



**UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA**  
La Universidad Católica de Loja

**ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA**

**TÍTULO DE MAGÍSTER EN ANALISIS BIOLÓGICO Y  
DIAGNOSTICO DE LABORATORIO**

**Evaluación del daño genotóxico en los habitantes de la zona Céntrica  
- Totoracocha de la ciudad de Cuenca –Ecuador expuestos a MP<sub>2.5</sub>  
mediante el ensayo de Micronúcleos**

**TRABAJO DE TITULACIÓN**

**AUTORA.** Cueva Bravo, Romina Lizbeth Lcda.

**DIRECTORA:** Bailón Moscoso, Natalia Catalina PhD.

**LOJA - ECUADOR**

**2018**



*Esta versión digital, ha sido acreditada bajo la licencia Creative Commons 4.0, CC BY-NY-SA: Reconocimiento-No comercial-Compartir igual; la cual permite copiar, distribuir y comunicar públicamente la obra, mientras se reconozca la autoría original, no se utilice con fines comerciales y se permiten obras derivadas, siempre que mantenga la misma licencia al ser divulgada. <http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/deed.es>*

2018

## **APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Doctora.

Natalia Bailón, Moscoso

### **DOCENTE DE LA TITULACIÓN**

De mi consideración:

El presente trabajo de titulación, denominado: Evaluación del daño genotóxico en los habitantes de la zona Céntrica - Totoracocha de la ciudad de Cuenca –Ecuador expuestos a  $MP_{2.5}$  mediante el ensayo de Micronúcleo, realizado por Romina Lizbeth, Cueva Bravo, ha sido orientado y revisado durante su ejecución por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, Septiembre 2018.

f) .....

## DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo Romina Lizbeth Cueva Bravo declaro ser autora del presente trabajo de titulación Evaluación del daño genotóxico en los habitantes de la zona Céntrica - Totoracocha de la ciudad de Cuenca – Ecuador expuestos a MP<sub>2.5</sub> mediante el ensayo de Micronúcleo, de la titulación de Magíster en Análisis Biológico y Diagnóstico de Laboratorio Clínico, siendo Natalia Bailón, Moscoso, PhD directora del presente trabajo; y eximo expresamente a la Universidad Técnica Particular de Loja y a sus representantes legales de posibles reclamos o acciones legales.

Además certifico que las ideas, concepto, procedimiento y resultados vertidos en el presente trabajo investigativo, son de mi exclusiva responsabilidad.

Adicionalmente declaro conocer y aceptar la disposición del Art. 88 del Estatuto Orgánico de la Universidad Técnica Particular de Loja que en su parte pertinente textualmente dice: " Forman parte del patrimonio de la Universidad de la propiedad intelectual de investigaciones, trabajos científicos o técnicos y tesis de grado o trabajos de titulación que se realicen con el apoyo financiero, académico o institucional (operativo) de la Universidad".

f.....

**Autor** Cueva Bravo Romina Lizbeth

**Cédula** 1103674246

## **DEDICATORIA**

Dedico esta tesis a mis padres Alberto Cueva y Piedad Bravo por ser los pilares fundamentales en mi vida, a mi esposo Mayron Cumbicos, a mis hermanas Sthephany y Johanna, sobrinas, cuñados que siempre me apoyaron incondicionalmente brindándome sus consejos de igual manera a todas aquellas personas que de una u otra manera ha contribuido para el logro de mis objetivos.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Técnica Particular de Loja por haberme abierto las puertas de su seno científico para poder estudiar esta maestría, así como a los diferentes docentes que brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante día a día.

Agradezco a mi directora de tesis a la PhD. Natalia Bailón Moscoso por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así también por su paciencia y dedicación para guiarme durante el desarrollo de esta tesis.

Al igual agradezco a mis compañeros de trabajo que me supieron brindar su apoyo y en especial a Carlitos Palacios y Sonita Alvarado ya que gracias a ellos pude seguir esta maestría.

