



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**EXPOSICIÓN A MATERIAL PARTICULADO PM >2.5 Y 2.5 EN
ESCUELAS CERCANAS A VIALIDADES Y SU RELACIÓN
CON EL BIOMARCADOR DE NEUROINFLAMACIÓN S100B
EN EXOSOMAS DE SALIVA DE NIÑOS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADA EN CIENCIAS DE LA TIERRA
CIENCIAS AMBIENTALES**

PRESENTA :

ALEJANDRA BOUZAS MONROY



**DIRECTOR DE TESIS:
DR. JORGE HUMBERTO LIMON PACHECO**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. (2017)



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**Exposición a material particulado PM_{>2.5} y PM_{2.5} en escuelas cercanas a vialidades
y su relación con el biomarcador de neuroinflamación S100B en exosomas de saliva de
niños**

por

Alejandra Bouzas Monroy

Tesis para obtener el título de

Lic. en Ciencias de la Tierra – Ciencias Ambientales

en

FACULTAD DE CIENCIAS

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., noviembre, 2017

1. Datos del alumno

Bouzas

Monroy

Alejandra

55 54 19 87

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

309683357

2. Datos del tutor

Dr.

Jorge Humberto

Limón

Pacheco

3. Datos del sinodal 1

Dra.

María Eugenia

Gonsebatt

Bonaparte

4. Datos del sinodal 2

Dra.

Gema Luz

Andraca

Ayala

5. Datos del sinodal 3

Dra.

Marisol

Orozco

Ibarra

6. Datos del sinodal 4

Dra.

María Guadalupe

Rodríguez

Ceja

7. Datos del trabajo escrito

Exposición a material particulado $PM_{>2.5}$ y $PM_{2.5}$ en escuelas cercanas a vialidades y su relación con el biomarcador de neuroinflamación S100B en exosomas de saliva de niños

102 pp.

2017

AGRADECIMIENTOS

Primeramente, quisiera agradecerle a mi asesor, Dr. Jorge Limón, por haberme enseñado el mundo de la toxicología, su gran apoyo y por transmitirme su amor por la ciencia.

A la Dra. María Eugenia Gonsebatt, a la Dra. Julieta Rubio y al programa de Salud y Ambiente (PROTEGE), por brindarme el espacio y recursos para llevar a cabo mi servicio social y este trabajo de tesis, así como proporcionarme con la posibilidad de integrarme a congresos nacionales e internacionales.

Al Dr. Renato León, por su infinita paciencia, conocimientos y apoyo en el laboratorio.

A mis sinodales, Dra. Rodríguez, Dra. Orozco y Dra. Andraca, por sus aportaciones a este trabajo de tesis.

A las escuelas, padres de familia y alumnos, cuya participación voluntaria fue clave para el desarrollo de este trabajo.

A mi familia y a Ofe por siempre apoyarme. A mi hermana, Paulina, por siempre escucharme y reírse de mis historias, ser el Meredith a mi Yang y por traer a Bebé a mi vida.

A mis amigas, Aura, Andrea e Itzayani, por su apoyo, alegría y amistad. Siempre serán el mejor equipo que pude haber pedido.

A mis amigos de la facultad, Gustavo, Hiroki, Erick, Alejandro y Homero, por hacer mi experiencia dentro de la facultad y fuera de ella inolvidable. A María Fernanda, por ser mi primera amiga en la carrera y enseñarme que la fortuna favorece a los valientes y la importancia de disfrutar los pequeños detalles de la vida.

A mis amigas de toda la vida, Regina, Estefanía y Pilar, por su apoyo incondicional, por darme tantos momentos llenos de felicidad y por una amistad que durará una eternidad.

A mi gran amiga, Jimena Martínez, mi experiencia en la facultad no hubiera sido la misma si no fuéramos amigas. Gracias por todo el apoyo que me diste durante estos últimos años, en lo académico como en lo personal, por acompañarme en todas mis aventuras e invitarme a las tuyas. Gracias por una amistad que será para siempre.

A Javier, por enseñarme que la distancia no significa nada, por tu apoyo incondicional, consejos y por motivarme a ser la mejor versión de mí. Gracias por hacerme sentir en paz, segura y feliz en un mundo tan caótico.

Índice

INTRODUCCIÓN	1
Contaminación atmosférica.....	1
Contaminación atmosférica en exteriores	1
Contaminación atmosférica en interiores	2
Material Particulado (PM).....	3
Fuentes y composición de PM	3
Tamaño de PM	4
Estándares de calidad del aire para PM.....	5
Efectos adversos en el ambiente y la salud humana.....	6
Neuroinflamación.....	7
Biomarcadores de efecto: Exosomas.....	10
Formación	11
Composición	12
Liberación, captura y función.....	12
Exosomas como biomarcadores	13
Exosomas en el SNC.....	13
Exosomas como biomarcadores en trastornos del SNC	14
S100b como biomarcador de neuroinflamación.....	15
JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	17
Justificación.....	17
Hipótesis.....	18
Objetivos	18
MATERIALES Y MÉTODOS	19
Zona de estudio	19
Selección de escuelas	20
Escuela A	20
Escuela B.....	21
Escuela C.....	21
Monitoreo de PM atmosférico.....	25
Escuela A	26
Escuela B.....	27
Escuela C.....	27

Cuantificación de PM atmosférico	28
Razón Interior/Exterior (I/O)	29
Análisis de muestras biológicas y biomarcadores	29
Recolección de Muestras.....	29
Aislamiento de exosomas	29
Cuantificación de proteínas	30
Técnicas de inmunodetección/Western Blot	31
Cuantificación del biomarcador	33
Aplicación de cuestionarios y aspectos éticos.....	33
Análisis estadístico.....	34
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	36
Condiciones atmosféricas.....	36
Características de los salones	38
Monitoreo de PM atmosférico.....	39
Escuela A	39
Escuela B.....	44
Escuela C.....	49
Razón Interior/Exterior (I/O)	56
Características de la población	59
Cuantificación de S100B.....	60
CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS	65
Conclusiones	65
Alcance del trabajo y Perspectivas a futuro	66
BIBLIOGRAFÍA.....	68
ANEXO I.	74
ANEXO II.	77
ANEXO III.	78
ANEXO IV.	81
ANEXO V.....	82
ANEXO V.	91
ANEXO VI.	94
ANEXO VII.	100

ABREVIATURA

AA	Ácido araquidónico
AD	Alzheimer
BBB	Barrera hematoencefálica
CDMX	Ciudad de México
CO	Monóxido de Carbono
E	Este
ESCRT	Complejo de Clasificación Endosomal requerido para el transporte
IZT	Estación Iztacalco
miRNA	Micro RNA
mRNA	RNA mensajero
MMPs	Metaloproteinasas
MVB	Cuerpo multivesicular
N	Norte
NE	Noreste
NO	Óxido nítrico
NO₂	Dióxido de nitrógeno
O	Oeste
O₂^{•-}	Superóxido
O₃	Ozono
ONOO^{•-}	Peroxinitrito
ONU	Organización de las Naciones Unidas
Pb	Plomo
PBS	Tampón fosfato salino
PD	Enfermedad de Parkinson
PM	Material Particulado
PST	Partículas Suspendidas Totales
RAMA	Red Automática de Monitoreo Atmosférico
S	Sur
SEP	Secretaria de Educación Pública
SFE	Estación Santa Fé

SNC	Sistema Nervioso Central
SO₂	Dióxido de sulfuro
TLR	Receptores tipo Toll
OMS	Organización Mundial de la Salud
ZMVZ	Zona Metropolitana del Valle de México

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

Contaminación atmosférica

Uno de los mayores problemas ambientales que enfrentamos actualmente es la contaminación atmosférica. En el 2014 la Organización Mundial de la Salud (OMS) determinó que la contaminación atmosférica provoca 7 millones de muertes prematuras por año, por lo que conocer sus posibles efectos en la salud humana y en el ambiente se ha convertido en algo imprescindible. Asimismo, se ha demostrado una relación entre ciudades en rápido crecimiento y un aumento en problemas relacionados con la contaminación atmosférica (Yu, Tsunoda, y Tsunoda, 2011), de manera que ciudades altamente pobladas se encuentran más expuestas. En la Zona Metropolitana del Valle de México (ZMVM) habitan aproximadamente 21 millones de personas (ONU-Habitat, 2015), por lo que es considerada una megaciudad¹. Por lo anterior, es de suma importancia llevar a cabo medidas de prevención y de mitigación de la contaminación atmosférica, así como evidenciar los efectos en las poblaciones vulnerables como la población infantil.

La contaminación atmosférica se define como la presencia de sustancias en el aire que a cierta concentración, duración y frecuencia causa efectos adversos en la salud de los organismos y el ambiente (Yu, Tsunoda, y Tsunoda, 2011). Se puede clasificar de diversas maneras siendo una de ellas: contaminación atmosférica en interiores y contaminación atmosférica en exteriores.

Contaminación atmosférica en exteriores

Aunque el origen de la contaminación atmosférica puede ser natural, las fuentes antropogénicas son las que más aportan contaminantes en centros urbanos haciéndolas el principal enfoque de las regulaciones y marcos normativos. Las principales fuentes antropogénicas son vehículos automotores, procesos industriales, uso de solventes, polvo,

¹ Ciudades con una población mayor a 10 millones (Calderón-Garcidueñas, Torres-Jardón, Kulesza, Park, y D'Angiulli, 2014)

procesos de combustión, entre otras (Phalen y Phalen, 2013). Estas fuentes emiten diversos contaminantes, como los contaminantes criterio que se encuentran con mayor frecuencia en el ambiente. Tanto en exteriores como en interiores, podemos encontrar a los 6 contaminantes criterio que incluyen: ozono (O₃), monóxido de carbono (CO), dióxido de azufre (SO₂), material particulado (PM), dióxido de nitrógeno (NO₂) y plomo (Pb).

El uso de automóviles es una preocupación primordial dentro de las megaciudades dado el uso desmedido y rápido crecimiento del parque vehicular y los efectos adversos que pueden tener sus emisiones en la salud humana y en el ambiente. Se ha encontrado una relación entre la proximidad a avenidas con alto tránsito y el aumento de incidencias de diversas enfermedades (IPTD, 2012; Volk, Hertz-Picciotto, Delwiche, Lurmann, y McConnell, 2011). Asimismo, el automóvil es la fuente principal de algunos de los contaminantes criterio como el PM, el cual se ha convertido en una preocupación significativa a causa de sus posibles efectos en la salud.

Contaminación atmosférica en interiores

Debido a que la mayoría de las personas pasa el 90% de su tiempo en interiores (Cao *et al.*, 2005), la contaminación atmosférica en interiores es considerada uno de los riesgos ambientales a la salud pública más importante. Sus principales fuentes son aparatos de combustión, cigarro, materiales de construcción y mobiliario, productos de limpieza, sistemas de calefacción, humedad, humo derivado de cocinar, pesticidas (US EPA, 2017). Así como en el exterior, en los interiores se pueden encontrar principalmente a los contaminantes criterio. Igualmente, ciertas concentraciones de contaminantes en el interior pueden provenir del exterior, dependiendo de diferentes factores como la tasa de intercambio del aire, ventilación en interiores, entre otras.

La contaminación en interiores en escuelas es una mayor preocupación dado el número de horas que pasan los niños dentro de ella. Esto los convierte en una de las poblaciones más vulnerables a los efectos de contaminantes atmosféricos. Dicha vulnerabilidad es el resultado de sus características fisiológicas, biológicas y de comportamiento; así como por su capacidad de inhalación de mayores volúmenes de aire en relación a su masa corporal, su

sistema respiratorio e inmune no desarrollados completamente y las actividades que realizan en el exterior (Canha *et al.*, 2016; Dunn, Burns, y Sattler, 2003). Dentro de las escuelas se pueden encontrar los contaminantes criterio ya mencionados, así como moho, bacterias y alérgenos. Sin embargo, el PM es uno de los contaminantes de mayor preocupación. Una de las principales fuentes de PM dentro de las escuelas, son las emisiones de los automóviles dado que normalmente las escuelas están localizadas cercanas a una avenida con alto tránsito (Jhun, Gaffin, Coull, y Huffaker, 2017). La mayoría de los estudios llevados a cabo se enfocan en escuelas a una distancia menor de 1.5 km de la avenida primaria (Volk, Hertz-Picciotto, Delwiche, Lurmann, y McConnell, 2011) y se debe tomar en cuenta que el PM puede viajar cientos de kilómetros dependiendo de las condiciones atmosféricas y geográficas (Dong, 2014).

Material Particulado (PM)

El material particulado (PM) es definido como la mezcla de pequeñas gotas de agua y partículas sólidas finas que se encuentran en el aire (US EPA, 2016).

Fuentes y composición de PM

Las partículas principalmente se generan por medio de procesos de nucleación², condensación o coagulación³ (Dong, 2014). Las partículas pueden ser emitidas directamente de la fuente por medio de procesos químicos y físicos, a las cuales se denominan como partículas primarias, o formarse a través de reacciones químicas debido a la interacción entre otros compuestos atmosféricos, siendo clasificadas como secundarias (Yu, Tsunoda, y Tsunoda, 2011). El polvo proveniente de volcanes, desiertos, vegetación e incendios es la principal fuente natural de partículas primarias. Sin embargo, la contaminación por PM se ha asociado mayormente a áreas urbanas donde las fuentes antropogénicas como procesos industriales, quema de materia orgánica, transporte y polvo proveniente de suelos perturbados son los primordiales. Mientras tanto, las partículas secundarias se forman como resultado de reacciones dentro de gotas de agua y en agua condensada sobre partículas sólidas

² Formación de partículas pequeñas y estables por medio de fluctuaciones térmicas (Salvador, P. y Artiñano, 2000)

³ Movimientos aleatorios de partículas, provocando choques entre ellas, generando partículas de mayor tamaño (Jacobs, 1999)

que pueden ser modificadas por la presencia de especies reactivas, como radicales hidroxilos, peróxido de hidrogeno y amoníaco, y acelerarse si hay una mayor temperatura; resultando una variación en la composición de las partículas durante el día (Dong, 2014; Phalen y Phalen, 2013).

La composición de las partículas no solo depende de las condiciones ambientales en las que se encuentren, sino también varía de acuerdo con las fuentes que las emiten. Sin embargo, de manera general, las partículas están compuestas por sulfatos, nitratos, compuestos orgánicos, metales, polvo y partículas biológicas (WHO, 2016). Como resultado de su heterogeneidad de su naturaleza química para fines reglamentarios las partículas son clasificadas en base a su tamaño, ya que esto puede modificar su toxicidad y efectos en la salud (Phalen y Phalen, 2013).

Tamaño de PM

El PM está compuesto por partículas cuyo diámetro geométrico es difícil de medir a causa de su forma irregular. Por lo que se supone una partícula esférica perfecta, categorizándola por su diámetro aerodinámico que va de 0.001 a 100 μm (US EPA, 2016). Referimos como Partículas Suspendedas Totales (PTS) a las partículas más grandes, sin embargo, no tienen un límite de tamaño específico dentro de todo el rango. Asimismo, se clasifican en cuatro: partículas gruesas no inhalables ($\text{PM}_{>10}$), partículas gruesas inhalables (PM_{10}), partículas finas ($\text{PM}_{2.5}$) y partículas ultrafinas ($\text{PM}_{0.01}$), siendo las de mayor relevancia PM_{10} y $\text{PM}_{2.5}$ (Figura 1.1) (Dong, 2014).

PM_{10} abarca partículas con un diámetro aerodinámico igual o menor a 10 μm capaces de ser inhaladas y penetrar las vías respiratorias superiores. Mientras que, $\text{PM}_{2.5}$ se refiere a partículas menores a 2.5 μm y son capaces de alcanzar las vías respiratorias inferiores (Dong, 2014).

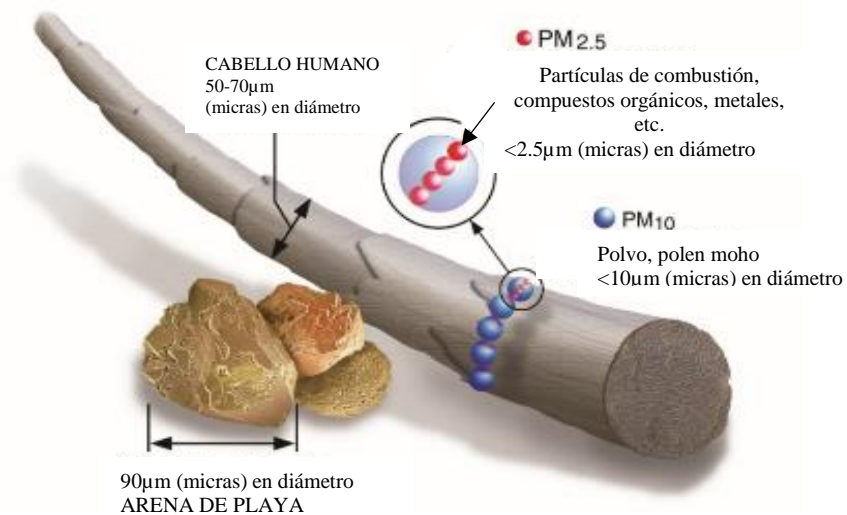


Figura 1.1 Comparación de tamaño entre un grano de arena, cabello humano, PM_{2.5} y PM₁₀ (EPA, 2016).

Estándares de calidad del aire para PM

Como resultado de los efectos adversos que pueden causar en la salud humana, diferentes instituciones han establecido un límite permisible para el PM, es decir establecieron un límite para evitar, prevenir o reducir los efectos adversos para la salud en un periodo de tiempo determinado que no se debe exceder (NOM-025SSA1-2014). La US EPA estableció un límite para PM_{2.5} y PM₁₀ de 35 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y 150 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ respectivamente en un periodo de 24 horas, y de 15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ anualmente para PM_{2.5} (US EPA, 2016). Asimismo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) determinó un límite anual de 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y 20 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ para PM_{2.5} y PM₁₀ respectivamente, mientras que para un promedio de 24 horas son de 25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y 50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ (WHO, 2005).

En el caso de México las normas aún no son tan rigurosas y los límites establecidos son más altos que los de la US EPA y la OMS. La NOM-025-SSA1-2014 de Salud ambiental determina los valores límites para PM₁₀ y PM_{2.5} en un promedio de 24 horas de 75 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y 45 $\mu\text{g}/\text{m}^3$, respectivamente. Mientras que los límites anualmente para PM₁₀ es de 40 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ y para PM_{2.5} de 13 $\mu\text{g}/\text{m}^3$. La NOM-024-SSA1-1993 establece un límite permisible para las PST de 260 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ en 24 horas, sin embargo, no son usadas comúnmente dado que en su lugar se emplean las PM₁₀ para evaluar la calidad del aire.

Efectos adversos en el ambiente y la salud humana

Los efectos que llega a provocar el PM dependen de su composición y tamaño. El tamaño de las partículas es uno de los factores más importante con respecto a los efectos adversos en el ambiente y la salud humana, dado que influye en su deposición, vida media en el aire y capacidad de entrar al organismo. Asimismo, los efectos que llega a provocar el PM también dependen de su composición.

En el ambiente, al lograr viajar grandes distancias por el viento, el PM llega a depositarse en el suelo o agua afectando el ambiente, ocasionando la acidificación de lagos y ríos, cambios en el balance nutricional en lagos, ríos y suelos, daños a los cultivos, contribución a la lluvia ácida y afectando la diversidad en los ecosistemas. Igualmente, provoca una reducción en la visibilidad del ambiente, lo que se puede presenciar principalmente en las áreas urbanas (US EPA, 2016).

El impacto en la salud humana se debe a que el PM_{10} y el $PM_{2.5}$ tienen la capacidad de penetrar las vías respiratorias superiores y bajas, respectivamente, causando cambios agudos y crónicos en el sistema cardiovascular y función pulmonar, además hay evidencia de asociación con la muerte prematura en personas con enfermedades cardiovasculares o respiratorias, arritmias, asma, disminución en función pulmonar, irritación en las vías respiratorias e incremento en la mortalidad y morbilidad respiratoria (Schwela, 2000; US

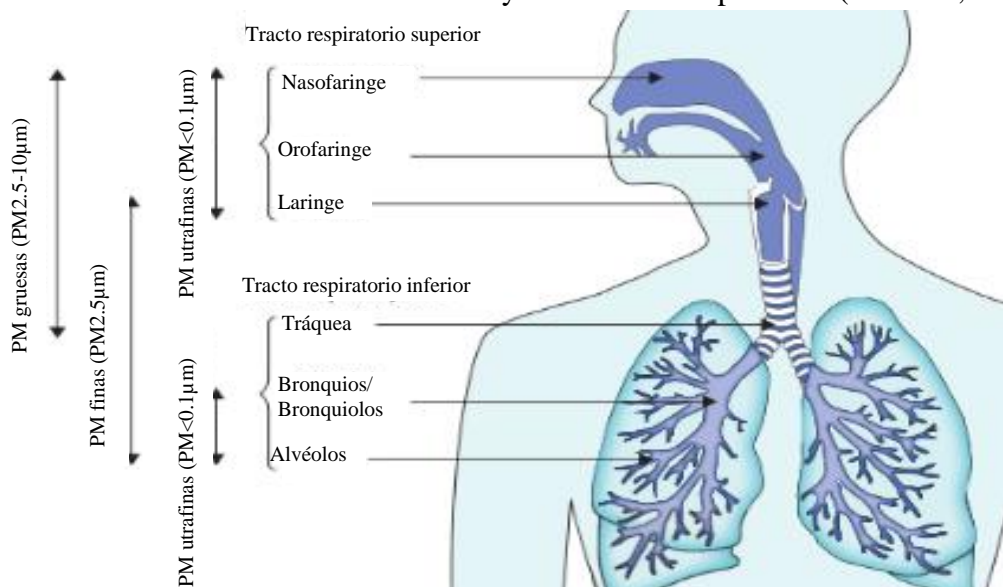


Figura 1.2 Deposición compartimentada del PM (Guarnieri y Balmes, 2014)

EPA, 2016) (Figura 1.2). PM_{2.5} es de mayor relevancia dado que logra alcanzar los alveolos y pueden ingresar al torrente sanguíneo llegando hasta el cerebro, afectando el Sistema Nervioso Central (SNC) resultando en déficits cognitivos, alteraciones en la estructura del cerebro, y presencia de marcadores neuropatológicos asociados a enfermedades como la de Alzheimer (AD) y la de Parkinson (PD), así como a procesos de neuroinflamación (Block y Calderón-Garcidueñas, 2009; Calderón-Garcidueñas *et al.*, 2015).

Neuroinflamación

Los efectos provocados por el PM sobre el sistema respiratorio y cardiovascular han sido el enfoque principal de diversos estudios epidemiológicos y normas preventivas, por lo que los efectos adversos que puedan causar en el SNC quedan por ser estudiados. Sin embargo, se tiene evidencias sobre la relación entre el PM y daños en el SNC, principalmente en poblaciones vulnerables como niños.

Se han propuesto diversas rutas por las cuales el PM, al ser inhalado, puede alcanzar el cerebro, ya sea que alcancen los alveolos y atraviesen la barrera alveolo capilar llegando al sistema vascular o entren mediante la mucosa olfatoria a través de neuronas receptoras olfatorias o el nervio trigémino cruzando la barrera hematoencefálica⁴ (BBB) arribando al cerebro (Genc, Zadeoglulari, Fuss, y Genc, 2012). Una vez que el PM se encuentra en el cerebro uno de los efectos que puede causar es la neuroinflamación.

Se le conoce como neuroinflamación a la inflamación crónica del SNC. El SNC es capaz de activar su sistema inmunológico innato en respuesta a alguna lesión liberando moléculas reactivas y mediadores proinflamatorios, así como mecanismos antiinflamatorios (Brady, George, Albers, y Price, 2011). Sin embargo, si esta respuesta inicial, conocida como inflamación aguda, no tiene una resolución y cesa, entonces se vuelve crónica y posiblemente dañina.

⁴ Barrera biológica que separa el medio del SNC y la vasculatura conformado por células cerebrales endoteliales que recubren a los capilares (Brady *et al.*, 2011).

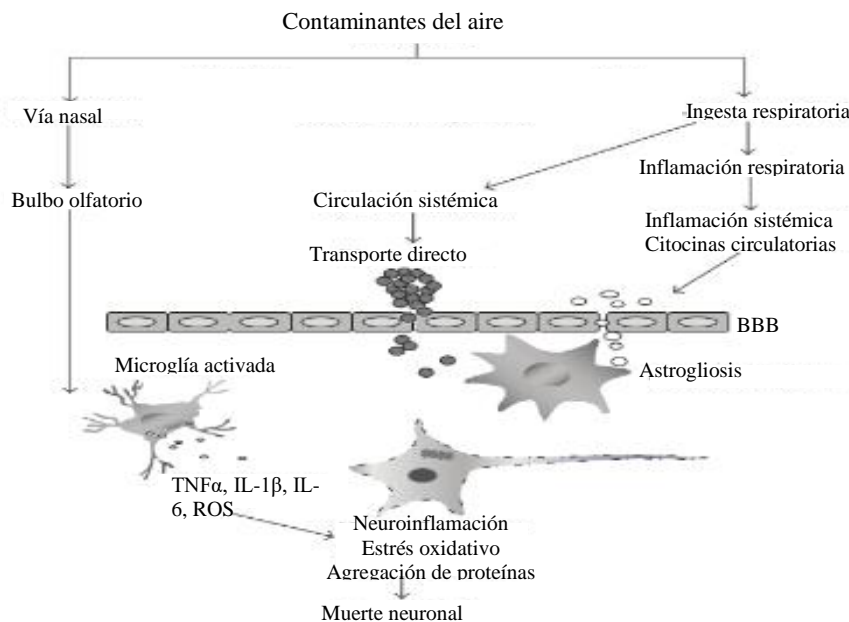


Figura 1.3 Impacto de la contaminación atmosférica en el cerebro por medio de diferentes rutas (Genc *et al.*, 2012)

Las células involucradas en la neuroinflamación son la microglía y los astrocitos, siendo las primeras de suma importancia durante el proceso de neuroinflamación. La microglía deriva de la médula ósea y sirve como los macrófagos⁵ del SNC. Normalmente se encuentra en reposo inspeccionando el microambiente del cerebro y en caso de algún estímulo nocivo, como el PM, es activada reclutando al sistema inmune para reparar el tejido (Figura 1.4). La microglía puede ser activada por agentes proinflamatorios que logran atravesar la BBB y son reconocidos por receptores tipo Toll (TLR)⁶. Asimismo, al encontrarse con algún estímulo nocivo la microglía es activada y libera agentes proinflamatorios como especies reactivas de oxígeno, incluyendo superóxido ($O_2^{\cdot-}$), óxido nítrico (NO) y peroxinitrito ($ONOO^{\cdot-}$), enzimas proinflamatorias como la ciclooxigenasa 2 (COX-2) y sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS), y citocinas⁷ y quimiocinas, como la interleucina beta (IL-1 β), interleucina seis (IL-6) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α). A la vez pueden estar presentes otros agentes como el ácido araquidónico (AA) y metaloproteinasas (MMPs). Las MMPs aumentan la permeabilidad de la BBB, filtrando neutrófilos⁸ que liberan agentes

⁵ Célula fagocítica capaz de ingerir y digerir bacterias y detritos celulares (Solomon, Berg, Martin, & Ville, 1998)

⁶ Proteínas receptoras de reconocimiento de patrones que son activadas al detectar algún microbio (Lyman *et al.*, 2014).

⁷ Proteínas secretadas por células gliales e inmunes responsables por la señalización intercelular (Brady *et al.*, 2011).

⁸ Glóbulo blanco granular especialmente hábil para encontrar e ingerir bacterias (Solomon, Berg, Martin, & Ville, 1998).

proinflamatorios logrando activar la microglía. Al activarse la microglía y liberar enzimas como COX-1, COX-2, lipooxigenasa 5 (5-LO) y citocromos P-450 convierten al AA en prostaglandinas y leucotrienos, que como agentes proinflamatorios, ayudan a reclutar neutrófilos al sitio de la inflamación. Esto es considerado los primeros pasos de la inflamación (Brady *et al.*, 2011).

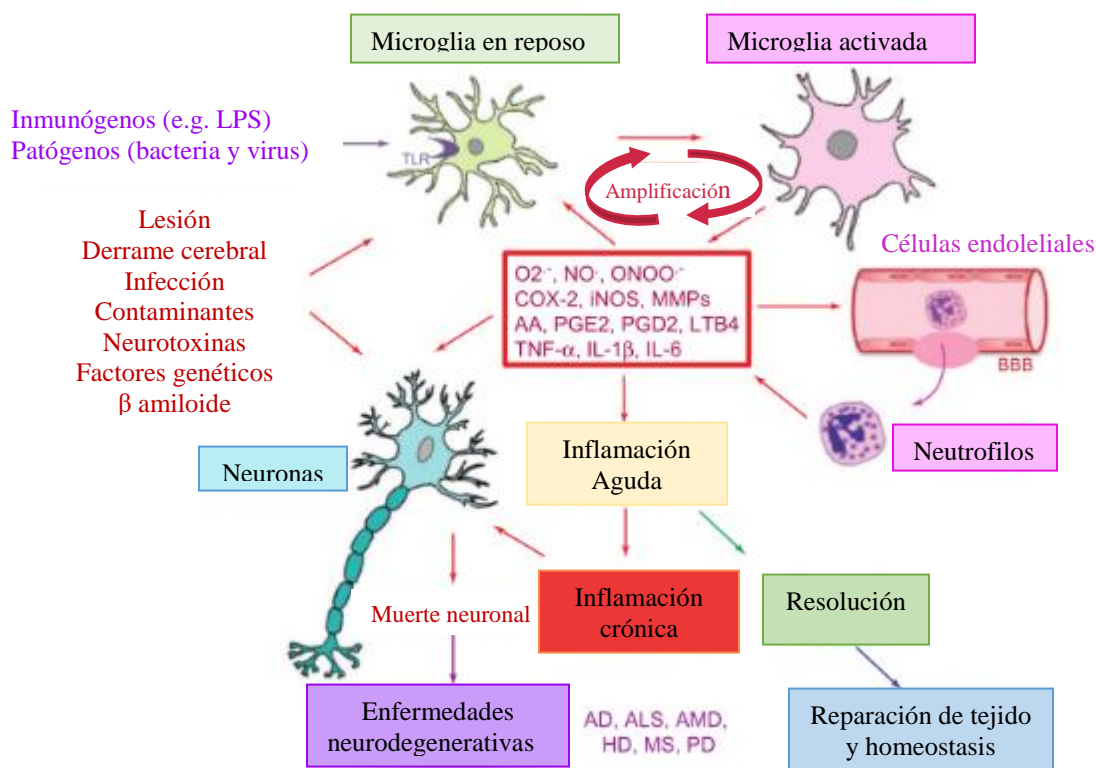


Figura 1.4. Activación de la microglía en la neuroinflamación (Brady *et al.*, 2011).

La presencia de todos los agentes anteriores puede seguir activando la microglía y exacerbar la respuesta inflamatoria. Consecuentemente, se provoca una inflamación aguda donde la inflamación puede ser resuelta y regresar a la homeostasis mediante citocinas antiinflamatorias y mediadores lipídicos antiinflamatorios como lipoxinas, resolvinas y neuroprotectinas. Sin embargo, si la inflamación no es eliminada ocurre una sobre activación de la microglía causando una inflamación crónica teniendo como resultado la muerte neuronal y como última instancia alteraciones cognitivas o lesiones permanentes en el SNC que podrían conducir a enfermedades neurodegenerativas como AD y PD. La acumulación de microglía activa es conocida como microgliosis (Brady *et al.*, 2011). La activación de la microglía se divide en dos fases: M1, consistiendo en cambios morfológicos y funcionales

de la microglía, y M2, la microglía se vuelve fagocítica. La última fase radica en fagocitar restos celulares convirtiéndola en un punto clave para mantener la homeostasis en el SNC (Lyman, Lloyd, Ji, Vizcaychipi, y Ma, 2014).

Los astrocitos son células gliales cuya función principal es mantener la homeostasis, dar un soporte bioquímico de las células endoteliales que conforman la BBB, secretar factores neurotróficos⁹, mantener el balance iónico extracelular y regular el exceso de neurotransmisores. Asimismo, modulan la red neuronal modificando el ambiente sináptico, es decir, tienen la capacidad de regular cuándo, cómo y cuáles neuronas son capaces de comunicarse entre ellas. Sin embargo, no se tiene una idea clara de cómo la astrogliosis es activada (Block y Calderón-Garcidueñas, 2009; Brady *et al.*, 2011; Genc *et al.*, 2012).

De la misma manera, la BBB es un componente importante en la neuroinflamación dado que el PM u otros componentes de la contaminación atmosférica afectan la BBB, regulando tanto su función química como física y produciendo señales proinflamatorias. Se ha propuesto que esta respuesta sirve como un sensor proinflamatorio distribuyendo citocinas, ROS y PM al parénquima¹⁰ cerebral, contribuyendo aún más a la patología del SNC (Block y Calderón-Garcidueñas, 2009).

La neuroinflamación se ha relacionado con una disfunción sináptica, inhibición de neurogénesis, muerte neuronal, deterioro cognitivo y una serie de enfermedades neurodegenerativas; por lo que es de suma importancia identificar las poblaciones en riesgo, encontrar medidas de prevención y mitigación, así como hacer un diagnóstico temprano.

Biomarcadores de efecto: Exosomas

Dado los efectos adversos que provoca el PM en la salud humana, como la neuroinflamación, es necesario encontrar biomarcadores¹¹ que reflejen dichos efectos adversos, es decir

⁹ Sustancias químicas, secretadas por células en un tejido diana, que promueven el crecimiento y la supervivencia de las neuronas (Purves *et al.*, 2012).

¹⁰ Los elementos esenciales o funcionales de un órgano (Medical Dictionary, 2017)

¹¹ Aquella respuesta entre la interacción de un sistema biológico y un xenobiótico que puede ser cuantificable. La respuesta puede ser funcional y fisiológica, bioquímica a un nivel celular o una interacción molecular (Strimbu y Tavel, 2011).

biomarcadores de efecto¹². En las últimas décadas los exosomas han sido propuestos como una fuente para el hallazgo de biomarcadores de efecto.

Los exosomas son vesículas extracelulares que se encuentran en un rango 40 a 100 nm en diámetro con una morfología en forma de copa o circulares liberadas por diversos tipo de células y capaces de mediar distintas funciones (Gupta y Pulliam, 2014; Simons, 2009).

