que son críticos para la acción de la sustancia tóxica (NRC, 1989).

Un tejido afectado por una sustancia tóxica puede exhibir una función alterada aún si la persona afectada no presenta manifestaciones de ello. Estas funciones alteradas pueden en algunos casos determinarse en pruebas, particularmente con métodos bioquímicos o biológicos.

Los marcadores biológicos de estas funciones alteradas son muy útiles si ellas están relacionadas a órganos específicos o funciones, por ej. la beta microglobulina para la función renal y la hormona luteinizante para la ovárica, la respuesta proliferante de linfocitos T para la función inmune celular (NRC, 1989; Ostrosky, et al, 1991; Gensebatt, et al., 1992; Burns y Munson, 1993).

Las técnicas citogenéticas proveen un método directo aunque no específico para identificar cambios que ocurren a nivel cromosómico, después de la exposición a contaminantes ambientales. Entre estos están las alteraciones en el número cromosómico, rompimientos y rearreglos. Muchos tipos de cánceres humanos están asociados con alteraciones específicas (por ejemplo leucemia) o con aberraciones no específicas que inducen mutaciones, sin embargo no todos los mutágenos interactúan directamente con el ADN. Por ejemplo, algunos agentes pueden inducir mutaciones como una consecuencia secundaria de otros procesos como la inhibición de la apoptosis, o la generación de radicales libres (Goldsworthy et al., 1996; Clayson et al., 1994). Otros agentes han demostrado interactuar con el uso mitótico e inducir células cromosómicamente desbalanceadas (aneuploides) (Wittse y Dellarco, 1996).

La ventaja de estos indicadores es que nos señalan la presencia de una enfermedad o también los primeros estadios de ésta (National Academy of Science, 1991).

Indicadores de Susceptibilidad

Finalmente, un indicador o marcador biológico de susceptibilidad es aquel indicador que se refiere a una limitación heredada o adquirida de la capacidad de un organismo para responder al reto de la exposición a un agente xenobiótico específico (NRC, 1989).

Algunos marcadores biológicos alertan acerca de la existencia de factores individuales o poblacionales que afectan la respuesta a agentes ambientales. Estos factores son independientes de la ocurrencia de la exposición, a pesar de que en ocasiones, ésta incrementa la susceptibilidad al efecto de posteriores exposiciones (por ejemplo, la sensibilización al formaldehído). Una característica intrínseca o una enfermedad preexistente que aumente la dosis interna o la dosis biológicamente efectiva, o que amplifique el efecto en el tejido blanco, puede ser un marcador biológico de susceptibilidad incrementada (NIEHS, 1985; Omenn, 1986; Harden, 1990). Estos marcadores pueden incluir diferencias congénitas en el metabolismo, variaciones en las concentraciones de inmunoglobulinas producidas y en su afinidad por el antígeno, baja capacidad de reserva orgánica, u otros factores inducidos ambiental o genéticamente que modifiquen la absorción, el metabolismo, la desintoxicación y el efecto de agentes ambientales (Harden, 1990).

A pesar de la clasificación de los marcadores biológicos en grupos, se hace evidente que hay un proceso continuo entre la salud y la enfermedad, y las evidencias indican que también existe un proceso continuo entre la exposición y el efecto (IARC, 1992). De acuerdo con esto, lo que una vez pareció ser un grupo más o menos discreto de marcadores biológicos, son ahora más difíciles de discriminar. Los marcadores biológicos se dividen mejor operacionalmente, dependiendo de cómo son identificados y cómo serán utilizados, pero estas divisiones no deben ser interpretadas en el sentido de distinciones a nivel de los mecanismos (NRC, 1989).

Consideraciones Biológicas

Un enfoque mecanicista en los eventos básicos responsables de un efecto adverso sobre la salud, debe tomarse en la selección de un indicador o marcador biológico. Este debe escoger o generar marcadores biológicos que puedan identificar los estados iniciales de la enfermedad; y que se conviertan en herramientas valiosas para desarrollar estrategias que prevengan la progresión de la enfermedad, y permitan realizar un análisis de riesgo (WHO, 1985; NRC, 1989).

El uso de biomarcadores en estudios epidemiológicos es especialmente importante en estudios ambientales, en los que la medición de la exposición por métodos tradicionales es difícil e imprecisa. El gran periodo de latencia entre exposición y cáncer es un problema mayor, mientras que el tiempo o lapso entre exposición y la aparición de biomarcadores de efecto genotóxico es relativamente corto (Smith, et al 1993).

Los Micronúcleos Como Biomarcadores De Efecto

Los micronúcleos (MN) son fragmentos cromosómicos o cromosomas completos, que no son incorporados en el núcleo hijo durante la división celular, y son incorporados secundariamente a la célula hija como núcleo(s) muy pequeño(s) como consecuencia de rompimientos cromosómicos o de no-disyunción debida al mal funcionamiento del huso mitótico (Evans et al. 1959; Matter y Schmid 1971; Heddle, 1993; Yamamoto y Kikuchi 1980). Esta prueba puede por lo tanto detectar clastógenos así como agentes que afectan la distribución regular del material genético en las células en mitosis, eventos que son relevantes en los procesos carcinogénicos (Schmid, 1975; Jenssen y Ramel, 1980; Land et al., 1983; Heddle et al., 1991). Su utilidad ha sido validada con más de 100 compuestos químicos genotóxicos y/o carcinogénicos, usando varios sistemas biológicos como: cultivos de fibroblastos, hepatocitos, linfocitos, mieló y eritroblastos humanos, mieló y eritroblastos animales, tanto *in vivo* como *in vitro* (Schmid, 1975; Countryman y Heddle, 1976; Schmid, 1976; Heddle et al., 1978; Tates et al., 1980; De kok et al., 1985; Nassi et al., 1987).

Características de los Micronúcleos

Los primeros micronúcleos fueron observados hace más de un siglo en el citoplasma de eritrocitos por Neumann en 1869, como pequeñas estructuras redondeadas que se tiñen como el núcleo de una célula., estas estructuras también se llamaron "fragmentos de material nuclear" o "corpúsculos intraglobulares ". Debido a que el origen de los MN es heterogéneo (figura 3), el ensayo no permite caracterizar la naturaleza del daño inducido (Schmid 1975).

ORIGEN DE MICRONÚCLEOS

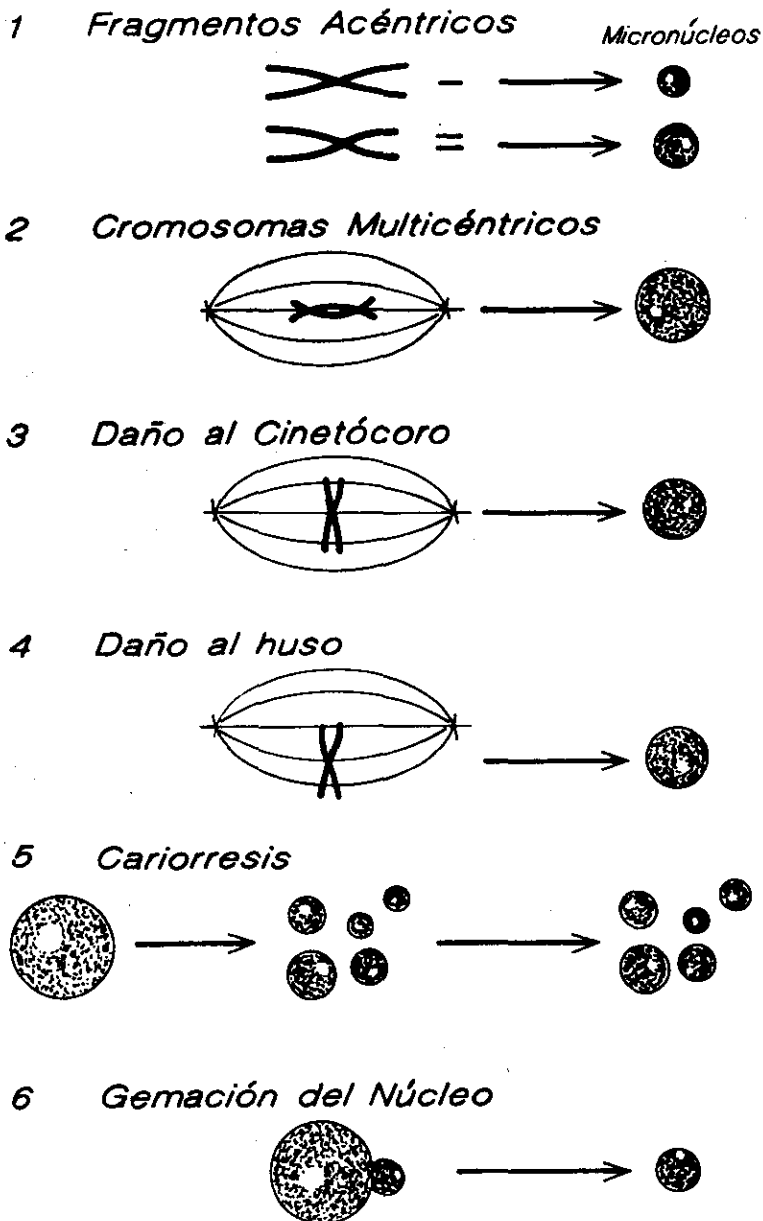


Fig. 3.- Origen de los Micronúcleos y de Estructuras que parecen Micronúcleos

(Muller y Streffer, 1994)

Morfología de los micronúcleos

La información que se puede tener con respecto a la morfología de los MN es escasa cuando se los analiza en microscopio óptico convencional, ya que se observan como partículas citoplasmáticas con tinción similar a la nuclear. Son de tamaños variables (hasta de un tercio del núcleo principal) dependiendo del tipo celular que se está analizando y son usualmente redondos o levemente ovales. La microscopía electrónica es mucho más informativa en cuanto a su forma. Muchos micronúcleos son tan pequeños que no se pueden detectar con el aumento del microscopio óptico (Stich et al., 1990). Tienen la típica envoltura nuclear que consiste de una doble membrana, se puede observar la lamina y los poros nucleares (Müller y Streffer, 1994). Son capaces de sintetizar ARN (Das; Kato y Sandberg, 1968), mRNA (Labidi et al., 1987), rARN -si el fragmento cromosómico contiene región organizadora nucleolar- (Labidi et al., 1987) y ADN según se ha observado mediante estudios de incorporación de timidina tritiada (Das, 1962; Kato y Sandberg, 1968) o de bromodeoxiuridina (Kramer et al., 1990). Existe controversia acerca de la sincronía y velocidad de la síntesis de ADN en el MN con respecto a la del núcleo principal. Algunos trabajos muestran que el micronúcleo muestra un retraso en su progresión a través del ciclo celular (Kato y Sandberg, 1968; Arora et al., 1969; Obe y Beck, 1982, mientras que Das (1962) y Kramer et al., 1990 demostraron una alta sincronía entre las dos estructuras.

Origen

En la figura 3 (eventos 1 a 4) se resumen las ideas acerca de los varios mecanismos que se sugieren inducen la formación de MN durante la mitosis (Muller y Streffer, 1994). Todos tienen en común que el evento responsable del daño ocurrió en interfase o durante las primeras etapas de la mitosis y que la formación de micronúcleos es un evento posterior a la mitosis. Esta diferenciación es importante porque existen eventos que no requieren una mitosis para formarse y

tienen una estructura similar a la de los micronúcleos. En la figura 3, los eventos 5 y 6, presentan dos mecanismos, que durante la interfase pueden generar formaciones morfológicamente indistinguibles a los MN. La mayoría de los autores consideran que las estructuras similares a MN generadas durante interfase no deben ser tomados en cuenta como micronúcleos (Heddle et al., 1991). En muchos casos, sin embargo, es imposible distinguir entre los MN formados durante interfase o mitosis.

Cariorrésis

Cuando ocurre muerte celular, el núcleo se desintegra originando frecuentemente fragmentos que parecen MN (figura 3 evento 5). En algunos tipos celulares la cariorrésis se asocia con la muerte celular programada o apoptosis (Kerr et al., 1972; Wyllie et al., 1980), ejemplos de ellas son las células del epitelio intestinal, el hígado, la próstata, la corteza tímica, células del folículo capilar y células de neoplasias malignas. Cuando el proceso de fragmentación nuclear es completo resulta fácil la detección de los núcleos cariorréticos porque se generan numerosos fragmentos nucleares de tamaños irregulares. La mayoría de los autores excluyen estas estructuras cuando realizan el conteo de MN (Müller y Streffer, 1994). Otro fenómeno que ha sido descrito en la literatura como el inicio de la cariorrésis y que forma partículas citoplasmáticas similares a los micronúcleos son los núcleos en gemación o "broken-eggs".

Núcleos en gemación o "broken-eggs"

Wendt (1959) reportó que después de la irradiación de fibroblastos de pollo en interfase se formaban gemaciones del núcleo que daban origen a micronúcleos. Este fenómeno ha sido también descrito por otros autores en otros tipos celulares (Longwell and Yerganian 1965; Chakrabarti and Chakrabarti, 1987) durante eventos no asociados a mitosis como lo requiere el proceso de formación de los MN.

La existencia de mecanismos que pueden dar origen a estructuras morfológicamente similares a los MN lleva a establecer criterios estrictos para definir a estos cuerpos extranucleares (Schmid, 1975; Countryman y Heddle, 1976; Krepinsky y Heddle, 1983; Muller et al., 1985; Mirkova y Ashby, 1987; Stich et al., 1990): 1) los MN se parecen al núcleo principal pero son más pequeños, 2) contienen ADN o dan tinción ADN-positiva 3) son redondos a ovals con bordes bien definidos 4) no son cuerpos refráctiles 5) se encuentran en el mismo plano focal que el núcleo principal 6) el tamaño de MN depende del tipo celular estudiado o del agente aplicado para generarlos, y su rango varía entre 1/50 a 1/3 del diámetro del núcleo celular o mayor de 1/10 del diámetro de la célula en el caso de los eritrocitos anucleares. Por supuesto que el criterio más apropiado para que un cuerpo extranuclear sea considerado como micronúcleo es su vinculación con un evento mitótico, sin embargo existen casos como en el las células exfoliadas en donde no es posible establecer este criterio, por lo que se ha propuesto que no evalúen como micronucleadas aquellas células que presenten más de cuatro MN y para evitar el fenómeno de gemación que no presenten conexión con el núcleo principal (Countryman y Heddle, 1976; Stich et al., 1990; Ren et al., 1991)

En la figura 4 se presentan procesos y mecanismos que dan origen a células micronucleadas y otras atipias nucleares por exposición a agentes ambientales.

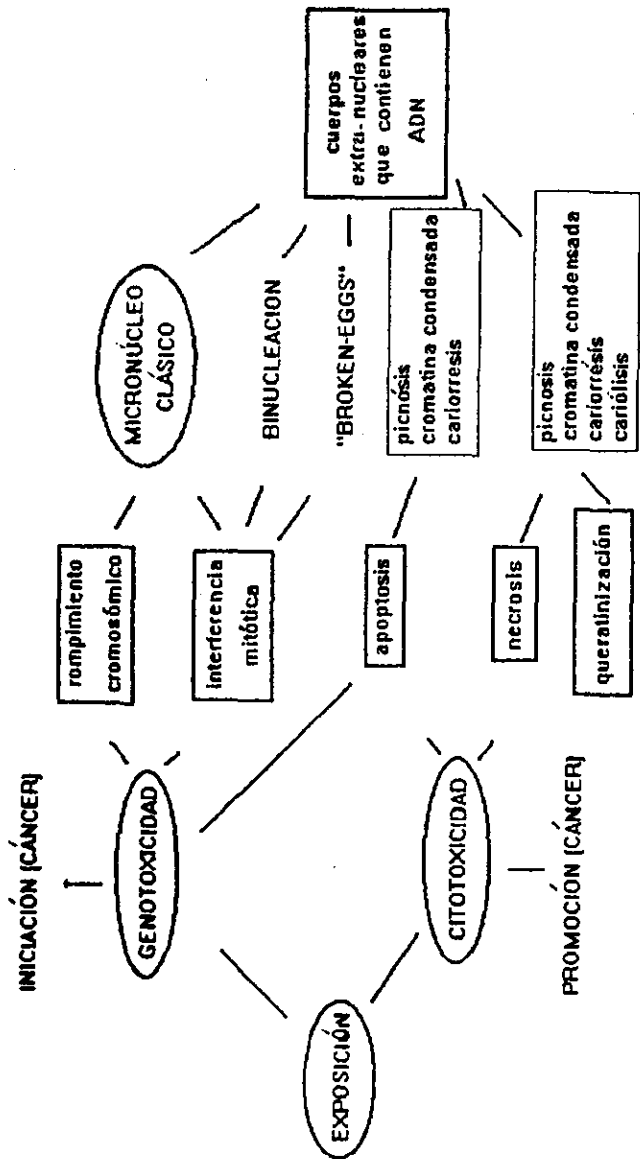


Figura 4. Procesos y mecanismos que dan origen a células con MN y otras atipias nucleares por exposición a agentes ambientales, tomada de Tolbert, et al (1992)

El ensayo de MN en tejido epitelial

La aplicación de la prueba de MN en células epiteliales exfoliadas provee evidencia de exposición a clastógenos y puede ser usada para identificar individuos particulares o grupos de población de alto riesgo para desarrollar cáncer. Los MN en células exfoliadas reflejan eventos genotóxicos que ocurrieron en la capa basal en división de las tres últimas semanas (Stich, et al 1983), estas células de la capa superficial del epitelio son colectadas fácilmente y pueden reflejar daño genotóxico en tejidos epiteliales, que es en donde aparecen cerca del 92% de los cánceres (Cairns, 1975; Rosin y Gilbert, 1990).