Y para finalizar, también agradezco a Dios por darme la vida y salud, a mis padres Piedad y Alberto por su apoyo moral y económico que han aportado un alto porcentaje a mis ganas de seguir adelante en mi carrera profesional.

## INDICE DE CONTENIDOS

CARATULA.....	II
APROBACIÓN DE LA DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN .....	II
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	III
DEDICATORIA .....	IV
AGRADECIMIENTO.....	V
INDICE DE CONTENIDOS .....	VI
INDICE DE TABLAS. ....	VIII
INDICE DE GRÁFICAS.....	IX
INDICE DE FIGURAS.....	IX
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
OBJETIVO GENERAL: .....	4
OBJETIVO ESPECÍFICOS: .....	4
MARCO TEÓRICO .....	5
1.    CONTAMINACIÓN DEL AIRE. ....	6
1.1 Los contaminantes gaseosos.....	6
1.2 Contaminantes orgánicos. ....	6
1.3 Metales pesados.....	7
1.4 Material Particulado Atmosférico. ....	7
1.4.1 Material Particulado MP <sub>2.5</sub> . ....	7
1.4.2 Guía de Calidad del Aire para MP <sub>2.5</sub> .....	7
2.    LA CALIDAD DEL AIRE EN CUENCA – ECUADOR.....	8
3.    VÍAS DE EXPOSICIÓN. ....	10
4.    EFECTOS EN LA SALUD POR MATERIAL PARTICULADO. ....	10
5.    CANCER. ....	12
6.    DAÑO GENOTÓXICO.....	12
7.    MUCOSA ORAL EN LA EVALUACIÓN DE DAÑO GENOTÓXICO. ....	13
8.    BIOMARCADOR: MICRONÚCLEOS. ....	14
8.1 Criterios para Identificar Micronúcleos.....	15
8.2 Anormalidades nucleares (AN) en células de mucosa oral.....	15
METODOLOGÍA.....	17
9.    ÁREA DE ESTUDIO. ....	18
9.1. Localización Geográfica. ....	18
9.2. Sitio de estudio. ....	18
9.3 Población en estudio.....	20
9.3.1 Criterios de Inclusión. ....	20
9.3.2 Criterios de Exclusión.....	20
9.4. Tamaño de la muestra. ....	20
9.5. Diseño de estudio. ....	20
9.5.1. Protocolo .....	20
9.6 Análisis Estadístico .....	21
RESULTADOS .....	22
DISCUSIÓN.....	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>29</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.</b>



## INDICE DE TABLAS.

<b>Tabla 1.</b> Valores Guía de Calidad del Aire para MP <sub>2.5</sub> .....	7
<b>Tabla 2.</b> Código, Dirección y Contaminantes de las estaciones de monitoreo ...	9
<b>Tabla 3.</b> Localización de los sitios de Estudio.....	18
<b>Tabla 4.</b> Características Demográficas de los grupos de Estudio.....	23
<b>Tabla 5.</b> Aspecto de Salud en los grupos de Estudio.....	24
<b>Tabla 6.</b> Agentes expuestos los grupos de Estudio.....	27
<b>Tabla 7.</b> Frecuencia de Biomarcadores de Genotóxicidad Cuenca – Ecuador	27

## INDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1.</b> Procesos Patológicos de la Población Zona Céntrica y Totoracocha. ....	25
<b>Gráfica 2:</b> Medicamentos Administrados de la Población Zona Céntrica y Totoracocha.....	26