Formación

Primero ocurre la formación de vesículas endocíticas de la membrana plasmática generando un endosoma temprano. Al madurar el endosoma temprano se forma un endosoma tardío en donde ocurre la evaginación de su membrana creando los exosomas. Los endosomas tardíos que contienen vesículas interluminales son también conocidos como cuerpos

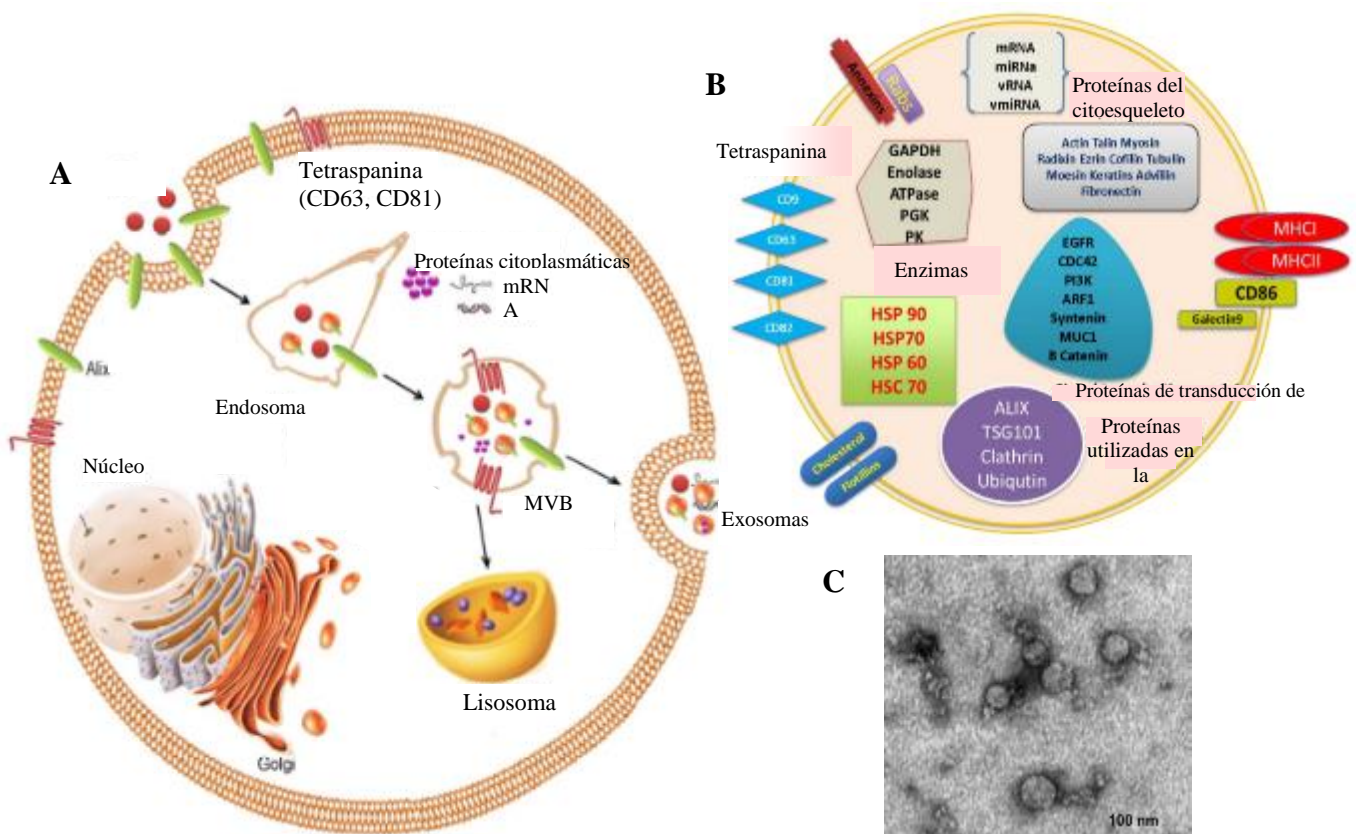


Figura 1.5. Formación y liberación de exosomas (A) Composición de exosomas (B) Exosomas vistos mediante microscopía electrónica (C) (Chahar, Bao, y Casola, 2015; Muller, Mitsuhashi, Simms, Gooding, y Whiteside, 2016; Rashed *et al.*, 2017)

¹² Una alteración biológica, fisiológica, comportamiento u otra en un organismo que, dependiendo de la magnitud puede ser asociada con alguna enfermedad (WHO, 2011)

multivesiculares (MVB). Los MVB pueden fusionarse con los lisomas para ser degradados o fusionarse con la membrana celular lo que provoca la liberación de los exosomas (Figura 1.5) (Zhang y Yang, 2017).

Composición

De manera general los exosomas están compuestos por proteínas, lípidos, mRNA y miRNA. Sin embargo, su composición varía dependiendo de la célula de la cual provengan y las condiciones fisiológicas o patológicas. A la vez, la mayoría de los exosomas contienen proteínas involucradas en el transporte y fusión de la membrana, formación de MVB (e.g. TSG101), integrinas y tetraspaninas (CD63, CD69, CD81 Y CD82), enzimas citoplasmáticas (e.g. GAPDH) y proteínas de choque térmico (HSP70 y 90) (Rashed, Bayraktar, Helal, y Abd-ellah, 2017; Simons, 2009). Algunas de estas proteínas se encuentran específicamente en los exosomas, como TSG101 y CD63, por lo que funcionan como marcadores exosomales. Igualmente, presentan proteínas que nos puedan indicar su célula de origen (Gallo, Tandon, Alevizos, y Illei, 2012; Simons, 2009).

Los mecanismos de clasificación de las proteínas y lípidos en los exosomas involucran diversas proteínas como ALIX o el Complejo de clasificación endosomal requerido para transporte (ESCRT). El complejo ESCRT es necesario para reconocer y secuestrar proteínas ubiquitinas y para el procesamiento de evaginación para generar los exosomas (Lin *et al.*, 2015; Simons, 2009).

Liberación, captura y función

Los exosomas son liberados al fusionarse los MVB con membrana plasmática de la célula y pueden ser capturados por células vecinas o distantes mediante diversos mecanismos. Al llegar a la célula blanco los exosomas pueden interactuar de manera directa por medio de sus proteínas transmembranas con los receptores de la célula blanco, fusionarse con la membrana plasmática de la célula y entregar sus contenidos al citosol de las células receptoras, o ser internalizados y unirse a endosomas de la célula receptoras, donde serían degradados o movidos a través de la célula blanco o secretados a células vecinas (Gupta y Pulliam, 2014; Rashed *et al.*, 2017).

Los exosomas son capaces de eliminar proteínas o moléculas no deseadas en las células. Sin embargo, su función principal es el papel que juega en la comunicación celular al transferir proteínas, lípidos y material genético de una célula a otra. Asimismo, su función va a variar dependiendo de la célula o tejido de origen (Lin *et al.*, 2015).

Exosomas como biomarcadores

Al ser liberados los exosomas bajo condiciones normales y patológicas, su contenido nos refleja las condiciones en las que se encuentra el cuerpo humano. Asimismo, se encuentran en diversos fluidos corporales incluyendo sangre, saliva, orina, leche materna, líquido amniótico y líquido cefalorraquídeo (Lin *et al.*, 2015), por lo que su detección puede ser de manera invasiva o no invasiva. Estas características, así como su estabilidad al estar protegidos los contenidos de degradación por su estructura membranosa, convierten a los exosomas en un posible biomarcador para diversas enfermedades. Por ejemplo, se han estudiado los exosomas para encontrar biomarcadores que hagan posible el diagnóstico de enfermedades como el cáncer de páncreas, ovarios y vejiga, melanoma, hepatitis C, enfermedad crónica del riñón, así como enfermedades del SNC (Barile y Vassalli, 2017; Lin *et al.*, 2015; Matsumoto, Kano, Akutsu, y Hanari, 2016; Properzi, Logozzi, y Fais, 2013)

Exosomas en el SNC

Los exosomas en el SNC son liberados, ya sea bajo condiciones normales o patológicas, por la mayoría de las células del sistema, incluyendo neuronas, astrocitos, oligodendrocitos¹³ y microglía (Gupta y Pulliam, 2014). Al igual que todos los exosomas, aquellos derivados de células del SNC presentan proteínas que nos indican su célula de origen, por ejemplo, los exosomas provenientes de la microglía presentan CD13, así como los procedentes de oligodendrocitos tienen mielina (Kanninen, Bister, Koistinaho, y Malm, 2016).

Tienen la función de ser mensajeros de la comunicación entre células neuronales y deshacerse de residuos de membrana y materiales celulares. Al deshacerse de residuos, como proteínas

¹³ Una de las tres mayores clases de células gliales cuya función principal es colocar la mielina alrededor de los axones (Purves *et al.*, 2012)

obsoletas, RNA, materiales tóxicos y residuos celulares mediante la secreción de exosomas, se convierten en un mecanismo de protección que tienen las neuronas (Zhang y Yang, 2017). A la vez, participan en mantener la homeostasis neuronal y la plasticidad sináptica. Por otro lado, los exosomas liberados por la microglía pueden estimular la actividad sináptica, mientras que los exosomas liberados por células Schwann sirven para la comunicación y para ayudar a la regeneración axonal después de haber ocurrido algún daño (Gupta y Pulliam, 2014).

Así como los exosomas pueden mediar procesos para el funcionamiento del cerebro en condiciones normales, de igual manera están involucrados en el desarrollo de algunos trastornos neuroinflamatorios. Al servir como portadores de proteínas implicadas en enfermedades del SNC como A β y α -sinucleína en AD y PD, respectivamente, los exosomas pueden iniciar o propagar la enfermedad a células vecinas. Igualmente, los exosomas liberados por microglía y astrocitos pueden ser absorbidos por células cercanas o atravesar la BBB y circular en el torrente sanguíneo, líquido cefalorraquídeo y alcanzar otros fluidos corporales para llegar a células distantes y viceversa. Asimismo, se ha demostrado un aumento en la liberación de exosomas bajo condiciones patológicas (Gupta y Pulliam, 2014; Zhang y Yang, 2017).

Exosomas como biomarcadores en trastornos del SNC

La capacidad de los exosomas de atravesar la BBB y alcanzar distintos fluidos corporales como la orina y la saliva nos proporciona información sobre la condición de las células en el SNC sin la necesidad de usar técnicas invasivas (Aryani y Denecke, 2016; García-Romero et al., 2017). Asimismo, un biomarcador debe ser fácil de evaluar, ser específico y altamente sensible. Estas características convierten a los exosomas en un posible biomarcador, ya que los exosomas provenientes del cerebro pueden ser vistos como una lectura directa de la condición del SNC (Kanninen *et al.*, 2016).

La habilidad de usar técnicas no invasivas para la obtención de los biomarcadores nos permite hacer un diagnóstico temprano, lo cual es primordial en el caso de enfermedades del SNC. Estudios proteómicos, es decir estudios enfocados al análisis de la expresión de patrones de

proteínas, indican que la saliva sería una buena alternativa para el estudio de enfermedades del SNC. Esto se debe a las ventajas que proporciona: su fácil recolección, ya que no es necesario tener un entrenamiento médico, requiere menos procesamiento previo al análisis de proteínas que la sangre y su alto contenido de proteínas (Wormwood *et al.*, 2015).

Se han propuesto diversos posibles biomarcadores en los exosomas, ya sean proteínas o miRNA, para trastornos en el SNC relacionados con la neuroinflamación como la proteína α -sinucleína cuyos niveles se elevaron en exosomas de pacientes con PD, $A\beta$ -42 en pacientes con AD (Gupta y Pulliam, 2014; Zhang y Yang, 2017). Tanto α -sinucleína y $A\beta$ -42 se pueden encontrar en saliva. Otro posible biomarcador para la neuroinflamación es la proteína S100B.

S100b como biomarcador de neuroinflamación

La familia S100 es una familia multigénica de proteínas de unión al calcio consistiendo en más de 20 miembros con diferentes grados de homología entre sí a nivel de aminoácidos. Dentro de ella se encuentra la proteína S100B siendo el homodímero beta-beta, es decir que consta de dos cadenas peptídicas idénticas y se localiza en el citoplasma y en el núcleo de los astrocitos. Asimismo, es posible encontrarla en otras células gliales como los oligodendrocitos y células Schwann, así como en células no neuronales, por ejemplo, en melanocitos, linfocitos, adipocitos y células de la médula ósea. Está presente en diversos fluidos corporales como líquido cefalorraquídeo, sangre, líquido amniótico, orina y saliva y es eliminada principalmente por excreción renal. (Michetti *et al.*, 2012; Rezaei *et al.*, 2017).

Se ha demostrado que S100B interactúa con el citoesqueleto, regula algunas enzimas y juega un papel en la proliferación, sobrevivencia y diferenciación de células. A la vez puede ser secretada por los astrocitos e involucrarse en el desarrollo y mantenimiento de la homeostasis de SNC (Rezaei *et al.*, 2017). Los efectos de S100B dependen de sus concentraciones. A concentraciones nanomolares tienen la capacidad de proteger la supervivencia neuronal, promover la extensión de neuritas¹⁴ y participar en la regulación del desarrollo y regeneración muscular. Mientras que, a concentraciones micromolares es capaz de inducir apoptosis y

¹⁴ Rama neuronal normalmente usada cuando el proceso en cuestión es un axón o una dendrita (Purves *et al.*, 2012)

estimular la expresión de citocinas proinflamatorias. Es decir, S100B puede ejercer un papel proinflamatorio así como tener un papel en la resolución de procesos inflamatorios (Michetti *et al.*, 2012). Debido a que S100B tiene un efecto tóxico a concentraciones altas es considerado como un biomarcador de condiciones patológicas como tumores cerebrales, lesión cerebral, trastornos psiquiátricos y enfermedades neurodegenerativas.

Se ha demostrado que hay niveles elevados de S100B en pacientes que sufrieron un derrame cerebral, insuficiencia cardíaca, tumores cerebrales, esclerosis múltiple, AD, PD, esclerosis lateral amiotrófica, esquizofrenia, depresión crónica, autismo y en condiciones fisiológicas de estrés como durante una actividad física vigorosa (AL-Ayadhi y Mostafa, 2012; Beer, Blacker, Bynevelt, Hankey, y Puddey, 2010; Li, Lu, Wang, Zhang, y Shen, 2011; Michetti *et al.*, 2011, 2012).

Características como tener un papel proinflamatorio a altas concentraciones, estar relacionado a diversas condiciones patológicas, estar presente en diversos fluidos corporales y poder obtenerlo de una manera no invasiva, convierte a la proteína S100B en un biomarcador relevante para la neuroinflamación, y su caracterización en muestras biológicas no invasivas resultaría de suma importancia para evidenciar los efectos de la interacción de los individuos con el ambiente.

Capítulo 2

JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Justificación

La población infantil es considerada como una población vulnerable dado que presentan una mayor exposición. Esto se debe a diversas características que presentan como: una inhalación de mayores volúmenes de aire en relación a su masa corporal, un sistema nervioso central, respiratorio e inmune no completamente desarrollados y la cantidad de actividades que realizan en el exterior (Canha *et al.*, 2016; Dunn *et al.*, 2003; S. Wang *et al.*, 2009). Asimismo, la población infantil pasa aproximadamente de 65 a 90% de su tiempo en interiores, pasando la mayoría del tiempo en la escuela, por lo que futuros estudios acerca de la calidad del aire en la escuela son de suma importancia (Annesi-Maesano, Baiz, Banerjee, y Rudnai, 2013). Estudios han demostrado una relación entre la contaminación en exteriores e interiores, principalmente la contribución de PM proveniente de automóviles al interior de escuelas (Cao *et al.*, 2005; Chen, Gall, y Chang, 2016; Sunyer *et al.*, 2015). Además, se ha señalado una asociación entre un aumento de incidencias de enfermedades con la proximidad a vías primarias (Volk *et al.*, 2011). Por lo tanto, al localizarse la mayoría de las escuelas cerca de avenidas con alto tránsito es de suma importancia estudiar la concentración de los contaminantes atmosféricos atmosférica en el interior de las escuelas y sus efectos en la salud.

El PM encontrado en exteriores como en interiores es de suma importancia dado que mediante diferentes mecanismos logran alcanzar el cerebro resultando en diversos efectos adversos en el SNC. Uno de ellos es la neuroinflamación que puede provocar daños en la función celular o del cerebro y se ha asociado con déficits en el funcionamiento cognitivo, aprendizaje, memoria, lenguaje, bajo rendimiento en pruebas de IQ y enfermedades neurodegenerativas (Annarapu y Kathi, 2016; Block y Calderón-Garcidueñas, 2009; Calderón-Garcidueñas *et al.*, 2011). La mayoría de los estudios para demostrar la neuroinflamación requieren de la toma de muestras biológicas invasivas como lo es la toma de sangre o de líquido cefalorraquídeo, lo que puede generar complicaciones o perturbar la integridad de las personas.

Considerando las consecuencias que pueden ocurrir por la neuroinflamación en poblaciones vulnerables como la población infantil, es de suma importancia estimar la exposición de los niños al PM al asistir a escuelas cercanas a vialidades con alto tráfico, así como también es primordial buscar biomarcadores mediante procedimientos no invasivos que permitan identificar los efectos biológicos en dicha población

Hipótesis

Los niños de escuelas más cercanas a vialidades principales tendrán una mayor exposición al PM_{>2.5} y PM_{2.5} y este se reflejará en un aumento en biomarcadores de neuroinflamación, como la proteína S100B exosomal detectable en saliva.

Objetivos

General

La contaminación atmosférica es un problema significativo para la población infantil en la Ciudad de México. Por esta razón este trabajo tiene como objetivo general evaluar la exposición a PM₁₀ y PM_{2.5} en escuelas cercanas a vialidades y relacionarlo con la expresión del biomarcador de neuroinflamación S100B en exosomas en saliva de niños.

Particulares

- Evaluar la concentración de PM en avenidas principales y en el interior de las escuelas cercanas a ellas.
- Determinar la presencia de la proteína S100B en exosomas de saliva de niños.
- Correlacionar la exposición a PM₁₀ y PM_{2.5} con el biomarcador de neuroinflamación.

Capítulo 3

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de estudio

El estudio se llevó a cabo en la Ciudad de México (CDMX), capital de México, localizada a una latitud de $19^{\circ} 2' N$ y longitud de $-99^{\circ} 22' O$ y con una elevación de 2,240 msnm. Al tener esta elevación, la presión atmosférica es 25% menor que al nivel del mar provocando que los procesos de combustión sean incompletos. Se encuentra en una cuenca, rodeada principalmente de cerros y montañas. Tiene una superficie de $1,485 \text{ km}^2$ en la cual se presenta un clima principalmente templado subhúmedo con temperaturas moderadas todo el año y precipitaciones variables entre 600 mm y 1200 mm anuales. Las condiciones atmosféricas que se encuentran en la cuenca, así como vientos dominantes provenientes del noreste, provocan una inversión térmica agravando la contaminación atmosférica (CDMX, 2016; Yip y Madl, 2002).

La Ciudad de México ha tenido un aumento en la flota vehicular en las últimas décadas, alcanzando aproximadamente 5,300,000 de unidades vehiculares registradas en el 2015 (INEGI, Vehículos de motor registrados, 2015). Los automóviles dentro de la Ciudad de México recorren alrededor de 14,000 km anualmente, sin embargo, del total de viajes diarios el 29% se realizan en automóvil privado, 60.6% en transporte público de baja capacidad, es decir combis, microbús, taxis, 8% en transporte público masivo, como el metro, metrobús, tren ligero, y 2.4% en bicicleta y motos. Debido al crecimiento en la flota vehicular la velocidad promedio ha disminuido y en horas pico puede estar entre 8 y 11 km/hora (SEMARNAT, 2009). Al estar la velocidad y la aceleración asociadas con la combustión y las emisiones tener velocidades tan bajas provoca una combustión incompleta. Aunado a esto, los procesos de combustión no son llevados a cabo de manera adecuada al estar la CDMX a una presión atmosférica 25% menor que al nivel del mar. El parque vehicular en la CDMX es el principal generador de PM, emitiendo 51% del PM_{10} y el 42% del $PM_{2.5}$ (ONU-HABITAT, 2015; IPTD, 2012).

En 2010 la población infantil en la CDMX era de 1,937,538 niñas y niños de 0 a 14 años, representando un el 22% de la población total. De esta población 1,066,275 corresponden a la población infantil que se encuentra en la primaria teniendo un rango entre 6 a 12 años. Sin embargo, la población se encuentra en un constante crecimiento, para el 2015 la población total de la ciudad era de 8,918,653 habitantes, por lo que se supone que hoy en día el número de niños es mayor (INEGI, 2010).

Selección de escuelas

La selección de escuelas primarias fue por medio de muestreo por conveniencia (Kageyama, Sanín-Aguirre, y Romieu, 1997). A la vez, fueron geolocalizadas y georreferenciadas utilizando Google Earth Pro con el cual también se determinó la distancia entre la escuela y la avenida primaria¹⁵ más cercana. Se hizo la medición de la distancia desde el centro de la escuela al centro de la avenida. Usando como criterio una distancia máxima de 500 m a la avenida principal más cercana (Harris *et al.*, 2015; Volk *et al.*, 2011). Se utilizó el Reglamento de tránsito de la Ciudad de México de 2015 para la clasificación y determinación de las avenidas primarias.

Escuela A

El Colegio A es una escuela primaria inclusiva¹⁶ de carácter privado ubicada en la zona poniente de la CDMX (19.343943°, -99.241616). Se encuentra sobre una avenida primaria y se localiza a 230m de otra avenida principal.

La escuela está rodeada por un lado por la avenida primaria, un edificio y un barranco con vegetación. Cuenta con dos patios y con un salón por cada grado de primaria (figura 3.1).

¹⁵ Definida por el Nuevo Reglamento de Tránsito como “Un espacio físico cuya función es facilitar el flujo del tránsito vehicular continuo o controlado por semáforo, entre distintas zonas de la Ciudad, las cuales pueden contar con carriles exclusivos para la circulación de bicicletas y/o transporte público” (SSP, 2015)

¹⁶ Acepta niños con necesidades educativas especiales dentro de su población

Escuela B

El colegio B está compuesto por preescolar, primaria y secundaria y se encuentra al sur de la CDMX en 19.286940, -99.164564. Está ubicada en la intersección de avenidas secundarias¹⁷: y la avenida principal más cercana a ella se encuentra a 101 m.

La escuela tiene alrededor un conjunto de edificios y avenidas secundarias. A la vez, tiene dos niveles y un patio central. La sección de primaria cuenta con aproximadamente tres salones por grado escolar (figura 3.2).

Escuela C

La escuela C abarca desde maternal hasta preparatoria y está localizada en la zona sur de la CDMX. La avenida primaria más cercana a ella se localiza a 378 m y se encuentra rodeada por edificios y avenidas secundarias (figura 3.3). Asimismo, cuenta con un patio central y dos salones por grado escolar.

¹⁷ Definida por el Nuevo Reglamento de Tránsito como “Espacio físico cuya función es permitir el acceso a los predios y facultar el flujo del tránsito vehicular no continuo; en su mayoría conectan con vías primarias y sus intersecciones pueden estar controladas por semáforos” (SSP, 2015)

Escuela A



Figura 3.1 Colegio A. Región verde representa el colegio y la naranja la avenida primaria más cercana. El triángulo amarillo indica la posición del monitor de PM en la avenida principal.

Escuela B

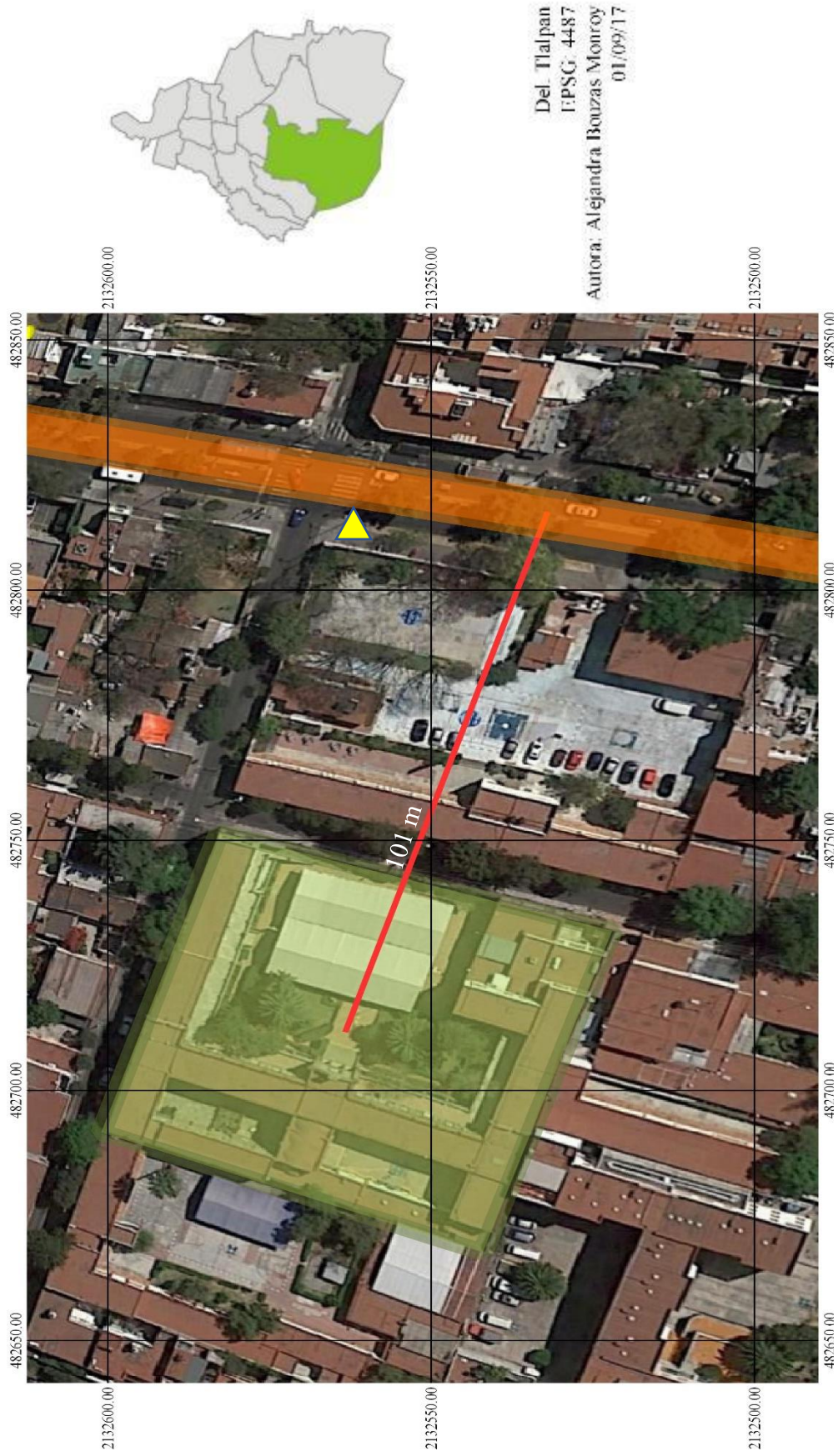


Figura 3.2 Colegio B. Región verde representa el colegio y la naranja la avenida primaria más cercana. El triángulo amarillo indica la posición del monitor de PM en la avenida principal.

Escuela C



Figura 3.3 Escuela C. Región verde representa el colegio y la naranja la avenida primaria más cercana. El triángulo amarillo indica la posición del monitor de PM en la avenida principal.

Monitoreo de PM atmosférico

El monitoreo de PM atmosférico se llevó a cabo en cada escuela de 3 a 5 días en la misma semana durante el horario de clases. Se eligió un salón diferente por día de monitoreo, es decir se tuvo un mínimo de tres salones por escuela, basándonos en los criterios de estudios previos (SINPHONIE, 2014). El monitoreo se realizó mediante dos detectores nefelométricos de material particulado, DYLOS DC1700 (Dylos Cooperation Riverside, CA, USA) colocando un monitor en la avenida primaria más cercana y el otro dentro del salón de clases, realizando un monitoreo simultáneo. Además, se tomaron las condiciones atmosféricas de humedad relativa, temperatura y dirección y velocidad del viento de cada muestreo, tanto en los salones como en las avenidas, por medio de la estación meteorológica portátil WMR89A (Oregon Scientific, USA) (Figura 3.4C).

Dentro del salón el monitor DYLOS fue colocado en un estante a la altura de los niños, aproximadamente 1.30 m, donde no interfiriera con las actividades escolares. Asimismo, la estación meteorológica fue puesta a un lado del monitor y conectada a una computadora portátil con el fin de tomar una imagen de pantalla al software de la estación WMR89 cada 20 min para obtener los datos *in situ* de las condiciones atmosféricas. El sensor de viento fue colocado en un tripie, con una altura alrededor de 30 cm, y llevado a la azotea o a un espacio abierto, donde no hubiera obstáculos. Sin embargo, se tuvo que tomar en cuenta el rango de detección del sensor de viento y de la estación meteorológica principal para la elección del salón con el propósito de perder los menos datos posibles (Figura 3.4D).

Para la obtención del PM de la avenida se determinó una línea lo más recta posible de la escuela a la avenida y se colocó un monitor DYLOS al nivel de ojos sobre la avenida. A la vez se ubicó en una zona donde no hubiera algún obstáculo que pudiera causar alguna interferencia. Junto con el monitor de PM se colocó un sensor de temperatura y humedad y se recolectaron los datos cada 20 min (Figura 3.4A).

Cabe destacar que la CDMX tiene un comportamiento estacional, es decir que durante la época seca (invierno a primavera) hay un aumento en la concentración de PM, mientras que en época húmeda (verano a otoño) hay una disminución (Pratt *et al.*, 2011) (Yip y Madl,

2002), por lo que, el monitoreo se llevó a cabo en la temporada seca fría en los meses de enero, febrero y marzo. Asimismo, se realizó durante el horario de clases 8:00-14:20 h en el cual analizando los datos de las estaciones de monitoreo de la RAMA se observa un aumento de PM de 8:00 a 9:00 h y de 14:00-15:00 h a través de los años de acuerdo con los datos reportados por mes y en un monitoreo de 24 h.



Figura 3.4 Experimento para la determinación de PM de una escuela. Posición del monitor de PM en la avenida primaria con sensor de humedad y temperatura montado (A). Sensor de viento colocado en el techo de la escuela (B) Estación meteorológica Oregon Scientific WMR89 (C) Posición de monitor de PM, estación meteorológica WMR89 y la computadora portátil dentro de un salón de clases (D) Detector nefelométrico de PM Dylos DC1700 (E).

Escuela A

El monitoreo de PM se realizó del 16 al 20 de enero de 2017 en tres salones diferentes de las 8:00 a 14:20 h. El salón de 5° de primaria se llevó a cabo el 16 y 17, 4° de primaria el 18 y 19 y 3° de primaria el 20. El monitor de PM, así como la estación meteorológica, se colocó dentro de los salones en un estante que se encontraba cerca de la ventana y el sensor de viento se colocó en el techo de la oficina principal. Una vez colocado el monitor en el salón, se ubicó el segundo monitor sobre la avenida primaria en el estacionamiento del colegio (19.344014, -99.241352) (ANEXO I Figura I.I).

Cada salón tenía aproximadamente 13 alumnos y contaba con mesas de madera aglomerada, pisos cerámicos y ventanas que daban a la avenida principal. Sin embargo, había una barrera de vegetación entre la avenida y los salones. A la vez, se estaba realizando el cambio de pizarrón de gis a plumón durante la semana que se hizo el monitoreo atmosférico.

Escuela B

El monitoreo se realizó del 30 de enero al 2 de febrero de 2017 en salones de 3° grado, a excepción del 1 de febrero que se llevó a cabo en 2° grado de primaria. Se hizo durante el horario de 8:00 a las 13:00 h. El monitor DYLOS, la estación meteorológica y la computadora portátil se colocaron en un estante al fondo del salón y el sensor de viento en la azotea. Para la obtención de datos de la avenida principal se ubicó el monitor en su avenida principal más cercana (19.286637, -99.163583) (ANEXO I Figura I.II).

Dado el rango de detección del sensor de viento, los salones donde se realizó el monitoreo atmosférico se ubicaban en el segundo piso. Todos los salones contaban con pisos de cerámica, escritorios de madera aglomerada, pizarrones de gis y ventanas que daban al patio central de la escuela. Cada salón contaba con aproximadamente 20 alumnos.

Escuela C

En la escuela C se llevó a cabo del 27 de febrero al 2 de marzo de 2017 desde las 07:50 a las 14:20 h. El 27 de febrero el monitor se colocó en un salón de 5° de primaria, el 28 de febrero y 1 de marzo en el salón de 4° y el 2 de marzo en 3° de primaria. La estación meteorológica, la computadora y el monitor de PM se situaron en un estante lateral al lado contrario de las ventanas. El sensor de viento se colocó en una valla metálica en el tercer nivel del colegio donde no hubo ningún obstáculo que impidiera la obtención de la dirección y velocidad del viento. En el caso de la adquisición de datos de PM de la avenida principal se ubicó el monitor de PM sobre el camellón entre la avenida primaria y su lateral (ANEXO I Figura I.III).

Los salones de primaria donde se realizó el monitoreo atmosférico se encontraban en la planta baja y contaban con ventanas que daban al patio principal de la escuela, así como pizarrones de gis y bancas de madera aglomerada. Cada salón tenía aproximadamente 30 niños.

Cuantificación de PM atmosférico

Se realizó una prueba de Grubb para cada día de muestreo de cada escuela con el propósito de eliminar aquellos valores discrepantes o atípicos ($p < 0.05$) en comparación con los valores restantes. Asimismo, se descartaron aquellos días de monitoreo atmosférico que no contaban con un mínimo de 70% de los datos de monitoreo durante el horario de clase, los cuales fueron aproximadamente 390 datos por día.

Se determinó la cantidad de PM dentro de los salones escolares y en las avenidas primarias mediante dos detectores nefelométricos de PM Dylos DC1700, los cuales monitorean $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ en unidades de número de partículas por pie cúbico. Con el fin de estandarizar ambos monitores y hacer una corrección a los datos *in situ* se dejaron monitoreando por 15 horas en un cuarto cerrado donde no había alguna fuente de PM evidente, además el flujo de aire fue calibrado por una tercera persona. Asimismo, para lograr comparar los datos con estándares oficiales se convirtieron los datos a $\mu g/m^3$, por medio de la ecuación [1].

$$C_{PM} \left(\frac{\mu g}{m^3} \right) = N_{PM} \left(\frac{no.PM}{m^3} \right) \times 3531.5 \times M (\mu g) \dots [1]$$

Donde	C_{PM}	Concentración de PM
	N_{PM}	Número de partículas
	M	Masa de PM

Se hizo un ajuste de la concentración de PM utilizando los datos de humedad relativa y temperatura obtenidos por la estación meteorológica WMR89 portátil, mediante la siguiente ecuación: [2]

$$C_f \left(\frac{\mu g}{m^3} \right) = C_{PM} \left(\frac{\mu g}{m^3} \right) \times F \times \left(\frac{H(100\%)}{100} \right) \dots [2]$$

Donde	C_f	Concentración final de PM
	H	Humedad relativa
	F	Factor de corrección ¹⁸

Razón Interior/Exterior (I/O)

Se ha indicado que parte de la contaminación en interiores puede corresponder a la contaminación en el exterior, por lo que posteriormente, y de acuerdo con varios estudios, se buscó una relación entre $PM_{>2.5}$ y $PM_{2.5}$ del exterior con aquel en el interior de los salones mediante una razón de cambio, con el propósito de utilizarlo como un indicador de la contaminación en interiores (Braniš, Řezáčová, y Domasová, 2005; Cao et al., 2005; Chen et al., 2016; Chithra y Nagendra, 2014; Cyrus, Pitz, Bischof, Wichmann, y Heinrich, 2004; Guo et al., 2010; Holmes y Pardyjak, 2014).

Análisis de muestras biológicas y biomarcadores

Recolección de Muestras

Se recolectaron muestras de saliva de aquellos alumnos que voluntariamente desearon participar y cuyos padres de familia estuvieron de acuerdo, 6 alumnos en la Escuela A, 13 de la Escuela B y 11 de la Escuela C. Se les entregó un sobre conteniendo una carta de consentimiento informado y una breve explicación del estudio, un instructivo para la obtención de la muestra, un cuestionario para los padres de familia y un tubo de 50 mL para centrifugación con el fin de que se llevaran a casa. Se les pidió a los padres de familia que se recolectara un mínimo de 5 mL de saliva de los niños, de preferencia en la mañana antes de ir al colegio. Una vez entregada la muestra de saliva se guardaron a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Aislamiento de exosomas

Se aislaron los exosomas de la saliva de los participantes por medio de ultracentrifugaciones seriales, siguiendo la metodología de Lässer *et al.*, 2011. La saliva se diluyó 1:1 con solución tampón fosfato salino (PBS), es decir se colocaron 4mL de saliva y 4mL de PBS en tubos de centrifugación de policarbonato. Con el fin de quitar células y restos celulares (Figura 3.5A)

¹⁸ Factor que toma en cuenta cualquier masa que se adiciona a las partículas a causa de las condiciones de humedad (Arling, Connor, & Mercieca, 2010).

se centrifugó a 15,300 x g por 20 min a 4 °C utilizando una ultracentrifugadora Optima XPN-90 (Beckman-Coulter, USA) con un rotor modelo 80ti (Beckman-Coulter, USA). Sucesivamente, se recolectó el sobrenadante en otro tubo de centrifugación y se centrifugó a 41,400 x g por un periodo de 70 min a 4 °C para formar un pélet de exosomas (Figura 3.5B). Posteriormente, se decantó el sobrenadante y se resuspendió el pélet con 35 μ L de PBS para verterlo en un tubo de microcentrífuga de 1.5 mL. Se rompieron las membranas celulares para liberar el contenido de los exosomas mediante sonicación, cada 30 s 5X, utilizando el sonicador Microson™ Ultrasonic cell disruptor (Misonix, USA).