Ejemplos de los tejidos en los que se puede utilizar son: células exfoliadas de epitelio de la cavidad oral, la cavidad nasal, los bronquios, el esófago, el cérvix, la vejiga y el tracto urinario. Stich y Stich (1982) desarrollaron esta prueba con el propósito de detectar daño genotóxico en tejidos blanco de carcinógenos órgano-específicos y en los que se desarrollarán carcinomas. La técnica cuenta con la ventaja de ser poco invasiva y permitir la realización de muestreos repetidos "in vivo" (Stich et al, 1983). Se sabe que la presencia de micronúcleos en células epiteliales de mucosa oral y nasal es una evidencia indirecta de daño citogenético asociada a un proceso carcinogénico (Livingston et al. 1990; Ballarin y Sarto 1992). La frecuencia espontánea de micronúcleos es más alta en los homocigotos de enfermedades de inestabilidad cromosómica asociadas con una alta incidencia de cáncer como la ataxia telangiectasia (Louis-Bar Syndrome; Rosin y Ochs 1995), el síndrome de Bloom. (Rosin y German 1985), el melanoma de tipo familiar (Weichental et al., 1989) y la anemia de Fanconi (Obe et al 1975). Por lo que actualmente se sostiene que a mayor frecuencia de MN, mayor será la frecuencia de aberraciones cromosómicas y esto incrementa el riesgo de contraer cáncer (Norman et al 1985)

Algunos estudios han reportado elevadas frecuencias de células micronucleadas (CMN) en individuos expuestos a sustancias o factores asociados con un riesgo incrementado de cáncer. Muchos de ellos se han realizado en células provenientes de la cavidad oral. Individuos expuestos a carcinógenos orales conocidos, como fumar cigarrillos, mascar tabaco, mascar nuez de betel, etc., presentaron una elevada frecuencia de CMN cuando se los comparó con testigos no expuestos (Mandard et al, 1987; Sarto, et al 1987; Wynder et al, 1957; Stich et al.,1982 a,b) La frecuencia de micronúcleos aumenta en mucosa oral y urotelial en individuos expuestos a arsénico (Gonsebatt et al., 1997). La exposición a factores de riesgo de cáncer oral, tales como conservadores y colorantes alimenticios, así como las radiaciones ionizantes también inducen elevadas frecuencias de CMN (Stich et al, 1984; Obe, 1994).

En la tabla No.11 se pueden observar las frecuencias de MN reportadas en células de descamación de distintos epitelios,

Tabla 11. PREVALENCIA DE CÉLULAS MICRONUCLEADAS EN CÉLULAS DE DESCAMACION

Tipo de Exposición	Tipo Celular	Control %	Expuesto %	Células Analizadas /1000	Referencia
Fumadores	Bucal	3.3	26.3	1000	Stich y Rosin 1983
Plaguicidas	Bucal	4.0	34.0	1000	San et al. 1989
Arsénico	Bucal	0.4	3.4	1000	Gonsebatt et al. 1995
Arsénico	Urotelial	0.5	2.2	1000	Gonsebatt et al. 1995
Pintura de Aceite	Bucal	0.47	0.90	1000	Silvia Diaz 1990
Formaldehído	Nasal	0.25	0.90	6013	Ballarin y Sarto 1992
Cromo	Bucal	0.23	0.23	?	Sarto 1990
Cromo	Nasal	0.23	0.50	?	Sarto 1990
Óxido de Etileno	Nasal	0.23	0.77	?	Sarto 1990
Óxido de Etileno	Bucal	0.23	0.48	3042	Sarto.1990

El tejido epitelial como órgano blanco de la contaminación atmosférica

El tejido epitelial está constituido por células generalmente poliédricas, yuxtapuestas entre las cuales hay escasa sustancia intercelular. Las células epiteliales derivan de las 3 hojas germinativas (ecto, endo y mesodermo). La mayor parte de las células epiteliales que recubren la piel y algunas cavidades naturales (boca, ano y fosas nasales) son de origen ectodérmico.

Las fosas nasales son las primeras estructuras en contacto con la contaminación del aire. Allí no solo se aloja el sentido del olfato sino que se prepara el aire inhalado para su uso en los pulmones, se brinda la resistencia al aire necesario para un funcionamiento normal de éstos, también se ejercen ciertos efectos reflejos sobre los pulmones y se modifica el habla (Hilger.,1992).

Epitelio olfatorio

El epitelio olfatorio es un epitelio cilíndrico pseudoestratificado, alto, de unas 60µm de grosor. Esta constituido por células de sostén, células basales y células olfatorias. La función del epitelio cilíndrico pseudoestratificado es de transporte, secreción y protección (Fawcett1987); todas las células tocan la lámina basal, pero no todas alcanzan la luz. Son muy diferentes de forma, algunas tienen una ancha base de asentamiento, estrechan rápidamente y se extienden hacia arriba solo a lo largo de una pequeña parte del grosor del epitelio. El núcleo se encuentra en la parte más ancha de la célula, los núcleos se encuentran alineados en este tipo de epitelio dando una falsa apariencia de estratificación, de allí el término de pseudoestratificado. Sus células ciliadas revisten la mayor parte de la tráquea y los bronquios, la cavidad timpánica y el saco lacrimal (Leeson y Leeson 1989).

En la figura 5 se puede observar un corte histológico de este epitelio.

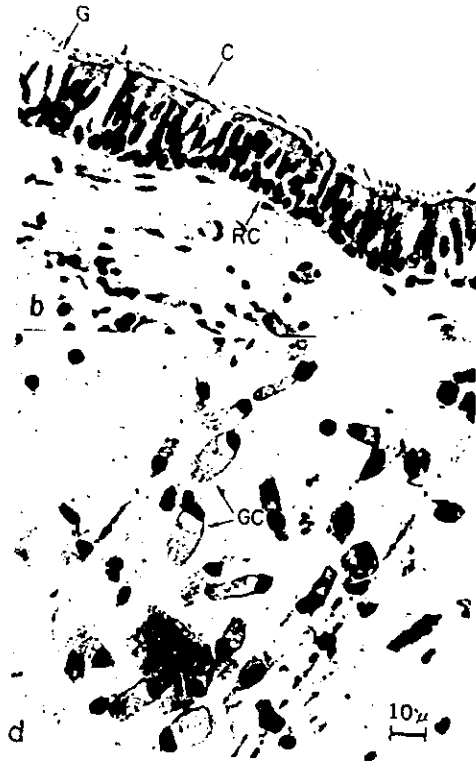


FIGURA 5. EPITELIO CILINDRICO SEUDOESTRATIFICADO (Takahashi 1985)

b

C.-Gran ampliación del epitelio bronquial , consiste en células ciliadas

G.- Células caliciformes

RC.- Epitelio columnar ciliado con células de reserva

d

GC.- Células columnares ciliadas y células caliciformes.

La cromatina es de distribución pareja y lisa excepto por unos pocos cariosomas. La variación entre los núcleos es más de tamaño que de forma. En ocasiones se observa multinucleación (Takahashi, 1985). La membrana nuclear es plana y suave .

Otro tipo de células que encontramos son las células caliciformes donde su citoplasma es recio y en forma de linterna , a veces puede ser poco tangible por el moco que contiene el núcleo a menudo es picnótico y de posición muy excéntrica. En individuos que han recibido terapia de radiación o han estado expuestos a contaminación es frecuente encontrar pigmentos granulares en las vacuolas citoplasmáticas adyacentes al núcleo

En las células respiratorias es frecuente ver células multinucleadas con una pérdida de la granulosis de la cromatina nuclear. Estas células pueden ser como un aviso en el diagnóstico de metaplasia escamosa o carcinoma (Naib 1996).

El epitelio de las células olfatorias funciona como receptores químicos, y se sabe gracias a pruebas anatómicas y fisiológicas que los cilios olfatorios parecen ser el componente del órgano sensorial que es excitado al contacto con las sustancias olorosas (Fawcett 1987).

Epitelio bucal.

El término membrana mucosa se emplea para describir el revestimiento húmedo del tracto intestinal, el pasaje nasal y otras actividades corporales que se comunican con el exterior. En la cavidad bucal este revestimiento se llama mucosa oral o mucosa bucal y cumple varias funciones. La más importante de ellas es la protección que otorga a los tejidos más profundos de dicha cavidad, otra de las funciones de la mucosa bucal es la de órgano sensorial, un regulador de temperatura corporal y un medio a través del cual se segrega saliva. El epitelio de la mucosa bucal actúa como barrera contra algunos microorganismos (Davis, 1986).

El epitelio de la mucosa bucal es plano estratificado. Las células superficiales pueden ser descritas como planas, cuboidales o cilíndricas. El epitelio plano estratificado acumula en su citoplasma una proteína llamada queratina sin vida y adquiere forma de escamas, designándose como epitelio plano estratificado queratinizado. La mucosa oral cercana a la capa basal, tiene células cuboides gruesas o cilíndricas a veces con extremos redondeados en bisel. A medida que se acercan a la superficie se aplanan las células. Las capas superficiales están constituidas por finas células planas. Encontramos también epitelio plano en el esófago, conjuntiva y en la vagina (Leeson y Leeson 1989) (Figura 6.)

Como tejido que forma la superficie bucal el epitelio representa la barrera primaria entre el medio bucal y los tejidos más profundos. Al igual que la epidermis y el revestimiento del tracto intestinal, el epitelio bucal mantiene su integridad estructural mediante un sistema de renovación celular continua, por el cual las células producidas por divisiones mitóticas en las capas más profundas migran hacia la superficie para desplazar a aquellas que se descaman. Puede entonces considerarse que las células epiteliales pertenecen a dos poblaciones celulares funcionales, una población progenitora cuya función es la de proveer nuevas células y una población en maduración, cuyas células sufren continuamente un proceso de diferenciación o maduración para formar una capa protectora superficial (Davis 1986)

Renovación de los epitelios

Los epitelios son tejidos cuyas células tienen vida limitada. En consecuencia, hay una renovación constante de estas células gracias a una actividad mitótica continua. La velocidad de esta renovación es variable, pudiendo ser muy rápida en ciertos casos y lenta en otros. Como ejemplos extremos pueden citarse el epitelio de revestimiento intestinal, que se renueva cada dos o tres días, y el de las glándulas salivales y del páncreas que tardan más de dos meses para

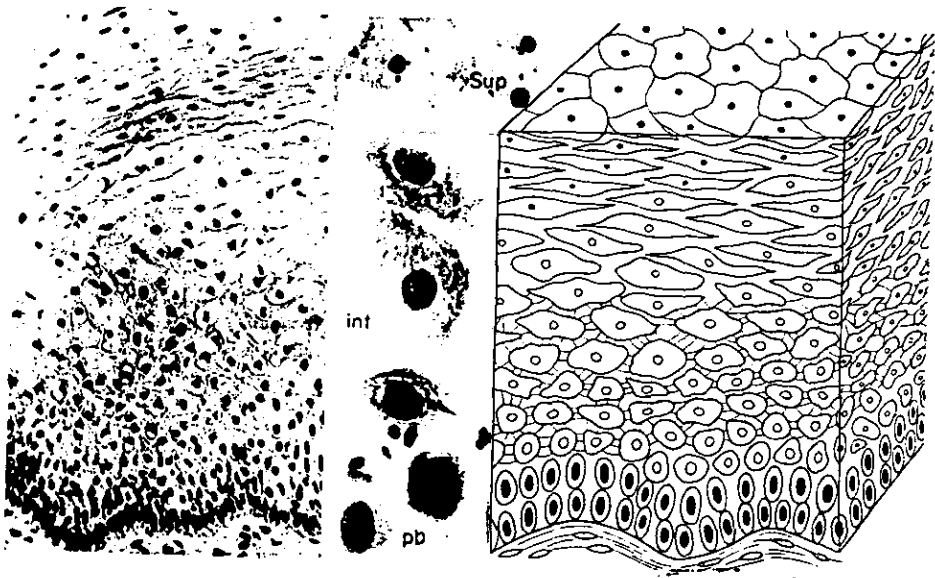


FIGURA 6. EPITELIO PLANO ESTRATIFICADO (Takahashi 1985)

Sup.- Células superficiales

Int.- Células intermedias

pb.- Células parabasales

renovarse. La morfología celular, se deteriora progresivamente (Pearson, et al 1981). El punto final de la degeneración, es decir, la muerte celular, conduce a tres acontecimientos: cariopcnosis, cariorrexis y cariólisis (Tabla 12)

Tabla 12 ALTERACIONES CELULARES DEGENERATIVAS (Takahashi, 1985)

ETAPA INICIAL	ETAPA FINAL
Agrandamiento nuclear	Cariorrexis
Engrosamiento del borde nuclear	Cariopcnosis
Clarificación nuclear	Cariólisis
Tumefacción nucleolar	Coagulación (acidofilia) o
Mitosis anormales (multinucleación)	licuefacción del citoplasma.
Vacuolización y agrandamiento del citoplasma.	

Pcnosis y cromatina condensada se correlacionan normalmente en diferenciación y madurez del epitelio celular. Sin embargo, su presencia aumenta como respuesta a lesión celular. Pcnosis, cromatina condensada, y cariólisis acompañan a la queratinización, que es una respuesta adaptativa a lesiones celulares en un epitelio que normalmente no se queratiniza (Pindborg, et al., 1980; Shklar, 1965).

Pcnosis, cromatina condensada, cariorrexis y cariólisis también son evidentes en células que sufren necrosis, una forma de muerte celular que ocurre por lesiones inducidas por agentes que causan perturbación gruesa del ambiente celular (Wyllie, 1981). Pcnosis, cromatina condensada y cariorrexis (pero no cariólisis) y "broken-eggs" acompañan estadios tempranos de

otro tipo de muerte celular, la apoptosis. Se pensó que este tipo de muerte celular ocurría en tejidos vivos bajo control fisiológico y efectos ordinarios de muerte tales como los que ocurren en la embriogénesis y en el recambio de células normales (Wyllie, 1981; Cotter, et al 1992). Sin embargo, la apoptosis es estimulada tanto por radiaciones ionizantes como por compuestos químicos que se unen al ADN o por desregulación génica. También puede actuar como un mecanismo de reconocimiento, eliminando células con daño genético; así, la apoptosis en exceso de los niveles normales, puede ser un indicador de insulto genotóxico. A diferencia de la necrosis, en donde la fragmentación del ADN ocurre después de la muerte celular; durante la apoptosis, la fragmentación precede la muerte (Kyprianou, et al 1990).

V. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO

La contaminación ambiental en la ZMCM representa un riesgo para la salud por los elevados niveles de ozono, de sulfatos ácidos, de óxidos de nitrógeno, de hidrocarburos y de metales pesados que se registran en su atmósfera. Estudios epidemiológicos han demostrado un incremento en la incidencia de problemas respiratorios así como cambios histopatológicos en biopsias de mucosa nasal en individuos recién llegados a la Ciudad de México y puesto que la mucosa nasal y en alguna medida la mucosa oral están en contacto directo con estos contaminantes, entonces, se propone la siguiente:

HIPOTESIS

Los individuos que viven en la ZMCM presentarán una mayor frecuencia de MN en células del epitelio nasal y del epitelio bucal que los individuos que vivan en una zona urbana con menor contaminación aérea.

OBJETIVOS

- Determinar la frecuencia de MN en células nasales y bucales de individuos de la ciudad de México para compararlos con las frecuencias de MN en una población con menor contaminación atmosférica, en este caso con una muestra de la ciudad de Mérida.
- Determinar la frecuencia y tipo de atipias nucleares en las células nasales y en las células de mucosa oral de estos dos grupos.
- Correlacionar el daño citogenético con las atipias nucleares asociadas a citotoxicidad.

VI. MATERIALES Y MÉTODOS

Población a estudiar

Voluntarios, adultos jóvenes que residían en en el Valle de México o en la ciudad de Mérida, Yucatán, respondieron un cuestionario en donde se les pregunto acerca ..

de su estado general de salud, infecciones respiratorias más frecuentes y hábitos como el de beber y fumar, así como si estaban tomando algún tipo de medicamento o si se les había tomado recientemente algún tipo de radiografía.

ZMCM

Se estudió un grupo de 28 adultos jóvenes estudiantes de la Facultad de Medicina de la UNAM.

Mérida

Se estudió un grupo de 31 adultos jóvenes estudiantes de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán.

Toma de muestras

Epitelio bucal

-Se realizó el raspado de la parte interna de las mejillas con la ayuda de aplicadores de madera.

-Se depositó el raspado en tubos que contenían medio de cultivo para fijarlos posteriormente en metanol absoluto.

Epitelio nasal

- Para mucosa nasal se tomó la muestra de la parte superior de la narina con ayuda de un cepillo citológico.

-Las células se colectaron mediante un frotis en un portaobjetos limpio y se fijaron en metanol durante 10 minutos.

En el laboratorio

-Se centrifugaron las muestras bucales durante 10 minutos a aproximadamente 200 x g

-Se retiró la solución salina y se les agregaron de 2 a 3 ml de metanol absoluto, se fijaron durante 20 minutos y si no se procesaban de inmediato eran guardadas en refrigeración.

Las suspensiones celulares se centrifugaron 10 minutos a 200x g. Se eliminó el fijador y se resuspendió el botón celular con una pipeta Pasteur. Las células se gotearon sobre portaobjetos limpios y codificados.

Tinción de Feulgen:

Las laminillas con el material fijado se procesaron de la siguiente manera:

Se lavaron las preparaciones con agua destilada por cinco minutos , luego se hidrolizaron durante cinco minutos con HCl 1N a temperatura ambiente y posteriormente en HCl 1N a 60°C durante 5 minutos. Luego de la hidrólisis, se enjuagaron con agua destilada, se dejaron escurrir y se pusieron a reaccionar con el reactivo de Schiff durante 10-20 minutos. Se enjuagaron con agua destilada y se dejaron secar al aire.

Evaluación microscópica: El análisis se realizó con una lente ocular de 10x y objetivo de 40x y 100x..