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Localización de la ciudad de Cuenca – Ecuador.....	8
<b>Figura 2.</b> Diagrama del proceso de desplazamiento de partículas gruesa, finas y ultra finas. ....	10
<b>Figura 3.</b> Epitelio oral estratificado plano no queratinizado; en capa basal se lleva a cabo la división celular, y es donde se originan los Micronúcleos (MN) y anomalías nucleares (AN) para luego migrar a la superficie. ....	14
<b>Figura 4.</b> Micronúcleos (MN) y la formación de NPB (Puentes nucleoplásmicos) en las células sometidas a la división nuclear.....	15
<b>Figura 5.</b> (a) Micronúcleos, (b) Puente, (c) NOTCH, (d) Binucleadas, (e) BUDS ..... .....	16
<b>Figura 6.</b> Mapa de Distribución del Material Particulado PM <sub>2.5</sub> de Cuenca. ....	19
<b>Figura 7.</b> Esquema del ensayo de Micronúcleos.....	21

## RESUMEN

El material particulado (MP) está constituido de una variedad de sustancias genotóxicas, capaces de afectar la salud humana, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el daño genotóxico en los habitantes de la zona Céntrica (alta concentraciones de MP<sub>2.5</sub>) en comparación con la zona Totoracocha (baja concentraciones de MP<sub>2.5</sub>) de la ciudad de Cuenca – Ecuador, la muestra que se utilizó es un cepillado de células bucales y se analizó mediante el ensayo de micronúcleos. Como resultado de este estudio se obtuvo una mayor frecuencia de micronúcleos en los habitantes de la zona céntrica en comparación con los sujetos de la zona Totoracocha, lo que lleva a concluir que esto puede ser un riesgo potencial para la salud humana de dicha población que está expuesta a altas concentraciones de MP<sub>2.5</sub>.

**PALABRAS CLAVES:** Genotóxicidad, Material Particulado (MP<sub>2.5</sub>), ensayo micronúcleos, Células Bucleas.

## **ABSTRACT**

Particulate material (PM) consists of a variety of genotoxic substances capable of negatively affecting human health. The objective of this work was to evaluate genotoxic damage to inhabitants of the Centric zone (high concentrations of PM<sub>2.5</sub>) compared with the Totoracocha zone (low concentrations of PM<sub>2.5</sub>) in the city of Cuenca, Ecuador. The sample included a brushing of buccal cells analyzed using the micronucleus test. We noted a higher frequency of micronuclei in the inhabitants of the downtown area compared with the subjects living in the Totoracocha zone, which leads to the conclusion that the population exposed to high concentrations of PM<sub>2.5</sub> may have suffered potential risks to their health.

**KEY WORDS:** Genotoxicity, Particulate Material (PM<sub>2.5</sub>), Micronucleus assay, Buccal Cells.

## INTRODUCCIÓN

De acuerdo a Shah et al. (2012), la exposición a material particulado atmosférico (MP) tiene fuertes asociaciones con la salud humana y pueden inducir enfermedades cardiovasculares y respiratorias (Jos et al., 2009), siendo así la contaminación ambiental un tema de preocupación social.

Alvarado-Cruz et al. (2017) afirma que el MP es una mezcla compleja de compuestos orgánicos e inorgánicos así como hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs) y metales como hierro (Fe), níquel (Ni), vanadio (V) y cobre (Cu).

El MP generalmente se subdivide en partículas gruesas inhalables (MP 2.5-10  $\mu\text{m}$ ), partículas finas (MP<sub>2.5</sub>) y partículas ultrafinas (Pope III et al., 2002).

Las partículas finas de menos de 2.5  $\mu\text{m}$  de diámetro, pueden penetrar profundamente en los pulmones y causar serios problemas de salud por ello cada incremento de 10  $\mu\text{g}/\text{m}^3$  de MP<sub>2.5</sub> se asocia con un aumento de aproximadamente 4%, 6% y 8% en la mortalidad por cáncer, cardiopulmonar y pulmón respectivamente (Pope III et al., 2002).

El MP<sub>2.5</sub> puede aumentar las frecuencias de aberración cromosómica y micronúcleos en células humanas, lo que demuestra su actividad clastogénica (Gualtieri et al., 2012). Las respuestas al daño en el ADN desencadenada por MP<sub>2.5</sub> son el aumento de la fosforilación de ATM, Chk2 and H2AX, pudiendo causar una serie de alteraciones en los procesos bioquímicos y fisiológicos celulares, especialmente en los perfiles de expresión génica, alterando las funciones y/o los destinos de las células (Gualtieri et al., 2011).