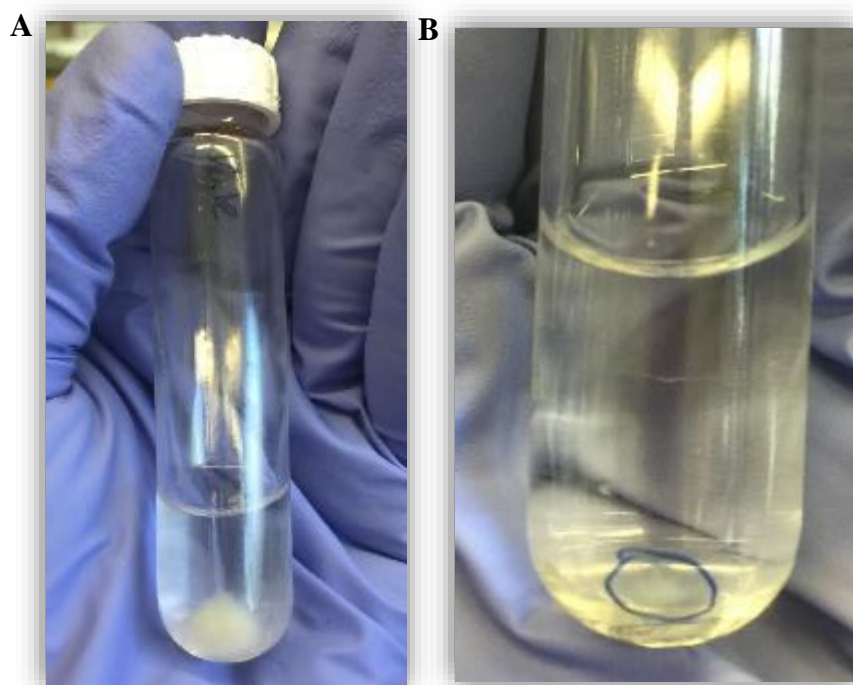


Figura 3.5 Aislamiento de exosomas mediante centrifugaciones seriales. Primera ultracentrifugación para eliminar las células (A) y pélet de exosomas después de la segunda ultracentrifugación (B)

Cuantificación de proteínas

Se colocaron 10 μ L de la curva patrón de albúmina de suero bovino (BSA) entre un rango 0.025 a 1 μ g/mL por triplicado en los pozos de una microplaca de 96 pozos de fondo plano (Thermo Scientific, MA, USA). En la misma placa se añadió por duplicado 1 μ L de la muestra de saliva y 9 μ L de PBS para obtener una dilución 1:10. Posteriormente, se agregaron 200 μ L de reactivo de Bradford 1:5 en cada pozo. Asimismo, se colocaron por triplicado 210 μ L de agua inyectable y reactivo de Bradford (1:5) con el fin de utilizarlos como controles. A

continuación, se hizo una lectura en el espectrofotómetro utilizando un lector de microplacas Synergy™ HT (Biotek, USA) a una longitud de onda de 595 nm y 450 nm, ambas longitudes fueron utilizadas para ajustar la curva (Figura 3.6) (Ernst y Zor, 2010). La curva fue utilizada para determinar la concentración final de la proteína para obtener 30 µg de proteína.

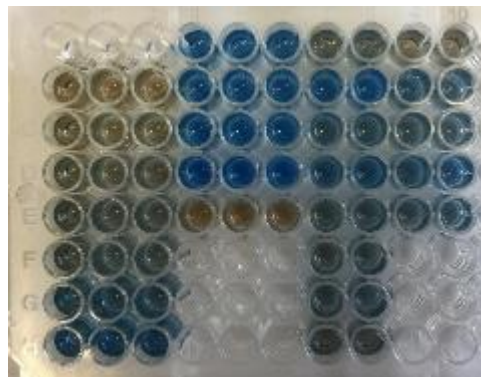


Figura 3.6 Muestra de lisados de exosomas y curva patrón preparada para la lectura en el espectrofotómetro.

Técnicas de inmunodetección/Western Blot

Una vez calculada la cantidad de proteína necesaria de las muestras para obtener 30 µg de proteína y mezclada con el azul de bromofenol en un tubo de microcentrífuga, las muestras fueron calentadas por 15 min en el termociclador MultiGene Optimax (Labnet International, Inc., USA) y colocadas en hielo por 5 min.

Posteriormente, se realizó la electroforesis donde las muestras fueron cargadas en geles con espacios 1.0 mm, así como 5 µL de dos marcadores de peso molecular: una escalera con marcadores proteicos biotinilados (Biotinylated Protein Ladder) (#7727, Cell Signaling Technology, USA) y un estándar de proteínas de diferente peso molecular preteñido (Prestained SDS-PAGE Standards) (#1610318, BIO-RAD, USA) los cuales fueron

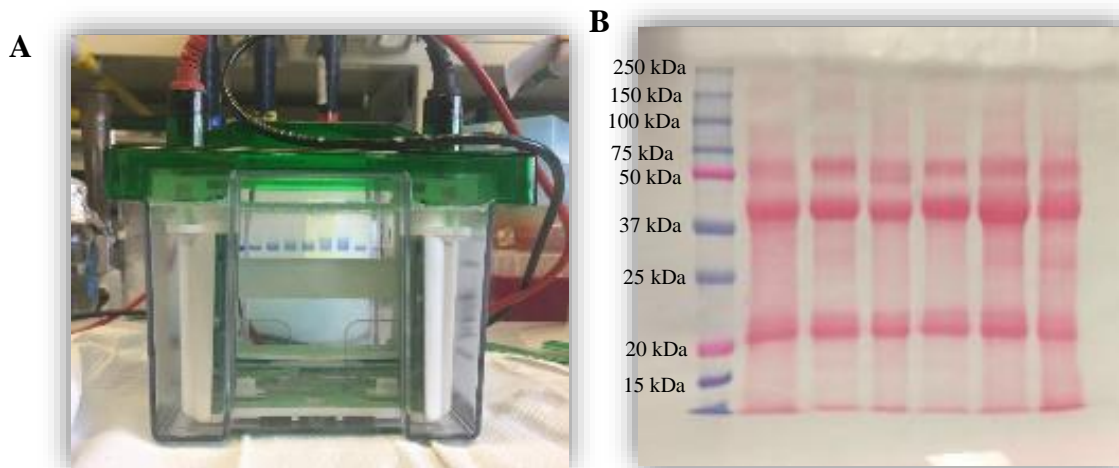


Figura 3.7 Caja de electroforesis con muestras cargadas (A) Membrana de nitrocelulosa con las muestras de saliva y un marcador de peso molecular con Rojo Ponceau (B)

colocados cada uno en un extremo del gel. El marcador biotinilado fue calentado previamente en conjunto con las muestras. Se llevó a cabo la electroforesis en dos horas a 100v (Figura 3.7A). El marcador biotinilado detecta un peso molecular desde 10 a 200kDa y el preteñido tiene un rango de proteínas con un peso molecular que va desde 7.1 a 209 kDa.

Sucesivamente, se cortaron membranas de nitrocelulosa de 6.5x8.5cm para hacer la transferencia, la cual se realizó a 100v por 1 hora. Tanto en la electroforesis como la transferencia se utilizó el Bio-Rad PowerPac (Bio-Rad, USA).

Se añadió rojo de Ponceau a la membrana al terminar la transferencia con el fin de verificar su correcta realización, seguido por lavados con agua desionizada (Figura 3.7B). Una vez eliminado el rojo de Ponceau, se dejó bloqueando la membrana con 10 mL albumina al 5% por 1 hora continuado por 2 lavados rápidos y 1 de 5 min de TBS Tween. A continuación se colocó 10 mL del anticuerpo primario S100B (ab868, abcam) a una dilución 1:30,000 durante toda la noche, es decir un mínimo de 8 horas. Se realizaron 2 lavados rápidos y 1 de 5min de TBS-Tween 0.1% seguido por 10 mL del anticuerpo secundario anti-conejo IgG-HRP diluido 1:10,000 (Cell Signaling Technology, USA). Posteriormente, se hicieron dos lavados rápidos y se dejó lavando la membrana con TBS-Tween por un mínimo de 1 día con el propósito de eliminar el ruido de fondo.

Una vez terminados los lavados, se reveló la membrana utilizando el C-DiGIT® Blot Scanner (LI-COR, Inc., USA) cuya base es un análisis quimioluminiscente por lo que se le colocó previamente a la membrana 0.75 mL de la solución luminol y 0.75 mL de la solución peróxido del reactivo para detección Amersham EC Select Western Blotting (GE Healthcare Life Sciences, USA). Se dejaron escaneando las membranas por 12 min y se recolectaron las imágenes a través de Image Studio.

Posterior al revelado de la proteína S100B, se le realizó el desprendimiento del complejo de anticuerpos S100B (stripping) de la membrana, para colocarle los anticuerpos primarios contra las proteínas TSG101 y CD63, los cuales son utilizados como marcadores de exosomas. Después de ser revelada la membrana se lavó 2 veces rápidamente con TBS-

Tween 0.1% y 1 vez con TBS por 5 min y se le vertió aproximadamente 10 mL de hidróxido de sodio al 0.2M por 10 min. A continuación, al igual que para la proteína S100B se colocó rojo de Ponceau, se lavó con agua desionizada y se dejó bloqueando con 10 mL de albumina al 5% por 40 min. Se realizaron los lavados con TBS-Tween 0.1% y se colocaron 10mL del anticuerpo primario TSG101 (ab30871) (1:1,000) durante toda una noche; seguido por otros lavados de TBS-Tween 0.1%, 10mL del anticuerpo ab134045) secundario anti-conejo IgG (1:10,000) por una hora y su revelado. A continuación, se realizó el mismo procedimiento para el anticuerpo primario CD63 (ab134045) (a una dilución 1:1.000) y su anticuerpo secundario anti-conejo IgG a 1:5,000.

Cuantificación del biomarcador

Los biomarcadores fueron cuantificados por análisis de densitometría de imágenes utilizando el software Image.J (<https://imagej.nih.gov/ij/>), donde se obtuvieron el mínimo, máximo y promedio de la banda seleccionada, así como de su fondo basándonos en la escala de grises. Para adquirir los valores finales de la cuantificación se hicieron los cálculos para obtener la razón de la proteína neta y el control neta. En este caso nuestra proteína fue S100B y el control TSG101, cuyo peso molecular es de 21-24 kDa y 50 kDa, respectivamente. Los cálculos se realizaron con base en la metodología de Davarinejad, mediante la siguiente ecuación con unidades arbitrarias de densitometría:

$$\text{Razón de la proteína} = \frac{(255 - BP) - (255 - FP)}{(255 - BC) - (255 - FC)} \dots [3]$$

Donde	BP	Promedio de la banda de la proteína
	FP	Promedio del fondo de la proteína
	BC	Promedio de la banda del control
	FC	Promedio del fondo del control

Aplicación de cuestionarios y aspectos éticos

Una vez hecho el monitoreo atmosférico en los salones de primaria se aplicó un cuestionario al maestro de cada salón con el propósito de conocer ciertas características del salón como su sistema de ventilación y el uso de productos de limpieza, así como su percepción de la

calidad del aire dentro del salón. Este cuestionario está basado en el reporte final de la Comisión Europea sobre los efectos del ambiente escolar en la salud de los niños (EC, 2006) (ANEXO VI).

Se les entregó un cuestionario a los padres de familia de aquellos niños interesados en participar de manera voluntaria con el fin de proporcionar información del historial médico, lugar de residencia, exposición al humo de tabaco, hábitos alimenticios, y otros posibles factores de confusión. De igual manera, este cuestionario también fue elaborado con base al Reporte final de los efectos del ambiente escolar en la salud de los niños (ANEXO VII). Asimismo, se les entregó una carta consentimiento (ANEXO VIII).

El reclutamiento y toma de muestras de los menores de edad participante se realizó de acuerdo con lo establecido en la Ley General de Salud en materia de investigación para la salud (Salud, 1984), (Título segundo, capítulo III, artículos 34-39: “De la investigación en menores de Edad o Incapaces”). De acuerdo al artículo al artículo 17, la investigación que involucra toma de muestra de saliva u orina se cataloga como de riesgo mínimo. La toma de muestra se realizó de acuerdo con los artículos 36-37, previo consentimiento informado firmado por quienes ejerzan la patria potestad, y de la aceptación del menor de edad para ser sujeto de investigación, previa explicación de la naturaleza del estudio. Los datos del monitoreo ambiental en interiores y exteriores se realizaron *in situ*, y las muestras biológicas se analizaron en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM, donde se hizo el resguardo y análisis de las muestras y manteniendo también la confidencialidad de los participantes en todo momento.

Análisis estadístico

Los cálculos estadísticos se realizaron mediante el programa IBM APSS Statistics versión 24.0 (IBM Corp., USA). Se calcularon los valores promedios y las desviaciones estándares de los datos. Se analizaron las posibles asociaciones entre las condiciones atmosféricas y las concentraciones de PM_{2.5} y PM_{>2.5}, se utilizó la correlación de Spearman ($p < 0.05$) cuando los datos no cumplieron con una distribución normal, mientras que se ejecutó una correlación de Pearson ($p < 0.05$) cuando la distribución era normal. Asimismo, se realizaron pruebas de

Kruskal-Wallis para los datos del PM en las diversas escuelas, la razón interior/exterior y los datos de la cuantificación de la proteína; considerando que cumplen las condiciones para realizar pruebas no paramétricas. Se utilizó la prueba de Tukey-Kramer para múltiples comparaciones, mediante el programa STATISTICA versión 8.0 (StatSoft, Inc., USA), se consideró significancia cuando $p < 0.05$.

Capítulo 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones atmosféricas

Las condiciones atmosféricas registradas en el exterior e interior de los salones para cada escuela durante los días de muestreo se muestran en la Tabla 4.1.

En los salones de la Escuela A se registró una temperatura promedio de 17.01 ± 2.49 °C, con un máximo de 20.9 °C y un mínimo de 12.2 °C. Igualmente, se obtuvo una humedad relativa que se encontraba entre 31 % y 52 %, manteniendo un promedio de 43.63 %. Mientras que en su avenida principal la temperatura oscilaba entre 13.1 °C y 43.3 °C, presentando un promedio de 27.52 ± 6.80 °C. La humedad relativa tuvo una variación entre 20 % y 42 %, presentando un promedio de 26.58 ± 6.75 %. Además, la velocidad del viento se mantuvo entre 0 m/s y 4.3 m/s, con un promedio de 1.07 ± 0.74 m/s y su dirección fue principalmente al NO (ANEXO III Figura III.I).

La Escuela B tuvo una variación de temperatura entre 18.8 °C y 23.6 °C presentando un promedio de 21.05 °C. Hubo una oscilación en la humedad relativa entre 37% y 47%, manteniendo un promedio de 41.13 ± 2.80 %. Asimismo, en su avenida principal más cercana se registró un rango de temperatura entre 15.5 °C y 28.1°C, teniendo como promedio 21.68 ± 3.66 °C y una humedad relativa que varía entre 14 % y 42 % y presenta un promedio de 32.78 ± 5.77 %. Finalmente, la velocidad del viento se mantuvo entre 0 m/s y 1.7 m/s, con un promedio de 0.90 ± 0.52 m/s y una dirección del viento que no tiene predominancia, esto se puede deber a que se encuentra rodeada de edificios y el aire se queda atrapado (ANEXO III Figura III.III).

Dentro de los salones de la Escuela C la temperatura varió entre 20.6 °C y 25 °C con un promedio de 22.95 ± 1.25 °C y con un rango de humedad relativa entre 20 % y 46 % y un promedio de 34.32 ± 7.63 % en los 5 días de muestreo durante el horario previamente

señalado. Mientras tanto, en su avenida primaria más cercana se registró una temperatura entre 14.8 °C y 32.2 °C con un promedio de 25.36 ± 4.03 °C y una humedad que oscilaba entre 10 % y 53 % con una media de 24.75 ± 10.88 %. La velocidad del viento se mantuvo entre 0 m/s y 2.7 m/s, teniendo como promedio 1.19m/s (ANEXO III. Figura III.V) y una predominancia al O.

Tabla 4.1 Condiciones atmosféricas promedio registradas durante los días de muestreo en cada escuela

	Escuela	Temperatura (°C)	Humedad relativa (%)	Velocidad del viento (m/s)
A	Avenida	27.52 ± 6.80^a	26.57 ± 6.75^b	1.07 ± 0.74
	Salones	17.01 ± 2.50^a	43.51 ± 5.53^b	
B	Avenida	21.68 ± 3.69^a	32.78 ± 5.77^b	0.90 ± 0.52
	Salones	21.19 ± 1.22^a	41.06 ± 2.7^b	
C	Avenida	25.35 ± 4.06	24.73 ± 10.99	1.24 ± 0.82
	Salones	22.95 ± 1.25^a	34.32 ± 7.63^b	

^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Al comparar los datos de las tres escuelas por medio de una prueba de Tukey-Kramer, se encontró que sí existen diferencias significativas entre ellas ($p < 0,05$), tanto en la temperatura como en la humedad relativa; a excepción de la temperatura en la avenida y en los salones de la Escuela B, entre las avenidas de la Escuela B y C; así como en la temperatura y la humedad relativa entre las avenidas de A y C y entre los salones de la Escuela B y la avenida de la Escuela C. Asimismo, no se encontraron diferencias significativas entre la velocidad del viento de las escuelas. Las diferencias encontradas entre las escuelas se pueden deber a que las escuelas se encuentran en diferentes puntos de la ciudad y cada una tiene características particulares.

Realizando una correlación de Pearson para la Escuela B y C, cuyos datos presentaban una distribución normal, y una correlación de Spearman para la Escuela A se encontró un alto grado de relación negativa entre la temperatura y la humedad en la Escuela A ($r = -0.797$, p

< 0.05), Escuela B ($r = -0.606$, $p < 0.05$) y la Escuela C ($r = -0.808$, $p < 0.05$). Esto indica que a medida que la temperatura disminuyó, la humedad aumentó linealmente (Figura 4.1).

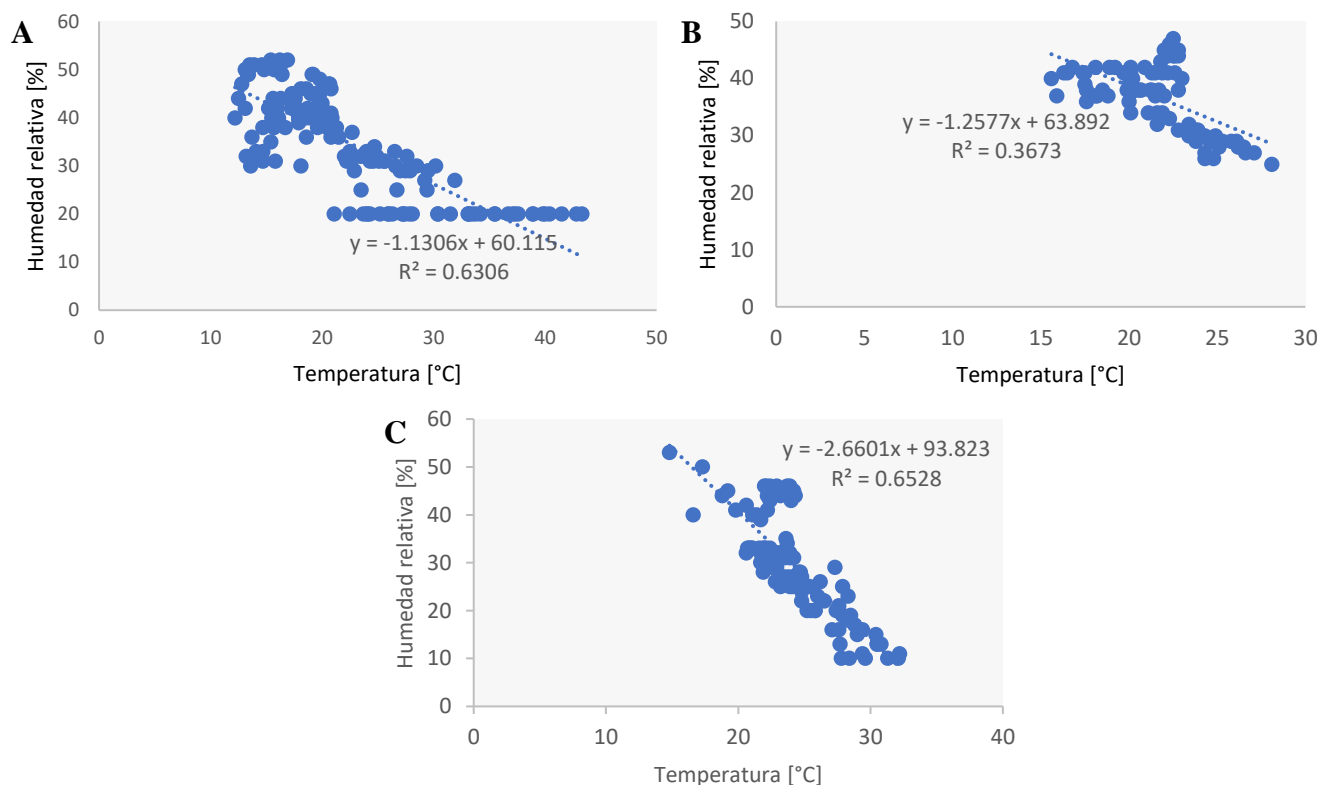


Figura 4.1 Relación entre temperatura y humedad relativa de todos los datos registrados en campo, así como la regresión lineal ($p < 0.05$) para la Escuela A (A), Escuela B (B) y Escuela C (C)

Características de los salones

La tabla 4.2 muestra las características generales de las escuelas a partir de la información obtenida de los cuestionarios aplicados a los maestros. Ningún salón contaba con aire acondicionado. En el 80% de los salones los alumnos se encontraban presentes al utilizar productos de limpieza, de estos el 20% utilizaban medidas preventivas al utilizarlos como abrir las ventanas. Algunos salones mostraban daños por humedad y polvo, 30% y 40%, respectivamente. La mayoría de los maestros, 80%, considera que la calidad del aire dentro de los salones y en el exterior es buena. Asimismo, todos los alumnos realizan actividades en el exterior.

Tabla 4.2 Características generales de los salones en las tres escuelas

	Escuela			
	A (n=3)	B (n=4)	C (n=3)	Total (n=10)
<i>Salones que cuentan con aire acondicionado</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>Los alumnos están presentes al usar productos de limpieza</i>	3 (100%)	2 (50%)	3 (100%)	8 (80%)
<i>Utilizan medidas preventivas</i>	0 (0%)	0 (0%)	2 (67%)	2 (20%)
<i>Los salones presentan</i>				
<i>Polvo</i>	0 (0%)	2 (50%)	2 (67%)	4 (40%)
<i>Daños por humedad</i>	1 (33%)	1 (25%)	1 (33%)	3 (30%)
<i>Calidad del aire en el salón</i>				
<i>Buena</i>	3 (100%)	3 (75%)	2 (67%)	8 (80%)
<i>Pobre</i>		1 (25%)	1 (33%)	2 (20%)
<i>Calidad del aire en el exterior</i>				
<i>Buena</i>	3 (100%)	4 (100%)	1 (33%)	8 (80%)
<i>Pobre</i>			2 (67%)	2 (20%)
<i>Los alumnos sí realizan actividades en el exterior</i>	3 (100%)	4 (100%)	3 (100%)	10 (100%)

Monitoreo de PM atmosférico

Escuela A

La figura 4.2A muestra la concentración de PM_{2.5} en la avenida principal más cercana de la Escuela A durante los 5 días de muestreo en el horario de clases. La línea roja representa el límite permisible de la NOM-025-SSA1-2014, el cual es de 45µg/m³ en un promedio de 24hr, y la línea azul marino representa el límite permisible establecido por la OMS de 25 µg/m³. La concentración de PM_{2.5} en la avenida primaria tiene una gran oscilación, entre 46.75µg/m³ y 1.71 µg/m³, con un promedio de 28.75± 10.79 µg/m³. A excepción de un valor registrado a la 9:11am de 46.75µg/m³ durante el monitoreo llevado a cabo el 18 de enero, todos los demás se encuentran por debajo del límite permisible en México. Asimismo, la mayoría de los datos son menores al límite establecido por la OMS.

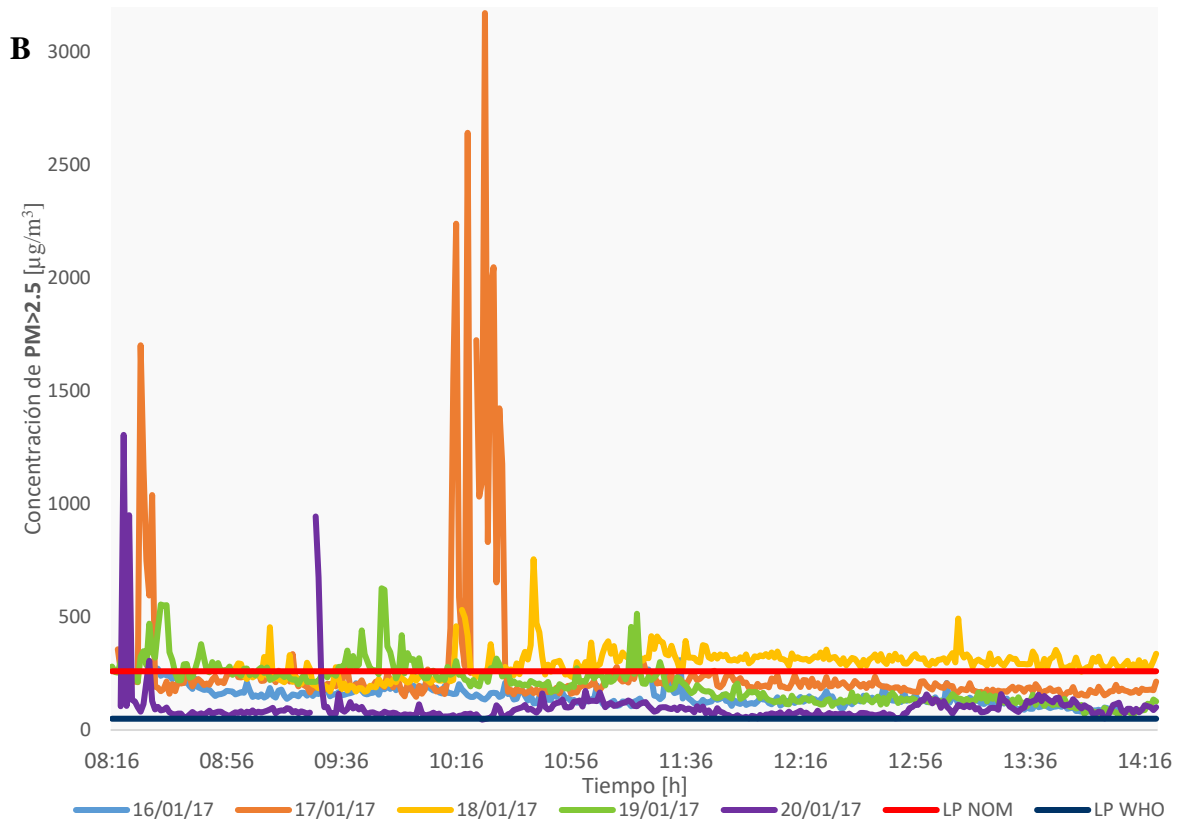
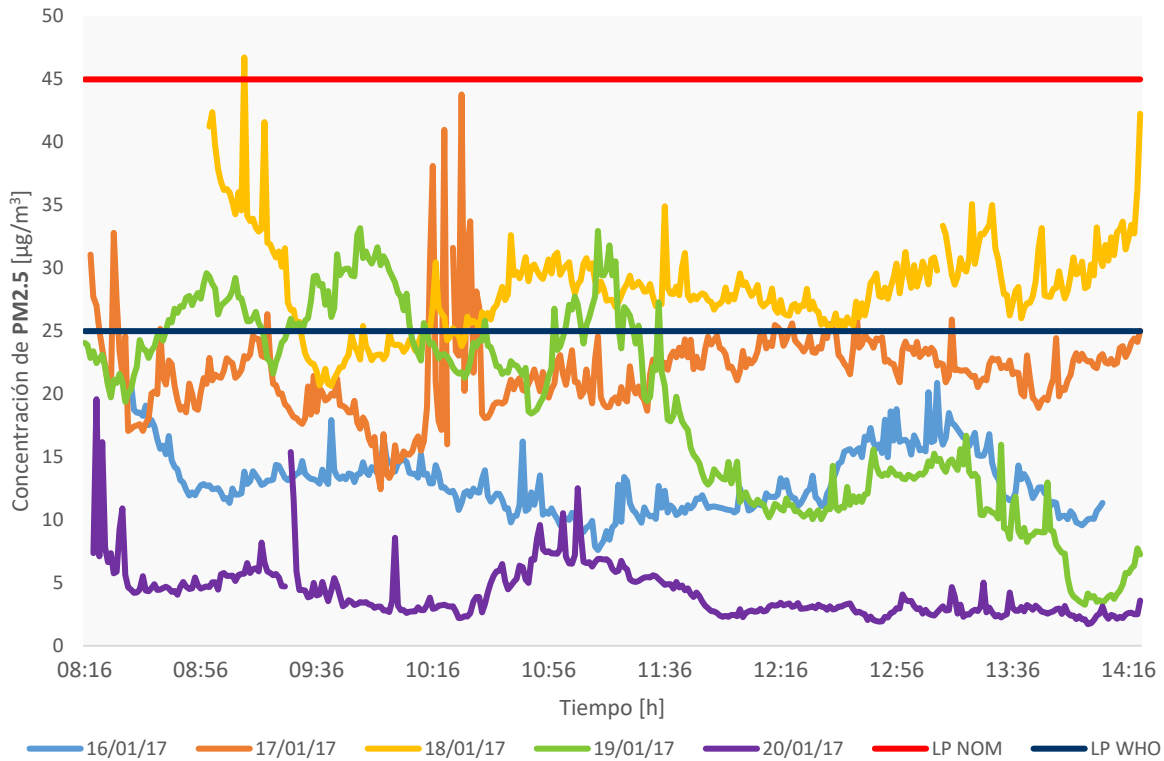
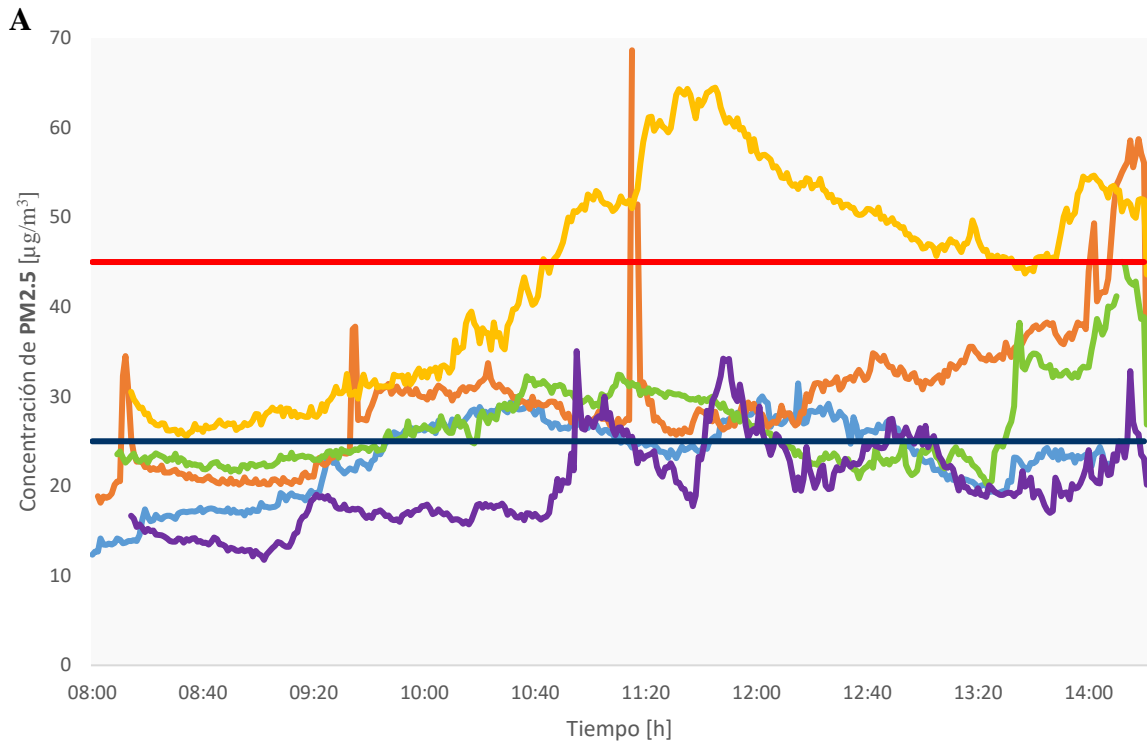


Figura 4.2 Concentración de $PM_{2.5}$ (A) y $PM_{>2.5}$ (B) en la avenida primaria más cercana a la Escuela A durante los 5 días de monitoreo. LP NOM: límite permisible para $PM_{2.5}$ NOM-025-SSA1-2014 ($45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y para PST NOM-024-SSA1-1993 ($260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24hr). LP WHO límite permisible establecido por la WHO para $PM_{2.5}$ ($25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y PM_{10} ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h).

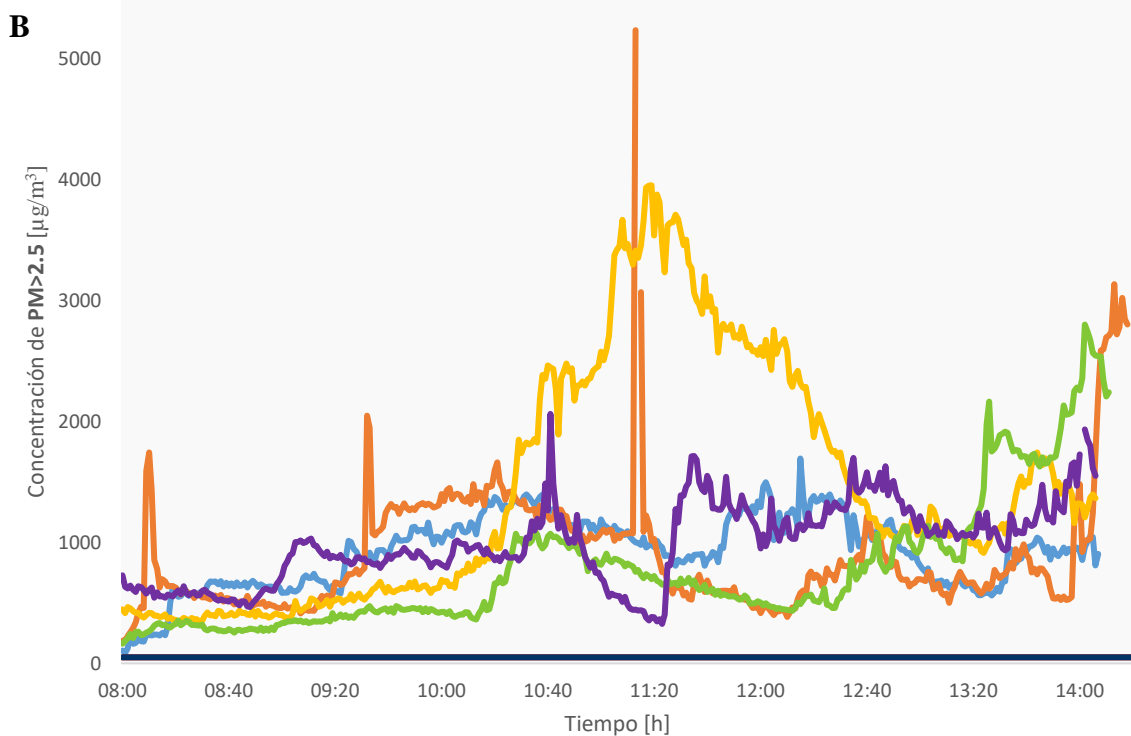
De la misma forma, la figura 4.2B demuestra la concentración de $PM_{>2.5}$ en la avenida primaria más cercana a la Escuela A. Dado que no se especifica un límite restrictivo del tamaño de las partículas se utilizó el límite permisible de la NOM-024-SSA1-1993 para PST, en la cual se establece un límite de $260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en un promedio de 24 h y se representa en una línea roja. Asimismo, se compararon con los límites establecidos por la OMS, dado que no establece un límite para PST se comparó con el límite para PM_{10} de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$. La concentración de $PM_{>2.5}$ en la avenida presentó un promedio de $200.80 \pm 176.80 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y varió ampliamente entre $45.72 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $3173 \mu\text{g}/\text{m}^3$, la variación del rango es a causa de los picos del día 17. Tanto para la concentración de $PM_{2.5}$ como para $PM_{>2.5}$ se observa que durante el monitoreo del 17 de enero ocurrieron varios picos alrededor de las 10 h. Esto se puede atribuir a la presencia de un mayor número de automóviles durante ese tiempo. Asimismo, la mayoría de los días presentan picos por arriba del límite establecido.