Identificación de micronúcleos

Los criterios para estimar la frecuencia de células con M.N fueron los establecidos por Sarto en 1988. Los criterios para estimar la frecuencia de células con micronúcleos estuvo basada en tres criterios específicos que incluían: morfología, citoquímica y localización en la célula.

El criterio morfológico, incluye la textura (comparable a la del núcleo principal), forma (redondeada u oval con un límite claro) y tamaño (menor de un tercio del diámetro del núcleo principal).

El criterio citoquímico requiere de una tinción positiva para ADN basada en la reacción de Feulgen. Los MN deben de estar localizados en el mismo plano focal del núcleo principal, pero bien definidos y separados físicamente.

Las células con uno o más MN fueron contadas como células con un micronúcleo para el análisis general y luego se las discriminó para ver si existían asociaciones con el tipo de población o por exposición del individuo a genotóxicos.

Además de células micronucleadas se tomaron en cuenta las atipias nucleares, caracterizadas por Tolbert et al, (1991) que consisten en:

Células binucleadas. Con la presencia de dos núcleos en un solo citoplasma. Las células binucleadas no involucran directa interacción con ADN, pero preferentemente involucran la interferencia con eventos que ocurren en división celular tardía, las consecuencias de la binucleación son desconocidas

Núcleos en "Broken egg". El núcleo se observa con un desprendimiento del material nuclear que permite suponer el origen de un MN o por lo contrario su fusión con el núcleo principal. Su origen y significado es desconocido.

Núcleo en picnosis. El núcleo disminuido de tamaño y el citoplasma normal.

Núcleo con cromatina condensada. Se observa la cromatina nuclear agregada (se aprecia como panal de abeja). Es normal y se correlaciona con la diferenciación celular epitelial y su maduración. Sin embargo esto también ocurre en respuesta al daño celular.

Núcleo en cariorrhexis También se le conoce como desintegración nuclear, involucra pérdida de la integridad del núcleo, los bordes de la membrana nuclear no se aprecian con claridad.

Núcleos en cariólisis Los núcleos cariolíticos dan una respuesta débil a la tinción de Feulgen y se observan como un fantasma o remanente del núcleo (disolución nuclear).

Cuestionario

Previo consentimiento voluntario de los estudiantes, en cada caso se aplicó un cuestionario de autoaplicación; ya validado en otros estudios (Fortoul et al., 1995) que incluyó preguntas en relación a sus antecedentes personales, patológicos en general y respiratorios en particular, hábito tabáquico, así como el de consumo de bebidas alcohólicas y sintomatología actual. Una copia del cuestionario se anexa al final de tablas y gráficas

Análisis De Los Datos

Se calculó la frecuencia de células micronucleadas (CMN) por 1000 células obteniéndose los promedios \pm los errores estándar de los grupos estudiados, también se calculó la frecuencia por 1000 células analizadas de las atipias nucleares (broken-egg, células binucleadas, cromatinas condensadas cariorresis, cariolisis, células extremadamente condensadas y células multinucleadas).

Mediante la prueba de Xi- cuadrada se analizó la proporción de células con micronúcleos en las dos poblaciones. Asimismo se utilizó la prueba de U de Mann-Whitney para comparar las frecuencias de MN. El nivel de significancia se estableció para una $p \leq 0.05$. Se realizaron pruebas de correlación simple para investigar la relación entre la presencia de MN y de atipias nucleares. Para los análisis estadísticos y de correlación se utilizó el programa Sigma Plot, (Sigma) San Luis, Missouri U.S.A.

VII. RESULTADOS

Se analizaron muestras de epitelio nasal y bucal correspondientes a un total de 28 individuos de la ZMCM, (18 de los cuales pertenecían al Suroeste y 10 al Noroeste de la ciudad de México) en donde la edad promedio fue de 18.4 años (Tabla 13). De los habitantes de la Ciudad de Mérida, se analizaron muestras de un total de 31 individuos con una edad promedio de 22.5 años (Tabla 14).

El análisis de las muestras se realizó solo en las preparaciones que mostraron una cantidad suficiente de células analizables, más de 5000 en el caso de las muestras de epitelio nasal y más de 1000 en el caso de las células bucales. Del grupo de la ZMCM, se pudieron obtener 12 muestras de epitelio nasal y bucal pertenecientes a los mismos individuos; mientras que las 8 restantes pertenecieron a diferentes individuos. En el caso de la ciudad de Mérida 21 pares de muestras pertenecieron a los mismos sujetos, y se analizaron 10 muestras adicionales de epitelio nasal que no tuvieron su parte correspondiente de epitelio nasal, así como 7 de epitelio bucal que no tuvieron su contraparte nasal.

En las tablas 15 y 16 se presentan el número de células con micronúcleos así como los distintos tipos de atipias nucleares observadas en las muestras de células nasales en ambos grupos. Los individuos de México presentaron en promedio un 30 % más MN/1000, sin embargo estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (tabla 17). En nueve individuos de la ZMCM no se observaron MN, lo que representa un 45% de la población estudiada. En las muestras de Mérida esta proporción fue del 41.9%. (gráfica 3). En la gráfica 4 se presenta la distribución de las frecuencias de MN en ambos grupos, en donde se observa que los individuos que presentaron una mayor proporción de células con daño son de la ZMCM.

Con respecto a las atipias nucleares, las más frecuentes en ambos grupos fueron las cromatinas condensadas, las células binucleadas, las cariólisis y las cariorrésis. Las muestras de epitelio nasal de los individuos de la ZMCM, presentaron un aumento significativo de atipias nucleares ($p < 0.05$) (Gráfica 5).

Cuando se compararon las proporciones de células con micronúcleos en las muestras de mucosa bucal (tablas 18 y 19 y Gráfica 6), encontramos nuevamente que, en promedio, existe un incremento de 40% para los participantes de la ZMCM, aunque esta diferencia tampoco es significativa ($p > 0.05$). El 50% de las muestras examinadas de la ZMCM no presentaron células micronucleadas, mientras que el porcentaje de datos negativos para las procedentes de Mérida fue del 51.6%. La gráfica 7 muestra la distribución de las frecuencias de MN en este tejido.

También en este caso las atipias nucleares fueron más abundantes ($p < 0.05$; tabla 20). Los núcleos cariolíticos, condensados y cariorréticos fueron los más frecuentes (gráfica 8) En este epitelio, no encontramos cambios significativos a nivel de células binucleadas o con núcleos en gemación o "broken-egg"

Del cuestionario aplicado, se investigó la presencia de factores confusores (tablas 13 y 14). De esta información se determinó que la presencia de MN no se asoció al hábito de fumar o de beber alcohol en ningún tipo de células y grupo. Además de que ningún individuo presentó una enfermedad nasal crónica, por lo que se puede concluir que la presencia de atipias o daño celular se debe al ambiente.

Con respecto a los individuos que presentaron mayor número de atipias celulares, como los casos S-305 con una frecuencia de 551.67 y S-315 B con una frecuencia de 80.18 en la Ciudad de México, y los casos 43 y 33 con frecuencias de 57.3 y 80.0 respectivamente de la ciudad de Mérida, su presencia no está asociada al hábito de fumar en ninguno de los dos grupos

ni al tipo de células examinadas. Por el contrario, los individuos No. 2 y 50 que presentaron una frecuencia menor de atipias que los anteriores (46.02) en mucosa nasal, y (44.65) en mucosa oral respectivamente, según los cuestionarios manifestaron estar expuestos a factores confusores como tabaquismo, ingestión de medicamentos y de bebidas alcohólicas.

En la figura 7 se presentan fotografías de atipias nucleares encontradas en el presente estudio.

Como en ambos grupos hubo un número importante de muestras pertenecientes a los mismos individuos, se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson para investigar la posibilidad de una asociación positiva entre los hallazgos citogenéticos en ambos tejidos. No se encontró una correlación significativa ni entre la frecuencia de MN, ni de atipias nucleares entre los dos tipos epiteliales.

Se calculó el coeficiente de correlación entre la frecuencia de MN y cada una de las atipias nucleares (tabla 21). Las únicas asociaciones significativas se encontraron en las muestras de epitelio nasal de la ZMCM. La presencia de MN se asoció significativamente con broken-eggs, con núcleos cariolíticos, con células binucleadas y con atipias totales.

VIII. DISCUSION

La contaminación del aire urbano se produce por la presencia de numerosas sustancias, en forma gaseosa o particulada, que son emitidas por fuentes fijas como las industrias y los hogares, así como por fuentes móviles como los automóviles y los medios de transporte. Aunque existen sistemas de registro para monitorear algunos de los contaminantes más tóxicos como el ozono, el bióxido de azufre, los óxidos de nitrógeno, el monóxido de carbono, el plomo y los hidrocarburos en general, resulta imposible conocer o determinar la presencia de todos los contaminantes. Por otro lado, el reconocer su presencia no nos proporciona información acerca de su actividad como mezcla compleja y si existen sinergismos entre los contaminantes. Es por ello que la búsqueda de efectos biológicos nos permite tener parámetros más apropiados para evaluar el riesgo a la salud.

Las muestras de tejido epitelial en la ciudad de México, fueron obtenidas el 14 de Febrero de 1996 y como lo reporta el RCAM(1996), los niveles de ozono exhibieron una ligera disminución en este año con respecto a lo reportado en los años anteriores de 1994 y 1995; sin embargo, se incrementaron los niveles del bióxido de azufre, el monóxido de carbono, las partículas finas (PM 10 micras) y el dióxido de nitrógeno. Las muestras de tejido epitelial de los voluntarios de la ciudad de Mérida fueron obtenidas durante el 2 de Julio de 1996 (de la 1 a la 30) y el 9 de Marzo de 1997 (de la 31 a la 50). Los monitoreos de contaminación aérea en esta ciudad, han demostrado que no existen niveles preocupantes de los contaminantes arriba mencionados. Los datos acerca del pH de lluvia confirman estos reportes, ya que no existen prácticamente precipitaciones ácidas (Cabrera-Sansores 1996). Por otro lado un estudio de niveles de plomo en trabajadores del ayuntamiento de Mérida que trabajan al aire libre, mostró niveles por debajo de la norma (Pinto et

al, 1997), lo que indica una baja emisión de este metal por los automóviles, en el aire de esta ciudad.

El ensayo de MN resultó una metodología sencilla, fácil de implementar y poco invasiva, que permitió evaluar daño citogenético en tejidos en contacto directo con la contaminación aérea como son el epitelio nasal y el epitelio oral.

Los resultados obtenidos en este estudio, permiten observar una mayor proporción de atipias nucleares en las muestras pertenecientes a los individuos de la ZMCM pero no de MN, puesto que, a pesar de haber determinado una mayor frecuencia, ésta no fue significativa, por lo que no se puede concluir que mediante este análisis, se demuestre un mayor daño citogenético. Entre las atipias más frecuentes se encontraron los "broken-eggs", las cromatinas condensadas y las cariorresis que son alteraciones nucleares asociadas a apoptosis y citotoxicidad (Tolbert et al., 1992; Müller y Streffer, 1994). Es posible suponer que el contacto directo con los contaminantes aéreos produce este tipo de agresión sobre las células. La condensación de la cromatina nuclear, la cariorresis y los núcleos en gemación o "broken-eggs" son eventos que no se generan por una división celular como ocurre con los micronúcleos, si no que más bien, que la previenen (Goldsworthy et al, 1996). Si estas atipias son una expresión de citotoxicidad, entonces, la división celular esta impedida, por lo que desaparece o disminuye la posibilidad de generar MN. Esto nos permitiría explicar el por que una frecuencia de atipias tan elevada no está acompañada de una elevación significativa en la frecuencia de MN, en los voluntarios que viven en la ZMCM.

Si la muerte o la pérdida de células en epitelios de recubrimiento induce la división de la capa basal para reemplazar el tejido perdido, entonces estas células, principalmente las nasales, pueden tener una tasa de reemplazo aumentada para compensar la gran proporción de tejido necrosado o apoptótico. Estos efectos de compensación, que provocan división celular, se

consideran relevantes en los procesos de carcinogénesis porque se asocian a los eventos de promoción tumoral

Otros factores que no se deberían excluir del análisis de los resultados son, la altura y la baja humedad de la ZMCM, que pueden provocar adaptaciones diferentes a las que se observan en las personas que viven al nivel del mar y con una humedad relativa elevada como es el caso de la ciudad de Mérida. Calderón-Garcidueñas et al (1992;1996) examinaron biopsias de epitelio nasal de voluntarios recién llegados a la Ciudad de México y encontraron que la permanencia en la ZMCM incrementaba las alteraciones histopatológicas de naturaleza similar a la observada en las muestras que se analizaron en este estudio. También encontraron incrementado el daño al ADN. En ambos estudios se emplearon como referencia biopsias de individuos que vivían en ciudades costeras que están a nivel del mar, sin embargo en estos trabajos, no se discute la posibilidad de que la situación geográfica y la humedad relativa puedan afectar los resultados.

Guzmán (1997) observó que la frecuencia de MN en células epiteliales puede disminuir en presencia de un aumento de la citotoxicidad. Este tipo de efectos ha sido claramente demostrado "in vitro" (Scott et al 1991) sin embargo en el caso de las células nasales de la ZMCM, se encontró una asociación positiva entre la frecuencia de MN y las atipias, lo cual no apoyaría que las atipias fueran una manifestación de citotoxicidad que estuviesen afectando la generación de MN. Por otro lado, la atipia más fuertemente asociada con el daño citogenético fueron los núcleos en gemación o "broken - eggs". Este tipo de alteración nuclear es considerada como precursora de MN por algunos autores (Muller y Streffer 1994), si este fuera el caso entonces las muestras de células nasales de la ZMCM tienen elevada significativamente la frecuencia de daño citogenético. Otros autores vinculan a los núcleos en gemación como precursores de cariorresis o de apoptosis

(Muller y Streffer 1994), en este caso entonces, la toxicidad y muerte celular es elevada e iría en paralelo con el daño citogenético.

Cualquiera que sea el caso, ya que existen evidencias en los dos sentidos (Monteroi et al 1997), este tipo de alteración resulta relevante por que está evidenciando un cambio tisular, *asociado al lugar de residencia.*

Por otro lado resulta importante destacar que las frecuencias basales de MN observadas en ambos grupos se encuentran dentro de los rangos observados en los grupos testigos de los trabajos de Sarto, et al, 1990, de Ballarín et al, 1992 y de Gonsebatt et al, 1997 y son menores que las observadas en individuos expuestos a carcinógenos como el formaldehído, el ácido crómico, el óxido de etileno y el arsénico. El porcentaje de individuos que no presentaron MN fueron similares para un mismo tejido en ambos grupos estudiados, lo cual representa una medida de la homogeneidad del análisis

El ensayo de MN es considerado como un dosímetro de exposición a carcinógenos. Nuestro estudio no encuentra diferencia estadísticamente significativa, probablemente por lo reducido de la muestra (ya que es un estudio piloto), pero dado el riesgo a la salud que representa la presencia de un aumento en la frecuencia de MN en tejidos blanco de la contaminación ambiental, resulta relevante al ampliar el tamaño muestral.

CONCLUSIONES

Las atipias nucleares asociadas a un efecto citotóxico se encuentran significativamente elevadas en muestras de epitelio nasal y oral de residentes de la ZMCM. Este daño podría atribuirse a la mayor contaminación aérea que sufre la ciudad de México y/o a sus particulares condiciones geográficas.

La frecuencia basal de MN en las mismas muestras no mostró una diferencia significativa. La elevación observada puede deberse al tamaño reducido de la muestra o a que los contaminantes presentes en el aire de la Ciudad de México inducen un daño citogenético que pudiera ser reparado por el tejido afectado, antes de que se convierta en el daño cromosómico que daría origen a los MN.

Los estudios de monitoreo humano deben de tomar en cuenta estas diferencias en los niveles basales de daño citogenético, ya que pueden contribuir de manera significativa en los resultados de un monitoreo.