Estos daños pueden ser evaluados por la vigilancia biológica, que de acuerdo con Ladeira (2016) consiste en la evaluación de la exposición a un agente químico del medio ambiente y sus efectos sobre la salud a través de la medida de diversos marcadores biológicos.

Mientras que Tolbert et al., (1992) añaden que para la biomonitorización del riesgo genotóxico se utiliza biomarcador, entre los que encontramos el ensayo de micronúcleos, ya que son núcleos pequeños que se ubican al lado del núcleo celular que indican algún tipo de aberración cromosómica que pudo producirse como efecto de la exposición a agentes ambientales.

Según la base de datos contaminación del aire ambiental (exterior) 2014, Cuenca es la cuarta ciudad del Ecuador con mayor índice de material particulado suspendido en el aire urbano, lo que explica Astudillo-Alemán et al., (2015) que esto es debido al creciente desarrollo de la industria local y de su parque automotor, del cual se estima una proyección de crecimiento de 10 mil vehículos por año. Mientras que la Organización Mundial de la Salud (OMS) en el 2016 atribuye 4.2 millones de muertes por causa de la contaminación del aire exterior en la ciudades y las zonas rurales de todo el mundo.

Por todo lo expuesto anteriormente se planteó la presente investigación para poder evidenciar si el MP<sub>2.5</sub> está causando daño y alteración en el ADN de los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca – Ecuador, aportando así a la ciencia y también siendo un estudio de evaluación de riesgo de la población de dichas zonas.

**OBJETIVO GENERAL:**

Evaluar el daño genotóxico en los habitantes de la zona Céntrica - Totoracocha de la ciudad de Cuenca – Ecuador expuestos a  $MP_{2.5}$  mediante el ensayo de Micronúcleos.

**OBJETIVO ESPECÍFICOS:**

- Establecer el daño genotóxico en los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca, donde existe alta concentración de  $MP_{2.5}$ , en células de la mucosa bucal mediante el ensayo de Micronúcleos.
- Establecer el daño genotóxico en los habitantes de la zona Totoracocha de la ciudad de Cuenca, donde existe baja concentración de  $MP_{2.5}$ , en células de la mucosa bucal mediante el ensayo de Micronúcleos.
- Relacionar la exposición a partículas  $MP_{2.5}$  y daño genotóxico.

## MARCO TEÓRICO

## 1. Contaminación del Aire.

Bustos-Obregón y Hartley (2007) explica que la contaminación atmosférica es definida como la introducción o presencia de sustancias, organismos o formas de energía en ambientes o sustrato, a los que no pertenecen o están en cantidades superiores a las propias de dicho sustrato, por un tiempo suficiente y bajo condiciones tales que esas sustancias interfieren en la salud y comodidad de las personas, dañando los recursos naturales o alterando el equilibrio ecológico de la zona.

La contaminación del aire ambiental según Kampa y Castanas (2008) esta dada por una serie de actividades volcánicas, incendios y actividades antropogénicas, siendo esta última la principal causa de contaminación. También añaden que los productos químicos peligrosos pueden escapar al medio ambiente por accidente, pero una serie de contaminantes del aire son liberados de las instalaciones industriales y otras actividades, que pueden causar daño en la salud humana y el medio ambiente.

Entre las sustancias químicas según Kampa y Castañas (2008) que pueden contaminar el aire están las siguientes:

- Los contaminantes gaseosos (CO, Ozono, SO<sub>2</sub>, NO<sub>x</sub>, Compuestos Orgánicos Volátiles).
- Los Contaminantes orgánicos (dioxinas).
- Los metales pesados (Plomo, Mercurio).
- Material Particulado.