De igual modo, la figura 4.3A nos indica la concentración de $PM_{2.5}$ dentro de los salones de la Escuela A durante los días de monitoreo en el horario de clases y se presenta el límite permisible de acuerdo con la NOM-025-SSA1-2014 y el límite establecido por la OMS de $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$. La concentración se encuentra dentro de un rango entre $11.76 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $68.62 \mu\text{g}/\text{m}^3$, al igual que las concentraciones de $PM_{2.5}$ en la avenida más cercana uno de los picos más altos ocurrió durante el monitoreo del 17 de enero. Sin embargo, podemos observar que la mayoría del día 18 la concentración se mantuvo por encima del límite permisible en México.

Mientras tanto, la figura 4.3B nos indica las concentraciones de $PM_{>2.5}$ dentro de los salones, la cual tuvo una fluctuación amplia entre $86.68 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $5233.70 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Todos los días se encuentran por arriba del límite establecido por la NOM-024-SSA1-1993 para PST de $260 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Asimismo, se puede ver un pico abrupto a la misma hora el 17 de enero y parte del día 18 de enero tiene una concentración superior a los demás días. Tanto para $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ dentro de los salones, estos picos pueden ser ocasionados por el uso de aerosoles y/o productos de limpieza que se utilizaban mientras los alumnos se encontraban adentro. Cabe mencionar que al inicio de la semana de monitoreo se estaban cambiando los pizarrones de gis por pizarrones de plumones pudiendo contribuir a las altas concentraciones de $PM_{>2.5}$.



— 16/01/17 — 17/01/17 — 18/01/17 — 19/01/17 — 20/01/17 — LP NOM — LP WHO



— 16/01/17 — 17/01/17 — 18/01/17 — 19/01/17 — 20/01/17 — LP NOM — LP WHO

Figura 4.3 Concentración de $PM_{2.5}$ (A) y $PM_{>2.5}$ (B) en adentro de los salones a la Escuela A durante los 5 días de monitoreo en tres salones diferentes. LP NOM: límite permisible para $PM_{2.5}$ NOM-025-SSA1-2014 ($45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y límite permisible para PST NOM-024-SSA1-1993 ($260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h). LP WHO: límite permisible establecido por la WHO para $PM_{2.5}$ ($25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y PM_{10} ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h).

Cabe resaltar que la dirección del viento en la Escuela A (ANEXO III. Figura III.I) predomina hacia el NO y NE, por lo que tomando en cuenta la posición de la escuela y de la avenida primaria, parte del PM proveniente de los vehículos automotores se dirige hacia la escuela y tiene la posibilidad de penetrar a los salones. Diversos estudios han demostrado la capacidad de penetración del PM de exteriores a interiores, dependiendo de la velocidad del aire, las dimensiones de la abertura y el tamaño de la partícula (Cao et al., 2005; Catalano y Koutrakis, 2000; IARC, 2016).

Al realizar una correlación de Spearman, se encontró una relación negativa marginalmente significativa entre la temperatura y $PM_{2.5}$ ($r = -0.478$, $p < 0.05$) (Figura 4.4A) y un mayor grado de relación negativa entre la temperatura y la concentración de $PM_{>2.5}$ ($r = -0.679$, $p < 0.05$)

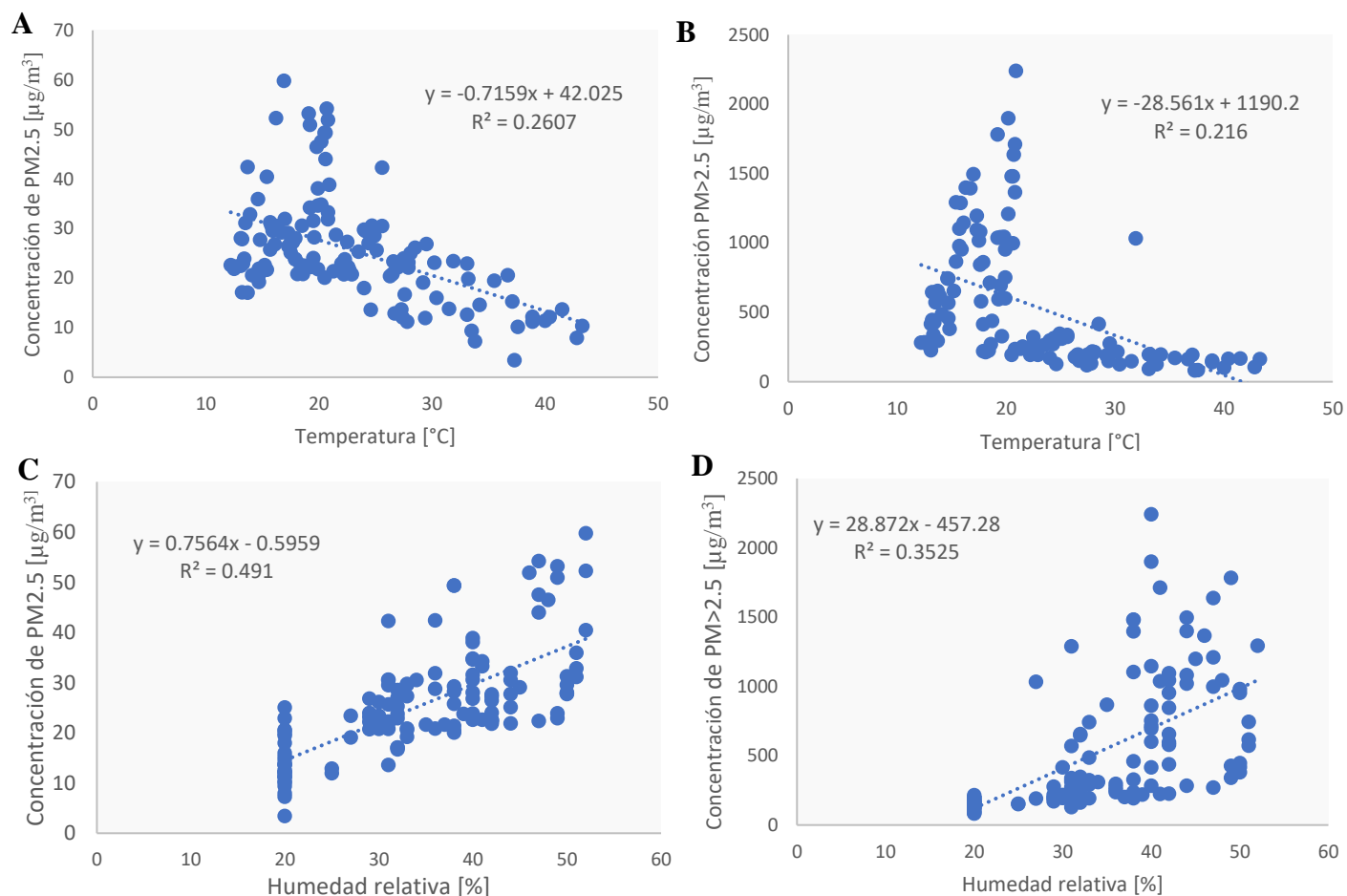


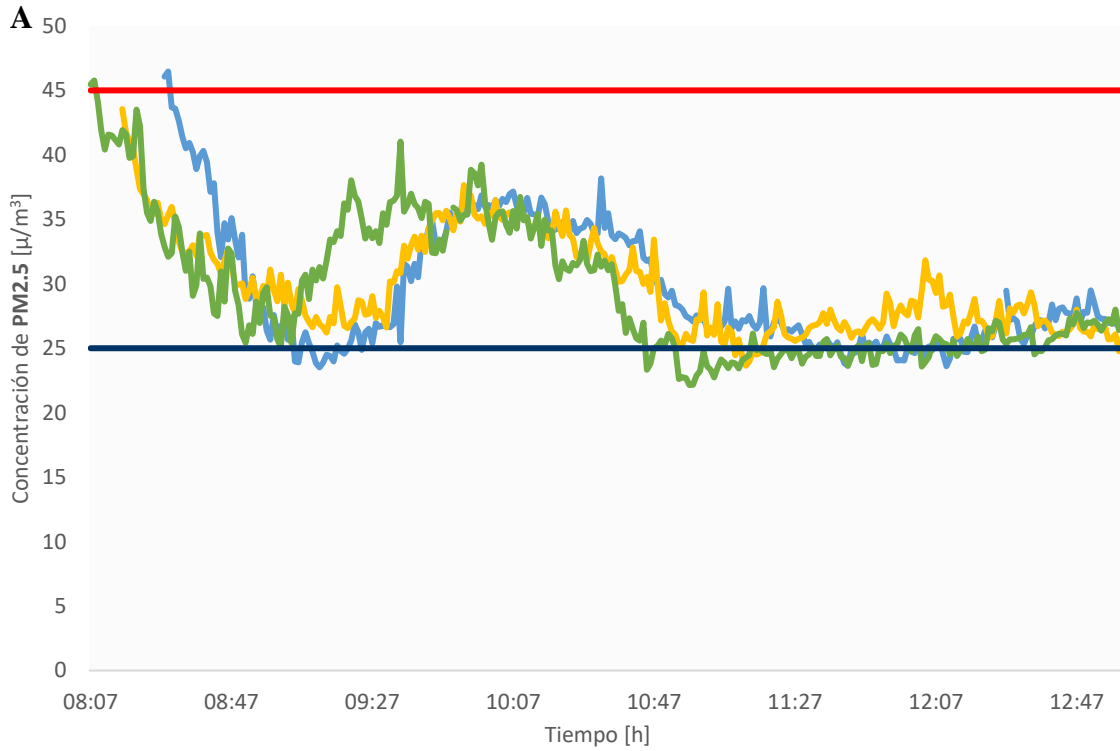
Figura 4.4 Relación entre la concentración de $PM_{2.5}$ y temperatura en los salones (A), $PM_{>2.5}$ y temperatura en la avenida primaria (B), $PM_{2.5}$ y humedad relativa en los salones (C) y $PM_{>2.5}$ y humedad relativa en la avenida primaria (D) en la Escuela A

(Figura 4.4B). Por otro lado, se halló un alto grado de relación positiva entre la humedad y $PM_{2.5}$ ($r= 0.715, p<0.05$) y $PM_{>2.5}$ ($r= 0.775, p<0.05$) (Figura 4.4C y 4.4D, respectivamente). La figura anterior nos demuestra que la concentración de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$, incluyendo la de la avenida primaria y en los salones, incrementa cuando la temperatura decrece, mientras que la humedad relativa aumenta. Diversos estudios como Banerjee, Singh, y Srivastava (2011); Bhaskar y Mehta (2010); Jian, Zhao, Zhu, Zhang, y Bertolatti (2012) y H. Li, Guo, Han, Tian, y Zhang (2015) han demostrado una relación negativa entre la concentración de PM y la temperatura, coincidiendo con nuestros resultados. Sin embargo, la relación positiva que se encontró entre la concentración de PM y humedad relativa discrepa de estudios como Banerjee *et al.* (2011) y Bhaskar y Mehta (2010), así como Dominick, Latif, Juahir, Aris, y Zain (2012) y Jayamurugan, Kumaravel, Palanivelraja, y Chockalingam (2013) mostrando una relación negativa entre la humedad y concentración de PM. Estas discrepancias pueden deberse a que estos estudios toman en cuenta la precipitación, la cual es uno de los mecanismos más importante para la remoción de contaminantes (Dominick *et al.*, 2012). Asimismo, la mayoría de estos estudios se llevaron a cabo en diversos lugares con condiciones diferentes a aquellas encontradas en las escuelas. Además, al tener capacidades higroscópicas las partículas son capaces de absorber vapor de agua por lo que pueden aumentar su tamaño y peso a una mayor humedad, la cual a la vez puede provocar la formación de partículas secundarias, mediante la nucleación, condensación y coagulación¹⁹ (Baettig *et al.*, 2017; Hussein, Karppinen, Kukkonen, y Ha, 2006; Jian *et al.*, 2012; Lee, Shin, y Bae, 2008). Igualmente, se observa en la figura 4.4C y D que parte de los datos se encuentran a 20% de humedad relativa, esto se debe a que la estación meteorológica WMR89A no registra datos menores a esto, por lo que se les asigna un valor de 20% a aquellos valores que se encontraban abajo del rango de detección.

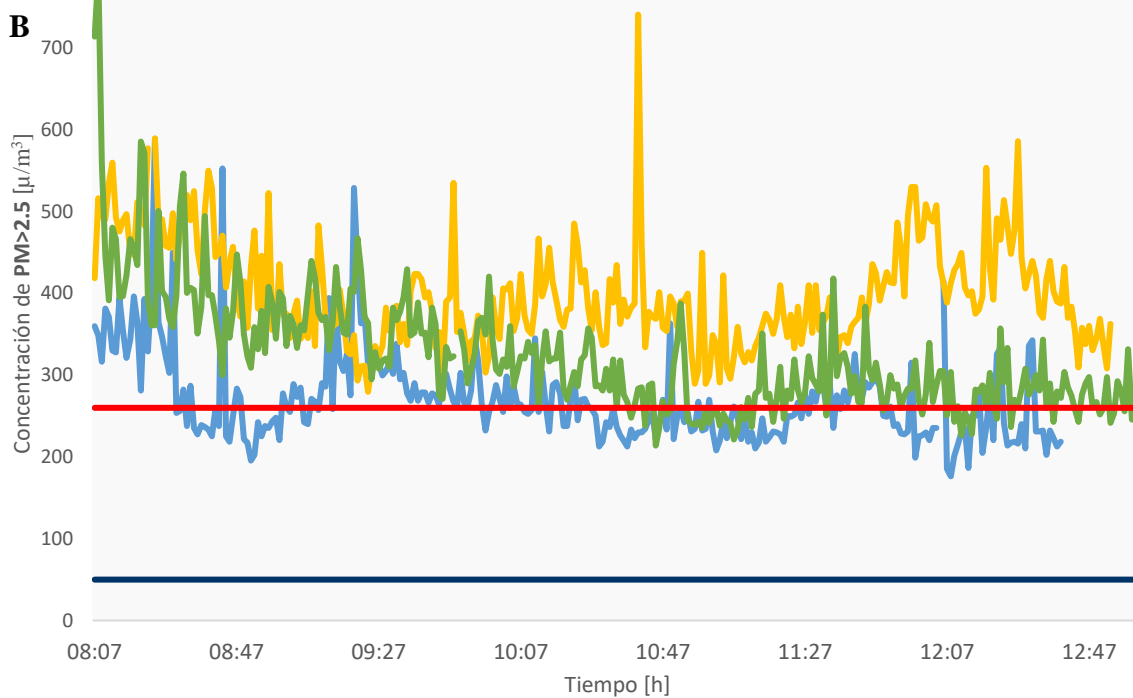
Escuela B

El monitoreo de la concentración de PM del día 31 de enero fue descartado dado que no se contaba con un mínimo de 70% de los datos de monitoreo durante el horario de clase.

¹⁹ Movimientos aleatorios de partículas, provocando choques entre ellas, generando partículas de mayor tamaño (Jacobs, 1999)



— 30/01/17 — 01/02/17 — 02/02/17 — LP NOM — LP WHO



— 30/01/2017 — 01/02/2017 — 02/02/2017 — LP NOM — LP WHO

Figura 4.5 Concentración de $PM_{2.5}$ (A) y $PM_{>2.5}$ (B) en la avenida principal más cercana la Escuela B, a 101m, durante los 3 días de monitoreo en tres salones diferentes. LP: límite permisible para $PM_{2.5}$ NOM-025-SSA1-2014 ($45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24hr) y límite permisible para PST NOM-024-SSA1-1993 ($260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24hr). LP WHO: límite permisible establecido por la WHO para $PM_{2.5}$ ($25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y PM_{10} ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h).

La figura 4.5A muestra la concentración de $PM_{2.5}$ en la avenida principal más cercana de la Escuela B durante los 5 días de muestreo en el horario de clases, 8:00 a 13:00 h. Al igual que para la Escuela A, la línea roja representa el límite permisible de $45\mu\text{g}/\text{m}^3$ en un promedio de 24 h de la NOM-025-SSA1-2014. La concentración de $PM_{2.5}$ en la avenida primaria, que se halla a 101 m de la escuela, se encuentra entre un rango de $46.46\mu\text{g}/\text{m}^3$ y $22.14\mu\text{g}/\text{m}^3$ con un promedio de $29.64 \pm 4.72\mu\text{g}/\text{m}^3$. A excepción de un par de datos todos los días del muestreo no rebasan el límite permisible determinado por las normas mexicanas, mientras que la mayoría de los datos de la concentración de $PM_{>2.5}$ en la avenida primaria (Figura 4.5B) se encuentran por encima del límite. La concentración de $PM_{>2.5}$ tuvo una amplia fluctuación entre $791.01\mu\text{g}/\text{m}^3$ y $176.25\mu\text{g}/\text{m}^3$ y un promedio de $332.67 \pm 84.56\mu\text{g}/\text{m}^3$. Durante todo el 1 de febrero se registraron datos superiores al límite permisible. El monitor nefelométrico se localizó en la avenida primaria en la cercanía donde se hallaba un semáforo, por lo que los automóviles se encontraban en ralentí esperando, pudiendo atribuir a que se sobrepasara el límite en todos los días de muestreo.

Dentro de los salones de la Escuela B se registró la concentración de $PM_{2.5}$ con un máximo de $69.23\mu\text{g}/\text{m}^3$ y un mínimo de $29.71\mu\text{g}/\text{m}^3$ con un promedio de $35.64 \pm 4.66\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Figura 4.6A). Asimismo, la concentración $PM_{>2.5}$ tuvo una amplia variación entre $4150.33\mu\text{g}/\text{m}^3$ y $307.72\mu\text{g}/\text{m}^3$, obteniendo un promedio de $592.62 \pm 264.94\mu\text{g}/\text{m}^3$ (Figura 4.6B). Tanto para $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ se aprecian dos picos al inicio del horario escolar en el muestreo del 2 de febrero de 2017, los cuales pueden atribuirse al movimiento o alguna actividad que hayan realizado los alumnos. El uso de pizarrones de gis, polvo y/o la resuspensión de las partículas pueden ser la causa de que todos los días de monitoreo, en el caso de la concentración de $PM_{>2.5}$, superen el límite permisible (Canha *et al.*, 2016; Chen *et al.*, 2016).

A diferencia de la Escuela A, la dirección del viento en la Escuela B (ANEXO III. Fig. III.III) no tiene predominancia, por ello el PM proveniente de la avenida primaria más cercana puede dispersarse hacia varias direcciones, incluyendo la escuela.

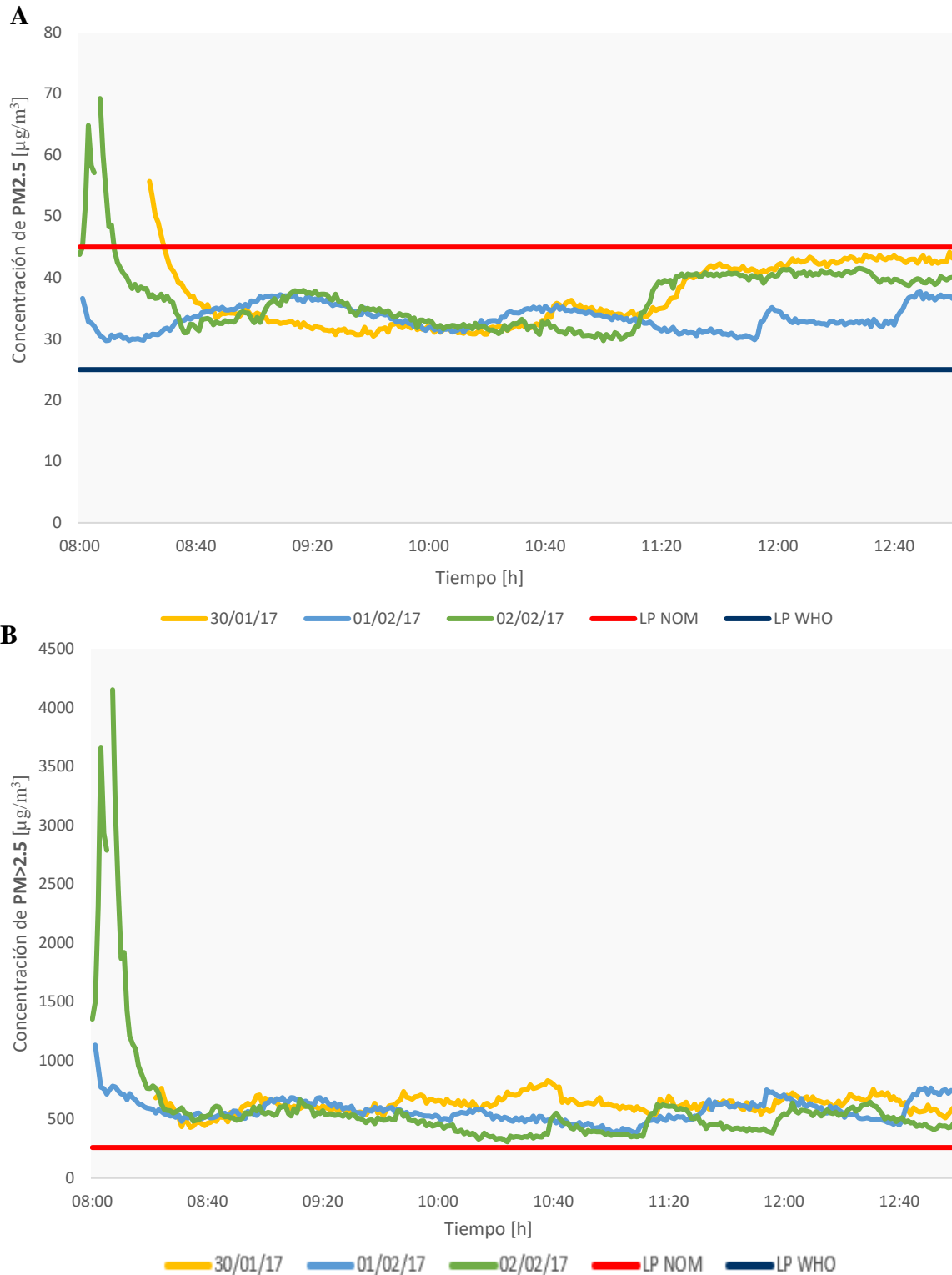


Figura 4.6 Concentración de $PM_{2.5}$ (A) y $PM_{>2.5}$ (B) adentro de los salones a la Escuela B durante los 3 días de monitoreo en tres salones diferentes durante el horario de clases. LP: límite permisible para $PM_{2.5}$ NOM-025-SSA1-2014 ($45 \mu g/m^3$ promedio por 24 h) y límite permisible para PST NOM-024-SSA1-1993 ($260 \mu g/m^3$ promedio por 24 h). LP WHO: límite permisible establecido por la WHO para $PM_{2.5}$ ($25 \mu g/m^3$ promedio por 24 h) y PM_{10} ($50 \mu g/m^3$ promedio por 24 h).

Al realizar una correlación de Pearson, se encontró una relación negativa entre la temperatura y $PM_{2.5}$ ($r = -0.457$, $p < 0.05$) (Figura 4.7A) y un menor grado de relación negativa entre la temperatura y la concentración de $PM_{>2.5}$ ($r = -0.133$, $p < 0.05$) (Figura 4.7B). Asimismo, se halló una relación positiva entre la humedad y $PM_{2.5}$ ($r = 0.648$, $p < 0.05$) y $PM_{>2.5}$ ($r = 0.746$, $p < 0.05$) (Figura 4.7C y 4.7D, respectivamente). Al igual que la Escuela A, la Escuela B presenta una relación negativa entre la temperatura y PM y una relación positiva entre la humedad relativa y la concentración de PM.

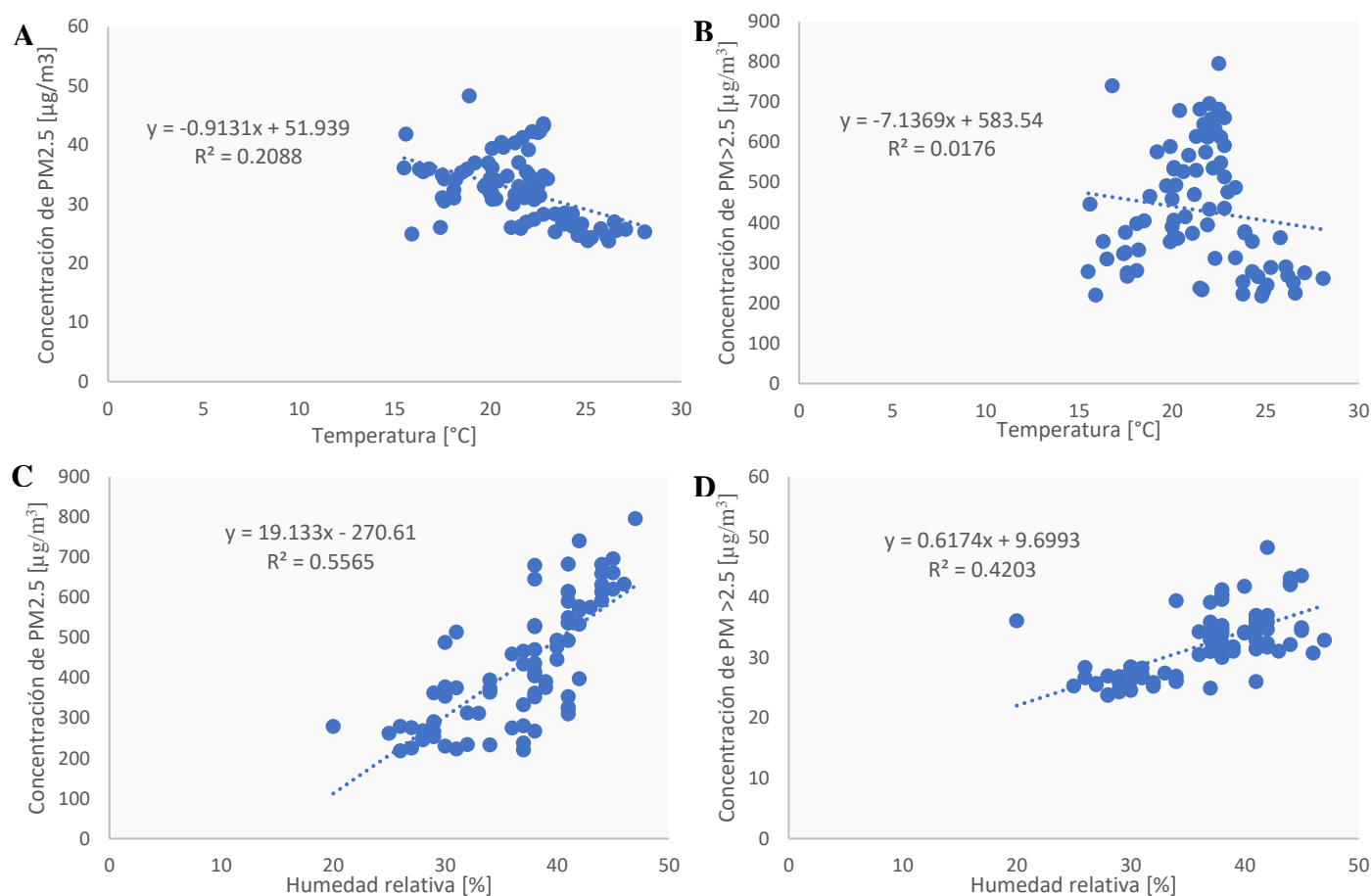


Figura 4.7 Relación entre la concentración de $PM_{2.5}$ y temperatura en los salones (A), $PM_{>2.5}$ y temperatura en la avenida primaria (B), $PM_{2.5}$ y humedad relativa en los salones (C) y $PM_{>2.5}$ y humedad relativa en la avenida primaria (D) en la Escuela B

Escuela C

Se descartó el monitoreo de los días 28 de febrero y 2 de marzo de 2017 ya que no se contó con un mínimo de 70% de datos de la concentración de PM durante el horario de clases para la Escuela C, el cual era de 7:50 h a 14:20 h.

La concentración de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ en la avenida principal, localizada a 378 m de la Escuela C, es representada en la figura 4.8A y 4.8B, respectivamente. A la vez, se muestra el límite permisible en un promedio de 24 h para $PM_{2.5}$, $45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y PST, $260 \mu\text{g}/\text{m}^3$, mediante una línea roja. De la misma forma, se representa mediante una línea azul marino los límites establecidos por la OMS en un promedio de 24 h para $PM_{2.5}$, $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$, y PM_{10} , $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$. El $PM_{2.5}$ tuvo un promedio de $22.41 \pm 8.93 \mu\text{g}/\text{m}^3$, variando entre $44.95 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $5.63 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Mientras que, $PM_{>2.5}$ fluctuó ampliamente entre $1003.03 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $8976 \mu\text{g}/\text{m}^3$, con un promedio de $304.78 \pm 127.32 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

En la figura 4.8B se observa un incremento de la concentración de $PM_{>2.5}$ al inicio del monitoreo, aproximadamente de 8:00 a 10:00 h, lo que se puede atribuir a un mayor número de vehículos. Por lo general, a estas horas los vehículos en la avenida primaria se encontraban en reposo o a una velocidad baja. Cabe resaltar que el monitoreo del 3 de marzo muestra un aumento de $PM_{2.5}$ a partir de las 9:00 h a diferencia de los demás días, los cuales muestran un descenso. Sin embargo, este aumento no se observa para las $PM_{>2.5}$ indicándonos que hubo un mayor número de fuentes de partículas finas. Las fuentes podrían ser, principalmente, vehículos que utilizan diésel, aquellos que utilicen gasolina y la erosión del suelo (Calderón-Garcidueñas, Kulesza, Doty, D'Angiulli, y Torres-Jardón, 2015). No obstante, se necesitan análisis posteriores sobre la caracterización de la flota vehicular y su contribución en la formación del PM. Asimismo, en la figura 4.8A ningún día de monitoreo se encuentra por encima del límite permisible en México, sin embargo, la mayoría de los datos del día 3 de marzo sobrepasa el límite determinado por la OMS.

Mientras tanto, adentro de los salones la concentración de $PM_{2.5}$ (Figura 4.9A) tuvo un máximo de $252.19 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y un mínimo de $11.17 \mu\text{g}/\text{m}^3$, con un promedio de $38.92 \pm 27.32 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y el $PM_{>2.5}$ (Figura 4.9B) presentó una amplia oscilación entre $14240 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y 213.28

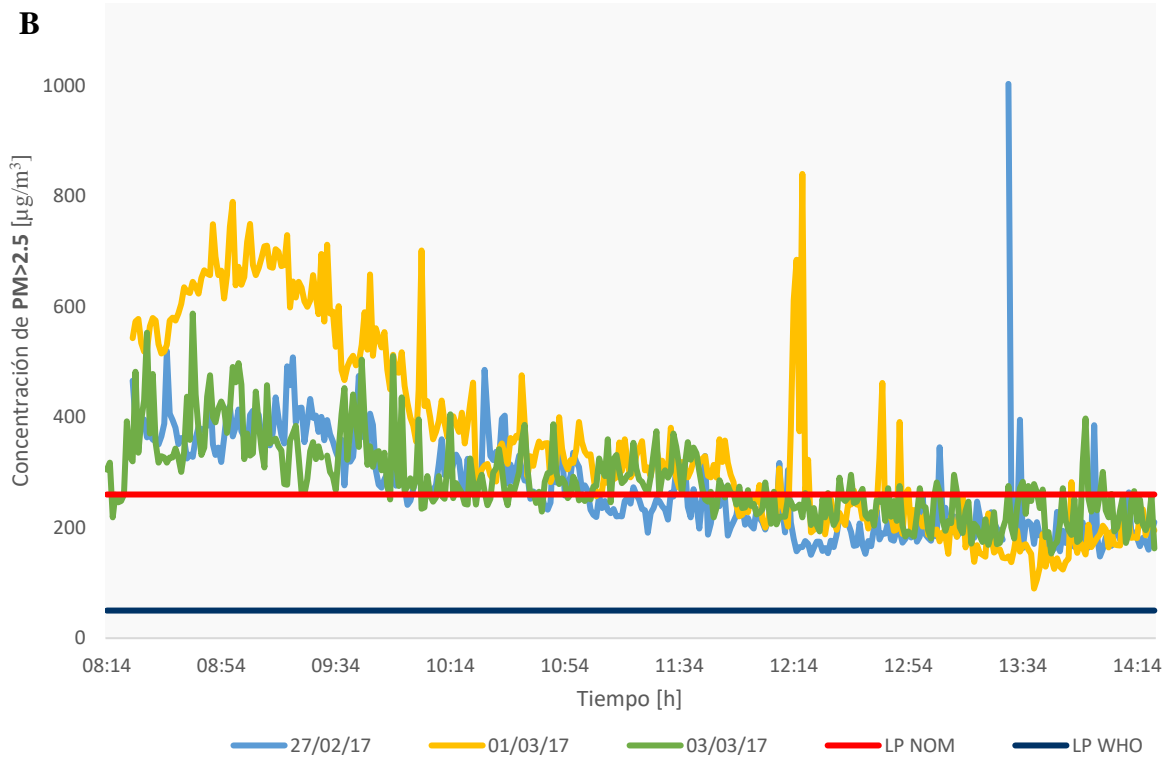
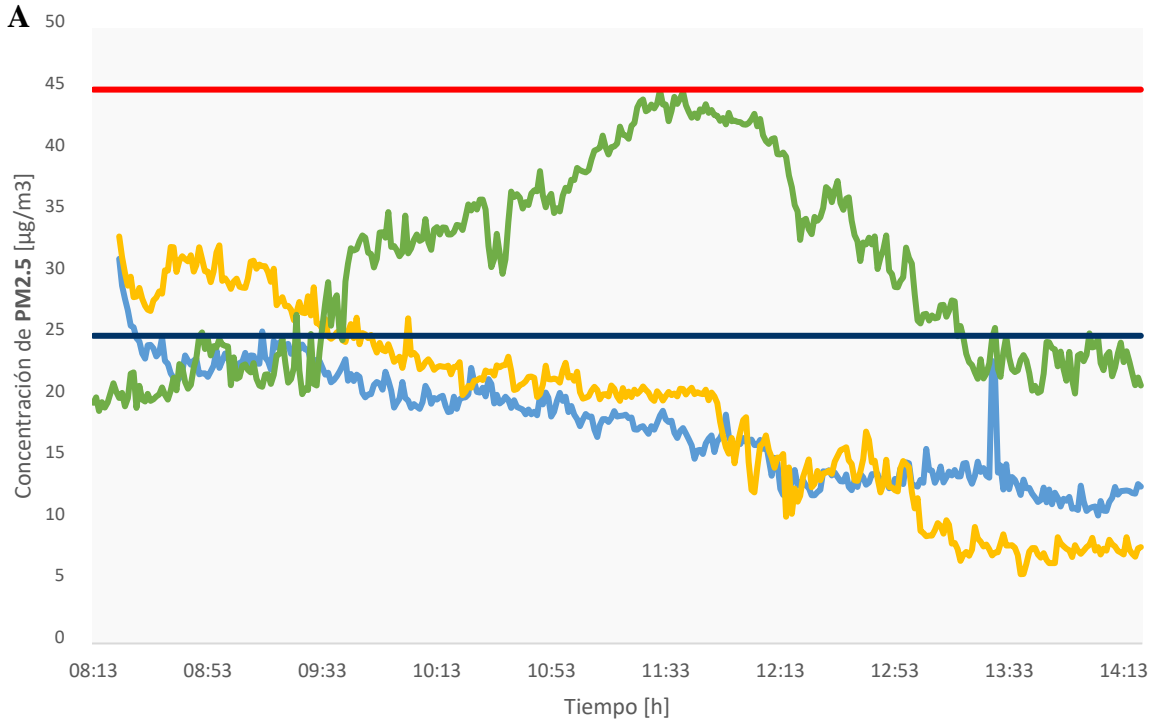


Figura 4.8 Concentración de $PM_{2.5}$ (A) y $PM_{>2.5}$ (B) en la avenida primaria a 378 m de la Escuela C durante los 3 días de monitoreo en tres salones diferentes durante el horario de clases. LP: límite permisible para $PM_{2.5}$ NOM-025-SSA1-2014 ($45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y límite permisible para PST NOM-024-SSA1-1993 ($260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h). LP WHO: límite permisible establecido por la WHO para $PM_{2.5}$ ($25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y PM_{10} ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h).