Tabla 13. DATOS GENERALES DE INDIVIDUOS DE LA CIUDAD DE MEXICO

NÚMERO	CLAVE	SEXO	LUG.RESIDE	EDAD	TABAQUISM	ALCOHOL	MEDIC	RAYOS"X"
1	S-320	M	S.O.	18	SI	SI	NO	NO
2	S-316	M	S.O.	18	SI	SI	NO	SI
3	S-318	F	S.O.	19	NO	NO	SI	NO
4	S-312 B	M	S.O.	19	NO	SO	NO	NO
5	S-315 B	M	S.O.	18	NO	NO	NO	NO
6	S-319	F	S.O.	18	NO	NO	NO	NO
7	S-303 B	F	S.O.	18	NO	NO	NO	NO
8	N-294-A	F	N.O.	19	NO	NO	NO	NO
9	N-288 a	F	N.O.	19	NO	NO	NO	NO
10	N-290	M	N.O.	18	NO	NO	NO	NO
11	S-306-B	F	S.O.	19	NO	NO	NO	NO
12	N-292 A	F	N.O.	18	NO	NO	NO	NO
13	S-314	M	S.O.	19	NO	NO	NO	NO
14	S-313	M	S.O.	19	NO	SI	NO	SI
15	S-371	F	S.O.	18	SI	SI	NO	NO
16	S-321	F	S.O.	?	SI	NO	NO	NO
17	S-302	F	S.O.	19	SI	NO	SI	NO
18	N-291-A	F	N.O.	18	NO	NO	NO	NO
19	S-304	F	S.O.	18	NO	NO	SI	NO
20	S-305	F	S.O.	18	NO	NO	NO	NO
21	N-293-A	F	N.O.	18	NO	NO	NO	SI
22	N-188-A	F	N.O.	18	NO	NO	NO	NO
23	S-182-A	M	S.O.	18	NO	NO	SI	NO
24	S-193-A	F	S.O.	18	NO	NO	NO	NO
25	S-189-A	F	S.O.	18	NO	NO	NO	NO
26	N-308 B	M	N.O.	18	NO	NO	NO	NO
27	N-186-A	M	N.O.	22	SI	NO	NO	NO
28	N-185-A	F	N.O.	18	SI	NO	NO	NO
			PROMEDIO	18,44				
			DE EST	0,50				
			EE	0,11				

Tabla 14. DATOS GENERALES DE INDIVIDUOS DE LA CIUDAD DE MÉRIDA

NÚMERO	CLAVE	SEXO	EDAD	TABAQUIS	ALCOHOLIS	MEDICAM	RAYOS"x"
1	1	M	21	NO	NO	NO	NO
2	2	M	22	SI	NO	SI	SI
3	5	M	21	SI	SI	NO	NO
4	7	F	25	NO	NO	NO	NO
5	9	F	21	NO	NO	NO	NO
6	11	M	22	SI	SI	NO	NO
7	13	F	21	NO	NO	SI	NO
8	15	F	21	NO	NO	NO	NO
9	18	F	22	NO	NO	NO	NO
10	17	M	22	NO	SI	NO	NO
11	19	F	24	NO	NO	NO	NO
12	20	M	22	SI	SI	NO	NO
13	21	F	26	NO	NO	NO	NO
14	22	M	25	NO	NO	SI	NO
15	23	F	22	NO	SI	NO	NO
16	25	M	24	NO	NO	NO	NO
17	26	F	22	NO	NO	NO	NO
18	27	F	21	NO	NO	SI	NO
19	28	F	22	NO	NO	NO	NO
20	29	F	23	NO	NO	NO	NO
21	30	M	25	NO	NO	NO	NO
22	31	F	24	SI	NO	NO	NO
23	33	M	23	NO	NO	NO	NO
24	34	F	22	NO	NO	NO	NO
25	35	M	22	SI	SI	NO	NO
26	36	F	20	NO	NO	NO	NO
27	37	F	21	NO	NO	SI	NO
28	38	F	22	NO	NO	SI	NO
29	39	F	21	NO	NO	NO	NO
30	40	F	21	SI	NO	NO	NO
31	41	F	21	NO	NO	SI	NO
32	43	M	23	NO	NO	NO	NO
33	44	M	24	NO	NO	NO	NO
34	45	M	21	NO	NO	NO	NO
35	46	M	28	NO	NO	NO	NO
36	47	M	26	NO	NO	NO	NO
37	48	M	19	NO	NO	NO	NO
38	50	M	24	NO	SI	SI	NO
		PROMEDIO	22.5				
		DESVEST	1.87				
		EE	0.30				

Tabla 15. EPITELIO NASAL DE INDIVIDUOS DE LA CIUDAD DE MEXICO

NUMERO	CASO	MIN/1000	BE/1000	BIN/1000	COND/1000	CARIO/1000	CLISIS/1000	MULTI/1000	ATIP/1000	CEL ANALIZ.
1	S-320	0,00	0,00	8,65	8,65	23,85	1,63	0,00	42,86	6121
2	S-316	0,00	0,00	3,33	2,42	10,15	0,00	0,00	15,91	6598
3	S-318	0,00	0,00	5,75	4,74	41,74	3,94	0,00	63,77	6084
4	S-312-B	0,00	0,79	6,99	56,00	11,28	274,29	0,00	342,76	5053
5	S-315-B	0,00	0,00	6,94	13,02	1,38	0,34	0,00	21,71	5757
6	S-319	0,83	0,99	1,66	37,45	41,78	157,14	0,00	239,05	6007
7	S-303-B	0,18	0,35	8,48	17,84	14,13	48,40	1,41	90,63	5960
8	N-294-A	0,50	0,16	3,63	60,33	32,06	7,93	1,15	88,45	6048
9	N-289-a	0,18	0,00	12,87	13,42	31,19	5,44	0,72	63,66	5513
10	N-290	0,17	0,16	14,31	27,63	5,66	2,49	0,66	50,94	6096
11	S-306-B	0,00	0,14	11,79	22,55	10,31	2,94	1,17	66,16	6794
12	N-292-A	0,40	1,39	3,58	137,50	16,33	154,04	0,59	315,46	5018
13	S-314	0,00	0,00	8,33	1,21	3,30	9,90	0,00	22,75	5757
14	S-313	0,37	0,00	9,74	7,10	2,62	0,37	0,00	19,85	5338
15	S-371	0,00	0,00	11,23	18,72	3,27	0,00	0,00	33,23	4273
16	S-321	0,84	2,81	108,66	22,52	411,07	0,00	0,00	548,09	2131
17	S-302	0,00	0,15	19,65	29,55	20,87	26,96	1,37	98,56	6564
18	N-291-A	0,17	0,00	12,26	24,68	7,62	4,97	1,98	51,53	6035
19	S-304	0,16	0,00	9,66	47,69	9,98	4,43	0,79	72,57	6311
20	S-305	0,15	0,00	5,05	304,24	61,85	179,05	1,07	551,67	6531
	SUMA	4,04	6,94	160,11	951,18	373,89	1295,33	10,91	2799,61	113599
	PROMEDIO	0,20	0,35	8,01	46,94	18,69	64,77	0,55	139,98	5679,45
	MEDIANA	0,16	0,00	8,41	23,62	12,71	5,21	0,30	64,97	6006,50
	DES/EST	0,27	0,68	4,74	70,19	15,70	110,48	0,62	164,37	1008,99
	E.E.	0,06	0,15	1,06	15,70	3,51	24,72	0,14	36,77	225,72

MN.-micronucleo, BE.- Broken-egg, BIN.-binucleadas, COND.-Cromatinas condensadas, CARIR.-Cariorrestis, CLISIS.-Cariolisis
MULTI.-celulas multinucleadas, CEL ANALIZ.-celulas analizadas.

Tabla 16 EPITELIO NASAL DE INDIVIDUOS DE LA CIUDAD DE MÉRIDA

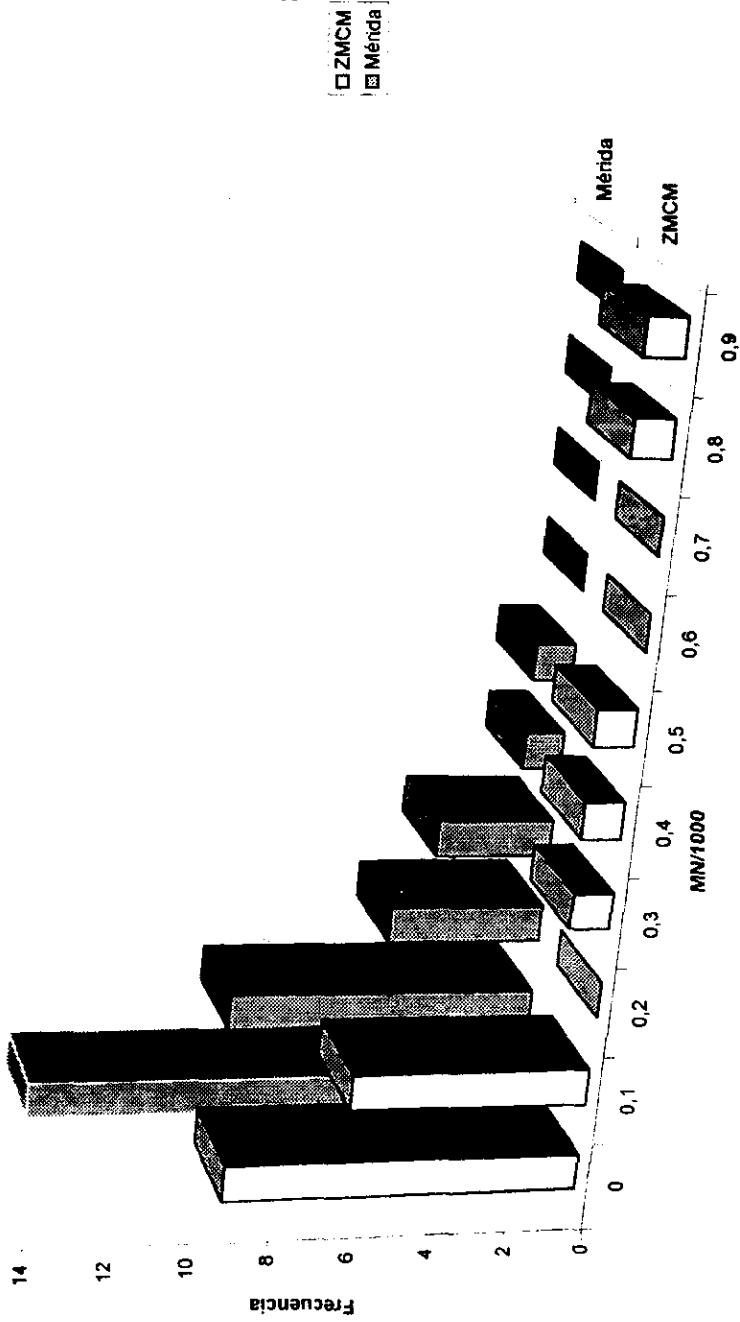
NÚMERO	CASO	MN/1000	BE /1000	BIN/1000	COND/1000	CARIR/1000	CLISIS/1000	MULTI/1000	ATPIA/1000	CEL ANALIZ
1	2	0,00	0,16	11,04	19,24	9,70	9,70	1,84	46,02	5875
2	7	0,16	0,16	8,73	11,36	4,28	1,31	0,82	28,86	6068
3	9	0,00	0,16	6,77	12,71	1,98	1,46	0,66	23,78	6053
4	15	0,20	0,39	5,48	1,89	2,15	0,00	0,00	13,11	5109
5	16	0,00	0,00	3,72	3,06	2,62	1,53	0,43	11,39	4563
6	17	0,00	0,29	4,99	17,62	3,23	1,17	0,58	27,82	3404
7	21	0,00	0,16	1,92	6,08	0,84	0,16	0,32	9,29	6242
8	25	0,17	0,00	7,88	12,16	10,20	0,34	0,85	31,70	5835
9	26	0,19	0,57	3,84	15,36	5,77	0,57	0,19	26,54	5198
10	29	0,00	0,00	5,42	10,39	2,01	0,46	0,46	19,08	6451
11	31	0,23	1,38	18,02	21,01	6,00	7,85	2,31	56,82	4329
12	35	0,16	0,80	7,84	7,51	2,12	0,98	0,65	19,94	8117
13	36	0,20	0,19	8,16	8,96	2,19	4,78	0,99	25,10	5019
14	37	0,16	0,16	9,55	5,98	2,42	1,13	1,45	20,89	8173
15	38	0,16	0,67	12,11	10,76	2,70	2,70	4,54	33,65	5942
16	39	0,00	0,82	7,92	8,25	5,11	1,98	1,48	25,56	6060
17	40	0,16	0,81	8,58	6,15	2,43	1,13	1,78	21,06	6170
18	43	0,20	0,41	16,31	24,25	8,36	6,08	2,09	57,30	4782
19	46	0,44	0,22	5,39	11,9	2,91	2,46	3,60	22,00	4456
20	48	0,32	0,64	9,08	6,48	2,59	1,13	2,59	22,88	8161
21	50	0,00	0,16	16,82	9,8	2,93	1,14	3,26	34,13	8123
22	19	0,00	0,00	1,31	6,14	3,07	0,43	0,00	10,96	4658
23	20	0,00	0,00	3,94	6,51	0,98	0,19	0,59	12,23	5089
24	23	0,34	0,16	10,56	9,05	1,50	0,33	0,50	22,46	5984
25	27	0,00	0,16	3,21	4,4	3,04	0,16	0,50	11,50	5809
26	28	0,31	0,15	5,97	9,5	2,91	0,30	1,37	20,53	6525
27	30	0,50	0,16	4,46	11,57	4,63	0,18	1,81	23,32	6045
28	34	0,16	0,48	12,32	9,71	1,45	2,88	2,24	29,35	6166
29	44	0,17	0,48	7,15	6,15	2,16	1,83	0,83	16,80	6008
30	45	0,00	0,71	12,14	15,71	3,57	1,07	3,58	36,60	2799
31	47	0,00	0,24	14,87	13,88	3,90	1,46	4,39	36,78	4102
	SUMA	4,23	10,68	244,46	303,92	99,85	47,17	44,88	753,59	163400,00
	PROMEDIO	0,14	0,36	8,15	10,13	3,33	1,57	1,50	25,12	5446,87
	MEDIANA	0,16	0,21	7,86	9,61	2,81	1,13	0,92	23,10	5953,00
	DES EST.	0,14	0,32	4,33	4,96	2,03	1,77	1,28	11,42	934,81
	E.E.	0,02	0,05	0,77	0,89	0,36	0,31	0,22	2,05	168,09

MN.-micronúcleo, BE.-Erofen-egg, BIN.-bruceadas, COND.-Cromatinas condensadas, CARIR.-Carionesis, CLISIS.-Clisis, MULTI.-células multinucleadas, CEL ANALIZ.-células analizadas.

TABLA 17
PROMEDIO \pm EE MICRONÚCLEOS /1000

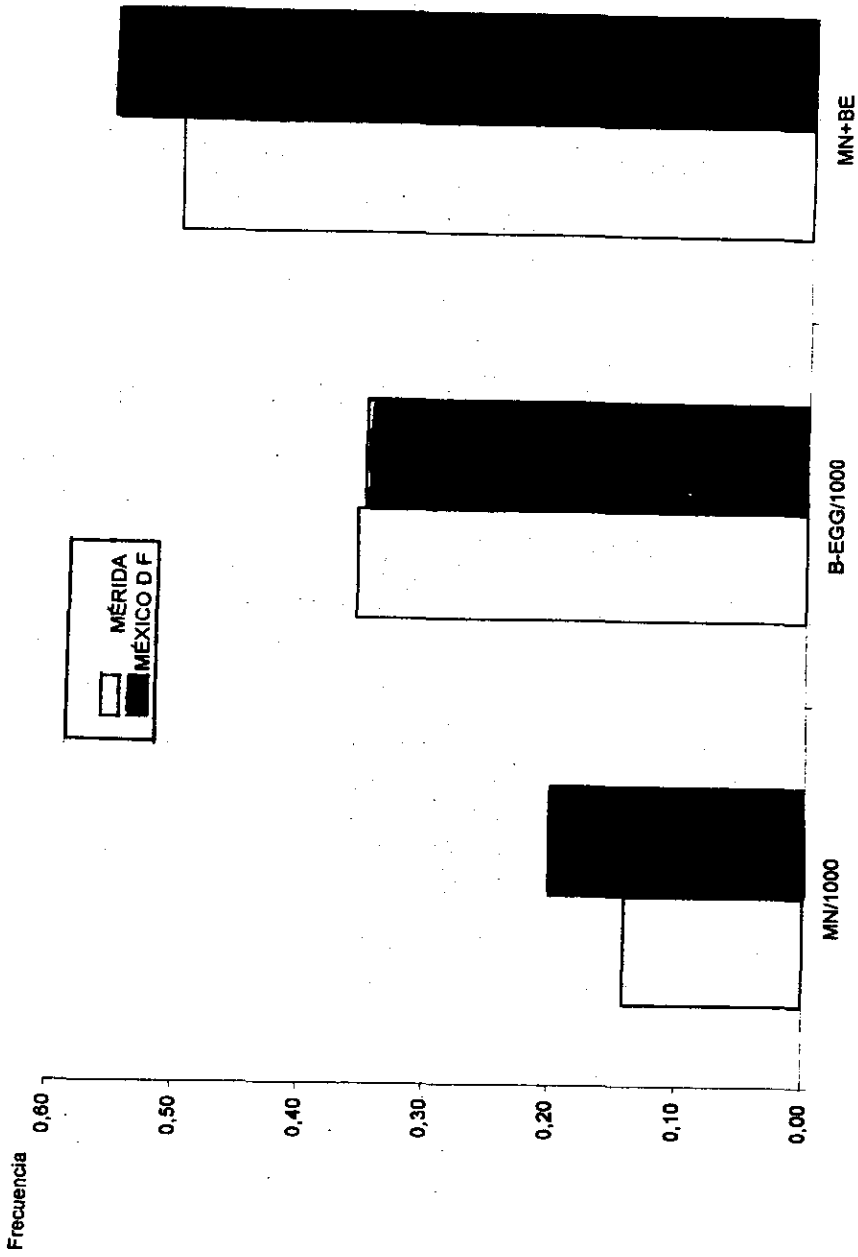
	MÉXICO, D F	MÉRIDA
NASAL	0.20 \pm 0.06	0.14 \pm 0.02
BUCAL	0.26 \pm 0.06	0.16 \pm 0.03

p=0.70 U de Mann-Whitney

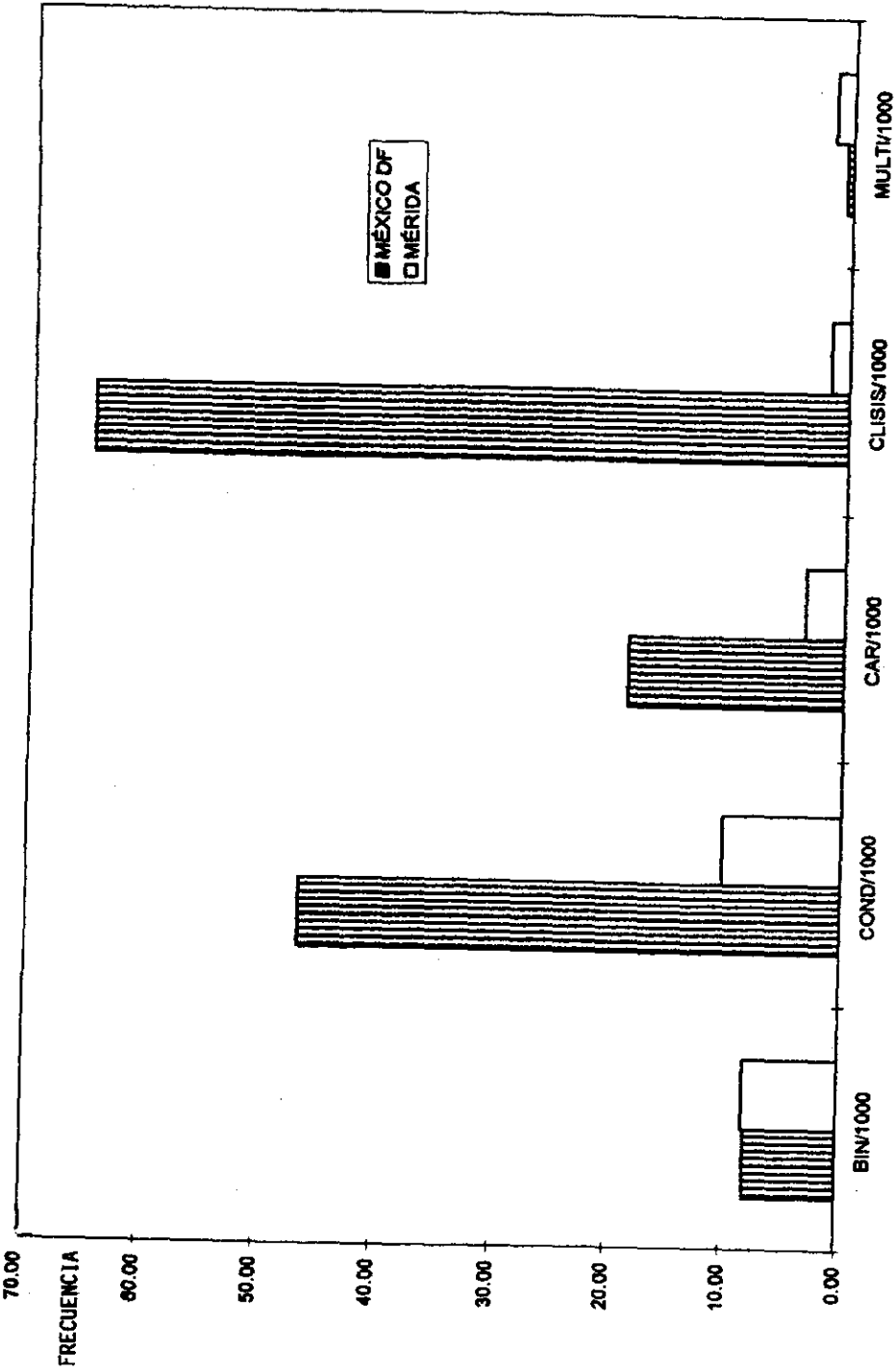


GRAFICA 3.

DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA DE MN EN CÉLULAS NASALES



GRÁFICA 4. FRECUENCIA DE MN Y B-EGG/1000 EN CÉLULAS NASALES



GRÁFICA 5 FRECUENCIA DE ATIPIAS EN CÉLULAS NASALES

Tabla 18. EPITELIO BUCAL DE INDIVIDUOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO

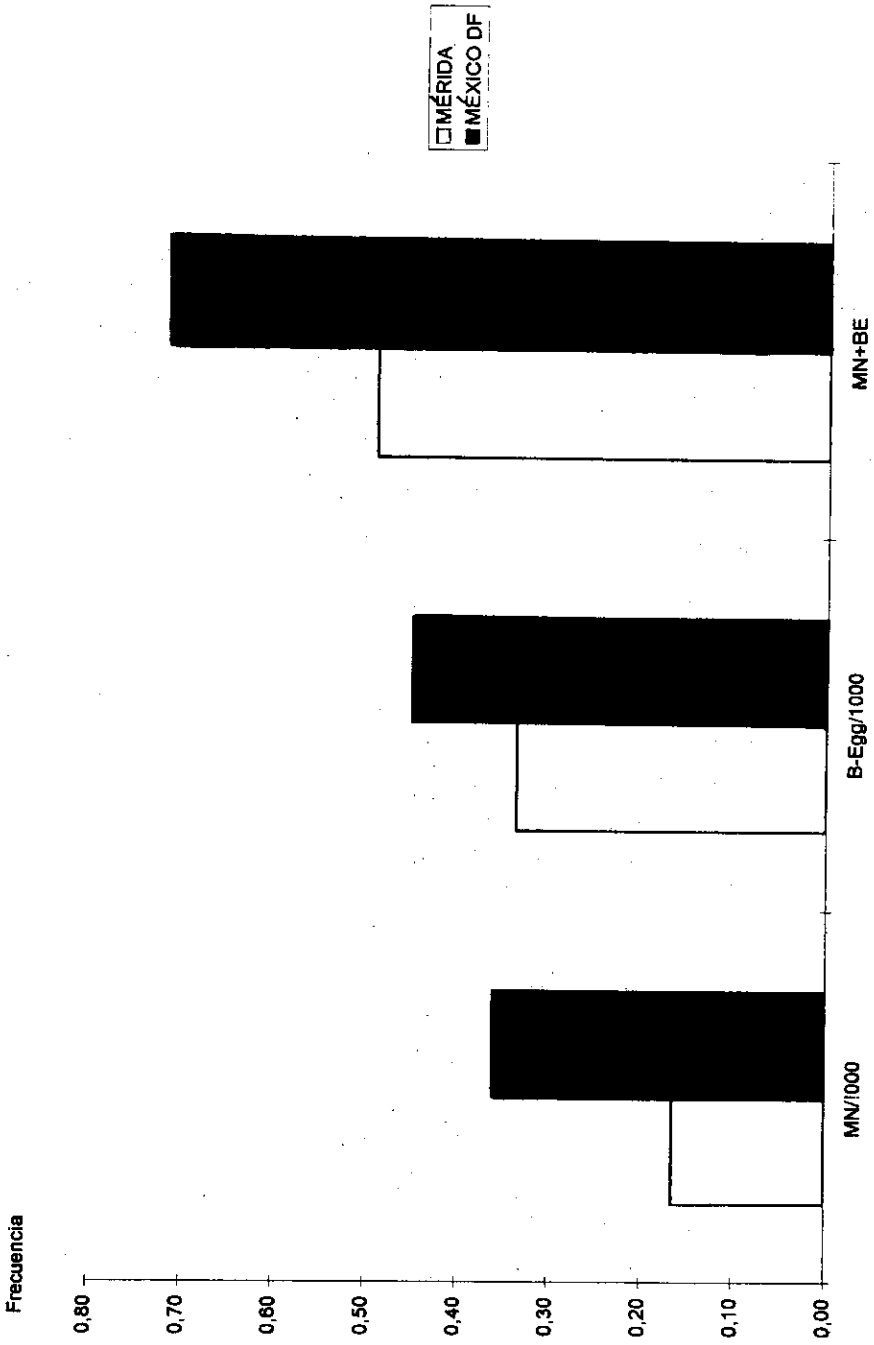
NÚMERO	CASO	MN/1000	BE/1000	BIN/1000	COND/1000	CARIOR/1000	CALIS/1000	MULTI/1000	ATPIA/1000	CEL ANALIZ.
1	S-320	0,00	0,00	5,05	42,92	12,31	1,89	0,00	52,18	3168
2	S-316	0,00	0,00	6,05	28,44	9,07	12,10	0,00	55,69	1652
3	S-318	0,41	0,40	6,93	57,82	26,53	8,97	0,00	72,24	2450
4	S-312-B	0,00	0,00	4,13	48,2	16,52	2,75	0,00	71,33	1452
5	S-315-B	0,00	0,41	5,97	48,26	20,99	3,77	0,83	90,18	2362
6	S-319	0,00	0,00	7,95	42,23	10,64	1,37	0,00	61,81	2912
7	S-303-B	0,74	0,00	4,43	44,37	12,57	4,43	0,00	65,82	1352
8	N-294-A	0,55	0,00	5,90	40,7	12,10	6,60	0,00	64,90	1818
9	N-289-a	0,63	0,31	6,01	30,4	10,45	9,81	0,00	57,01	3157
10	N-290	0,33	0,32	7,87	43,62	12,79	9,18	0,00	74,12	3049
11	S-306-B	0,31	0,30	17,01	42,99	5,56	3,40	0,00	69,30	3232
12	N-292-A	0,63	0,94	10,74	15,8	9,46	3,16	0,00	31,61	3163
13	N-293-A	0,00	0,92	7,84	23,54	1,84	12,00	0,46	46,62	2166
14	N-188-A	0,65	0,64	13,55	35,49	2,90	0,96	0,00	54,21	3069
15	S-192-A	0,00	0,93	3,43	20,93	3,43	3,75	0,00	32,50	3200
16	S-193-A	0,30	0,30	2,40	5,4	4,20	2,40	0,30	15,00	3332
17	S-189-A	0,00	1,33	4,65	26,6	1,98	2,32	0,00	36,92	3006
18	N-308-B	0,00	0,96	8,66	9,14	1,92	5,29	0,00	25,99	2077
19	N-186-A	0,00	0,59	10,63	40,18	1,47	13,00	0,00	85,69	3384
20	N-185-A	0,65	0,65	5,53	14,97	2,60	4,88	0,00	28,65	3071
	SUMA	5,20	9,00	143,83	662,00	179,34	112,03	1,59	1071,97	53122
	PROMEDIO	0,26	0,45	7,19	33,10	8,97	5,60	0,08	53,60	2656,10
	MEDIANA	0,15	0,36	3,46	37,84	9,27	4,10	0,00	59,41	3027,50
	DS	0,28	0,40	0,77	14,10	6,75	3,76	0,21	18,37	657,61
	E.E.	0,06	0,09	0,17	3,16	1,51	0,84	0,05	4,11	147,12

MN.-micronúcleo, BE.- Broken-egg, BIN.-binucleadas, COND.-Cromatidas condensadas, CARIOR.-Cariorrestis, CLISIS.-Cariofisis
 MULTI.-células multinucleadas, CEL ANALIZ.-células analizadas.

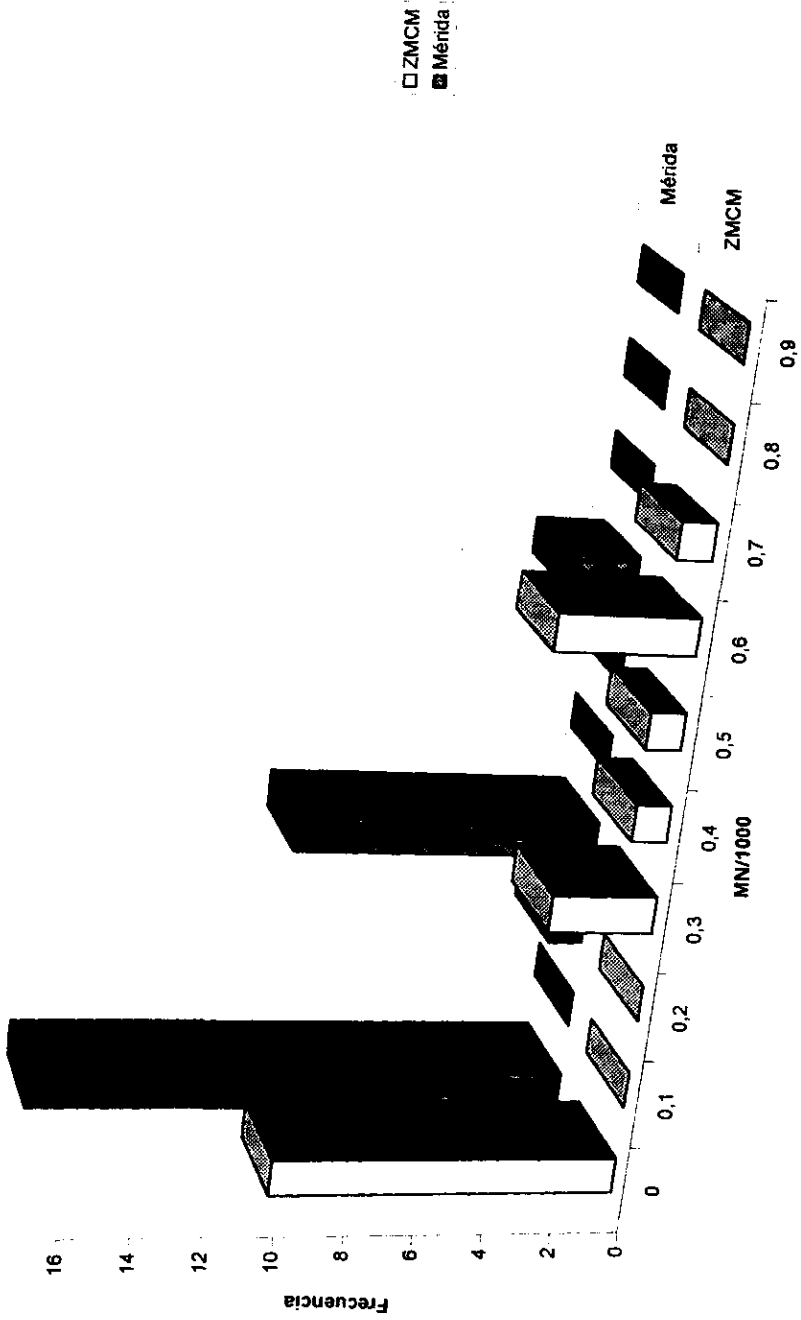
Tabla 19. EPITELIO BUCAL DE INDIVIDUOS DE LA CIUDAD DE MÉRIDA

NUMERO	CASO	MN/1000	B-EGG/1000	BIN/1000	COND/1000	CAR/1000	CLISIS/1000	MULTI/1000	ATIPIA/1000	CEL ANALIZ
1	2	0,00	0,31	6,20	23,26	0,00	2,48	0,00	32,25	3224
2	7	0,34	0,00	8,64	6,8	3,40	1,70	0,00	21,06	2941
3	9	0,29	0,29	9,80	14,22	4,64	1,45	0,00	30,76	3445
4	15	0,00	0,00	5,00	13,77	0,93	6,88	0,00	26,81	3194
5	16	0,00	0,00	7,89	15,36	7,04	4,16	0,00	34,24	3125
6	17	0,00	0,00	7,08	18,67	6,75	2,25	0,00	34,77	3106
7	21	0,00	0,00	7,13	19,46	1,60	0,97	0,00	29,20	3062
8	25	0,00	0,31	13,30	8,71	4,35	5,91	0,00	32,86	3214
9	26	0,00	0,39	7,17	15,9	1,99	3,18	0,00	28,70	2508
10	29	0,00	0,60	9,33	23,17	5,71	1,50	0,00	40,33	3322
11	31	0,33	0,32	3,60	7,65	1,63	0,96	0,00	14,73	3054
12	35	0,33	0,32	6,87	15,04	0,98	4,25	0,00	27,82	3055
13	36	0,65	0,00	4,90	11,1	0,98	1,96	0,00	19,90	3080
14	37	0,33	0,00	7,31	26,05	2,89	2,65	0,00	31,56	3006
15	38	0,00	0,31	3,60	15,24	1,27	0,95	0,00	21,30	3147
16	39	0,65	0,96	8,06	15,48	1,93	2,25	0,00	29,36	3009
17	40	0,00	0,97	6,84	8,46	3,25	2,60	0,00	22,14	3070
18	43	0,32	0,00	6,84	16,83	2,60	6,48	0,00	32,26	3066
19	46	0,39	0,39	11,30	16,29	10,12	10,90	0,00	51,40	2568
20	46	0,33	0,96	4,66	11,98	3,66	5,32	0,33	27,29	3004
21	50	0,32	0,97	8,80	22,15	6,84	5,54	0,00	44,65	3066
22	1	0,00	0,00	9,25	18,51	5,55	4,23	0,00	37,55	3761
23	5	0,00	0,00	5,21	22	5,50	6,10	0,00	40,63	3453
24	11	0,00	0,95	4,11	11,71	2,53	1,58	0,00	20,90	3157
25	13	0,00	0,30	4,23	13,01	0,90	0,90	0,00	19,37	3303
26	22	0,00	0,00	7,82	16,26	3,91	4,81	0,30	33,12	3321
27	33	0,00	0,00	7,81	31,25	5,05	4,60	0,00	80,00	2176
28	41	0,33	0,99	5,28	17,83	1,98	5,61	0,00	32,04	3027
	SUMA	4,61	9,37	197,92	461,16	96,08	106,19	0,63	698,54	66576,00
	PROMEDIO	0,16	0,33	7,07	16,47	3,50	3,79	0,02	32,02	3062,07
	MEDIANA	0,00	0,31	7,11	15,69	3,12	2,92	0,00	31,17	3090,50
	DESV EST	0,21	0,38	2,33	5,93	2,40	2,59	0,06	12,46	300,18
	E.E	0,03	0,05	0,44	1,12	0,45	0,48	0,01	2,35	56,74

MN.-micronúcleos, BE.- Broken -egg, BIN.-binucleados, COND.-Cromosomas condensados, CARIR.-Carionetesis, CLISIS.-Carilisis, MULTI.-células multinucleadas, CEL ANALIZ.-células analizadas.