**1.1 Contaminantes gaseosos.** Contribuyen en gran medida en las variaciones de composición de la atmósfera y son principalmente emitidos debido a la combustión de combustibles fósiles (Katsouyanni, 2017).

Los óxidos de nitrógeno son emitidos como NO que reaccionan rápidamente con ozono o radicales en la atmósfera formando NO<sub>2</sub>. Las principales fuentes antropogénicas son combustión móvil y estacionaria. El CO, por otra parte, es un producto de combustión incompleta, su fuente principal es el transporte por carretera. Mientras que el SO<sub>2</sub> antropogénico resulta de la combustión de fósiles compuestos de azufre (principalmente carbón y aceites pesados) y la fundición del azufre que se encuentran en minerales, volcanes y océanos (Kampa y Castanas, 2008).

Finalmente, la generación de energía y el tránsito por carretera son las principales fuentes de emisión de los compuestos orgánicos volátiles (COV). Esta es una clase de compuestos, que incluye especies químicas de naturaleza orgánica, tal como el Benceno (Kampa y Castanas, 2008).

**1.2 Contaminantes orgánicos.** Están formados por un grupo tóxico de productos químicos que persisten en el ambiente por mucho tiempo, ellos incluyen pesticidas, así como dioxinas, furanos y bifenil policlorado (Hites, 2011).

Las dioxinas se forman durante la combustión incompleta y cuando se queman los materiales que contienen cloro (por ejemplo plásticos), las dioxinas tienden a depositarse en el suelo y el agua, pero al ser insoluble en agua, no contaminan las fuentes de agua subterránea. La mayoría de las dioxinas en plantas provienen de aire y el polvo o los pesticidas y entran en la cadena alimentaria donde se bio-acumulan debido a su capacidad para estar unido de forma estable a los lípidos (Kampa y Castanas, 2008).



**1.3 Metales pesados.** Incluyen elementos metálicos básicos como plomo, mercurio, cadmio, níquel, plata, vanadio, cromo y manganeso. La corteza terrestre según Järup (2003) contiene componentes naturales tales como los materiales pesados los mismos que no pueden ser degradados ni destruidos, los materiales pesados son transportados por el aire e ingresando en agua y suministro de alimentos humanos. Además, acceden al medio ambiente a través de una amplia variedad de fuentes, incluyendo la combustión, vertidos de aguas residuales y plantas de fabricación. En cantidades pequeñas, es decir en trazas, estos elementos son esenciales para mantener las reacciones metabólicas normales. Sin embargo a concentraciones más altas (aunque relativamente baja) pueden llegar a ser tóxicos (Järup, 2003).

Casi todos los metales pesados tienden a bio-acumularse en el cuerpo humano, los mismos que se almacenan más rápido de lo que se descomponen o excretan (Kampa y Castanas, 2008).

**1.4 Material Particulado Atmosférico.** Pöschl (2005) añade que el material particulado (MP) es una mezcla compleja de partículas suspendidas en el aire, que son producidas principalmente por actividades naturales y antropogénicas, las mismas que varían en su tamaño y composición.

Las fuentes principales de contaminación por Material Particulado son fábricas, centrales eléctricas, incineradores, vehículos de motor, la actividad de la construcción, incendios y el polvo arrastrado por el viento (Nel, 2005), también manifiesta que el tamaño de las partículas varía en un diámetro aerodinámico menor que 2.5  $\mu\text{m}$  - 10  $\mu\text{m}$ , por lo que las diferentes categorías han sido definidas de la siguiente manera: partículas ultra finas < 0.1  $\mu\text{m}$ , partículas finas 0.1 a 2.5  $\mu\text{m}$  y partículas gruesas de 2.5 a 10  $\mu\text{m}$  (Nel, 2005).

#### 1.4.1 Material Particulado MP<sub>2.5</sub>.

El MP<sub>2.5</sub> consiste en partículas finas con un diámetro menor 2.5  $\mu\text{m}$ , son emitidas principalmente por vehículos a diésel, la generación eléctrica, la combustión industrial y residencial. Pueden ingresar directamente hasta los alvéolos pulmonares y causar serios problemas de salud (Krzyzanowski y Cohen, 2008).