$\mu\text{g}/\text{m}^3$ y un promedio de $1175.91 \pm 1379.28 \mu\text{g}/\text{m}^3$. La amplitud del rango se debe a los picos durante los días 27 de febrero y 3 de marzo. A pesar de haber descartado los valores atípicos, se muestran picos que sobrepasan el límite permisible, tanto para $\text{PM}_{2.5}$ y $\text{PM}_{>2.5}$, de manera exacerbada. Se pueden atribuir estos picos a alguna actividad que se haya llevado a cabo en esos instantes en los salones, sin embargo, se tendría que corroborar las actividades con el

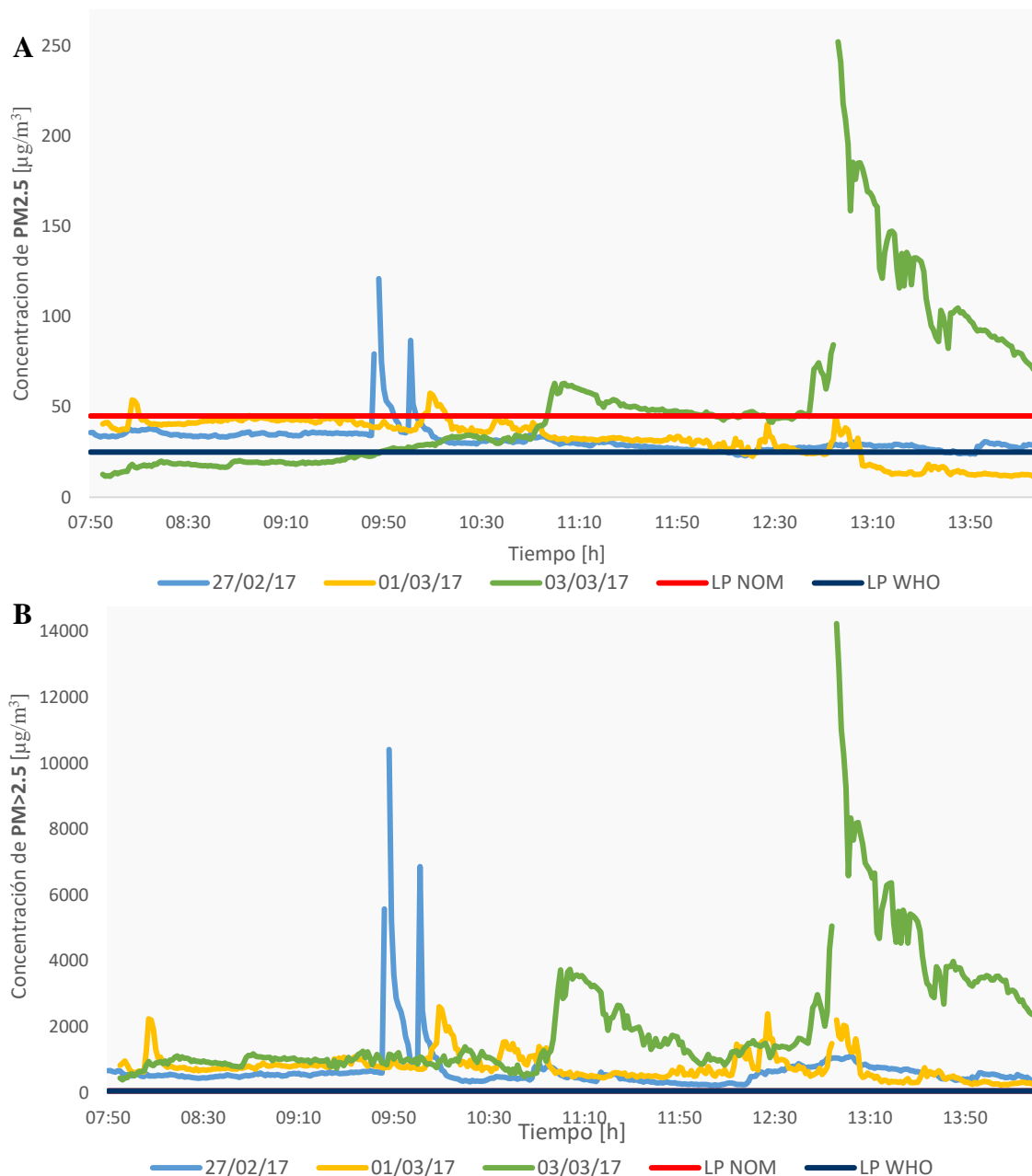


Figura 4.9 Concentración de $\text{PM}_{2.5}$ (A) y $\text{PM}_{>2.5}$ (B) en tres salones diferentes de la Escuela C durante los 3 días de monitoreo en el horario de clases. LP: límite permisible para $\text{PM}_{2.5}$ NOM-025-SSA1-2014 ($45 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24hr) y límite permisible para PST NOM-024-SSA1-1993 ($260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24hr). LP WHO: límite permisible establecido por la WHO para $\text{PM}_{2.5}$ ($25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h) y PM_{10} ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ promedio por 24 h).

responsable del salón. Asimismo, cabe mencionar que la Escuela C tenía un mayor número de alumnos y salones de menor tamaño que las demás escuelas y los maestros indicaron que había polvos y señales de humedad en los salones. A la vez, no se estaban supervisando los monitores dentro de los salones por lo que sería factible que se haya interferido con ellos.

Al realizar una correlación de Pearson, se encontró una relación negativa entre la temperatura y $PM_{2.5}$ ($r = -0.611$, $p < 0.05$) (Figura 4.10A) y un menor grado de relación negativa entre la temperatura y la concentración de $PM_{>2.5}$ ($r = -0.447$, $p < 0.05$) (Figura 4.10B). Igualmente, al realizar una correlación de Pearson se halló una relación positiva entre la humedad y $PM_{2.5}$ ($r = 0.686$, $p < 0.05$) y $PM_{>2.5}$ ($r = 0.694$, $p < 0.05$) (Figura 4.10C y 4.10D, respectivamente). Al igual que la Escuela A y la Escuela B, la Escuela C exhibe una relación negativa entre la temperatura y PM y una relación positiva entre la humedad relativa y la concentración de PM. Como se mencionó anteriormente, esto se puede deber a la capacidad higroscópica de las partículas, por lo que pueden aumentar su tamaño y peso a una mayor humedad (Jian *et al.*, 2012).

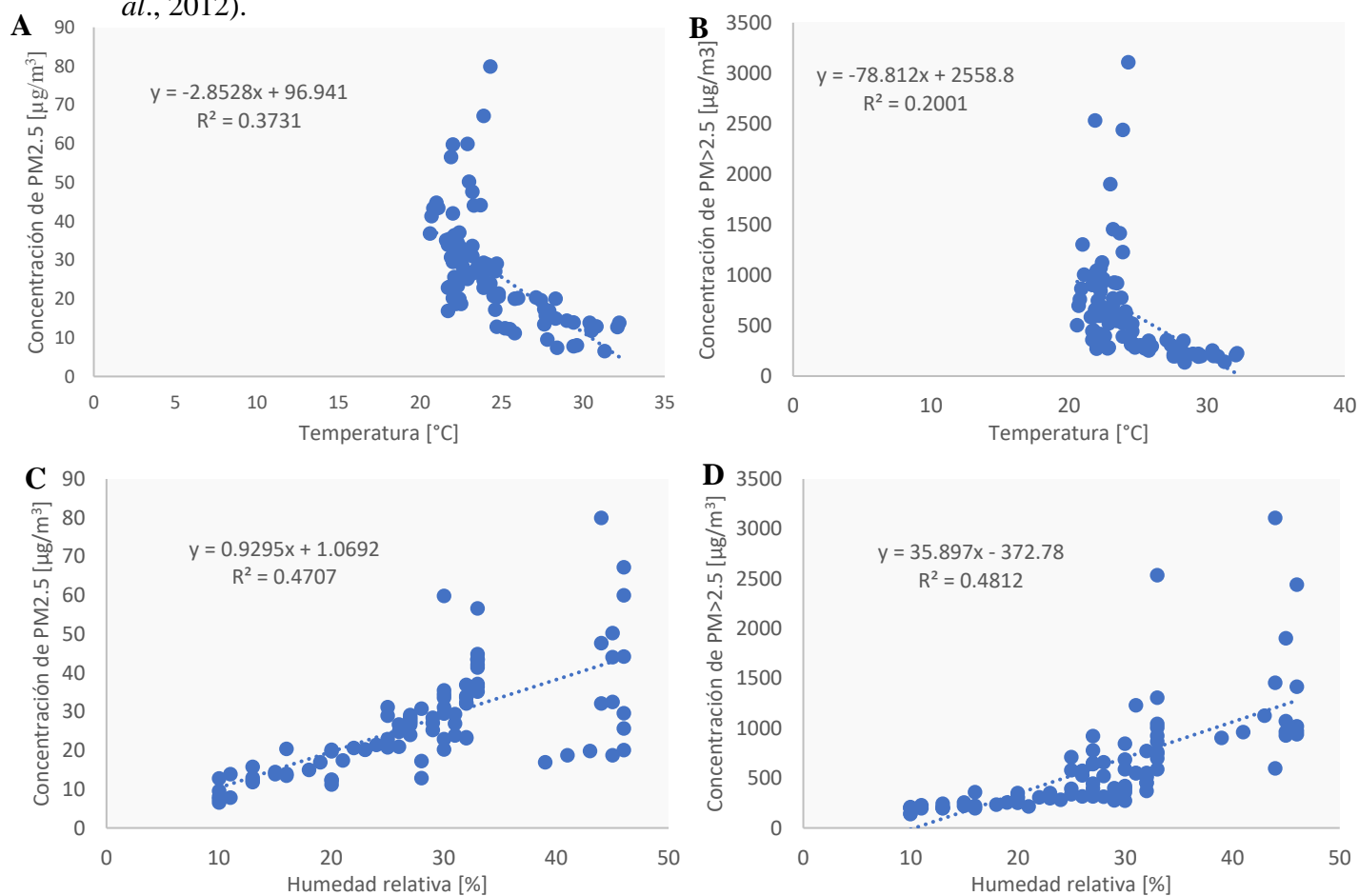


Figura 4.10 Relación entre la concentración de $PM_{2.5}$ y temperatura en los salones (A), $PM_{>2.5}$ y temperatura en la avenida principal (B), $PM_{2.5}$ y humedad relativa en los salones (C) y $PM_{>2.5}$ y humedad relativa en la avenida primaria (D) en la Escuela C

En resumen, la tabla 4.3 muestra la concentración promedio de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$, tanto en la avenida primaria como en los salones, para las tres escuelas. La Escuela B presentó la concentración más alta de PM en la avenida principal que fue de $29.64 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $332.67 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$, respectivamente, siguiendo la Escuela C y la Escuela A. Mientras que, la concentración más alta dentro de los salones es en Escuela C con $38.92 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de $PM_{2.5}$ y $1175.91 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de $PM_{>2.5}$. A pesar de que la Escuela B tiene la concentración más alta en la avenida, tiene una concentración promedio de $PM_{>2.5}$ de $592.62 \mu\text{g}/\text{m}^3$ dentro de los salones, la cual es significativamente menor que el de la escuela A, con $1008.52 \mu\text{g}/\text{m}^3$, y la escuela B, con $1175.91 \mu\text{g}/\text{m}^3$.

Asimismo, la tabla 4.3 nos muestra un promedio de la concentración de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ para cada escuela, el cual se obtuvo al agrupar los datos de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ de la avenida principal y de los salones de las escuelas. En cuanto a la concentración de $PM_{2.5}$, el valor promedio más alto fue de $32.69 \pm 5.57 \mu\text{g}/\text{m}^3$ para la Escuela B, seguido de la Escuela C con $30.95 \pm 22.20 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y la Escuela A con $23.08 \pm 11.65 \mu\text{g}/\text{m}^3$ (Figura 4.11). Mientras que, la mayor concentración de $PM_{>2.5}$ fue encontrada en la Escuela C con un valor de $755.70 \pm 1087.06 \mu\text{g}/\text{m}^3$, siguiendo con $616.45 \pm 622.56 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en la Escuela A y $464.75 \pm 236.77 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en la Escuela B (Figura 4.12).

Tabla 4.3 Concentración de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ promedio con su desviación estándar en la avenida y salones de las escuelas

Escuela		$PM_{2.5} (\mu\text{g}/\text{m}^3)$	$PM_{>2.5} (\mu\text{g}/\text{m}^3)$
A (0 m) n=3595	Avenida	17.07 ± 9.28	200.80 ± 176.80
	Salones	28.75 ± 10.79	1008.52 ± 637
	Promedio	23.08 ± 11.65	616.45 ± 622.56
B (101 m) n=1728	Avenida	29.64 ± 4.72	332.67 ± 84.56
	Salones	35.64 ± 4.66	592.62 ± 264.94
	Promedio	32.69 ± 5.57	464.75 ± 236.77
C (378 m) n=2241	Avenida	22.41 ± 8.93	304.79 ± 127.33
	Salones	38.92 ± 27.32	1175.91 ± 1379.28
	Promedio	30.95 ± 22.20	755.70 ± 1087.06

Al observar el promedio para $PM_{2.5}$ de las escuelas, tanto en las avenidas como en los salones, se logra ver que ninguno se encuentra por arriba del límite determinado por la NOM-025-SSA1-2014 de $45 \mu\text{g}/\text{m}^3$. No obstante, al comparar los datos contra $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$, el cual es el límite establecido por la OMS todos lo sobrepasan, a excepción del promedio de $PM_{2.5}$ en la avenida primaria de la Escuela A. En caso de la cantidad promedio de $PM_{>2.5}$, al compararlo con el límite señalado para PST por la Secretaria de Salud en México, $260 \mu\text{g}/\text{m}^3$ se observa que las concentraciones promedio en los salones y en las avenidas de las tres escuelas se encuentran por encima de él, a excepción de la avenida en la Escuela A. Asimismo, todas las concentraciones promedio de PM_{10} sobrepasan el límite establecido por la OMS, el cual es de $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Se comparó contra el límite para PM_{10} dado que la OMS considera que este es un mejor parámetro que las PST.

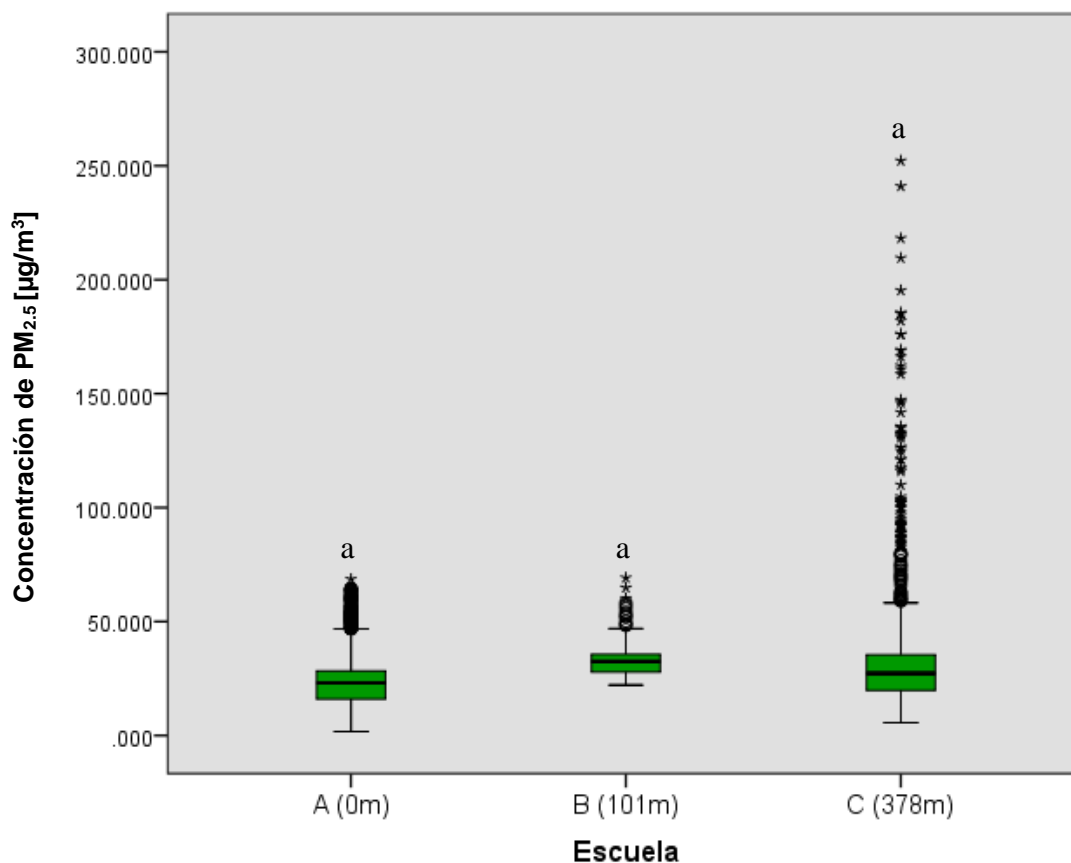


Figura 4.11 Concentración de $PM_{2.5}$ de las escuelas según su distancia a la avenida primaria más cercana

^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

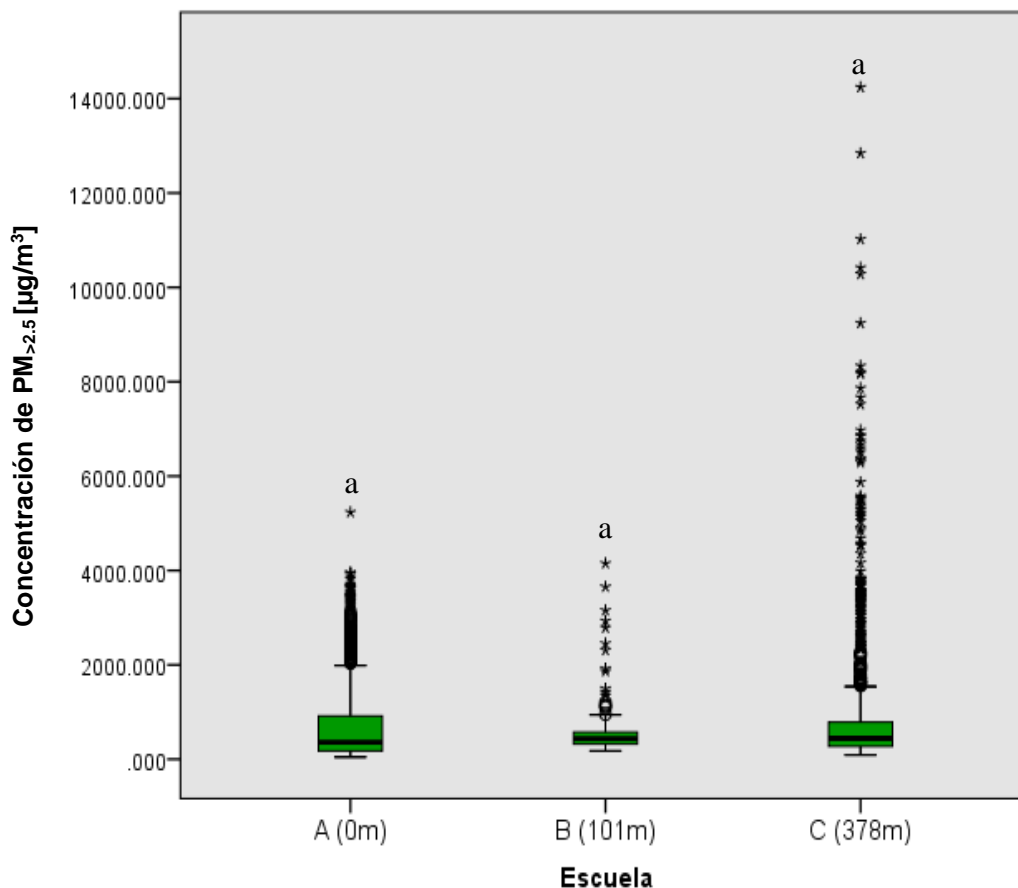


Figura 4.12 Concentración de $PM_{2.5}$ de las escuelas según su distancia a la avenida primaria más cercana
^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Se encontraron diferencias significativas en la concentración promedio de $PM_{2.5}$, así como para la concentración promedio de $PM_{>2.5}$, de todas las escuelas (A, B y C) ($p < 0.05$).

En todas las escuelas, tanto para $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$, la concentración de PM fue mayor en los salones que en la avenida primaria, indicándonos que hay más fuentes que emiten PM dentro de los salones. Como se mencionó anteriormente, esto puede deberse al PM generado por el uso de pizarrones de gis, actividades que realicen los alumnos, la resuspensión del material o alguna otra actividad. Igualmente, la concentración para $PM_{>2.5}$ fue mucho mayor que para la concentración de $PM_{2.5}$, mostrando que hay más fuentes que emiten partículas de mayor tamaño. A pesar de que la Escuela A es la más cercana a la avenida primaria y su dirección del viento predomina hacia el NO, dirigiendo el PM proveniente de la avenida a la escuela, tiene una menor concentración de $PM_{2.5}$ en los salones que las demás escuelas. Mientras que,

la Escuela C presenta la concentración más alta tanto para $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ en los salones, a pesar de ser la escuela más lejana de la avenida primaria. En el caso de las avenidas primarias, las principales fuentes serían los automóviles, ya sea privados, de transporte público y/o de carga. La Escuela A presenta una concentración de PM en la avenida menor a las demás escuelas, seguida por la Escuela C que se halla a 378 m y la Escuela B a 101 m. Por lo que se requiere en futuros estudios un conteo de los vehículos automotores para caracterizar la flota vehicular y el tránsito en la avenida, así como que los monitores nefelométricos sean calibrados en una cámara de aire cero, con el fin de calibrar el flujo de aire.

Razón Interior/Exterior (I/O)

Por otro lado, la tabla 4.4 y la figura 4.13 y 4.14 nos muestran la razón I/O de las tres escuelas. En el caso de $PM_{>2.5}$, la razón más alta con 5.02 es en la Escuela A, seguido por 3.86 en la Escuela C y la Escuela B con una razón mucho menor de 1.78. La Escuela C tiene una razón I/O de 1.78, siguiendo la Escuela A con 1.68 y la Escuela B con 1.20.

A pesar de que la avenida primaria de la Escuela A es la más cercana de las tres, no se observa una influencia significativa de la concentración de PM de la avenida, ya que la concentración de $PM_{>2.5}$ en el interior de los salones es 5 veces mayor a la del exterior. De la misma forma, en la Escuela C la concentración de $PM_{>2.5}$ es casi 4 veces mayor en los salones que en el exterior. Como se mencionó previamente, esto puede ser causado por las actividades que se realizan en los salones y por los picos de concentración de PM en los salones que se registraron en las escuelas.

Tabla 4.4 Razón I/O en las escuelas

	PM	Adentro	Afuera	I/O
A (0m)	2.5	28.75 ± 10.79	17.07 ± 9.28	1.68^a
	>2.5	1008.52 ± 637	200.80 ± 176.80	5.02^b
B (101m)	2.5	35.64 ± 4.66	29.64 ± 4.72	1.20^a
	>2.5	592.62 ± 264.94	332.67 ± 84.56	1.78^b
C (378m)	2.5	38.92 ± 27.32	22.41 ± 8.93	1.74^a
	>2.5	1175.91 ± 1379.28	304.79 ± 127.33	3.86^b

^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Sí se encontraron diferencias significativas entre la razón I/O de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ y las tres escuelas (A, B Y C) mediante una prueba de Tukey-Kramer.

La razón I/O es mayor a 1 en todos los casos, indicándonos que hay un mayor número de fuentes en el interior de las escuelas. Igualmente, diversos estudios como, Alghamdi (2013); Chen *et al.* (2016); Chithra y Nagendra (2014) y Holmes y Pardyjak (2014), muestran una razón I/O mayor a 1 para ciertas escuelas y hogares. Sin embargo, en ciertas zonas de muestreo en estos estudios, así como el llevado a cabo por Diapouli, Chaloulakou, y Spyrellis (2007), no se encuentra una I/O mayor a 1. Estas discrepancias pueden ser ocasionadas dado que hacen un monitoreo de días completos, incluyendo horas en donde los salones u hogares se encuentran desocupados. Se ha demostrado que la razón I/O puede llegar a aumentar al encontrarse ocupados los espacios, es decir la actividad humana dentro de los salones puede generar un incremento de I/O, ya sea por las actividades que se lleven a cabo o la resuspensión de partículas. Asimismo, al ser la razón I/O mayor a 1 nos puede indicar que las fuentes en el exterior de los salones, así como la cercanía a la avenida, influye poco en la concentración de PM adentro de los salones.

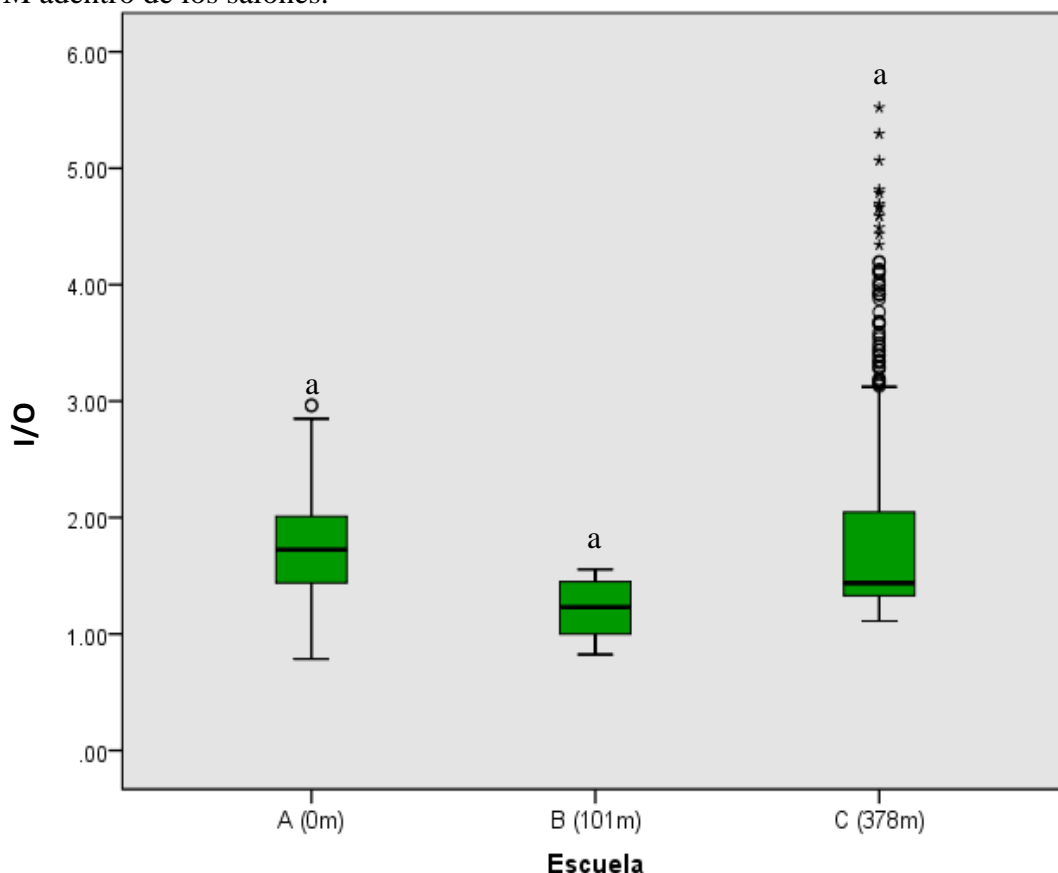


Figura 4.13 Razón I/O para la concentración de $PM_{2.5}$ de las escuelas según su distancia a la avenida primaria más cercana

^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

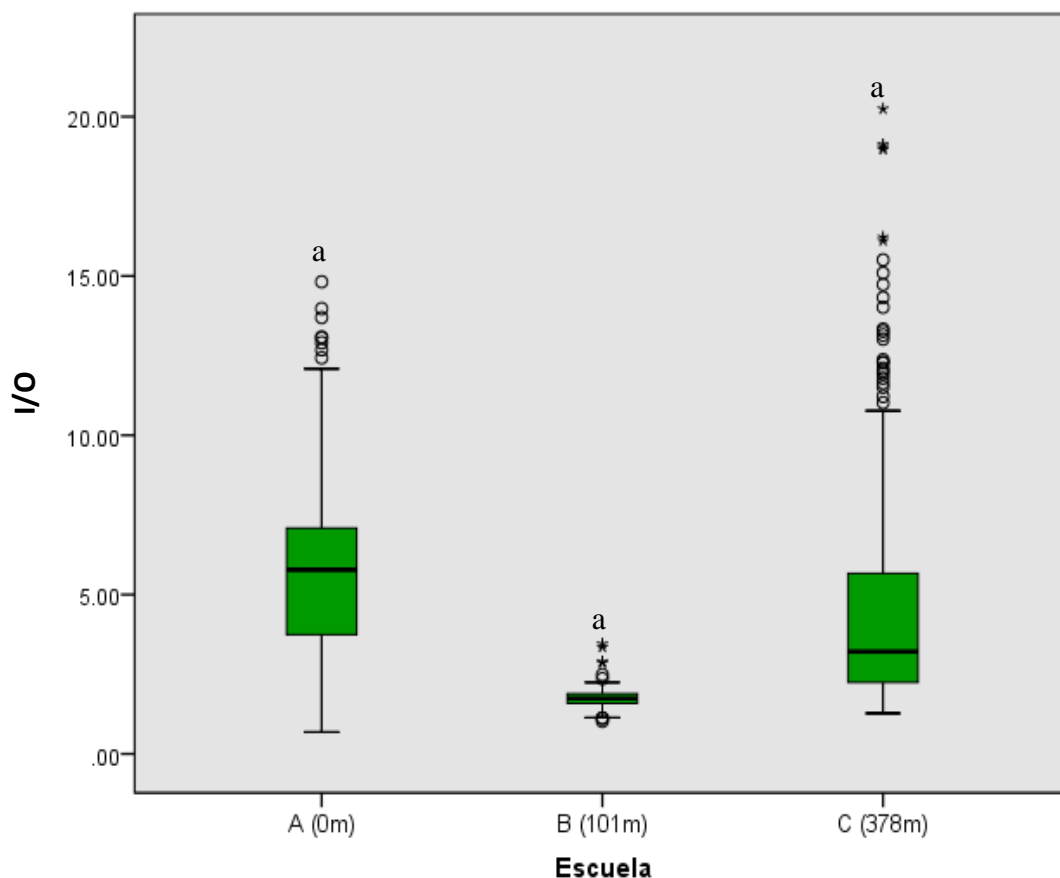


Figura 4.14 Razón I/O para la concentración de $PM_{>2.5}$ de las escuelas según su distancia a la avenida primaria más cercana
^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Al realizar una correlación de Spearman, se encontró un alto grado de relación negativa entre I/O de $PM_{2.5}$ y la concentración de $PM_{2.5}$ en la avenida ($r = -0.766$, $p < 0.01$) y un bajo grado de relación positiva entre I/O de $PM_{2.5}$ y $PM_{2.5}$ en los salones ($r = 0.290$, $p < 0.01$). Asimismo, se halló una fuerte relación negativa entre I/O de $PM_{>2.5}$ y la concentración de $PM_{>2.5}$ en la avenida primaria ($r = -0.825$, $p < 0.01$) y una relación positiva entre I/O de $PM_{>2.5}$ y la concentración de $PM_{>2.5}$ en los salones ($r = 0.843$, $p < 0.01$) (ANEXO IV). Es decir, si la concentración de PM en la avenida aumenta, la razón I/O va a disminuir. Si la concentración de PM incrementa adentro de los salones la razón I/O va a aumentar. Estos resultados coinciden con el estudio llevado a cabo por (Guo *et al.*, 2010).

Características de la población

No se obtuvieron datos de la historia médica y exposición de los sujetos de la Escuela A. Sin embargo, se tomaron en cuenta los cuestionarios aplicados a los padres de familia de las escuelas B y C, representados en la tabla 4.5. La población se encontraba entre 6 y 12 años y 54 % era femenino. Ninguna madre fumó o bebió durante el embarazo y solo un 8% de los niños fueron prematuros. 21% de la población presenta alguna enfermedad crónica, principalmente asma, obesidad, colitis y gastritis. Mientras que, solo un 8 % sufre de ansiedad. Asimismo, 13 % de las residencias de la población se encuentra cerca de una fuente de contaminación atmosférica, ya sea vías principales, fábricas, tintorerías, crematorios y gasolineras. 21 % de los habitantes en las viviendas fuma, no obstante, solo 4 % fuma adentro de la residencia. Además, el 12 % de los niños están presentes cuando se utilizan productos de limpieza, sin embargo, el 88% indica que utilizan medidas preventivas como abrir las ventanas. Por último, la mayoría de los niños pasa de 2-4 horas (33 %) o 4-6 horas (33 %) al aire libre.

Tabla 4.5 Características generales de la población

	Escuela		
	B (n = 13)	C (n = 11)	Total (n = 24)
<i>Edad</i>	6-12	9-11	6-12
<i>Femenino</i>	5 (38 %)	8 (73 %)	13 (54 %)
<i>Masculino</i>	8 (62 %)	3 (27 %)	11 (46 %)
<i>Fumó durante el embarazo</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<i>Bebió alcohol durante el embarazo</i>	0 (0 %)	0 (0 %)	0 (0 %)
<i>Prematuro</i>	1 (8 %)	1 (9 %)	2 (8 %)
<i>Enfermedades crónicas</i>	1 (8 %)	4 (36 %)	5 (21 %)
<i>Ansiedad</i>	0 (0 %)	2 (18 %)	2 (8 %)
<i>Residencia se halla cerca de una fuente de contaminación atmosférica</i>	9 (69 %)	4 (36 %)	13 (54 %)
<i>Fuma</i>	3 (23 %)	2 (18 %)	5 (21 %)
<i>Dentro de la vivienda</i>	0 (0 %)	1 (9 %)	1 (4 %)
<i>El niño está presente al utilizar productos de limpieza</i>	7 (54 %)	5 (45 %)	12 (50 %)

<i>Utilizan medidas preventivas</i>	13 (100 %)	8 (73 %)	21 (88 %)
<i>Horas que pasa el niño al aire libre</i>			
0-2	4 (31 %)	2 (18 %)	6 (25 %)
2-4	2 (15 %)	6 (55 %)	8 (33 %)
4-6	5 (38 %)	3 (27 %)	8 (33 %)

Cuantificación de S100B

Debido a problemas al momento del revelado, se tuvieron que descartar 6 muestras de la Escuela A, por lo que, se analizaron 5 muestras de la Escuela A, 13 de la Escuela B y 11 de la Escuela C para la proteína S100B, TSG101 y CD63, estas últimas con el fin de corroborar que el biomarcador de neuroinflamación proviniera de los exosomas (Figura 4.15) (ANEXO V). Por lo tanto, al no encontrar la proteína TSG101 ni CD63 en 2 muestras de la Escuela C estos fueron descartadas, lo cual pudo haber sido a causa de un error en la toma de muestra, la centrifugación o sonicación de las muestras. Asimismo, hubo un problema para 5 muestras de la Escuela C al momento de revelar la proteína CD63, localizada en la membrana de los exosomas. No obstante, sí se obtuvo TSG101, que se halla dentro de los exosomas, para las 5 muestras por lo que no fueron descartadas. Además, se analizaron 6 muestras de la saliva total, es decir que no fueron centrifugadas ni sonicadas, de modo que estas se usaron como control para demostrar que S100B era exosomal S100B (ANEXO V. Figura V.IX).