GRÁFICA 6. FRECUENCIA DE MN Y B-EGG/1000 EN CELULAS BUCALES



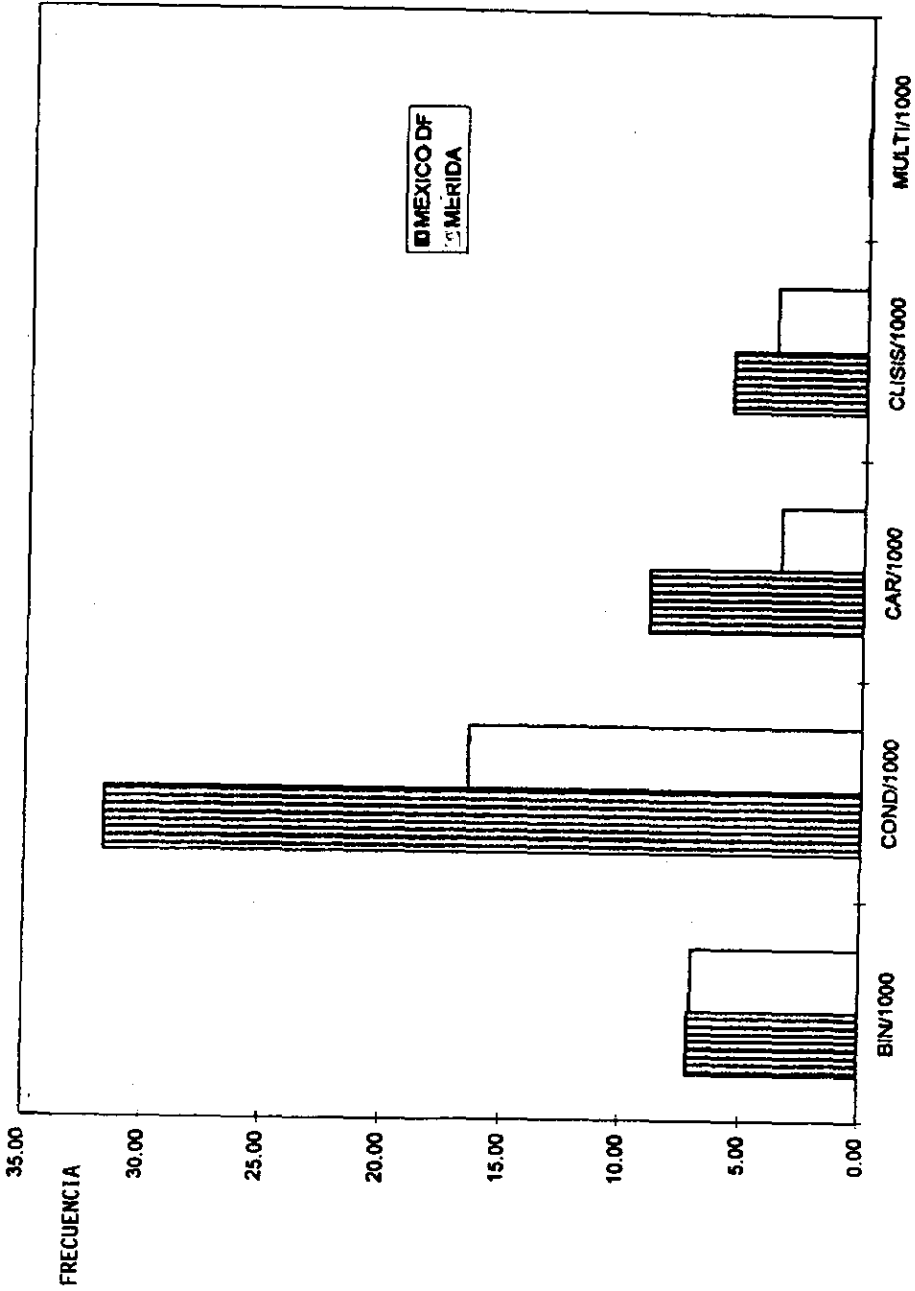
GRÁFICA 7.

DISTRIBUCIÓN DE LA FRECUENCIA DE MN EN CÉLULAS BUCALES

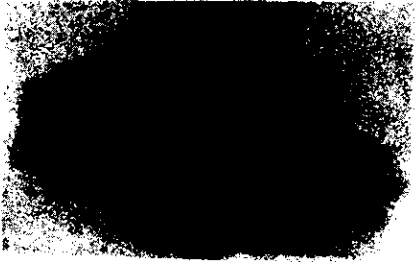
TABLA 20
PROMEDIO \pm E.E. ATIPIAS /1000

	MEXICO DF	MERIDA
NASAL	139.98 \pm 36.77	25.12 \pm 2.03
BUCAL	53.60 \pm 4.11	32.02 \pm 2.18

p=0.00 U de Mann-Whitney



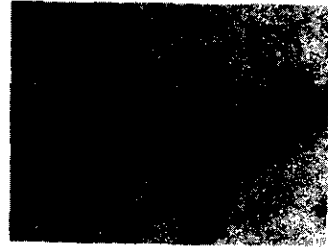
GRAFICA 6 FRECUENCIA DE ATIPIAS EN CELULAS BUCALES



Cariorrésis en células bucales



Célula bucal con Micronúcleo



Cromatinas condensadas en células nasales.



Células nasales normales.

FIGURA 7. FOTOGRAFÍAS DE ATIPIAS NUCLEARES

Tabla 21.
Coeficientes de correlación de Pearson

EPITELIO NASAL MÉXICO D.F

		B-Egg	BIN	COND	CRESIS	CLISIS	ATIPIA
MN	r	0.75	-0.42	0.24	0.30	0.60	0.52
	p	0.0001	0.06	0.20	0.19	0.005	0.01

EPITELIO NASAL MÉRIDA

		B-Egg	BIN	COND	CRESIS	CLISIS	ATIPIA
MN	r	0.15	0.05	0.07	0.04	0.004	0.07
	p	0.4	0.7	0.9	0.7	0.9	0.6

EPITELIO BUCAL MÉXICO D F

		B-Egg	BIN	COND	CRESIS	CLISIS	ATIPIA
MN	r	-0.11	0.16	-0.07	0.09	-0.08	-0.04
	p	0.62	0.48	0.74	0.70	0.73	0.84

EPITELIO BUCAL MÉRIDA

		B-Egg	BIN	COND	CRESIS	CLISIS	ATIPIA
MN	r	0.22	0.011	-0.19	-0.07	0.08	-0.15
	p	0.24	0.92	0.31	0.69	0.67	0.42

TABLA 22. VALORES DE XI CUADRADA PARA LAS FRECUENCIAS DE EPITELIO NASAL Y BUCAL DE LAS CIUDADES DE MÉXICO Y MÉRIDA

		EPITELIO NASAL							
		MN	B/E	MN + BE	CLISIS	COND	BIN	CRESIS	CEC
X ²		0,36	3,51	1,36	7739,54	3454,70	0,30	1634,32	0,00
p		0,56	0,06	0,24	0,001	0,001	0,58	0,001	0,99
		EPITELIO BUCAL							
		MN	B/E	MN + BE	CLISIS	COND	BIN	CRESIS	CEC
X ²		1,70	2,00	3,65	21,38	327,58	0,68	122,32	23,96
p		0,19	0,15	0,05	0,001	0,001	0,59	0,001	0,001

FACULTAD DE MEDICINA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO (UNAM)
ESTUDIO DE SALUD RESPIRATORIA

Usted esta participando en un estudio sobre salud respiratoria. La institución que está participando en la elaboración del estudio es la Facultad de Medicina de la UNAM. Los resultados de este estudio serán confidenciales y su único uso será con fines de investigación. Por favor, escriba su respuesta en el espacio que se le asigna. Hay varias preguntas que pueden ser contestadas con una paloma o una cruz (✓) (X).

Ejemplo: ¿Cuál es su sexo?

Masculino 1

Femenino 2

Hay otras en las que hay que escribir números o algún texto, y en algunas tendrá que saltarse un conjunto de preguntas si su respuesta es negativa.

Ejemplo: 20. ¿Cuenta en su casa con calentador de agua (boiler)?

No1 Si.....2. Conteste la pregunta 20a.

20a. ¿En donde se encuentra el calentador?

Dentro de la casa..... 1

Fuera de la casa 2

Por favor NO DEJE NINGUNA PREGUNTA sin contestar. Tache la respuesta ya sea negativa o positiva.

SI TIENE ALGUNA DUDA LLAME AL TELEFONO. 623-2182 con la Dra. Teresa Fortoul o las Biólogas Ivonne Sánchez e Irma López.

Por favor conteste todas las preguntas que a continuación encontrará

1. ¿Cuál es su nombre completo?

Apellido Paterno Materno Nombre(s)

2. ¿Cuál es su sexo?

() Masculino 1 () Femenino 2

3. ¿Cuál es su fecha de nacimiento?

____/____/____
Día Mes Año

4. Anote su lugar de nacimiento.

Ciudad Estado País

5. ¿Cuál es su dirección actual?

Calle Num int/ext

Colonia Delegación CP

6. ¿Cuántos años hace que vive en esta misma dirección?
_____ años.

7. Anote por favor su número telefónico _____

() No tengo teléfono 0

8. ¿Alguna vez usted ha vivido en otra dirección que no sea la actual?

() No 1 () Si 2 Conteste las preguntas 8a y 8b

_____ años.

8a. Anote por favor su dirección.

Calle Num ext/int

Colonia Delegación CP

8b. ¿Cuántos años vivió en esta dirección?
_____ años.

9. La casa que actualmente habita es:

- () Casa sola 1
- () Vecindad 2
- () Departamento 3
- () Condominio Horizontal....4
- () Otra 5. Por favor describala _____.

10. ¿Cuántas personas viven en su casa?
_____ personas.

11. ¿Cuántos cuartos tiene su casa, sin contar cocina, baños y pasillos?
_____ cuartos.

12. ¿Cuántos cuartos de la casa están alfombrados?
_____ cuartos. () Ninguno 00

CODIFICACION

Día

Mes

Año

Edo.

Deleg. o

Mun.

Edo.

Del. o

Mun

13. ¿Cuántas ventanas tiene su casa?

14. ¿En qué horario acostumbran mantener abiertas las ventanas de su casa?

- () Mañana 1
- () Tarde 2
- () Noche 3
- () Todo el día 4
- () Toda la noche 5
- () Ninguno 0

15. ¿De qué material están hechas la mayor parte de las paredes de su casa?

- () Tabique o ladrillo 1
- () Adobe 2
- () Madera 3
- () Otros 4. Especificar _____

16. ¿Cómo es en general su casa ?

- () Húmeda 1
- () Fría 2
- () Caliente 3
- () Templada 4

17. ¿Qué tipo de estufa para cocinar tiene en su casa?

- () De gas 1
- () Eléctrica 2
- () Otra 3. Por favor describala _____

18. ¿Cómo mantiene el piloto de su estufa?

- () Constantemente prendido 1
- () Apagado 2
- () Variable 3

19. ¿Qué utilizan para calentar su casa?

- () Parrilla de gas 1
- () Parrilla eléctrica 2
- () Calentadores eléctricos portátiles 3
- () Calentadores de queroseno o gas 4
- () Otros 5. Por favor describalo _____

20. ¿Cuenta en su casa con calentador de agua (boyler)?

- () No 1
- () Si 2. Conteste la pregunta 20a.

20a. ¿En donde se encuentra el calentador?

- () Dentro de la casa 1
- () Fuera de la casa 2

21. ¿Tiene mascotas en su casa?

- () No 1
- () Si 2. Conteste la pregunta 21a.

21 a. ¿Qué tipo de mascota es?

- () Perro 1 Gato 2
- () Pichones, pájaros, palomas 3
- () Otros 4 _____

Describalos

Las preguntas que siguen están relacionadas con su salud.

26. En las **ULTIMAS DOS SEMANAS**, ¿cuántos días se quedó en casa por haber estado enfermo(a)?

- () 1-2 días 1
 () 3-4 días 2
 () 5 ó más días 3
 () Ninguno 0

27. ¿Le han diagnosticado algunas de las siguientes enfermedades?

- () bronquitis 1
 () neumonía 2
 () asma 3
 () Rinitis alérgica 4
 () Eccema (alergia de contacto) 5
 () Otra alergia 6 Describala

28. ¿Ha presentado alguna vez infección o dolor del oído?

- () No 1 () Si 2. Conteste las preguntas 28a, 28b, 28c

28a. Cuántas veces?

- () Menos de 3 1 () 4-5 veces 2
 () Más de 6 3

28b. En el último año ha presentado infección ó dolor en el oído?

- () No 1 () Si 2

28c. Por las infecciones que ha tenido ha sido operado del oído?

- () No 1 () Si 2

29. ¿Alguna vez un MÉDICO, ENFERMERA U OTRA PERSONA le ha dicho que tiene Asma?

- () No 1 () Si 2 Pase a la pregunta 29a.

29a. ¿A que edad se le diagnosticó el asma?
 _____ años.

29b. ¿Alguna vez, usted ha tomado medicinas para el asma?

- () No 1 () Si 2

29c. Tiene asma actualmente?

- () No 1 Pase a la pregunta 29d
 () Si 2 . Pase a la pregunta 29e

29d. ¿A qué edad se le quitó?

_____ años.

29e. ¿Toma algún tratamiento actualmente?

- () No 1 () Si 2 Menciónelo

30. ¿Actualmente toma algún medicamento por otra causa que no sea asma?
 () No 1 () Si 2 Conteste las preguntas 30a y 30b

30a. ¿Qué medicamento?
 Describalo

30b. ¿Desde hace cuánto tiempo lo toma?
 () 1 semana 1 () 2-3 semanas 2
 () 1 mes 3 () más de 1 mes 4

31. ¿Usted fue atendido(a) por algún problema respiratorio o gripe muy grave antes de LOS DOS AÑOS DE EDAD?

() No 1 () Si 2

32. ¿Usted nació antes de tiempo (prematureo)?

() No 1 () Si 2

33. ¿En los últimos 15 días le han tomado rayos X de la cabeza?

() No 1 () Si 2

Las siguientes preguntas se relacionan con su salud respiratoria.

31. ¿Tose regularmente cuando no tiene resfriado o gripe?

() No 1 () Si 2

32. ¿Tose después de hacer ejercicio?

() No 1 () Si 2

33. ¿Tose cuando se expone al aire frío?

() No 1 () Si 2

34. ¿Tose cuando se expone al aire contaminado de la calle?

() No 1 () Si 2

35. ¿Tose cuando está cerca de perros, gatos o aves?

() No 1 () Si 2

36. ¿Le han dicho que tose por la noche cuando duerme?

() No 1 () Si 2

37. ¿Ha notado alguna otra situación en la que usted tosa?

() No 1 () Si 2. Por favor describala

38. ¿Con frecuencia usted ha presentado pecho congestionado con flemas cuando tiene gripe?

() No 1 () Si 2 Pase a la pregunta 38a

38a. Esta congestión o flemas han estado presentes por tres meses en el año?

() No 1
 () Si, sólo el año pasado 2
 () Si, el último año y los anteriores 3

39. ¿ Cuando no tiene gripe presenta flemas con frecuencia?
 () No..... 1 () Si..... 2 Pase a la pregunta 39a.

39a. ¿Esta congestión o flema ha estado presente por tres meses en el año?
 () No 1
 () Si, sólo el año pasado 2
 () Si, el último año y los anteriores 3

40. ¿ Su pecho regularmente presenta silbidos o chifidos cuando **NO** tiene resfriado o gripe?
 () No..... 1 () Si 2. Conteste de la pregunta 40a a la 40h.

40a. ¿Su pecho regularmente presenta silbidos o chifidos cuando **NO** tiene resfriado o gripe?
 40a. ¿Generalmente esto ocurre después de hacer ejercicio?
 () No 1 () Si 2

40b. ¿Su pecho silba o chifla cuando respira aire frio?
 () No 1 () Si 2

40c. ¿Silba o chifla cuando se expone al aire contaminado de la calle?
 () No 1 () Si 2

40d. ¿Silba o chifla cuando está cerca de perros, gatos o aves?
 () No 1 () Si 2

40e. ¿Silba o chifla por la noche cuando duerme?
 () No 1 () Si 2

40f. ¿Ha notado alguna otra situación en la que su pecho silbe o chifle?
 () No 1 () Si..... 2

40g. ¿Ha presentado cuadros de falta de aire con silbidos y/o chifidos?
 () No 1 () Si..... 2

40h. ¿Ha presentado cuadros de silbidos o chifidos, después de haber realizado ejercicio muy severo?
 () No 1 () Si 2

41. ¿Alguna vez ha presentado opresión en el pecho (falta de aire) después de haber realizado mucho ejercicio o jugado muy activamente?
 () No..... 1 () Si 2.

54. ¿Alguna vez, un doctor le diagnosticó a su madre cualquiera de las siguientes enfermedades?

- () Asma 1
 () Rinitis 2
 () Eccema 3
 () Otro tipo de alergia 4 Describala
 () Ninguna 0

55. ¿Alguna vez, un doctor le diagnosticó a su padre cualquiera de las siguientes enfermedades?

- () Asma 1
 () Rinitis 2
 () Eccema 3
 () Otro tipo de alergia 4 Describala
 () Ninguna 0

MUCHAS GRACIAS por su cooperación para llenar este ^o cuestionario. Realmente apreciamos el cuidado que tuvo al responder las preguntas y el tiempo que nos brindó. Por favor introduzca el cuestionario en el sobre que se anexa, ciérrelo y regrese lo a quien se lo dió.