Gualtieri et al. (2011) señala que el MP<sub>2.5</sub> forma parte del MP<sub>10</sub> y además añade que el MP<sub>10</sub> se deposita en vías respiratorias bajas, a diferencia del MP<sub>2.5</sub> que puede llegar a zonas de intercambio de gases de pulmón, afectando a la salud humana y pudiendo llegar hacer un potencial cancerígeno (Gualtieri et al., 2011).

#### 1.4.2 Guía de Calidad del Aire para MP<sub>2.5</sub>

Los valores de referencia límite del MP<sub>2.5</sub> son los siguientes:

**Tabla 1.** Valores Guía de Calidad del Aire para MP<sub>2.5</sub>.

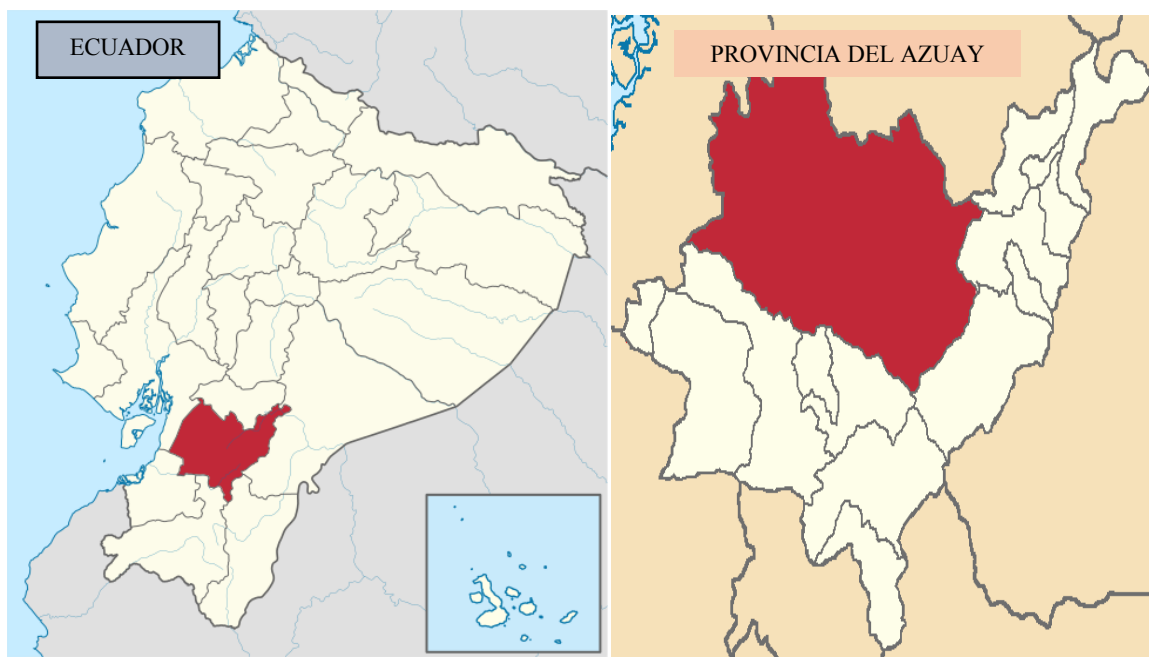
	Media Anual	Media 24 horas
<b>Organización Mundial de Salud (OMS)</b>	10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	25 $\mu\text{g}/\text{m}^3$
<b>Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire Ambiental (NCAA)</b>	15 $\mu\text{g}/\text{m}^3$	50 $\mu\text{g}/\text{m}^3$

**Fuente:** (OMS. 2005); (Ecuatoriana y Del, 2011)

**Elaborado por:** Autora

## 2. La calidad del aire en Cuenca – Ecuador.

Cuenca se encuentra en la Región Interandina del Ecuador (Sierra) en la parte sur, se divide en 15 parroquias urbanas y 21 rurales, tiene una superficie total 3.2 mil km<sup>2</sup>, una altitud de 2800 m.s.n.m, su población total es de 505.585 hab. (**Figura 1**). Las actividades principales de la ciudad son el comercio y la industria (INEC 2010).