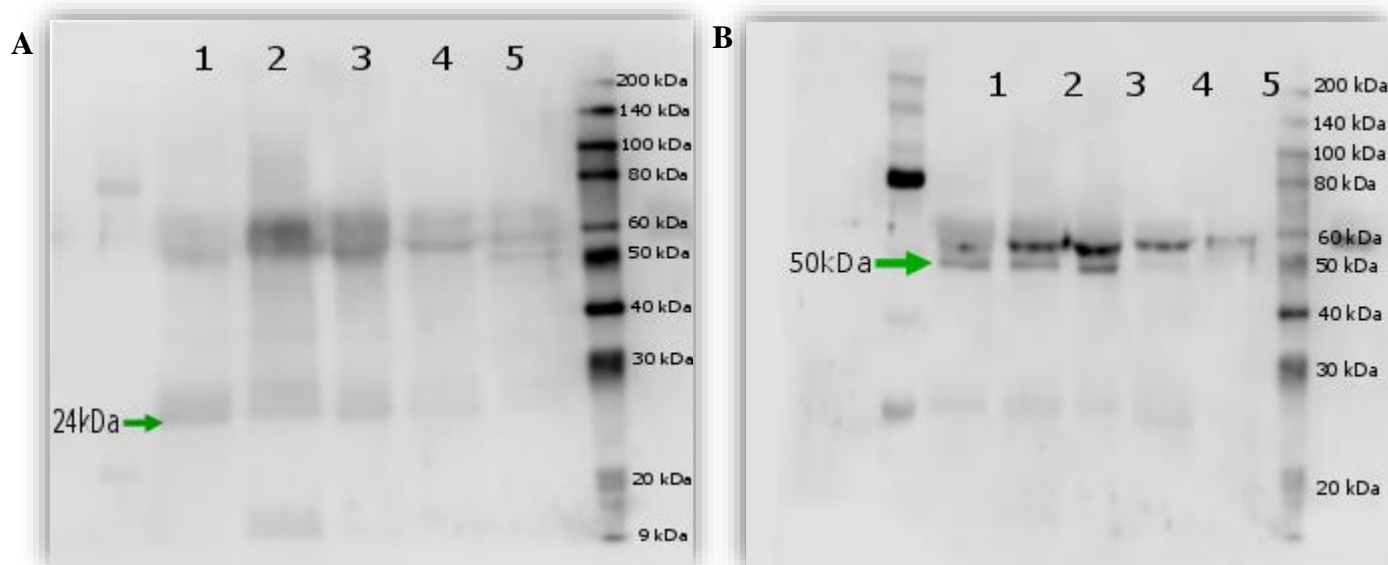


Figura 4.15 5 muestras de saliva sonicadas de la Escuela A con S100B (A) y TSG101 (B)

En la tabla 4.4 se comparó la concentración promedio de la proteína S100B, en las tres escuelas. En la Escuela A se registró un promedio de 12.75 ± 6.80 , con un intervalo muy amplio entre 5.39 y 20.90. Asimismo, en la Escuela B hubo una variación entre 4.10 y 22.19, con un promedio de 12.12 ± 6.36 . Por último, en la Escuela C se obtuvo un promedio de 21.85 ± 7.60 alcanzando valores desde 11.37 hasta 36.31.

Tabla 4.6 Concentración promedio de S100b en la saliva de los niños de las tres escuelas

	Escuela		
	A (0m)	B (101m)	C (378m)
S100b neta	12.75 ± 6.80	12.12 ± 6.36^a	21.85 ± 7.60^a
Mínimo	5.39	4.10	11.37
Máximo	20.90	22.19	36.31

^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Se encontraron diferencias significativas entre la concentración promedio de S100B de la Escuela B y la Escuela C ($p < 0.05$). Al igual que la concentración de PM_{2.5} y PM_{>2.5}, la Escuela A no presenta el promedio más alto de la concentración de S100B, a pesar de ser la más cercana a la avenida primaria. Mientras que, la Escuela C es la más lejana y obtuvo el promedio más alto. Esto se puede deber a que la Escuela C tuvo la concentración más alta de PM dentro de los salones. Sin embargo, cabe resaltar que solo se lograron analizar 5 muestras de la Escuela A. A la vez, un mayor número de alumnos en la Escuela C tiene alguna enfermedad crónica y/o ansiedad. Esto puede conllevar a un estrés en los niños, el cual se ha relacionado con un aumento en el nivel de S100B y un incremento en la permeabilidad de la BBB, facilitando el paso de agentes proinflamatorios (Buschert *et al.*, 2013, Li *et al.*, 2014).

La tabla 4.5 muestra el promedio de la proteína neta de S100B, TSG101 y la razón de la proteína neta (Figura 4.16), es decir la proteína total una vez que es ajustada con la proteína control. La Escuela B presenta una menor cantidad promedio de la proteína S100B que las demás escuelas con 12.12 ± 6.36 , seguido por la Escuela A con 12.75 ± 6.80 y la Escuela C con 21.85 ± 7.60 . Mientras que, en el caso de la proteína control, TSG101, la Escuela A muestra una menor cantidad con 31.52 ± 21.04 , después la Escuela B con 45.86 ± 34.66 y $49.29 \pm$ la Escuela C. El colegio con un menor promedio de la proteína neta es la Escuela B

que se encuentra a 101 m de su avenida primaria más cercana con 0.39 ± 0.33 , siguiendo con 0.49 ± 0.17 la Escuela A y por último la Escuela C a 378m de su avenida con 0.58 ± 0.33 .

Tabla 4.7 S100b, TSG101 y la proteína neta

Escuela	S100b neta	TSG101 neta	Razón de la proteína neta
A (0m)	12.75 ± 6.80	31.52 ± 21.04	0.49 ± 0.17
B (101m)	12.12 ± 6.36	45.86 ± 34.66	0.39 ± 0.33
C (378m)	21.85 ± 7.60	49.29 ± 33.26	0.58 ± 0.33

No se encontraron diferencias significativas entre la razón de la proteína neta y las escuelas.

Al igual que para S100B, la razón de la proteína de la Escuela C tuvo un mayor promedio a las demás escuelas, a pesar de ser la escuela más lejana a la avenida principal. Sin embargo, cabe resaltar que la Escuela C obtuvo una razón I/O de 1.74 para $PM_{2.5}$ y 3.86 para $PM_{>2.5}$ indicándonos que había una mayor concentración de PM en el interior de los salones y fue la escuela con la concentración promedio de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ más alta dentro de los salones, con $38.92 \pm 27.32 \mu\text{g}/\text{m}^3$ y $1175.91 \pm 1379.28 \mu\text{g}/\text{m}^3$, respectivamente. Asimismo, sigue la Escuela A con un promedio de S100B de 12.75 ± 6.80 , una razón de la proteína de 0.49 ± 0.17 y una concentración de $PM_{>2.5}$ de $1008.52 \pm 637 \mu\text{g}/\text{m}^3$ en los salones. Por último, la Escuela B tuvo el menor promedio tanto de S100B, razón de la proteína neta y $PM_{>2.5}$ en los salones, con 12.12 ± 6.36 , 0.39 ± 0.33 y $592.62 \pm 264.94 \mu\text{g}/\text{m}^3$, respectivamente. Por lo que, se puede suponer que mientras más alta sea la concentración de $PM_{>2.5}$ en los salones hay un aumento tanto en la proteína S100B como en la razón de la proteína neta. A pesar de que el tamaño de $PM_{2.5}$ hace que puedan cruzar barreras biológicas con mayor facilidad, alcancen el SNC y puedan provocar neuroinflamación, se observó que la Escuela A obtuvo una mayor cantidad de S100B y razón de proteína neta que la Escuela B, aunque tiene una concentración menor de $PM_{2.5}$ dentro de los salones, con $28.75 \pm 10.79 \mu\text{g}/\text{m}^3$, que la Escuela B, con $35.64 \pm 4.66 \mu\text{g}/\text{m}^3$. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que la razón de la proteína neta no presentó valores significativos.

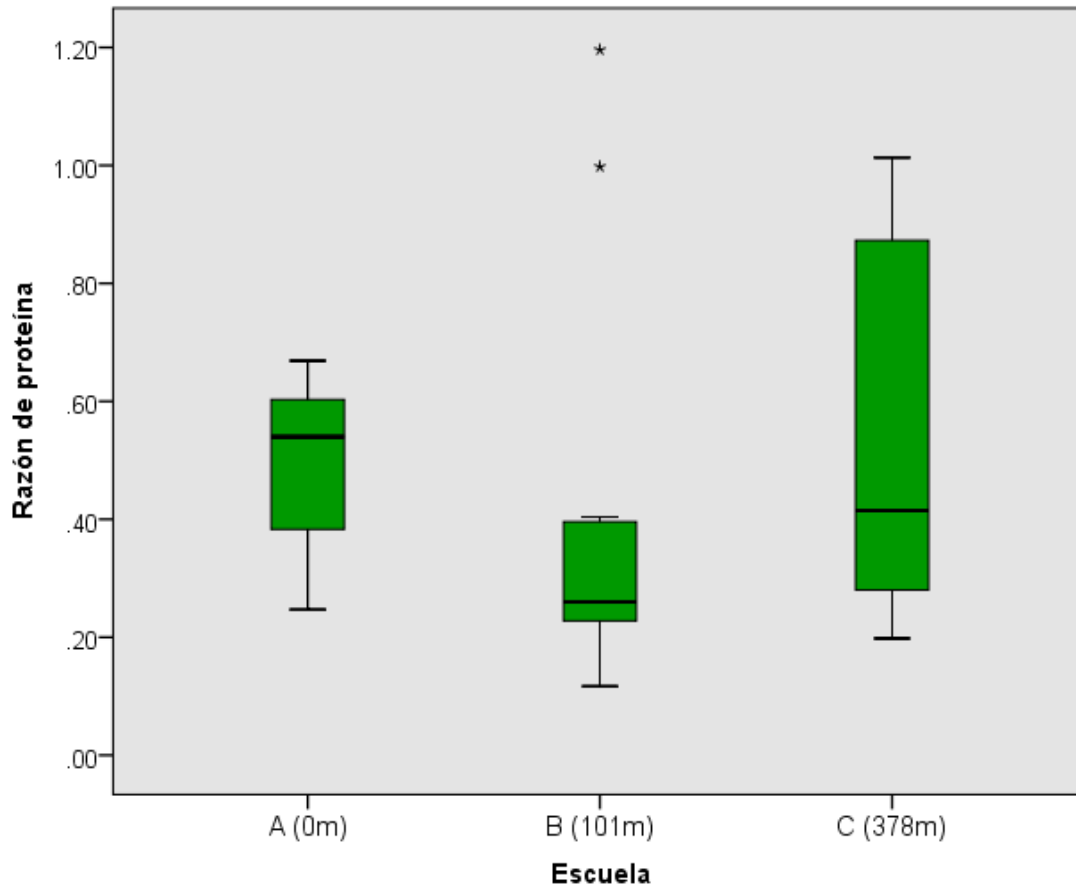


Figura 4.16 Razón de la proteína neta de las tres escuelas

^{a,b} Los valores en columnas seguidos por diferentes letras son significativamente diferentes ($p < 0.05$)

Los resultados discrepan con estudios como Harris *et al.* (2015); Volk *et al.* (2011); Wellenius *et al.* (2013) y Wilker *et al.* (2016) donde hubo una asociación entre la proximidad a la avenida y un incremento en enfermedades asociadas al SNC o problemas cognitivos. Estas discrepancias pueden deberse al tamaño de la población, dado que nuestras muestras, tanto de escuelas como de niños, son muy pocas ($n = 3,39$; respectivamente). Asimismo, al estar los padres de familia encargados de la recolecta de la muestra de saliva no se puede dar por seguro que las indicaciones se siguieron y que la muestra se encontraba con las condiciones que eran requeridas. Cabe resaltar que los niños no solo se encuentran expuestos a contaminantes atmosféricos, como el PM, en la escuela, sino también en sus hogares. Por lo que, se debe tomar en cuenta que estos resultados también pueden estar influidos por su exposición en sus residencias, haciendo necesario futuros estudios sobre sus diversas exposiciones.

Asimismo, al tener como limitante el tamaño de muestra se debe tomar en cuenta algún otro procedimiento que permita analizar un mayor número de muestras y un biomarcador que sea más específico en estudios futuros. Además de las proteínas analizadas para corroborar que fueran exosomas, se podría analizar alguna proteína de origen que nos verifique que el origen del exosoma sea en el SNC.

Respecto a la presencia de la proteína S100B en exosomas pero no en saliva total, demuestra que las proteínas exosomales pueden ser una fuente adecuada para el hallazgo de biomarcadores de efecto. Por otro lado, las características que tienen los exosomas como su estabilidad, entrega selectiva a las células diana, capacidad de atravesar barreras biológicas y habilidad para ser absorbido y reutilizado por su célula diana (G. Zhang y Yang, 2017) lo convierten en una posible técnica de diagnóstico y/o tratamiento para diversas enfermedades. La estrategia experimental descrita aquí para el análisis de biomarcadores en exosomas de la saliva para el estudio de la contaminación atmosférica en población infantil, constituye una herramienta no invasiva a comparación de técnicas invasivas como la obtención de muestras de líquido cefalorraquídeo, las cuales pueden provocar estrés y ansiedad al paciente. Asimismo, en los exosomas no sólo se puede detectar proteína, también pueden ser fuente de RNA, miRNA, DNA y otras moléculas, lo que les enriquece como fuentes de biomarcadores.

Capítulo 5

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Conclusiones

La contaminación atmosférica, en particular las emisiones de PM, es un problema de suma importancia en la Ciudad de México. Al haber aproximadamente 1 millón de niños en edad escolar que asiste a la primaria, es fundamental conocer los posibles efectos del PM en la salud de las poblaciones vulnerables. Sus efectos en la salud, particularmente en el sistema respiratorio y cardiovascular, han sido ampliamente estudiados; sin embargo, no existe tanta información sobre los posibles efectos adversos al SNC. Por lo tanto, se requiere extender este estudio describiendo el impacto de la contaminación atmosférica en el SNC utilizando procedimientos no invasivos.

Del presente trabajo se concluye que:

La concentración de $PM_{>2.5}$ en los salones y en la avenida es mayor al valor límite permisible la mayoría del tiempo. Asimismo, se halló que la concentración de PM está influida directamente por la humedad y la temperatura. Se encontró que las concentraciones de $PM_{2.5}$ y $PM_{>2.5}$ fueron más altas en los salones que en las avenidas primarias de las tres escuelas.

En el caso de la concentración promedio de $PM_{2.5}$, la Escuela B, localizada a 101 m de la avenida primaria, obtuvo el promedio más alto, siguiendo la Escuela C a 378 m y la Escuela A a 0 m. Mientras que, la Escuela C es la escuela más lejana tiene la concentración promedio de $PM_{>2.5}$ más alta, seguida por la Escuela A y la Escuela B.

Las tres escuelas presentan una razón I/O mayor a 1, tanto para $PM_{2.5}$ como para $PM_{>2.5}$, por lo que hubo un mayor número de fuentes de PM adentro de los salones. La Escuela C obtuvo un I/O de $PM_{2.5}$ mayor a las demás, mientras que, el I/O de $PM_{>2.5}$ más alto se le atribuye a la Escuela A.

Por otro lado, se encontró que la Escuela C (378m) fue la escuela con mayor cantidad de S100B; en cambio la Escuela A (0m) tuvo la menor expresión del biomarcador. Además, la Escuela C mostró la razón de la proteína neta más alta, a diferencia de la Escuela B (101m) que presentó la más baja.

A pesar de que el trabajo de tesis actual posee un carácter de estudio piloto, se puede concluir que la proteína S100B exosomal de saliva es un biomarcador obtenido mediante métodos no invasivos, útil para analizar la neuroinflamación, posiblemente causada por el PM.

Alcance del trabajo y Perspectivas a futuro

Se considera que este trabajo mejorará al considerar lo siguiente:

Antes que nada, sería necesario ampliar el tamaño poblacional para conseguir resultados más significativos, así como aumentar el número de escuelas muestreadas y la cantidad de muestras de saliva de cada escuela. Asimismo, se podría extender el muestreo en cada escuela por más de una semana.

Se debería de utilizar detectores de PM que cuenten con un rango más restrictivo y una mayor sensibilidad para lograr resultados más certeros. Además, es necesario conocer la composición del PM y caracterizar explícitamente sus fuentes, tanto en el exterior como en el interior de los salones. Igualmente, se requiere un sistema meteorológico que tenga un mayor rango entre el sensor del viento y la base para disminuir el número de datos perdidos.

Otro factor importante que se necesita considerar es la flota vehicular, ya que es necesario caracterizarla y tener un conteo preliminar de los vehículos automotores que circulan en la avenida primaria. A la vez, se podrían utilizar softwares como MOVES 2014a (EPA, USA), COPERT Street level (EMISIA SA, Grecia) e International Vehicle Emissions Model (ISSRC, CA, USA) para determinar la dispersión del PM proveniente de los vehículos en las áreas determinadas (Chithra y Nagendra, 2014; G. Wang, Bosch, y Kuffer, 2008; K. Zhang y Batterman, 2013).

Por otro lado, se deberían de ampliar los cuestionarios con el propósito de eliminar más factores de confusión.

Por último, sería necesario estudiar diversas posibles herramientas de mitigación de contaminantes atmosféricos, específicamente PM, en las escuelas para mejorar su calidad del aire.

Futuros análisis tomando en cuenta las propuestas anteriores son fundamentales para continuar la búsqueda de procedimientos no invasivos con la finalidad de identificar y prevenir los posibles efectos adversos que puede provocar el PM en el SNC de los niños.

BIBLIOGRAFÍA

- AL-Ayadhi, L. Y., y Mostafa, G. A. (2012). A lack of association between elevated serum levels of S100B protein and autoimmunity in autistic children. *Journal of Neuroinflammation*, 9(1), 54. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-9-54>
- Alghamdi, M. A. (2013). Indoor / Outdoor Particulate Matter Concentrations at Some Elementary Schools in Jeddah , Saudi Arabia, 24(1), 77–95. <https://doi.org/10.4197/Met>.
- Annavarapu, R. N., y Kathi, S. (2016). Cognitive disorders in children associated with urban vehicular emissions. *Environmental Pollution*, 208, 74–78. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.036>
- Annesi-Maesano, I., Baiz, N., Banerjee, S., y Rudnai, P. (2013). Indoor Air Quality and Sources in Schools and Related Health Effects. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 7404(August 2017). <https://doi.org/10.1080/10937404.2013.853609>
- Arling, J., Connor, K. O., y Mercieca, M. (2010). Air Quality Sensor Network for Philadelphia.
- Aryani, A., y Denecke, B. (2016). Exosomes as a Nanodelivery System : a Key to the Future of Neuromedicine ?, 818–834. <https://doi.org/10.1007/s12035-014-9054-5>
- Baettig, R., Cornejo, J., Zamudio, F., Marco, A. Y., Guajardo, J., y Fica, R. (2017). Urban airborne matter in central and southern Chile : Effects of meteorological conditions on fine and coarse particulate matter n, 161. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2017.05.007>
- Banerjee, T., Singh, S. B., y Srivastava, R. K. (2011). Development and Performance Evaluation of Statistical Models Correlating Air Pollutants and Meteorological ... *Atmospheric Research*, 99(3–4), 505–517. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2010.12.003>
- Barile, L., y Vassalli, G. (2017). Exosomes : Therapy delivery tools and biomarkers of diseases. *Pharmacology and Therapeutics*, 174, 63–78. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.02.020>
- Beer, C., Blacker, D., Bynevelt, M., Hankey, G. J., y Puddey, I. B. (2010). Systemic markers of inflammation are independently associated with S100B concentration: results of an observational study in subjects with acute ischaemic stroke. *Journal of Neuroinflammation*, 7(1), 71. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-7-71>
- Bhaskar, B. V., y Mehta, V. M. (2010). Atmospheric Particulate Pollutants and their Relationship with Meteorology in Ahmedabad, 301–315. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2009.10.0069>
- Block, M. L., y Calderón-Garcidueñas, L. (2009). Air pollution: mechanisms of neuroinflammation and CNS disease. *Trends in Neurosciences*, 32(9), 506–516. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2009.05.009>
- Brady, S., George, S., Albers, R. W., y Price, D. (2011). Basic Neurochemistry, 610–620. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374947-5.00034-1>
- Braniš, M., Řezáčová, P., y Domasová, M. (2005). The effect of outdoor air and indoor human activity on mass concentrations of PM10, PM2.5, and PM1 in a classroom. *Environmental Research*, 99(2), 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.12.001>
- Buschert, J., Hohoff, C., Touma, C., Palme, R., Rothermundt, M., Arolt, V., ... Ambrée, O.

- (2013). S100B overexpression increases behavioral and neural plasticity in response to the social environment during adolescence. *Journal of Psychiatric Research*, 47(11), 1791–1799. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2013.08.001>
- Calderón-Garcidueñas, L., Calderón-Garcidueñas, A., Torres-Jardón, R., Avila-Ramírez, J., Kulesza, R. J., y Angiulli, A. D. (2015). Air pollution and your brain: what do you need to know right now. *Primary Health Care Research y Development*, 16(4), 329–345. <https://doi.org/10.1017/S146342361400036X>
- Calderón-Garcidueñas, L., Engle, R., Mora-Tiscareño, A., Styner, M., Gómez-Garza, G., Zhu, H., ... D'Angiulli, A. (2011). Exposure to severe urban air pollution influences cognitive outcomes, brain volume and systemic inflammation in clinically healthy children. *Brain and Cognition*, 77(3), 345–355. <https://doi.org/10.1016/j.bandc.2011.09.006>
- Calderón-Garcidueñas, L., Kulesza, R. J., Doty, R. L., D'Angiulli, A., y Torres-Jardón, R. (2015). Megacities air pollution problems: Mexico City Metropolitan Area critical issues on the central nervous system pediatric impact. *Environmental Research*, 137, 157–169. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.12.012>
- Calderón-Garcidueñas, L., Torres-Jardón, R., Kulesza, R. J., Park, S.-B., y D'Angiulli, A. (2014). Air pollution and detrimental effects on children's brain. The need for a multidisciplinary approach to the issue complexity and challenges. *Frontiers in Human Neuroscience*, 8(August), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fnhum.2014.00613>
- Canha, N., Mandin, C., Ramalho, O., Wyart, G., Rib??ron, J., Dassonville, C., ... Derbez, M. (2016). Assessment of ventilation and indoor air pollutants in nursery and elementary schools in France. *Indoor Air*, 26(3), 350–365. <https://doi.org/10.1111/ina.12222>
- Cao, J. J., Lee, S. C., Chow, J. C., Cheng, Y., Ho, K. F., Fung, K., ... Watson, J. G. (2005). Indoor/outdoor relationships for PM2.5 and associated carbonaceous pollutants at residential homes in Hong Kong - Case study. *Indoor Air*, 15(3), 197–204. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0668.2005.00336.x>
- Catalano, P., y Koutrakis, P. (2000). Relative Contribution of Outdoor and Indoor Particle Sources to Indoor Concentrations, 34(17), 3579–3587. <https://doi.org/10.1021/es990348y>
- Chahar, H. S., Bao, X., y Casola, A. (2015). Exosomes and Their Role in the Life Cycle and Pathogenesis of RNA Viruses. *Viruses*, 3204–3225. <https://doi.org/10.3390/v7062770>
- Chen, A., Gall, E. T., y Chang, V. W. (2016). Indoor and outdoor particulate matter in primary school classrooms with fan-assisted natural ventilation in Singapore. *Environ Sci Pollut Res Int*. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6826-7>
- Chithra, V. S., y Nagendra, S. M. S. (2014). Characterizing and predicting coarse and fine particulates in classrooms located close to an urban roadway. *Journal of the Air y Waste Management Association*, 64(8), 945–956. <https://doi.org/10.1080/10962247.2014.894483>
- Cyrus, J., Pitz, M., Bischof, W., Wichmann, H., y Heinrich, J. (2004). Relationship between indoor and outdoor levels of fine particle mass , particle number concentrations and black smoke under different ventilation conditions, 4245. <https://doi.org/10.1038/sj.jea.7500317>
- Davarinejad, H. (n.d.). Quantifications of Western Blots with ImageJ. Retrieved from <http://www.yorku.ca/yisheng/Internal/Protocols/ImageJ.pdf>

- Diapouli, E., Chaloulakou, A., y Spyrellis, N. (2007). Levels of ultrafine particles in different microenvironments — Implications to children exposure, 388, 128–136. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.07.063>
- Dominick, D., Latif, M. T., Juahir, H., Aris, A. Z., y Zain, S. M. (2012). An assessment of influence of meteorological factors on PM 10 and NO 2 at selected stations in Malaysia, 22(2), 305–315.
- Dunn, A. M., Burns, C., y Sattler, B. (2003). Environmental health of children. *Journal of Pediatric Health Care*, 17(5), 223–231. <https://doi.org/10.1067/mp.2003.33>
- Ernst, O., y Zor, T. (2010). Linearization of the Bradford Protein Assay Linearization of the Bradford Protein Calibration Graph : Detailed Protocol for the Improved Bradford Protein Assay , using a Microplate Absorbance Reader : Representative Results :, 1–6. <https://doi.org/10.3791/1918>
- European Commission (EC). (2006). *Health Effects of School Environment (HESE) Final Scientific Report*.
- Gallo, A., Tandon, M., Alevizos, I., y Illei, G. G. (2012). The majority of microRNAs detectable in serum and saliva is concentrated in exosomes. *PLoS ONE*, 7(3), 1–5. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030679>
- García-Romero, N., Carrión-Navarro, J., Esteban-Rubio, S., Lázaro-Ibáñez, E., Peris-Celda, M., Alonso, M. M., ... Ayuso-Sacido, A. (2017). DNA sequences within glioma-derived extracellular vesicles can cross the intact blood-brain barrier and be detected in peripheral blood of patients, 8(1), 1416–1428.
- Genc, S., Zadeoglulari, Z., Fuss, S. H., y Genc, K. (2012). The adverse effects of air pollution on the nervous system. *Journal of Toxicology*, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/782462>
- Guarnieri, M., y Balmes, J. R. (2014). Outdoor air pollution and asthma. *The Lancet*, 383(9928), 1581–1592. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60617-6](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60617-6)
- Guo, H., Morawska, L., He, C., Zhang, Y. L., Ayoko, G., y Cao, M. (2010). Characterization of particle number concentrations and PM2.5 in a school: Influence of outdoor air pollution on indoor air. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(6), 1268–1278. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0306-2>
- Gupta, A., y Pulliam, L. (2014). Exosomes as mediators of neuroinflammation. *Journal of Neuroinflammation*, 11(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-11-68>
- Harris, M. H., Gold, D. R., Rifas-Shiman, S. L., Melly, S. J., Zanobetti, A., Coull, B. A., ... Oken, E. (2015). Prenatal and childhood traffic-related pollution exposure and childhood cognition in the project viva cohort (Massachusetts, USA). *Environmental Health Perspectives*, 123(10), 1072–1078. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408803>
- Holmes, H. A., y Pardyjak, E. R. (2014). Investigation of time-resolved atmospheric conditions and indoor / outdoor particulate matter concentrations in homes with gas and biomass cook stoves in Nogales , Sonora , Mexico Investigation of time-resolved atmospheric conditions and indoor / outdoor particulate matter concentrations in homes with gas and biomass cook stoves in Nogales , Sonora , Mexico. *Journal of the Air y Waste Management Association*, 64(7), 759–773. <https://doi.org/10.1080/10962247.2014.889615>
- Hussein, T., Karppinen, A., Kukkonen, J., y Ha, J. (2006). Meteorological dependence of size-fractionated number concentrations of urban aerosol particles, 40, 1427–1440. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2005.10.061>
- Instituto de Políticas para el Transporte y Desarrollo México (IPTD). (2012). *La*

- importancia de reducción del uso del automóvil en México.*
- International Agency for Ressearch on Cancer (IARC). (2016). *IARC Monogrpahs: OUTDOOR AIR POLLUTION* (Vol. 109).
- Jayamurugan, R., Kumaravel, B., Palanivelraja, S., y Chockalingam, M. P. (2013). Influence of Temperature , Relative Humidity and Seasonal Variability on Ambient Air Quality in a Coastal Urban Area, 2013.
- Jhun, I., Gaffin, J. M., Coull, B. A., y Huffaker, M. F. (2017). School Environmental Intervention to Reduce Particulate Pollutant Exposures for Children with Asthma. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology in Practice*, 5(1), 154–159.e3. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.07.018>
- Jian, L., Zhao, Y., Zhu, Y., Zhang, M., y Bertolatti, D. (2012). Science of the Total Environment An application of ARIMA model to predict submicron particle concentrations from meteorological factors at a busy roadside in Hangzhou , China. *Science of the Total Environment*, The, 426, 336–345. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.03.025>
- Kanninen, K. M., Bister, N., Koistinaho, J., y Malm, T. (2016). Exosomes as new diagnostic tools in CNS diseases. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1862(3), 403–410. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2015.09.020>
- Lässer, C., Alikhani, V. S., Ekström, K., Eldh, M., Paredes, P. T., Bossios, A., ... Valadi, H. (2011). Human saliva, plasma and breast milk exosomes contain RNA: uptake by macrophages. *Journal of Translational Medicine*, 9(1), 9. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-9>
- Lee, J. Y., Shin, H. J., y Bae, S. Y. (2008). Seasonal variation of particle size distributions of PAHs at Seoul , Korea, 57–68. <https://doi.org/10.1007/s11869-008-0002-2>
- Li, H., Guo, B., Han, M., Tian, M., y Zhang, J. (2015). Particulate Matters Pollution Characteristic and the Correlation between PM (PM 2 . 5 , PM 10) and Meteorological Factors during the Summer in Shijiazhuang, (May), 457–463.
- Li, J. P., Lu, L., Wang, L. J., Zhang, F. R., y Shen, W. F. (2011). Increased serum levels of S100B are related to the severity of cardiac dysfunction, renal insufficiency and major cardiac events in patients with chronic heart failure. *Clinical Biochemistry*, 44(12), 984–988. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.05.014>
- Lin, J., Li, J., Huang, B., Liu, J., Chen, X., Chen, X., ... Wang, X. (2015). Exosomes : Novel Biomarkers for Clinical Diagnosis. *The Scientific World Journal*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/657086>
- Lyman, M., Lloyd, D. G., Ji, X., Vizcaychipi, M. P., y Ma, D. (2014). Neuroinflammation: The role and consequences. *Neuroscience Research*, 79(1), 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.neures.2013.10.004>
- Matsumoto, Y., Kano, M., Akutsu, Y., y Hanari, N. (2016). Quantification of plasma exosome is a potential prognostic marker for esophageal squamous cell carcinoma, 2535–2543. <https://doi.org/10.3892/or.2016.5066>
- Michetti, F., Bruschetti, M., Frigiola, A., Abella, R., Giamberti, A., Marchese, N., ... Gazzolo, D. (2011). Saliva S100B in professional sportsmen: High levels at resting conditions and increased after vigorous physical activity. *Clinical Biochemistry*, 44(2–3), 245–247. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2010.10.007>
- Michetti, F., Corvino, V., Geloso, M. C., Lattanzi, W., Bernardini, C., Serpero, L., y Gazzolo, D. (2012). The S100B protein in biological fluids: More than a lifelong biomarker of brain distress. *Journal of Neurochemistry*, 120(5), 644–659.