BIBLIOGRAFIA

- Albertini, S y Kirsch-Volders (1997) Summary and conclusions on the MNT in vitro and implication on testing strategies. *Mutation Research* 392 :183-185.
- Ballarin, C, Sarto, F, Giacomelli, L., Battista, G. and Clonfero, E.(1992) Micronucleated Cells in nasal mucosa of formaldehyde exposed workers. *Mutation Research.*, 280::1-7.
- Benner, S.E., Wargovich, M.J., Lippman, S.M. and Hong, W.K (1993) Micronuclei: a potential intermediate Marker for Chemoprevention of Aerodigestive Tract. *Cancer. Journal of celular Biochemistry, Supplement* ., 17F:250-254.
- Bianchi, V., Zantedeschi, A and Levis, A.G:(1983). The scintillometric evaluation of DNA repair synthesis can be distorted by changes of thymidine pool radioactivity. *Chem. Biol. Interact.*, 43:17-31.
- Blas, V.J (1995) Evaluación de la Frecuencia de micronúcleos en células uroepiteliales de individuos con exposición ambiental a arsénico. Tesis Profesional. Fac. Ciencias U N A M.
- Boderick and Scharz. (1992) Fluorine en Hazardous Materials Toxicology. *Clinical Principles of Enviromental Health. De Williams and Wilkins Baltimore USA*, 793 pp..
- Burns, L.A. and Munson, A.E. (1993). Gallium arsenide selectively inhibits T cell proliferation and alters expression of CD25 (IL-2R/p55), *J.Pharmacol Exp. Therapeutics*, 225: 178-186.
- Cabrera- Sansores, A., Pacheco-Avila, J. y Cobos -Gasca, V. (1996). Caracterización química de la precipitación pluvial de la Ciudad de Mérida, Yucatán. *Boletín Académico FIUADY No.30* . Enero -Abril 1996.
- Cairns, J. (1975). Mutational selection and the natural history of cancer. *Nature (London)*, 255: 197-200.
- Calderón-Garcidueñas L., Osorno -Velazquez, A., Bravo-Alvarez .H., Delgado-Chavez . and Barrios-Marquez R (1992) Histopathological Changes of the nasal mucosa in south west Metropolitan Mexico City Inhabitants. *American Journ of Pathol.*, No.1 Jan Vol 40:225-232.
- Calderon -Garcidueñas L, Onnaya Brisuela N., Ramirez -Martinez L and Villarreal-Calderón. A.(1996) DNA Strand Breaks in human nasal respiratory Epithelium are induced upon exposure to urban pollution. *Enviromental Health Perspectives.*, Vol 104 :;2 160-168.

Calderón -Garcidueñas L, Onnaya Brisuela N., Rodríguez -Alcaraz , A and Villarreal-Calderón. A. (1997) DNA damage in nasal respiratory Epithelium from children Exposed to Urban pollution. *Environmental and Molecular Mutagenesis* 30:11-20.:

Casarett and Doulls (1986). *Toxicology*. Mc. Millian Publ. New York. 14-193 pp.

Cassee F.R. and Feron V (1994) Biochemical and Histopathological changes in nasal epithelium of rats after 3 day intermittent exposure to formaldehyde and ozone alone or in combination. *Toxicol letter*, Jun. 72::257-268.

Castillejos, M., Gold ,D., Dockery,D. ,Tosteson,T., Baum.T and Speizer.F. (1992). Effect of ambient ozone on respiratory functionb and symptoms in Mexico City schoolchildren. *Am Rev Resp Dis*, 145::276-282.

Chakrabarti A, Chakrabarty S. (1987) High yield of micronuclei and micronuclei premature chromosome condensation in a mouse tumor cell line cultured in vivo with prearrested mitotic metaphases, *Neoplasma* 34: 557-562.

Charan.,N.B.and Myers.,C.G.(1979) Pulmonary injuries associated with acute sulfur dioxide inhalation .*Amer.Rev. Respir Dis*, 119: 555-560.

Cheeseman, K.H.and Slater.,T.F.(1993). An Introduction to free radical biochemistry .*British.Medical Bulletin*, Vol 49 No. 3 481-493.

Corvera- Bernardelli, J.(1988) *Otorrinolaringologia Elemental México*. Ed.Francisco Mendez Cervantes, 101-145 pp.

Cohen , J.S., Knop,M, R.H..Navon, G y Foxall, D (1983) Nuclear magnetic resonance in biology and medicine. *Life Chems Repts*, 1: 281-457.

Cotter, T.G., Lennon, S.V., Glynn, J.M. and Green, D.G.(1992). Microfilament-disrupting Agents Prevent the Formation of Apoptotic Bodies in Tumor Cells Undergoing Apoptosis. *Cancer Res*, 52: 997-1005.

Countryman, P. I.and Heddle, J:A. (1976). The production of micronuclei from chromosome aberrations in irradiated cultures of human lymphocytes. *Mutat. Res*, 41: 321-332.

Dahl, A R. and Lewis, J.L(1993). Respiratory Tract uptake of inhalants and metabolism of Xenobiotics..*Annu Rev. Pharmacol .Toxicol*,32: 383-401

Davis, W:L: (1986) *Histología y embriología Bucal* .Ed. Interamericana .Mexico. 187-205 pp

De kok, A. J, Tates,A:D, . Den Engelsey L and. Simons.,J:W:I:M: (1985). Genetic and molecular mechanisms of the in vitro transformation of Syrian hamster embryo cells by the

carcinogen N-ethyl-n-nitrosourea. I. Correlation of morphological transformation and enhanced fibrinolytic activity to gene mutation, chromosomal alterations and lethality. *Carcinogenesis*, 6: 1565-2627.

Devlin, R.B., Mc.Donnell, W., Becker, S., Madden, M., Mc.Gee, M., Perez, R. and Hatch, G (1996) The dependent changes of inflammatory Mediators in The Lungs of Human Exposed to 0.4 ppm Ozone for 2 Hrs. Acomparison of mediators Found in Bronchoalveolar Lavage Fluid 1 and 18 hr. after exposure. *Toxicol and applied pharmacology*, 138:176-185.

Das, NK (1962) Synthetic capacities of chromosome fragments correlated with their ability to maintain nuclelar material. *J Cell Biol* 15:121-130.

Devlin, R.B., Raub, J., et al (1997) Health effects of Ozone. *Science & Medicine*. May -Jun 8-17 pp.

Diaz, S.;Fonseca, G.and Fernandez, P.(1990).Analysis of lymphocyte and mucosa cell micronuclei in cuban paint industry workers. *Hereditas*, 113:77-80.

Dreosti, E I.(1991).Trace Elements Micronutrients and Free Radicals. The human Press Inc.299 pags.

Duke, R., Ojcius, D., Ding -E, J. (1997) Suicidio celular, en la salud y en la enfermedad. *Investigación y ciencia*. Feb 1997.

Elinder, C-G, Gerhardsson, L. and Oberdoerster, G. (1987). Biological monitoring of toxic metals, en: T.W. Clarkson, L. Fiberg, G.F. Nordberg y P.R. Sager (Eds.). *Biological Monitoring of Toxic Metals*, Plenum Press, New York, 1-71 pp.

Evans, H. J., Neary, G.J and . Williams, F.S (1959). The relative biological efficiency of single doses of fast neutrons and gama-rays on *Vicia faba* roots and the effect of oxygen, II. Chromosome damage: the production of micronuclei. *Int J Radiat Biol*, 3: 216-229.

EPA (1990). National air quality and emissions Trends Report ,1988,Report 450 4 90 002.Washington D;C,

EPA (1991) National air quality and emissions trends report 1990. United States Environmental Protection agency , epa -450 4-91 -023.

Evans, J (1997) Historical perspectives on the development of the in vitro micronucleous test : apersonal view. *Mutation Research*, 392:5-10.

Fawcett, C.(1987) *Histologia Sistema Respiratorio México*. Ed Interamericana Mc. Graww Hill.,736-760 pp.

Feig, D.I., Reid, M.T.and Loeb, L.A.(1994).Reactive oxigen Species in Tumorigenesis *Cancer Reseach*,154:1890-1894.

Fenech, M (1997) The advantages and disadvantages of the cytokinesis -block micronucleous method. *Mutation Research*, 392:11-18.

Fernandez-Breamauntz,.(1993). Commuters exposure to carbon monoxide in the metropolitan area of Mexico City .Centre for Enviromental Technology imperial college of Science ,technology and medicine .London

Fontham ,E., Correa., Rodriguez, E y Lin , Y. (1986) Validation of smoking history with the micronucleous test Mechanism in tobacco carcinogenesis , Banbulg Report No.23 . Col. Spring Harbor Laboratory Press.

Fortoul, T.L., Lambert, W.,Bliss, .M., Bravo, H.,Sánchez, .Y., Villadermar, L., Rivero and Samet, J.(1995). Acute changes in lung function associated with daily ozone exposures . of children attending day camp in Mexico City. *Am J Crit Care and lung Physiology*, 151:196-198.

Frank, N.R. , Amdur ,M.O .1962. Effects of acute controlled exposure to SO₂ on respiratory mechanics in healthy male adults .*J.Appl.Physiol*, 17.:252-258.

Freeman .G and Hayden, G.B. (1964) Emphysema after low-level exposure to NO₂.*Arch Environ Health*, 8:125-128.

French-Hilary, F.(1991) Eastern Europe's clear Break with the past .*World _Watch* 4, No.2 (March- April) 21-27.

Galea .M., (1964) Fatal sulfur dioxide inhalation .*Can. Med Assoc* ,:91:345-347.

Gibaldi, M. and Perrier, D. (1982). *Pharmacokinetics*, 2da ed., New York, Marcel Dekker, 459 pp..

Goldsmith, J.R (1968.) Effects of air pollution on human health .In air pollution and its effects .Stern 2a.Ed. New York .Academic Press.

Goldsworthy, T., Conolly, R.,Fransson -Steen , R. (1996) Apoptosis and cancer risk assesment. *Mutatio Research*, 365: 71-90.

Gonsebatt, M.E., Vega,L.,Herrera,L.A.,Montero,R., Rojas, E., Cebrián, M.E. and Ostrosky-Wegman, P. (1992). Inorganic arsenic effects on human lymphocyte stimulation and proliferation. *Mutat Res*, 283: 91-95.

Gonsebatt, B.M.E (1994.) Marcadores Biológicos de Exposición a arsénico Inorgánico.Tesis Doctoral.Fac. Ciencias U N A M.

Gonsebatt, B .M., , Guzman, P., Salazar, A.M., Blas, J., Vega, L .and Ostrosky -Wegman .P.(1995).A genotoxicity of inorganoic arsenic exposure Micronuclei Frequencies in exfoliated human oral cells .Enviromental and molecular cells.Enviromental.and Molecular Mutagenesis, 25:320-326

Gonsebatt, M. E, Vega, L, Salazar, A.M., Montero,R.,Guzmán, P, Blas, J. , Del Razo, L.M. García -Vargas ,G. , Albores, A., Cebrián, M.E., Kelsh, M and Ostrosky-Wegman, P.(1997) Cytogenetic effects in human exposure to arsenic. *Mutation Research*, 386:219-228.

Guerrero .R.R. , .Rouns ,D:E; Olson,R.S and Hackney,J.D. (1979) Mutagenic effects of ozone on human cells exposed in vivo and in vitro based on sister chromatided exchange analysis .*Env.Res*,18: 336-346.

Guyton, K:S.and Kenless, T.W. (1993). Oxidative mechanisms in Carcinogenesis .*British Medical Bulletin*.,Voi 49 No.3 pp 523:544.

Guzman. P. (1997) Evaluacion de la frecuencia de Micronucleos en celulas epiteliales como prueba para detectar exposicion cronica a arsenico.Tesis Profesional. Fac de Ciencias UNAM

Hanley,.N.M.O; Kozumboi, W.J. ,Hatch, G.H and Madden, M.C.(1995). Mechanism for the potentiation of DNA single-stand breaks in culture human fibroblasts by ozone degraded arachinodic acid .*Am J Resp Crit Care Med*,151:640-650.

Harden, D G. (1990). The molecular basis for unherited susceptibility to and action of carcinogens, en: G N Volans, J. Sims, F M Sullivan y P Turnes (eds.) *Basic Science in Toxicology*, Proceedings of the V International Congress of Toxicology, Taylor and Francis, London. New York, Philadelphia, pp 7-21.

Harkema J:R. , Plopper,C.G., and Hyde,M.D..(1987) Response of the macaque nasal epithelium to ambient levels of ozone .*Am J Pathol*, 128: 29-43

Harkema, J.R:and Mauderly, J.L.(1994)Consequences of prolonged inhalation of ozone on F 344 N rats ;colaborative studies part V .Effects on Pulmonary function.*American Journal pathology*.,Nov.(65 Pt) 3-17.

Harkema, J.R., Morgan, K.T and Gross, E.A.,Catalano, P.J. (1994)Consequences of prolonged inhalation of ozone of F344 N rats collaborative studies Part VII.Effects on the nasal mucociliary apparatus. *American Journal pathology*, Nov (65 Pt) 26-34

Harris, C.(1989) Individual variation among humans in carcinogen metabolism, DNA adduct formation and DNA repair .*Carcinogenesis* ,10:1563-1566.

Harrison (1994).*Principios de Medicina Interna México*. Ed. Inteamericana.1352-1360 .

Heddle, J.A.(1973). A rapid in vivo test for chromosal damage.*Mutation. Reseach*.,18:187-190.

Heddle, J.A., Benz, R.D and Countryman, P.I (1978). Measurement of chromosomal breakage in cultured cells by the micronucleus technique. In *Mutagen-Induced Chromosome Damage in Man*, H.J.Evans and D.C. Lloyd, eds. Edimburgh University Press, Edinbutgh, 191.

Heddle, J A, Cimino, M C., Hayashi, F. et al (1991) Micronuclei as an Index of Citogenetic Damage: Past, Present and Future. *Env and Mol. Mutagenesis*, 18:277-291.

Hendersson, R.F., Hotchkiss, J.A., Chang, I.Y., Scott, B.R. and Harkema, J.R. (1993) Effect of Cumulative Exposure on nasal response to ozone. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 119:59-65.

Hilger, P.A (1992) Anatomía y Fisiología de la Nariz Otorrinolaringología in Adams G, Boies.L.México .Ed. Interamericana, pp 187-206.

Hicks, J.J., Medina-Navarro, R. and Guzman -Grenfell, A. (1996). Possible Effect of air Pollutants (Mexico City) on superoxide Dismutase Activity and Serum Lipoperoxides in the human adult. *Archives of medical reseach*, Vol.27 No.2 145-149.

Hodge, H.C. and Smith, F.A (1965) I biological properties of inorganic Fluorides. J H Simmons .Editorial. Vol IV Academic Press, New York..

Hulka, B.S. (1990) Overview of biological markers . In *biological markers Epidemiology* , eds. B.Hulka , T. Wilcolsky y Griffith. New York Oxford University Press., pp1-15

Human Exposure Assessment for Airborne Pollutants .Advances and opportunities: National Academy of Sciences (1991). Washington D:C Nat.Acad Press:115-142.

IARC(1992) Mechanisms of carcinogenesis in risk identification . Vaino , H., Ma Gee, P., Mc Gregor , D. (Eds) International Agency for research on cancer Lyon , France.

Informe de la situación general en materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente (ISGMEEPA) (1992) .México. Comisión Nacional de Ecología 255 pags

Informe de la situación general en materia de equilibrio ecológico y protección al ambiente (ISGMEEPA) (1994) México. Secretaria de desarrollo social . Instituto Nacional de Ecología, pp 203-233

Informe Greenpeace .(1995.)La contaminación al nivel que respiramos. Nov.1995.32 pags.

Jenssen , D y Ramel , C (1980) The micronucleous test as part of a short - term mutagenicity test program for the prediction of carcinogenity evaluated by 143 agents tested. *Mutat Res* 75:191-202.

Johnson, N:F., Hotchkiss, J., Harkema, J.R and Henderson, R. (1990). Proliferative Responses of rat Nasal Epithelia to Ozone. *Toxicol and applied Pharmacology*, 103:143-155.

- Junqueira, L.C.y Carneiro, J. (1979). *Histología básica*, Salvat Editores, S.A.
- Kato, H. y Sandberg AA (1968) Chromosome pulverization in human cells with micronuclei *J Natl Cancer Inst* 40:165-179
- Kazumo, W., Hanley, N. and Agawae, S. (1996) Products of ozonized Arachidonic Acid Potentiate the formation of DNA single strand breaks in culture human lung cells. *Env. and Molecular mutagenesis*, 27:185-195.
- Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR (1972) Apoptosis : a basic biological Phenomenon with - ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*, 26:239-257.
- Kinney, :L.P, Thurston, G.D . and :Raizenne, M.(1996). The effect of ambient Ozone on lung function in childrens :A reanalysis of six Summer Camp Studies *Env.Health Perspectives* .Vol 104:170-174.
- Kirsch-Volders,M. , Cundari, E. et al (1997) The in vitro micronucleous test A multi - endpoint assay to detect simoltaneously mitotic delay , apoptosis , Chromosome breakage, chromosome loss and non -disjunction. *Mutation Research*, 392:19-30.
- Kirsch-Volders,M. (1997) Towards a validation of the micronucleous test . *Mutation Research*, 392:1-4.
- Klaassen, C.D. and Eaton, D.L.(1991). *Principles of Toxicology in :Casarett and Doull's Toxicology .The basic science of Poisons ,MO ,Amdour ,J.Doull y C D Klaasen .Eds. Pergamon Press., 4ta de. New York USA:pp12-49*
- Kramer , J. et al (1990) DNA synthesis in radiation induced micronuclei studied by bromodeoxyuridin labeling and anti -BrdUrd antibodies .*Mutagenesis* 5: 491-.495
- Krepinsky AB, Heddle JA (1983) Micronuclei as a rapid and inexpensive measure of radiation induced chromosomal aberrations . In *Radiation induced Chromosome damage in man* . Liss New York pp 93-109
- Kupchella, Ch. y Hyland, M.(1993) *Environmental Science . Living within the septum of nature* .3ª. De. U S A pp 240-307
- Kyprianou N, English H F and Isaacs J T (1990). Programmed cell death during regression of PC-82 human prostate cancer followin androgen ablation. *Cancer Res.*, 50:3748-53.
- Labidi B, et al (1987a) Identification and sorting of micronuclei containing individual chromosomes . *Exp Cell Res* 173:617-627
- Labidi B, et al (1987b) RNA polymerase activity in PtK1 micronuclei containing individual chomosomes .*Exp Cell Res* 169:233-244

Land, H., Parada, L.F., Weinberg R.A. (1983) Cellular oncogenes and multistep carcinogenesis. *Science*, 222:771-778.

Landis, W and Yu, M.H (1995) Introduction to Environmental Toxicology. Impacts of chemical upon Ecological Systems. Lewis Publishers. London. 135-159.

Lee, J.G., Madden, M.C., Reed, W., Adler, K.B and Devlin, R.B (1994). Use of single cell gel electrophoresis assay (SCGE) for detection of oxidant-induced DNA single strand breaks in human lung cells. Present at the American Thoracic Society Conference, 22-25 May, Boston, MA.