**Figura 1.** Localización de la ciudad de Cuenca – Ecuador.

Fuente: (INEC 2010)

Elaborado por: Autora

En la ciudad de Cuenca debido a actividades contaminantes del aire, en el año 2008 se creó una Red de Monitoreo de la Calidad del Aire, la misma que tiene 20 sitios de vigilancia localizados en diferentes puntos de la ciudad como se puede visualizar en la **Tabla 2**.

**Tabla 2.** Código, dirección y contaminantes de las estaciones de monitoreo.

Código	Nombre	Ubicación	Contaminantes	Escala
MAN	Machángara	Jardines del Río y Calle Londres	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
EIA	Escuela Ignacio Andrade	Reino de Quito y Avenida González Suárez	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
EHS	Escuela Héctor Sempértegui	Camino a Ochoa León	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
CHT	Colegio Herlinda Toral	Altar Urco y Avenida Paseo de los Cañaris	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
TET	Terminal Terrestre	Avenidas Madrid y España	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
ECC	Escuela Carlos Crespi II	Calle de la Bandalia y Calle del Arpa	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
ODO	Facultad de Odontología – U de Cuenca	Av. Pasaje de Paraíso y Avenida 10 de Agosto	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
EVI	Escuela Velasco Ibarra	Avenida Felipe II y Avenida Isabel Católica	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
BAL	Balzay CEA – U Cuenca.	Avenida Ordóñez Laso y Avenida Cerezos	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
VEG	Vega Muñoz	Vega Muñoz y Luís Cordero	NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Microescala
CCA	Colegio Carlos Arízaga Vega	Calle J. Lavalle y Calle A. Ricourte	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, MP <sub>10</sub> , BTEX	Urbana, vecinal
MUN	Municipio	Calle Simón Bolívar y Calle Presidente Borrero	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , CO, MP <sub>2.5</sub> , MP <sub>10</sub> , PS, BTEX	Urbana, vecinal
EIE	Escuela Ignacio Escandón	Avenida Loja y Calle Ignacio de Rocha	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, MP <sub>10</sub> , BTEX	Urbana, vecinal
BCB	Estación de bomberos	Calle Presidente Córdova y Luís Cordero	NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Microescala
LAR	Calle Larga	Calle Larga y Borrero	NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , BTEX	Microescala
ICT	Antenas de Ictocruz	Camino a Ictocruz	O <sub>3</sub>	Regional
CEB	Cebollar	Calle del Cebollar	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal
MIS	Misicata	Calle Carmela Malo	O <sub>3</sub> , NO <sub>2</sub> , SO <sub>2</sub> , PS, BTEX	Vecinal

**Fuente:** Informe de Calidad del Aire 2016 Cuenca – Ecuador EMOV EP

**Elaborado por:** Autora

Según el informe de la calidad del aire de Cuenca – Ecuador (2016), emitido por la Red de monitoreo EMOV EP nos da a conocer las principales fuentes de contaminación que se detalla a continuación:

- Monóxido de carbono (CO): tráfico vehicular 94.5 %.
- Óxidos de nitrógeno (NOx): tráfico vehicular 71.2 %, térmicas 18.5 %.
- Compuestos orgánicos volátiles diferentes del metano (COVNM): Industrias 60.4 %, térmicas 35.1 %.
- Dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>): industrias 48.2 %, tráfico vehicular 30.2 %, térmicas 21.1 %.
- Material Particulado (MP<sub>2.5</sub>): tráfico vehicular 42.5 %, ladrilleras artesanales 38.5 %, térmicas 11.3 %.
- Material Particulado (MP<sub>10</sub>): tráfico vehicular 55.6 %, ladrilleras artesanales 24.6 %.