- <https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.2011.07612.x>
- Muller, L., Mitsuhashi, M., Simms, P., Gooding, W. E., y Whiteside, T. L. (2016). Tumor-derived exosomes regulate expression of immune function-related genes in human T cell subsets. *Nature Publishing Group*, (April 2015), 1–13.
<https://doi.org/10.1038/srep20254>
- ONU-Habitat. (2015). *Reporte Nacional de Movilidad Urbana en México 2014-2015*.
- Pratt, M. M., John, K., Petrosyan, P., Rubio, J., Poirier, M. C., y Gonsebatt, M. E. (2011). Seasonal variations in the levels of PAH – DNA adducts in young adults living in Mexico City. *Multagenesis*, 26(3), 385–391. <https://doi.org/10.1093/mutage/geq104>
- Properzi, F., Logozzi, M., y Fais, S. (2013). Exosomes : the future of biomarkers in medicine. *Biomarkers Medicine*, 7, 769–778.
- Rashed, M. H., Bayraktar, E., Helal, G. K., y Abd-ellah, M. F. (2017). Exosomes : From Garbage Bins to Promising Therapeutic Targets. *International Journal of Molecular Sciences*, 18. <https://doi.org/10.3390/ijms18030538>
- Rezaei, O., Pakdaman, H., Gharehgozli, K., Simani, L., Vahedian-Azimi, A., Asaadi, S., ... Hajjesmaeli, M. (2017). S100 B : A new concept in neurocritical care. *Iranian Journal of Neurology*, 16(2), 83–89.
- Schools Indoor pollution and Health: Observatory Network in Europe (SINPHONIE)-European Commission (EC). (2014). *Schools Indoor Pollution y Health Observatory Network in Europe (SINPHONIE). Executive Summaty of the Final Report*.
<https://doi.org/10.2788/95941>
- Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). (2009). *Guía metodológica para la estimación de emisiones vehiculares en ciudades mexicanas*.
- Secretaria de Seguridad Pública (SSP). (2015). Nuevo Reglamento de Tránsito CDMX, (156).
- Simons, M. (2009). Exosomes – vesicular carriers for intercellular communication. *Current Opinion in Cell Biology*, 21. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2009.03.007>
- Strimbu, K., y Tavel, J. A. (2011). What are Biomarkers?, 5(6), 463–466.
<https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>.What
- Sunyer, J., Esnaola, M., Alvarez-Pedrerol, M., Forn, J., Rivas, I., López-Vicente, M., ... Querol, X. (2015). Association between Traffic-Related Air Pollution in Schools and Cognitive Development in Primary School Children: A Prospective Cohort Study. *PLoS Medicine*, 12(3), 1–24. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1001792>
- Volk, H. E., Hertz-Picciotto, I., Delwiche, L., Lurmann, F., y McConnell, R. (2011). Residential proximity to freeways and autism in the CHARGE study. *Environmental Health Perspectives*, 119(6), 873–877. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002835>
- Wang, G., Bosch, F. Van Den, y Kuffer, M. (2008). Modelling urban traffic air pollution dispersion. *The International Archives of the Photogrammetry, Remote Sensing and Spatial Information Sciences.*, Vol. XXXVI(Part B8), 153–158. Retrieved from <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.184.2618yrep=rep1ytype=pdf>
- Wang, S., Zhang, J., Zeng, X., Zeng, Y., Wang, S., y Chen, S. (2009). Association of traffic-related air pollution with children's neurobehavioral functions in Quanzhou, China. *Environmental Health Perspectives*, 117(10), 1612–1618.
<https://doi.org/10.1289/ehp.0800023>
- Wellenius, G. A., Boyle, L. D., Coull, B. A., William, P., Gryparis, A., Schwartz, J., y Mittleman, M. A. (2013). Residential Proximity to Major Roadway and Cognitive

- Function in Community-Dwelling Seniors: Results from the MOBILIZE Boston Study, *60*(11), 2075–2080. <https://doi.org/10.1111/j.1532-5415.2012.04195.x>.Residential
- Wilker, E. H., Preis, S. R., Beiser, Alexaa, S., Wolf, P. A., Au, R., Kloog, I., ... Mittleman, M. A. (2016). Long-term exposure to fine particulate matter, residential proximity to major roads and measures of brain structure, *46*(5), 1161–1166. <https://doi.org/10.1161/STROKEAHA.114.008348>.Long-term
- World Health Organization (WHO). (2005). WHO Air quality guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide.
- Wormwood, K. L., Aslebagh, R., Channaveerappa, D., Dupree, E. J., Borland, M. M., y Jeanne, P. (2015). Salivary proteomics and biomarkers in neurology and psychiatry. *Proteomics Clinical Applications*, *9*, 899–906. <https://doi.org/10.1002/prca.201400153>
- Zhang, G., y Yang, P. (2017). A novel cell-cell communication mechanism in the nervous system : exosomes. *Journal of Neuroscience Research*, (March), 1–8. <https://doi.org/10.1002/jnr.24113>
- Zhang, K., y Batterman, S. (2013). Air pollution and health risks due to vehicle traffic. *Science of the Total Environment*, *450–451*, 307–316. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.01.074>

ANEXO I. Posición de monitores de PM en los salones, monitor de PM en la venida principal y sensor de viento de las escuelas

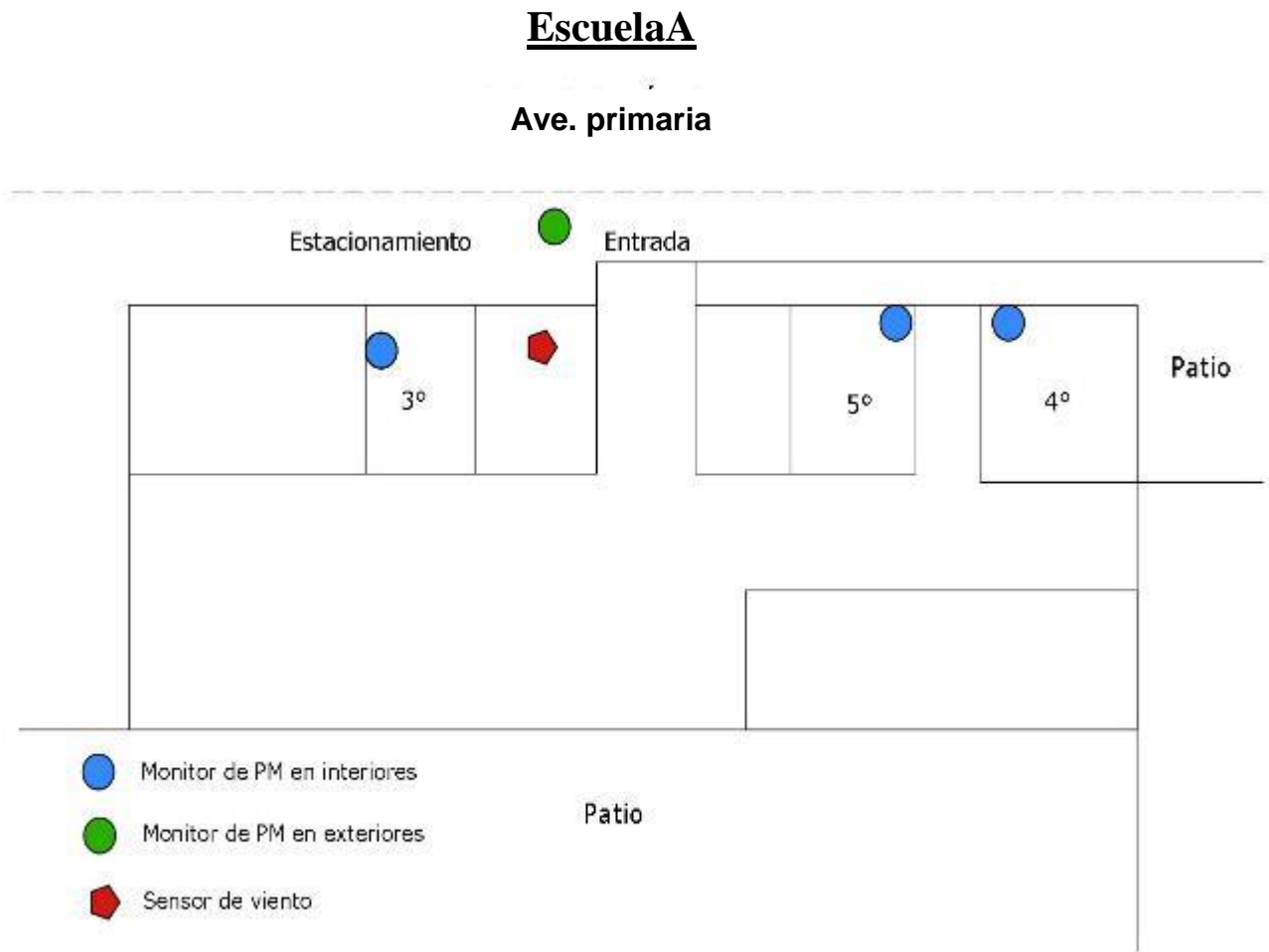


Figura I.I Posición de monitores atmosféricos en los salones y avenida primaria y sensor de viento en la Escuela A
Realizado en Layout 2017 (SketchUpPro, USA)

Escuela B

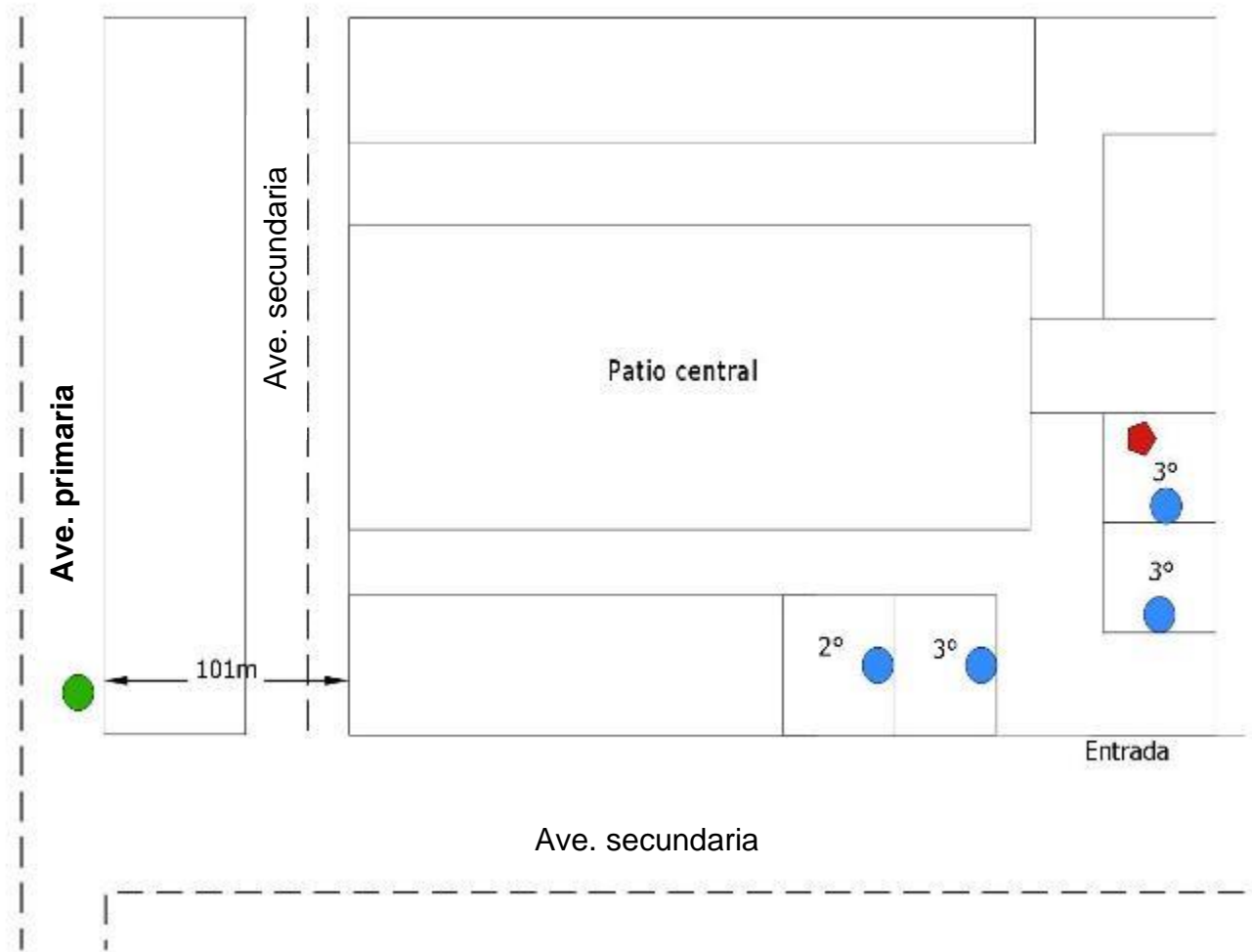


Figura I.II Posición de monitores atmosféricos en los salones y avenida primaria y sensor de viento en la Escuela B

Realizado en Layout 2017 (SketchUpPro, USA)

Escuela C

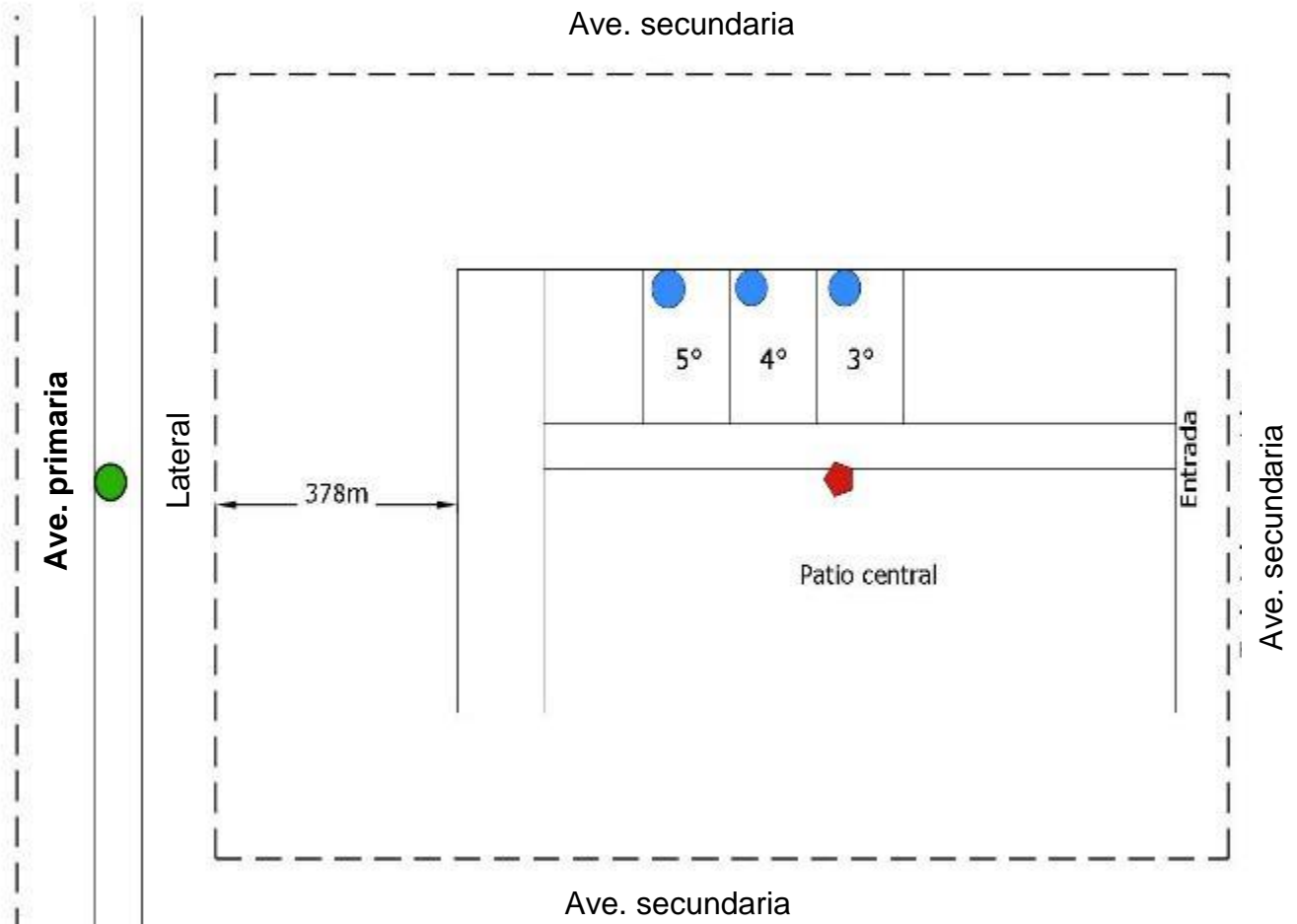


Figura I.III Posición de monitores atmosféricos en los salones y avenida primaria y sensor de viento en la Escuela C

Realizado en Layout 2017 (SketchUpPro, USA)

ANEXO II. Curvas de calibración para la cuantificación de proteína

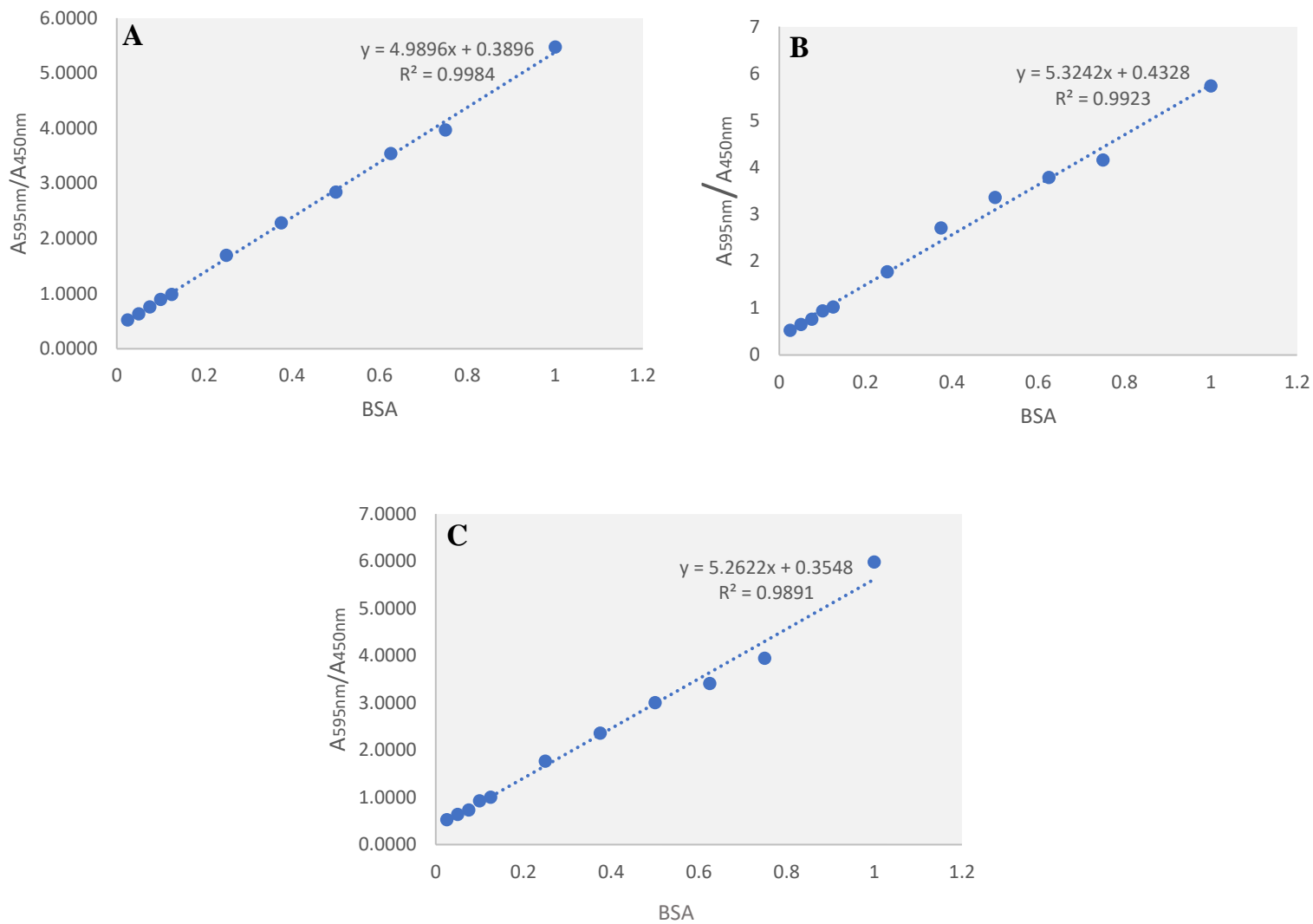


Figura II.I Curvas de calibración para la cuantificación de proteína Escuela A (A) Escuela B (B) y Escuela C (C)

ANEXO III. Rosas de vientos de las escuelas

Escuela A

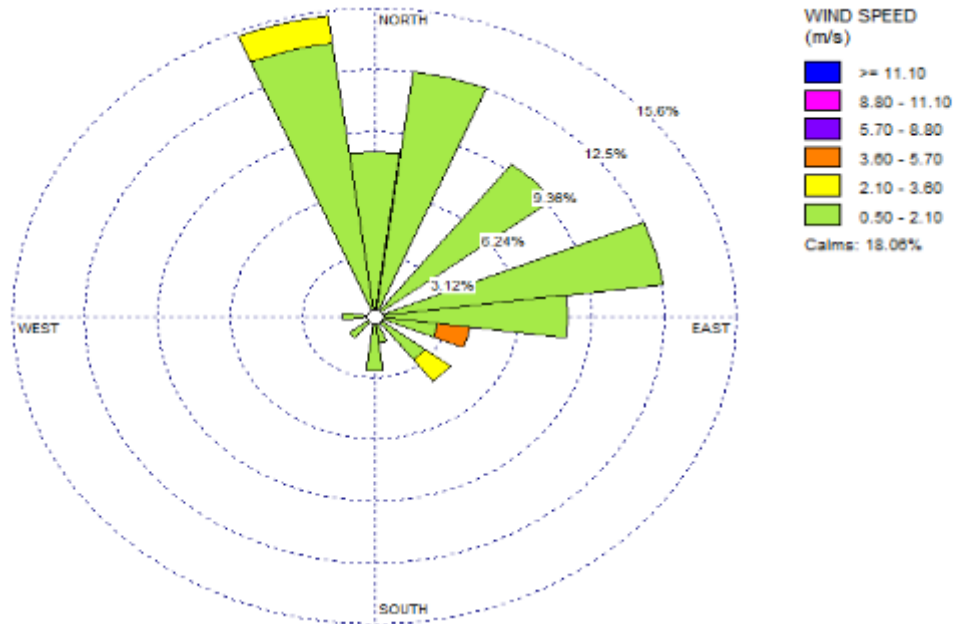


Figura III.I Rosa de vientos de la Escuela A
Realizado en WRPLOT View™ versión 7.0.0 (Lakes Environmental Software, USA)

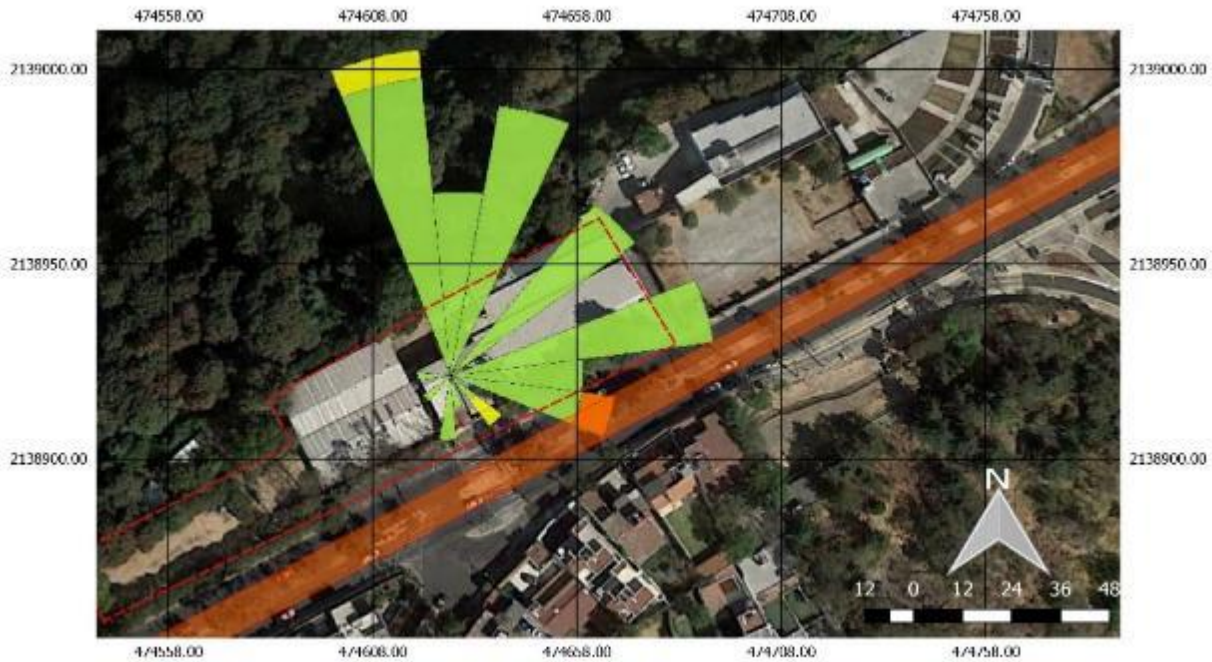


Figura III.II Rosa de vientos de la Escuela A y su avenida primaria más cercana representada por una línea naranja. La línea roja punteada delimita la escuela.
Realizado en QGIS2.18 Las Palmas

Escuela B

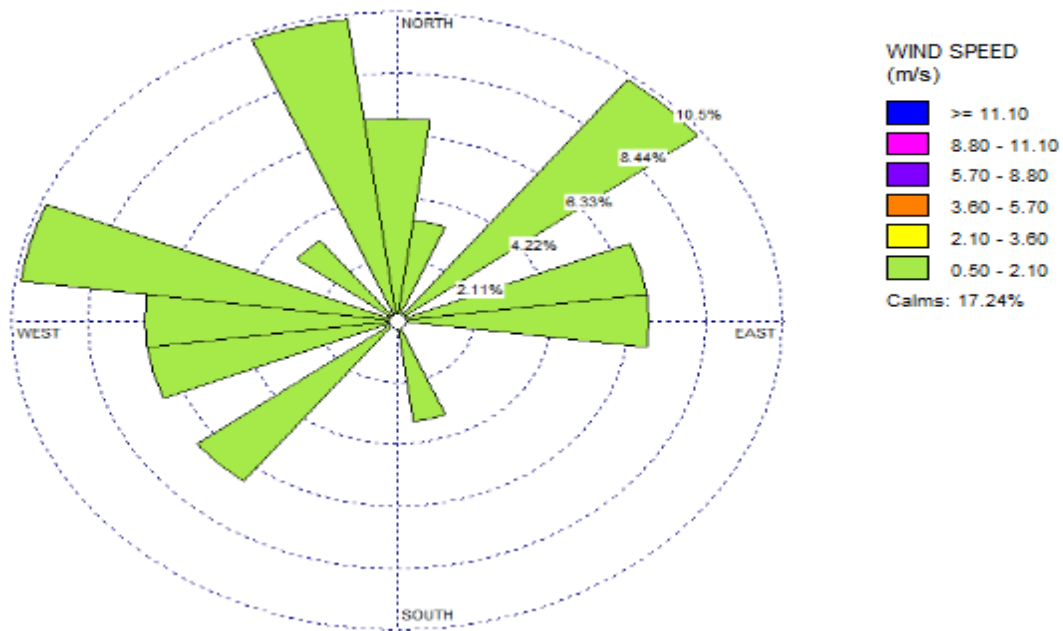


Figura III.III Rosa de vientos de la Escuela B
Realizado en WRPLOT View™ versión 7.0.0 (Lakes Environmental Software, USA)



Figura III.IV Rosa de vientos de la Escuela B y su avenida primaria más cercana representada por una línea naranja. La línea roja punteada delimita la escuela.
Realizado en QGIS2.18 Las Palmas

Escuela C

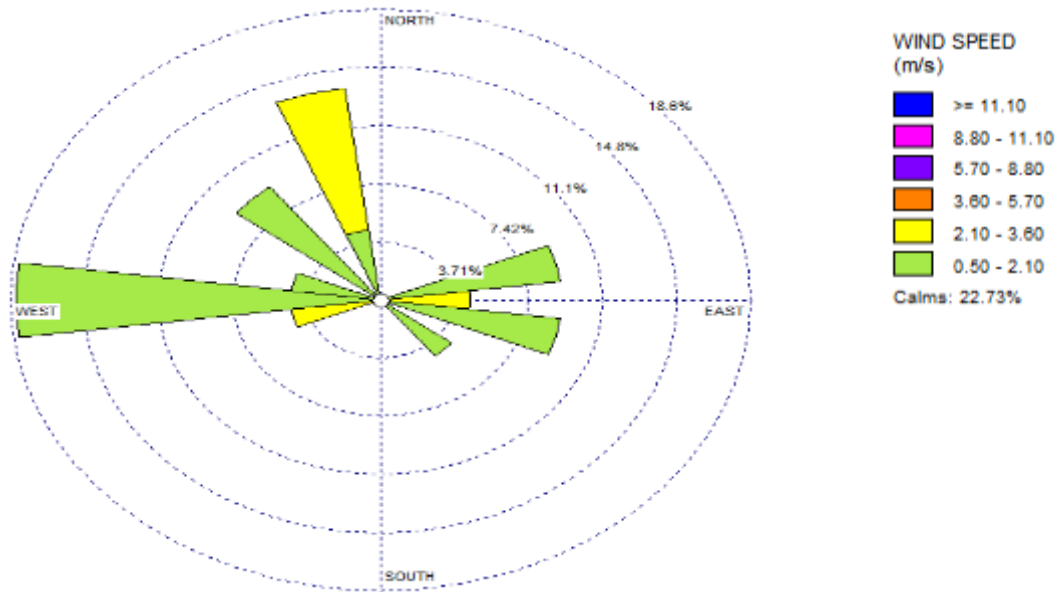


Figura III.V Rosa de vientos de la Escuela C
 Realizado en WRPLOT View™ versión 7.0.0 (Lakes Environmental Software, USA)



Figura III.VI Rosa de vientos de la Escuela C y su avenida primaria más cercana representada por una línea naranja. La línea roja punteada delimita la escuela.
 Realizado en QGIS2.18 Las Palmas

ANEXO IV. Relación entre la concentración de PM y la razón I/O

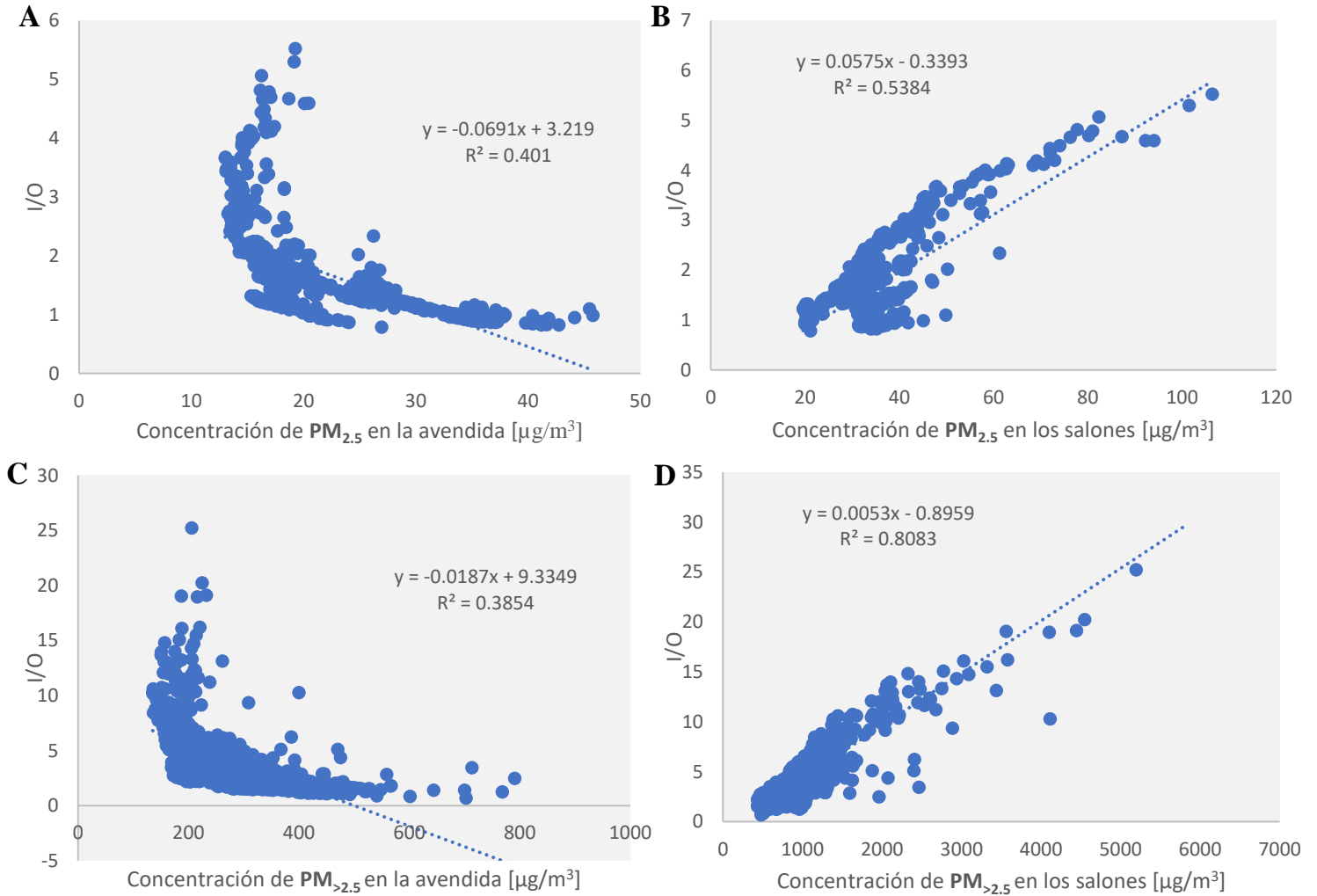


Figura IV.I Relación entre I/O de $PM_{2.5}$ y la concentración de $PM_{2.5}$ en las avenidas (A), entre I/O de $PM_{2.5}$ y la concentración de $PM_{2.5}$ en los salones (B), I/O de $PM_{>2.5}$ y $PM_{>2.5}$ en las avenidas (C) y la relación entre I/O de $PM_{>2.5}$ y la concentración de $PM_{>2.5}$ en los salones (D)

ANEXO V. S100B, TSG101 y CD63 de las muestras de las escuelas

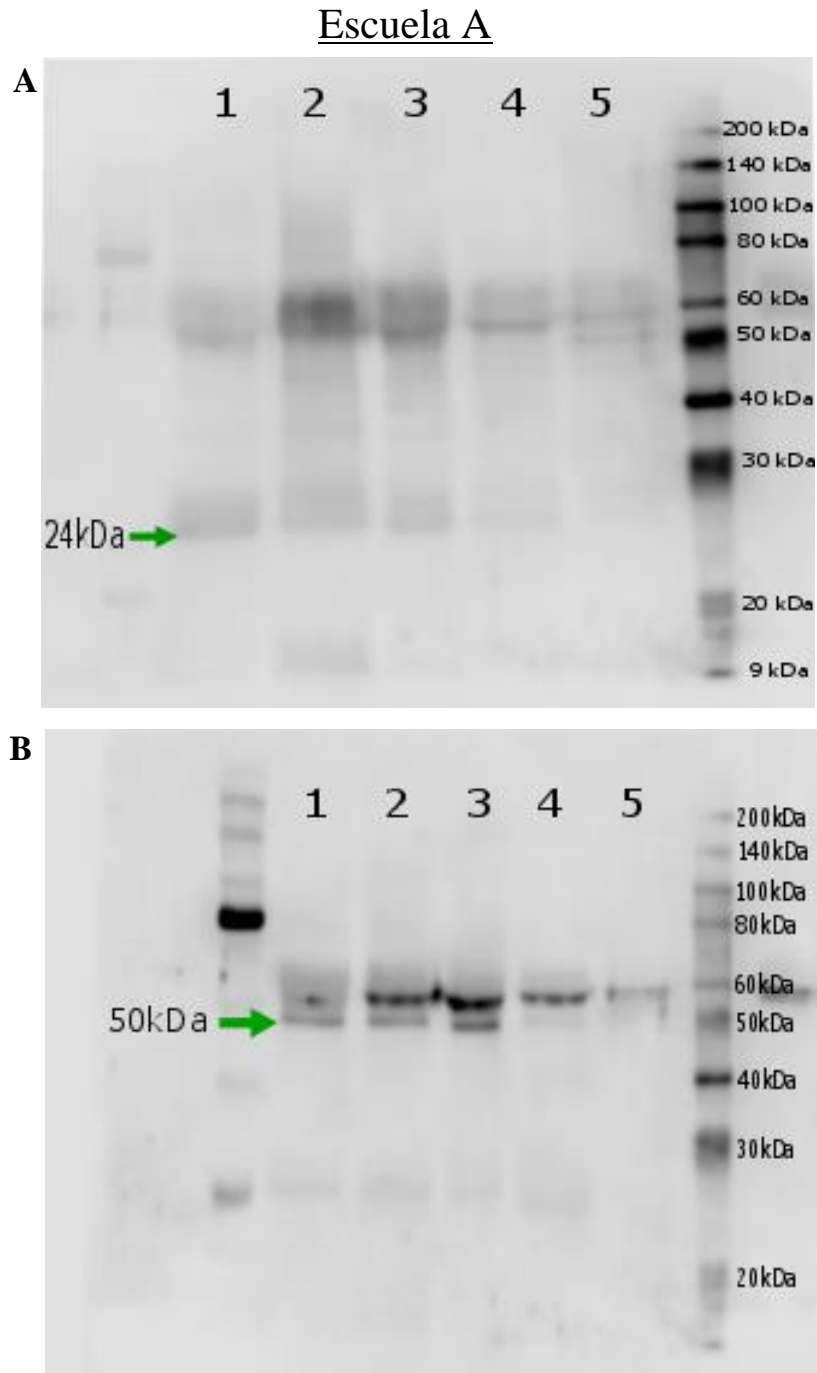


Figura V.I 5 muestras con S100B (A), TSG101 (B) de la Escuela A

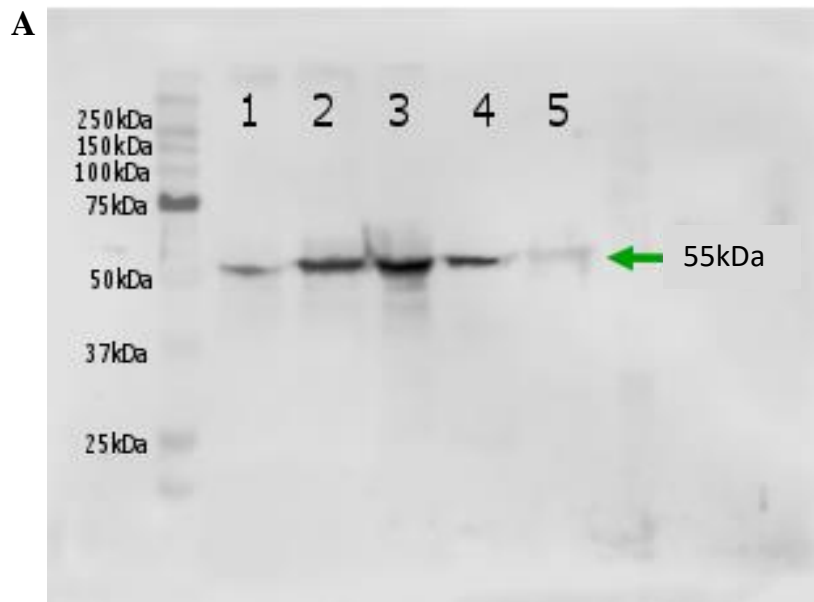


Figura V.II 5 muestras con CD63 (A) de la Escuela A

Escuela B

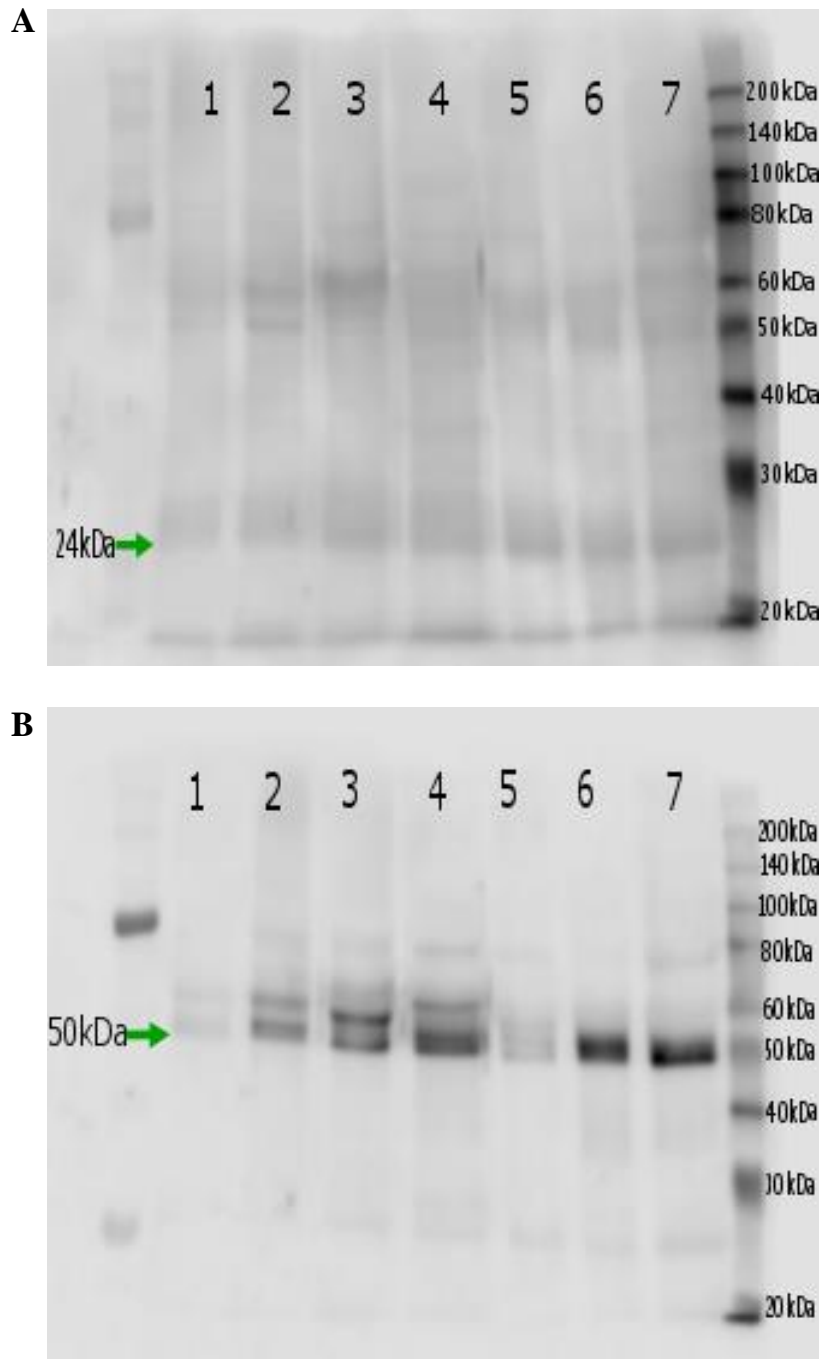


Figura V.II 7 muestras con S100B (A) y TSG101 (B) de la Escuela B

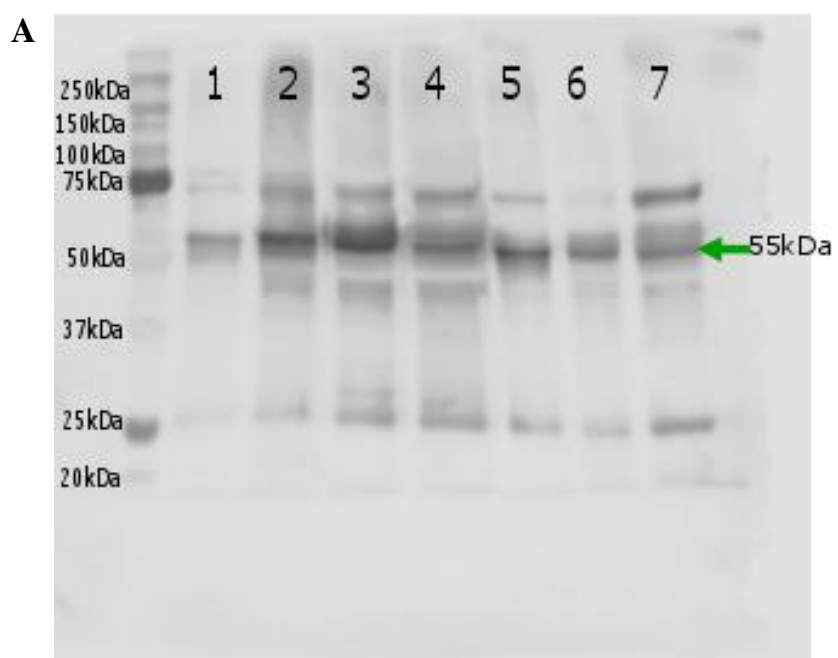


Figura V.III CD63 para 7 muestras de la Escuela B (A)