Leeson, T.S., Leeson, C. R. y Paparo, A.A: (1989). Texto/Atlas de histología. (ed). Interamericana, S.A:Mc Graw Hill. Inc., Impreso en México. 741pp.

Leikauf, G., Simpson, L., Santrock, J. et al (1995) Airway Epithelial Cell Responses to Ozone Injury. *Environmental Health Perspectives*. Vol 103(2) 91-95.

Lemos, A: J: C., Lichtenfels, E, Amaro, Jr. Machione, M.(1994) Quantitative Pathology of nasal Passages in rats Exposed to Urban Levels of Air Pollution. *Environmental Research*, 66: 87-95.

Livingston et al (1983) en National Academy of Science (1991) Human exposure Assessment for airborne Pollutants. Washington 115-142.

Livingston, G.K., Reed, R.N., Olson, B. and Lockey, J.E (1990.) Induction of nuclear aberrations by smokeless Tobacco in Epithelial cells of human oral mucosa. *Env. and molecular Mutagenesis*, 5:136-144.

Longwell AC, Yerganian G (1965) Some observations on nuclear budding and nuclear extrusions in a Chinese hamster cell culture. *J Nat Cancer*, 34:53-69

Lypsett, M.(1992). Oxides of Nitrogen and Sulfur. en Hazardous Materials Toxicology. Clinical Principles of Environmental Health., Williams and Wilkins Baltimore USA. pp 963-967

Mandard, A.M., Duigon, F., Marnay, J., Masson, P.H.; Song-Lang, Q., Jing-Shu, Y., Barrelier, P and Lebigot, G. (1987). Analysis of the results of the micronucleus test in patients presenting upper digestive tract cancers and in non-cancerous subjects. *Int. J. Cancer*, 39:442-444.

Mc Connell, R.(1995). Intoxicación por plomo :de la detección a la prevención primaria. *Salud Pública de México*, Mayo-Junio. Vol 37.No.3 .263-275 .

McKee, D., et al (1988). U.S. EPA Review of the national Ambient air quality standards for ozone :Preliminary assessment of Scientific and technical information en Devlin, R.B., et al.(1996). The dependent changes of inflammatory Mediators in The Lungs of Human Exposed to 0.4

ppm Ozone for 2 Hrs. .Acomparation of mediators Found in Bronchoalveolar Lavage Fluid 1 and 18 hr. after exposure. Toxicol and applied pharmacology, 138:176-185.

Mc. Kenzie , W.H., Knelson, J.H., Rummo, N.J. and House, D.E. (1977) Cytogenetic effects of inhaled ozone in man , Mutation Res, 48:95-102.

Matter, B and Schmid, W.(1971) Trenimon induced chromosomal damage in bone marrow cells of six mammanian species,evaluated by the micronucleus test .Mutat Res, 12: 417-425.

Merz, T. and Bender, H.D.(1975) Observations of aberrations in chromosomes of lymphocytes from human subjets exposed to ozone.,Mutation Reseach.:1:299-302.

Mill, A.J.,Wells, J., Hall,.C.and Butler, A .(1996) Micronucleus Induction in Human Lymphocytes :Comparative Effects of X rays ,Alpha Particles Beta Particles and Neutrons and implication for Biological Dosimetry. Radiation Reseach,145:575-585.

Miller, F.J.(1995).Uptake and fate of ozone in the respiratory tract.Toxicology Letters ., 82-83 :277-285.

Moeller, D.W (1992).Enviromental Health .London.Harvard University Press, 1-32 pp,

Montero-Montoya, R., Serrano, L., Ostrosky-Wegman, P., (1997) In vitro induction of micronuclei in lymphocytes :The use of bromodeoxyuridine as a proliferation marker. Mutation research 391: 137-141.

Müller, .W.W, and Streiffer .C. (1994)Micronucleus assays .Advances in Mutagenesis Research. Edited by G.Obe Springer Verlag, Berlin, 1-108 pp.

Munson Halsey (1990) Pollution in the Union Sovietic ECON .Enviromental Contractor 5.No.8 (August) 24-29.

Mustafa .M.G. (1990) Biochemical basis of ozone toxicity,Free radicals Biol . Med 9, 245-265.

Naib , Z.M.(1996). Cytopathology .New :York. 219-255 pp.

Nassi, L., Epe, P., Schiffmann, D, Adam,W.,Beinhauer, A and. Griesbeck, A. (1987). Induction of morphological transformation and micronuclei in Syriam hamster embryo fibroblasts by 1,2 dioxetanes. Correlation with DNA single strand breaks in HL-60 cells. Carcinogenesis, 8: 947-953.

National Academy of Science (1991) Human exposure Assesment for airborne Pollutants .Washington 115-142.

NIEHS (National Institute for Environmental Health) Task Force 3. (1985). Biochemical and Cellular Markers of Chemical Exposure and Preclinical Indicators of Disease, Washington, D.C., U.S. Department of Health and Human Services.

Norman, A., Bass, D. and Roe, D. (1985) Screening human populations for chromosome aberrations. *Mutat Res*, 143:155-160.

NRC. (1989) National Research Council. Biological Markers in Reproductive toxicology. Comision in life Sciences. National Academic Press. Washington D C pp 15-29.

NRC (1992). National Research Council. Commission on Life Sciences, Board on Environmental Studies and Toxicology, Subcommittee on Immunotoxicology Committee on Biological Markers. Biological Markers in Immunotoxicology, National Academic Press, Washington, D.C., 68-71.pp

Obe, G (1975) Micronucleus derived premature chromosome condensation. *Humangenetik* 30: 143-154.

Obe, G (1994) Advances in mutagenesis reseach 5. Berlin, Heidelberg, New York. Springer- Verlag 193 pp

Omenn, G.S. (1986). Susceptibility to occupational and environmental exposure to chemicals, *Prog. Clin. Biol. Res*, 214: 527-545

Orehek, J.P., Massari, P., Gaylord, C.C., Grimaud, P. and Charpin, J. (1976) Effect of short-term, low-level nitrogen dioxide exposure on bronchial sensitivity of asthmatic patients. *Jour. Clin Invest*, 57:301-307. en Landis W y Yu. M. *Environmental toxicology 1995 London*. Lewis Publishers 135-159 pp

Ostrosky-Wegman, P., Gonsebatt, M.E., Montero, R., Vega, L., Barba, H., Espinosa, J., Palao, A., Cortinas, C., García-Vargas, G., del Razo, L.M. and Cebrián M. (1991). Lymphocyte proliferation kinetics and genotoxic findings in a pilot study on individuals chronically exposed to arsenic in Mexico. *Mutation Res*, 250: 477-482.

Ostrosky-Wegman, P. and Gonsebatt, B. M. E. (1996). Environmental Toxicants in developing Countries. *Environmental Health Perspectives*, Vol.104, Supplement 3. May 1996. 599-602

Pearson, J. C., Kromhout, L. and King, E. B. (1981). Evaluation of collection and preservation techniques for urinary cytology. *Acta Cyt.*, 25:(3), 328-333.

Pindborg, J. J., Path, F. R., Reibel, J., Roed-Petersen, B. and Metha, F.S. (1980). Tobacco-induced changes in oral Leukoplakic Epithelium. *Cancer*, 45:2330-2336.

Pinto, D., Ceballos, J.M., Lopez, J., Garcia, G., Perez, N., Guzmán, P., Gonsebatt, M E (1997) Determinación de niveles de plomo en trabajadores y su relación con manifestaciones de Genotoxicidad, (manuscrito en preparación)

Pool-Zobal, B.L., Lotzman, N. and Kuchenmeister, P. (1994). Detection of genotoxic effect in human gastric and nasaj mucosa cells isolate from biopsy samples. *Environmental .Mol Mut.*, 24:23-45.

Quinlan, T., Spivach, S and Mossman, B.T.(1994) .Regulation of antioxidant enzymes in lung after oxidant injury. *Environ Health Perspectives.*, Jun.102 Suppl.2:79-87.

RAMA: Programa "Precipitaciones ácidas en la zona metropolitana de la ciudad de México". Informe anual (1995). Dirección general de prevención y control de la contaminación .Red automática de monitoreo atmosférico (RAMA) Pag:38-39.

Read, J..and Kihlman, B.A.. (1956). Comparison of the effects of 8-ethoxycaffeine and X-rays on the cytology and growth of roots of *Vicia faba*. *Hereditas*, 42: 487-507.

Reali, D., Marino, F.D.and Carducci, A.(1987) Micronuclei in exfoliated cells and urine mutagenicity in smokers.*Mutat.Res*,192:145-149.

Ren L et al (1991) Use of the citokinesis block micronucleous method in mouse splenocytes . *Mutat Res* 262:119-124.

Reporte de la Comisión Metropolitana para la prevención y control de la contaminación ambiental en el Valle de México.1988-1994.

Reporte de la calidad del aire en México (RCAM) (1996) Secretaria del medio ambiente , recursos naturales y pesca : Instituto Nacional de Ecología. Enero-Diciembre 1996.Pags 1-14.

Ribeiro, L. R., Cerqueira,E.M., Salvadori,D., Barbosa, H and Whorton, E. (1990). Monitoring of individuals occupationally esposed aromatic amines. *Mutat Environ*, 2: 387-396.

Rithidech, K.,Hotchkiss. A.,Griffith,W.C.and Henderson, R.F.(1990) Chromosome damage in rat pulmonary alveolar macrophages following ozone inhalation .*Jour.of Toxicol and Env.Health.*, 40::223-234.

Rohem ,J.N., Hadley;G.J. and.Menzel, D.B (1971) Oxidation of unsaturated fatty acid by ozone and nitrogen dioxide a common mechanism of action .*Arch. Env Health* 23:,142-148.

Rosin MP , German J (1985) Evidence for chromosome instability in vivo in Blooms syndrome :increase numbers of micronuclei in exfoliated cells . *Hum Gen* 71:187-191

Rosin , M P y Gilbert , A..M. (1990) Modulation of genotoxic effects in humans . *Mutat Environ*, part E 351-359.

Ryrdfeldt, A.(1993) Free radicals and lung disease.*British Medical Bulletin*, Vol 49, No.3:588-603

San et al (1989) en Blas,V.J.(1995). Evaluación de la Frecuencia de micronúcleos en células uroepiteliales de individuos con exposición ambiental a arsénico. Tesis Profesional.Fac.Ciencias U N A M.

Sarto, F e Viola, A. (1980) Aberrazione cromosomiche in soggetti esposti cronicamente ad ozono, G.Ital Med Lav 2,59-61.

Sarto, F., Finotto,S.,Giacomelli,L., Mazzotti, D., Tomanin, R and Levis, A.G. (1987).The micronucleus assay in exfoliated cells of the human buccal mucosa. *Mutagenesis*, 2:11-17.

Sarto, F, Tomanin, R, Giacomelli, L., Giannini.G: and Cupiraggi, A.R. (1990).The micronucleous assay in Human exfoliated Cells of the nose and mouth :application to occupational exposure to chronic acid and ethylene oxide *Mutation Reseach*, 244: 345-351.

Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Res*, 31: 9-15.

Scott, D.,Galloway , M.S. et al 1991 Genotoxicity under extreme culture conditions *Mutation Research* 257:147-204

Secretaría de Salud .(1994). Los retos de la salud ambiental .Cuadernos de salud .No 6.

Seger and Welch (1992).Carbon Monoxide. en *Hazardous Materials Toxicology.Clinical Principles of Environmental Health*.De Williams and Wilkins Baltimore USA.1161-1163 pp.

Sherwin, R.(1990). Air polution Study Shows Lung Damage in los Angeles Youth. *USC News and features*. March 21 (1990.)

Shklar, G (1965). Patterns of keratinization in oral leukoplakia. *Arch Otolaryngol.*, 87: 400-404.

Silbergeld, E.K. (1983). Experimental studies of lead neurotoxicity: Implications for mechanisms, dose-response and reversibility, en: *Lead Versus Health: Sources and Effects of New York, U.S.A.* pp 191-216.

Smith, A.H., Hopenhayn-Rich C. Warner,M. Biggs,M. Mooren, L. and .Smith,M. (1993). Relationale for selecting exfoliated bladder cell micronuclei as potential biomarkers for arsenic genotoxicity. *J Toxicol Env Health*, 40: 223-234.

Sodi, P.(1993) El efecto del ozono en la salud .La experiencia con mis pacientes .Ponencia presentada en el seminario .El transporte y la contaminación organizado por Greenpeace México .Marzo (1993).

Speizer, F.E.(1994) Enfermedades pulmonares de origen ambiental en *Principios de Medicina Interna Harrison Ed. Interamericana*,México 1352-1360.

Sram,J.R., Benes, I., Binkova, B., Dejmek,J., Horstman, D., Otto D. and Perreault, S.(1996). Teplice program .The impact of air pollution on Human Health. *Env.Health.Perspectives* Vol 4 Suppl. Aug.1996.:699-713

Steimberg ,J.J, Gleeson, J.L. and Gil, D. (1990) The pathobiology of ozone induced damage . *Arch Environ .Health* ,45,80-87.

Stich, H.F. and Stich, W. (1982). Chromosome damaging activity of saline of betel nut and tobacco chewers. *Cancer Lett.*, 15:193-202.

Stich, H., San, R. and Rosin, M. (1983). Adaptation of the DNA repair and micronucleus test to human cell suspensions and exfoliated cells. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 407: 93-105.

Stich, H.and Rosin, M. (1983a). Quantitating the synergistic effect of smoking and alcohol consumption with the micronucleus test on human buccal mucosa cells, *Int J Cancer*, 31: 305-308.

Stich, H.F., Stich, M. Rosin, M. and Vallejera, M.O. (1984). Use of the micronucleus test to monitor the effect of vitamin A, beta-carotene and canthaxanthin on the buccal mucosa of betel nut/tobacco chewers. *Int J Cancer*, 34, 745-750

Stich HF, Acton AB y Palcic B (1990) Towards an automated assay as an internal dosimeter for carcinogen-exposed human populations groups. *Recent Result Cancer Res* 120.94-105

Symons, M.C.R (1991). Free radicals in biological systems: en "Trace elements, micronutrients and free radicals ",Dreosti , I:B.,Human Press. Totowa ,N J .1-24 pp

Takahashi , M. (1985). Atlas color de citología del cáncer México Editorial.Panamericana. 267-334 pp.

Tates , A.D ., Neuteboom , M., Hofker y L. den Engelse (1980) A micronucleous technique for detecting clastogenic effects on mutagen /carcinogens (DEN,DMN) in hepatocytes in rat liver in vivo .*Mutat Res.*, 74, 11-22.

Thoday, J. M. (1951). The effect of ionizing radiations on the broad bean root, X. Chromosome breakage and the lethality of ionizing radiations to the root meristem, *Br J Radiol.*, 24, 572-576, 622-628.

Toibert, P.E., Gender, N.A.and Ivette, J L (1978). Cytogenetics Effects of Inhalet ozono.*Mutation Reseach.*, 58:293-304.

Tolbert, P.E, Shy, C.M. and Allen, W. (1991). Micronuclei and other nuclear Anomalies in buccal Smears : A field Test in Snuff Users. *American Journal of Epidemiology* , Vol.134.No.8 .840-850.

Tolbert, P.E., Shy, C.M. and Allen, J.W. (1992). Micronuclei and other anomalies in buccal Smears methods development *Mutation Research*., 271:69-77.

Turchi, G., Bonatti, G., Nuti-Ronchi, V. and Cionini, G. (1980) Cytogenetic activity of alicyclic and aromatic epoxides, 10th annual meeting of EEMS, Athens, p. 178.

Victorin Katarina .(1992). Review of the genotoxicity of ozone .*Mutation Research* 277:221-238.

Vine, M.F. (1990) Micronuclei in: *Biological Markers in Epidemiology*, eds. B.Hulka, T. Wilcolsky, y J. Griffith, pp. 125-146. New York. Oxford University Press.

Wendt, E.(1959).Ledenbeobachtungen an bestrahlten interphaskernen.Zschi Zelforschi.,49,677.

WHO (1982) United Nations Environment Programme. *Urban Air Pollution in Megacities of the World*.

WHO (1985) Guidelines for the study of genetics effects in human populations, *Environ. Health Criteria* 46, Ginebra.

WHO (1987) Air Quality guideliness for Europe ,WHO Regional publications. *European Series*.,No.23. WHO Copenhagen 315-326.pp.

WHO (1992) Revision of the WHO guidelines for drinking water quality . Report of the final task group meeting Ginebra.

Wiltse, J y Dellarco, V.(1996) U:S Environmental Proteccion Agency Guidelines for carcinogen risk assesment: Past and future. *Mutation Research* 365: 3-15.

Wyllie, A. (1981) Cell death: A new classification separating apoptosis from necrosis, in : I Bowen and R. Lockshin (Eds.), *Cell Death in Biology and Pathology*, Chapman and Hall, London, pp. 1-34.

Wynder, E. L., Bross, I. J. and Feldman, R. M. (1957). A study of the etiological factors in cancer of the mouth. *Cancer*, 10, 1300-1323.

Wood, M.E. and Brun, P. (1994) *Hematology Oncology Secrets Canada*. Ed Hanley and Belfus. 313pp.

Yamamoto, K.I. and Kikuchi, Y. (1980) A comparison of diameters of micronuclei induced by clastogens and by spindle poisons. *Mutat Res.*, 71, 127-131.

Yerves-Maldonado, A. (1995) Monitoreo de Partículas suspendidas totales en el aire de tres puntos de la ciudad de Mérida, Yuc. Gobierno del estado de Yucatán. Secretaría de Ecología. Dirección de control y restauración. Mérida Yuc 94-95.

Yunis et al (1983) en National Academy of Science (1991) Human exposure Assessment for airborne Pollutants. Washington 115-142.