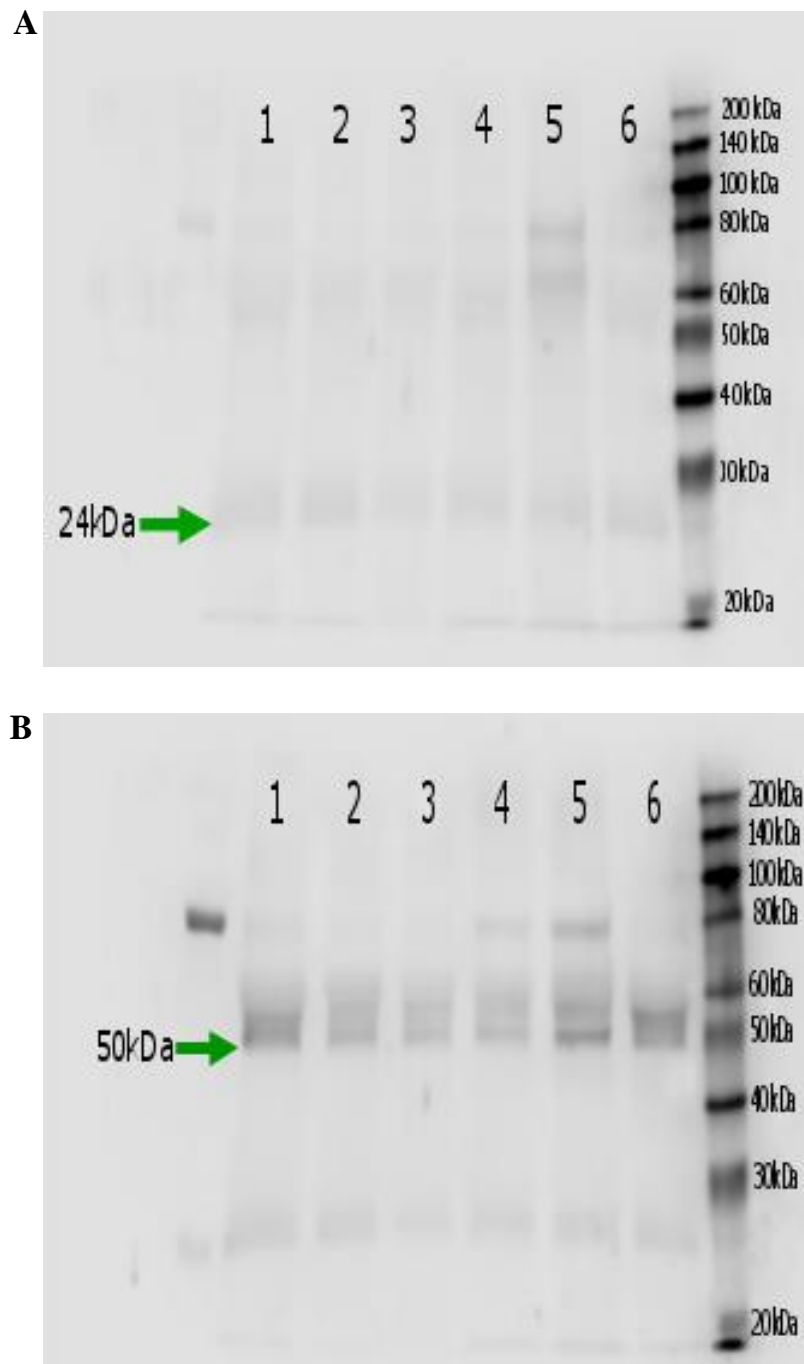


Figura V.IV 6 muestras con S100B (**A**) y TSG101 (**B**) de la Escuela B

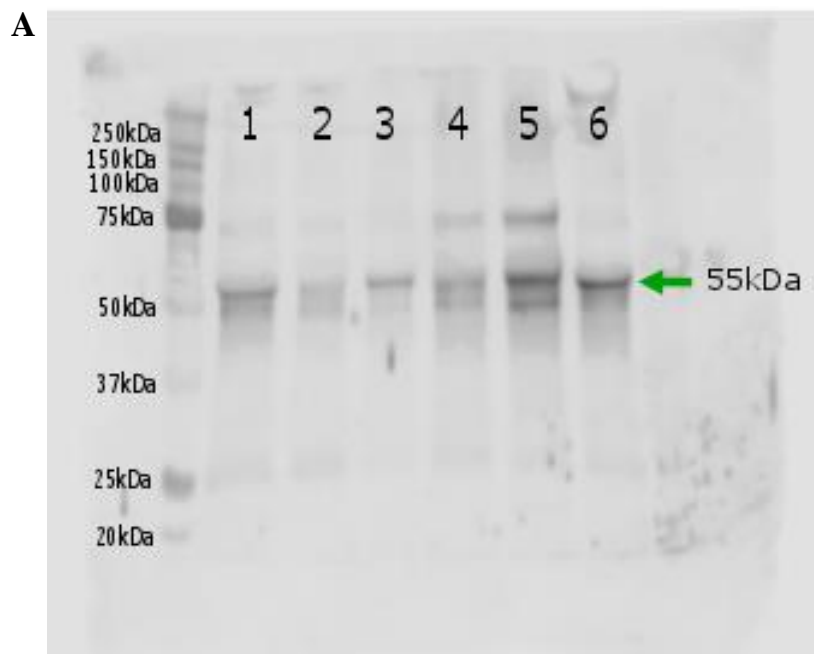


Figura V.V CD63 para 6 muestras de la Escuelas B (**A**)

Escuela C

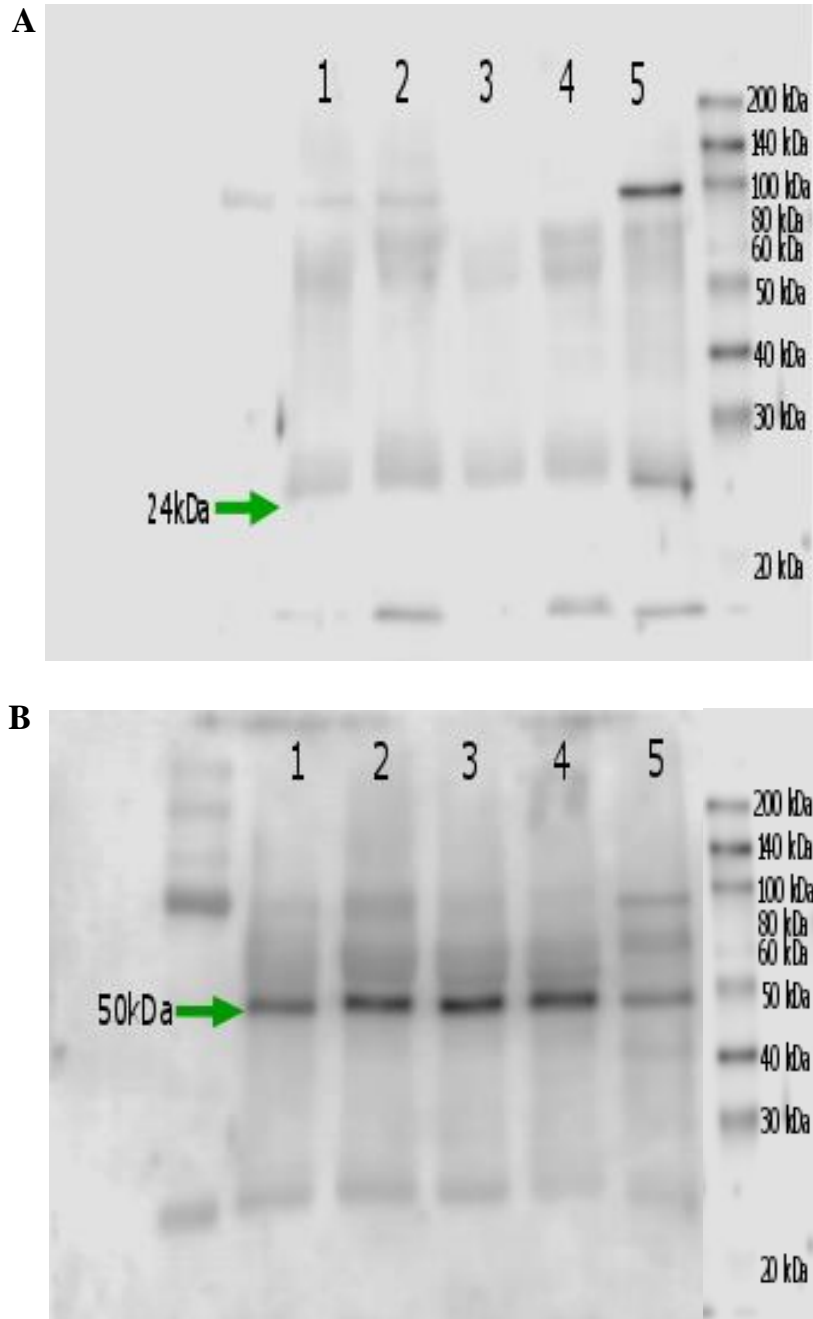


Figura V.VI 5 muestras con S100B (A) y TSG101 (B) de la Escuela C

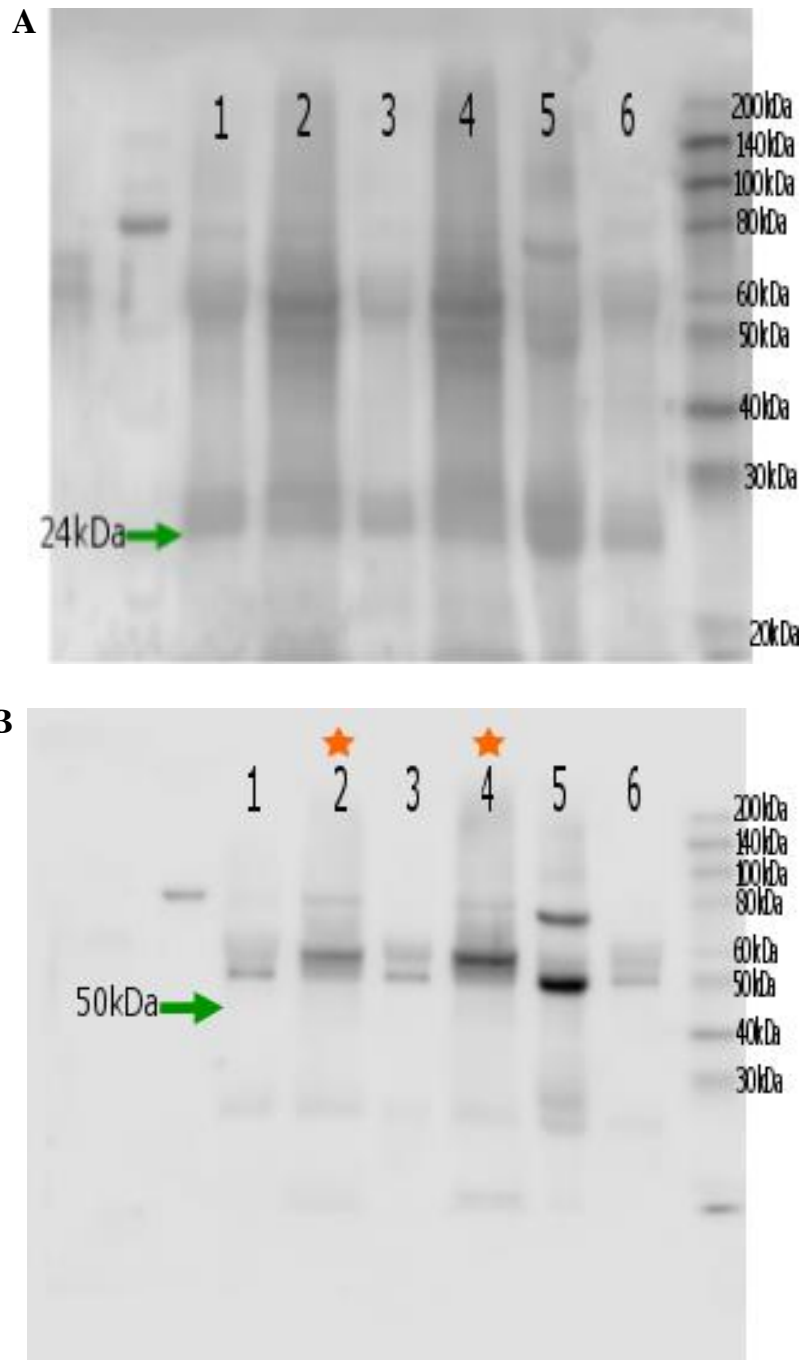


Figura V.VII 6 muestras con S100B (A) y TSG101 (B) de la Escuela C. Las estrellas naranjas representan las dos muestras que fueron descartadas dado que no presentan la banda de 50kDa.

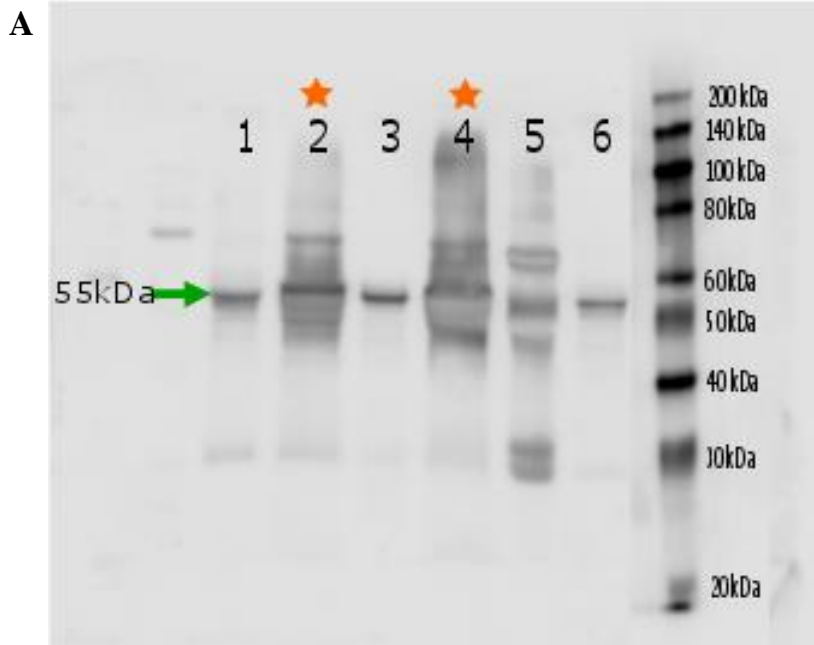


Figura V.VIII CD63 para 6 muestras de la Escuela C (A) Las estrellas naranjas representan las dos muestras que fueron descartadas dado que no presentan la banda de 50kDa

Saliva total

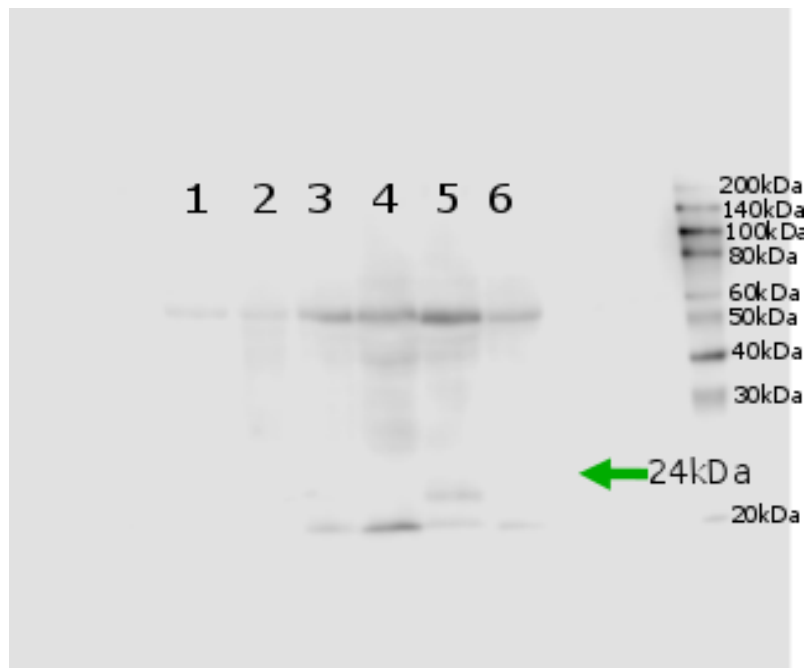


Figura V.IX 6 muestras de saliva total con S100B

ANEXO VI. Cuestionario para maestros para la participación en el protocolo de investigación “Calidad del aire exterior e interior en escuelas primarias, y biomarcadores de salud en la población escolar infantil de la Ciudad de México”

Lugar: _____ a _____ de _____ del

año 2016 FOLIO: _____

I. Datos generales

Nombre completo: _____

Género:	M	F	Edad:
Grado escolar que imparte actualmente:			

- ¿El salón cuenta con sistemas de aire acondicionado? Sí ()
No ()
En caso afirmativo ¿con qué frecuencia lo usa? _____
- A continuación se presentan algunos productos que podrían encontrarse en la escuela, marque con una X aquellos cuya presencia ha identificado en el aula de clase:

Producto	
Plaguicidas (insecticidas)	
Velas, incienso	
Desinfectantes	
Desengrasantes	
Limpiadores superficies	
Aromatizantes de interiores	
Pinturas	
Pegamento	
Solventes	
Combustibles	
Antitranspirante, desodorante (aerosol)	
Perfumes	
Spray para cabello	
Esmalte para uñas	
Talco	
Detergentes en polvo	

Gises	
Plumones	
Crayolas	
Medicamentos	
Resinas	
Alfombras	

3. Durante su uso, ¿los niños están presentes en el salón? Sí ()
 No ()
 En caso afirmativo, ¿qué medidas de precaución se toman? Ventanas abiertas ()
 Ninguna ()
 Otras (especifique) _____

4. ¿Hay animales con pelo dentro la escuela? Sí ()
 No ()

5. Marque con una X si ha notado las siguientes condiciones dentro del salón

Polvo	
Moho	
Problemas de agua (goteras, fugas en tuberías)	
Daños por humedad (manchas, oscurecimiento de techo, paredes, piso)	

6. ¿Cómo percibe la calidad del aire en el interior del salón? Muy pobre ()
 Pobre ()
 Buena () Muy buena ()
7. ¿Cómo considera la calidad de aire en el exterior del salón? Muy pobre ()
 Pobre ()
 Buena () Muy buena ()
8. ¿Los niños practican alguna actividad física al aire libre? (correr, patinar, bicicleta, caminar a escuela, jugar con amigos)
 Sí ()
 No ()
 En caso afirmativo, ¿en qué horario se realiza?

9. ¿Cuántas veces a la semana, en promedio, los niños son alimentados con lo siguiente?

Alimento	Nunca u ocasionalmente	Una o dos veces por semana	Tres o más veces por semana
----------	------------------------	----------------------------	-----------------------------

Carne (carne de res, cordero, pollo, cerdo)			
Pescado y mariscos			
Frutas			
Verduras			
Leguminosas (habas, chicharos, lentejas)			
Cereal (incluyendo pan)			
Lácteos (leche, yogur, queso)			
Embutidos (salchicha, jamón, etc.)			
Comida rápida (tacos, tortas, hamburguesas)			
Comida chatarra (papas fritas, chicharrones, dulces refresco, etc.)			

10. ¿En el aula se realizan actividades de estimulación temprana para los niños? (rompecabezas, figuras de plastilina, jugar con pelotas, dibujar, etc.)
 Sí ()
 No ()

¡AGRADECEMOS SU VALIOSA PARTICIPACIÓN!

ANEXO VII. Cuestionario para padres de familia para la participación en el protocolo de investigación “Calidad del aire exterior e interior en escuelas primarias, y biomarcadores de salud en la población escolar infantil de la Ciudad de México”

Lugar: _____ a _____ de _____ del año 2016 FOLIO:

I.- Datos generales

Género:	M	F	Edad:	Peso:	Estatura:
Ocupación:			Estado civil:		
Fecha de nacimiento:					
Ciudad de origen:					
Correo electrónico:			Teléfono:		

Nombre completo:

II.- Historia residencial

Calle:	Número:
Colonia o fraccionamiento:	
Municipio o delegación:	
Tiempo que lleva viviendo en este domicilio:	
¿Ha vivido fuera de la Ciudad de México?	¿Cuánto tiempo?

III. Estatus de Salud de su hijo

En esta sección se realizarán preguntas relacionadas con hábitos e historia clínica de su hijo. Nombre completo:

Género:	M	F	Edad:	Peso:	Estatura:
Fecha de nacimiento:					
Lugar de nacimiento:					

1. Durante su embarazo ¿usted fumó? Sí ()

No ()
En caso afirmativo, ¿Con qué frecuencia?

2. Durante su embarazo ¿usted consumió alcohol? Sí ()
No ()
En caso afirmativo, ¿Con qué frecuencia?

3. Durante su embarazo ¿usted estuvo expuesta a plaguicidas, arsénico, u otros compuestos tóxicos?
Sí ()
No ()

4. Durante su embarazo ¿tuvo alguna infección viral? (influenza, hepatitis, varicela, herpes, etc.)
Sí ()
No ()

5. ¿Su hijo fue prematuro? Sí ()
No ()

6. ¿Su hijo fue amamantado? Sí ()
No ()
En caso afirmativo, ¿hasta qué edad? (meses) _____

7. ¿A los cuántos años empezó a hablar su hijo? _____

8. Por favor, marque con una X, si su hijo ha sido diagnosticado con alguna de las siguientes enfermedades:

Enfermedades crónicas		Trastornos asociados al sistema nervioso	
Diabetes		Epilepsia	
Asma		Migraña	
EPOC		Hiperactividad con déficit de atención	
Obesidad		Problemas de lenguaje	
Gastritis		Depresión	

Colitis		Problemas de conducta	
Cáncer		Ansiedad	
Otra (especifique)		Otro (especifique)	

9. ¿Su hijo ha mencionado que tiene visión borrosa? Sí ()
No ()

10. ¿Ha notado que su hijo está ansioso, estresado, enojado, triste? Sí ()
No ()

11. ¿Alguna vez su hijo se ha intoxicado con medicamentos? Sí ()
No ()

12. ¿Su hijo ha tenido problemas de aprendizaje? Sí ()
No ()

13. Por favor, marque con una X, si su hijo presenta alguno de los siguientes síntomas:

Dificultad para entender lo que las personas decían	
Problemas para seguir instrucciones	
Problemas para organizar sus pensamientos	
Uso frecuente de muletillas (“um”)	
Menor vocabulario que el de otros niños de su edad	
Dificultad para crear oraciones y comunicarse	
Repetición continua de frases (como eco)	
Dificultad para pronunciar ciertas palabras	
Dificultad para mantener la atención en tareas o juegos	
Dificultad para organizarse	
Se distrae fácilmente	
No sigue las instrucciones en la escuela o en el hogar	
Con frecuencia pierde juguetes o útiles escolares	
Dificultad para jugar o trabajar en forma silenciosa	
Habla excesivamente	
Problemas para esperar su turno (impaciente)	
A menudo se distrae con problemas irrelevantes	

IV. Factores de estilo de vida

14. ¿Cuántas veces a la semana en promedio su hijo es alimentado con lo siguiente?

Alimento	Nunca u ocasionalmente	Una o dos veces por semana	Tres o más veces por semana
----------	------------------------	----------------------------	-----------------------------

Carne (carne de res, cordero, pollo, cerdo)			
Pescado y mariscos			
Frutas			
Verduras			
Leguminosas (habas, chicharos, lentejas)			
Cereal (incluyendo pan)			
Lácteos (leche, yogur, queso)			
Embutidos (salchicha, jamón, etc.)			
Comida rápida (tacos, tortas, hamburguesas)			
Comida chatarra (papas fritas, chicharrones, dulces refresco, etc.)			

15. ¿Su hijo realiza alguna actividad física? Sí ()
No ()
En caso afirmativo, ¿con qué frecuencia? _____ ¿la realiza en un espacio cerrado o en exteriores? _
16. ¿Realiza actividades con su hijo que estimulen su desarrollo neurológico? (rompecabezas, figuras de plastilina, jugar con pelotas, dibujar, etc.)
Sí ()
No ()
En caso afirmativo, ¿con qué frecuencia? _____
17. ¿En la escuela donde asiste su hijo se realizan actividades de estimulación temprana para los niños?
Sí ()
No ()
En caso afirmativo, ¿con qué frecuencia? _____

V. Ambiente

18. ¿En qué tipo de edificio está viviendo ahora?
Condominio ()
Casa
()

Otro tipo (especifique) _____

19. ¿En qué año fue construida su casa? _____
_____ ¿Cuánto tiempo lleva
viviendo su hijo ahí? _____

20. Marque con una X, si su hogar se encuentra cerca de:

Vías principales	
Gasolineras	
Fábricas	
Tintorerías	
Crematorios	

21. ¿Usted tiene usted mascotas? (perros, gatos, peces, aves) En caso afirmativo especifique cuál _____
22. Marque con una X si ha identificado alguna de estas condiciones en su casa durante los últimos 12 meses

Problemas asociados con agua (fugas, goteras, etc.) en paredes pisos o techos	
Decoloraciones en el piso	
Crecimiento de moho en paredes, pisos o techos	
Olor a humedad en alguna de las habitaciones	
Otro olor (especifique)	

VI. Exposición

23. En su casa ¿usted o alguno de los habitantes fuma? Sí ()
No ()
En caso de que haya más de un fumador, por favor, especifique para cada uno lo siguiente:

	Fumador 1	Fumador 2	Fumador 3	Fumador 4
¿Cuántos cigarros fuma al día?				
¿Fuma dentro de la vivienda?				
¿Su hijo está presente cuando alguien fuma?				

24. A continuación se presentan algunos productos que suelen ser utilizados en el hogar, marque todos lo que utiliza.

Producto	Frecuencia
Plaguicidas (insecticidas)	
Velas, incienso	
Desinfectantes	
Desengrasantes	
Limpiadores superficies	
Aromatizantes de interiores	
Pintura (casa), barniz	
Pegamento	
Solventes	
Combustibles	
Antitranspirante, desodorante (aerosol)	
Perfumes	
Spray para cabello	
Esmalte para uñas	
Talco	
Detergentes en polvo	

25. ¿Su hijo está presente cuando usa dichos productos? Sí ()
No ()
26. Al utilizar los productos anteriores, ¿suele usted tener las ventanas abiertas o algún sistema de ventilación?
Sí ()
No ()
27. Aproximadamente ¿Cuántas horas pasa su hijo al aire libre?
De 0 a 2 horas ()
De 2 a 4 horas ()
De 4 a 6 horas ()
Más de 6 horas ()
28. ¿Qué medio de transporte utiliza generalmente para lleva a su hijo a la guardería/preescolar/primaria?
Público (metro, camión, taxi, etc.) _____
Particular (automóvil, motocicleta, bicicleta) _____
Otro (especifique) _____

¡AGRADECEMOS SU VALIOSA PARTICIPACIÓN!

ANEXO VIII. Carta de consentimiento informado para la participación en el protocolo de investigación “Calidad del aire exterior e interior en escuelas primarias, y biomarcadores de salud en la población escolar infantil de la Ciudad de México”

Lugar: _____ a _____ de _____ del año 2016 FOLIO:

Justificación del estudio

La calidad del aire influye en el desarrollo de diversas enfermedades en los habitantes de la Ciudad de México, siendo la población infantil un grupo muy vulnerable. Además, la calidad del aire en interiores de escuelas y guarderías juega un papel importante sobre la salud de los niños. Existe la necesidad de realizar estudios para conocer si el ambiente y la calidad del aire en los lugares donde los niños pasan un mayor tiempo es adecuado para su desarrollo, por lo que se plantea realizar un estudio de monitoreo y epidemiología molecular con el fin de investigar en primer lugar la calidad del aire en escuelas primarias usando como indicador el material particulado (PM₁₀ y PM_{2.5}), y evaluar la utilidad de biomarcadores en muestras biológicas no invasivas como la saliva y la orina para conocer el impacto en la salud de la población infantil en edad escolar.

Objetivo de este estudio

Estudiar la relación entre la calidad del aire exterior e interior en escuelas primarias, con biomarcadores de salud en la población escolar infantil en la Ciudad de México.

Procedimientos

Si usted consiente que su hijo participe en el estudio y al mismo tiempo también su hijo(a) acepta participar, ocurrirá lo siguiente:

Le pediremos a su hijo(a) que done una muestra de saliva y otra de orina. A usted le pediremos que conteste un cuestionario acerca de la historia clínica de su hijo, lugar de residencia, estilo de vida, ambiente y posibles fuentes de exposición a contaminantes. Todas las muestras proporcionadas serán analizadas en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM.

Riesgos potenciales y molestias: No existen riesgos mayores para su hijo durante su participación en este estudio. La toma de muestra de saliva puede resultar un poco incómoda para su hijo(a).

Beneficios: Usted o su hijo no se beneficiarán inmediatamente al participar en este estudio. Si se observa alguna alteración en las muestras biológicas que proporcione su

hijo se lo haremos saber. Este estudio ayudará a saber el efecto que tiene la calidad del aire exterior e interior en escuelas y utilidad de marcadores biológicos para conocer la salud de la población escolar. Usted y su hijo(a) no recibirán ningún pago por participar en el estudio, y tampoco implicará algún costo para usted o su hijo(a).

Participación Voluntaria/Retiro: La participación en este estudio es absolutamente voluntaria. Usted está en plena libertad de negarse a otorgar el consentimiento de participación de su hijo(a), aún cuando el menor haya manifestado interés en participar. Así mismo, también tiene derecho a retirar su consentimiento y la participación de su hijo(a) en cualquier momento. La decisión de participar o no participar no afectarán de ninguna manera en las actividades escolares de su hijo. Todas las muestras serán guardadas hasta que el estudio concluya y una vez terminado estas serán desechadas de forma especial para no contaminar el ambiente. El resguardo de las muestras se realizará en el Instituto de Investigaciones Biomédicas de la UNAM. El responsable del resguardo y desecho final de las mismas será el Dr. Jorge H. Limón Pacheco. Si en algún momento usted desea retirar su autorización para el resguardo de las muestras y quiere que estas se eliminen, puede hacerlo con toda libertad y sin ninguna consecuencia por ello.

Confidencialidad: Toda la información que se nos proporcione para el estudio será de carácter estrictamente confidencial, será utilizada únicamente por el equipo de investigación del proyecto y no estará disponible para ningún otro propósito. Los participantes quedarán identificados con un número y no con su nombre. Los resultados de este estudio serán publicados con fines científicos, pero se presentarán de tal manera que no podrá ser identificado el participante.

Autorización para la toma de muestras

Marque con una X su elección

- No autoriza que se tome la muestra. ()
Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio. ()
Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros. ()

Autorización para el resguardo de las muestras

- No autoriza que las muestras se resguarden. ()
_____)
Si autorizo que las muestras se resguarden hasta el término de este estudio y se utilicen solo para este estudio. ()
_____)
Si autorizo que las muestras se resguarden hasta el término de este estudio y puedan ser usadas para este estudio y estudios futuros. ()
_____)

Números a Contactar: Si usted tiene alguna pregunta, comentario o preocupación con

respecto al proyecto, podrá dirigirse a:

Investigador Responsable:

Dr. Jorge Humberto Limón Pacheco

**Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental del Instituto
de Investigaciones Biomédicas de la UNAM**

Teléfono: 56229178

correo electrónico: jorgehlimon@comunidad.unam.mx

Consentimiento para su participación en el estudio

Su firma indica su aceptación para que su hijo

participe voluntariamente en el presente estudio

Nombre de quien ejerce la patria potestad del menor participante:

Fecha:

Día / Mes / Año

Firma: _____

Nombre Completo del Testigo 1:

Fecha:

Día / Mes / Año

Dirección _____

Firma: _____

Relación con el participante _____

Nombre Completo del Testigo 2:

Fecha:

Día / Mes / Año

Dirección _____

Firma: _____

Relación con el participante _____

Nombre de la persona que obtiene el consentimiento

Fecha:

____ / ____ / ____