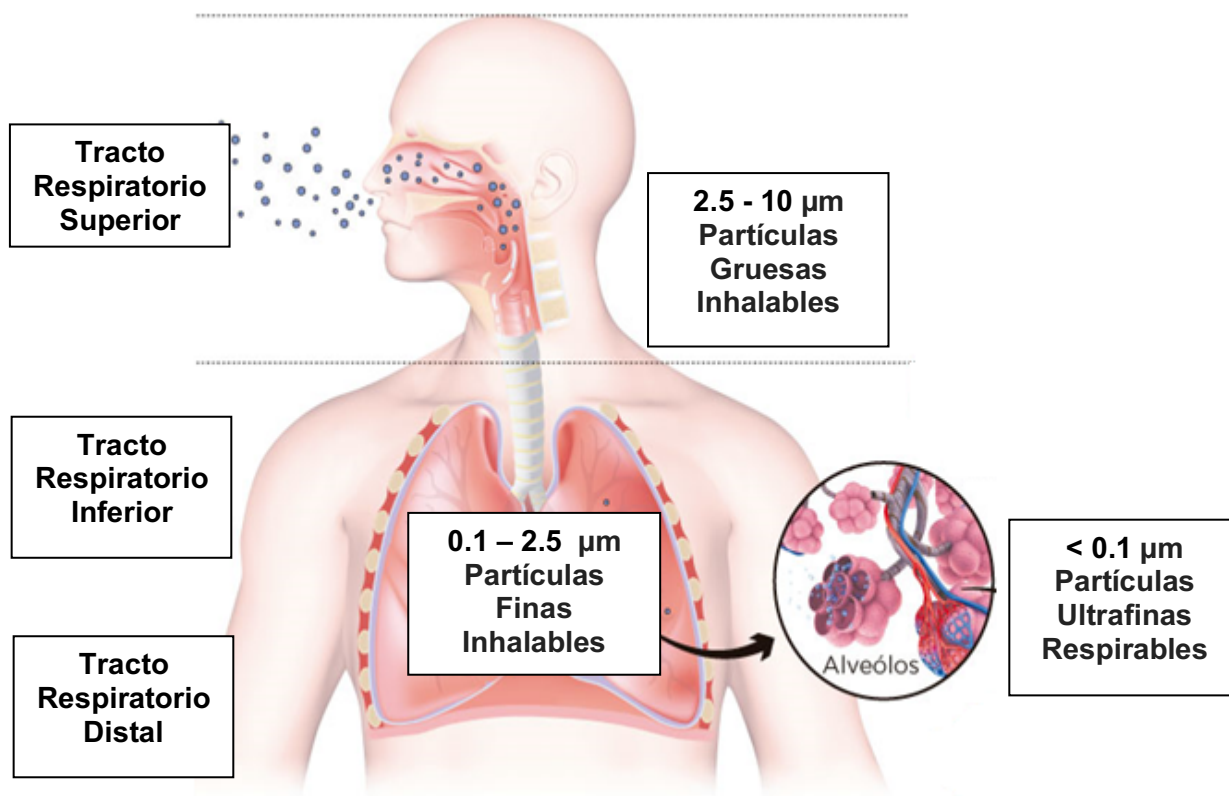
Las fuentes más importantes de emisión de contaminación en la zona urbana de Cuenca es el tráfico vehicular y al noroccidente las industrias.

Los resultados obtenidos del monitoreo de MP<sub>2.5</sub> (2016) por la Red de monitoreo EMOV EP nos indica que el valor medio de todas las concentraciones horarias de la estación Municipio (MUN) asciende a 10.3 µg/m<sup>3</sup>, siendo este valor menor al promedio anual establecido por la Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire Ambiente (NCAA) (15 µg/m<sup>3</sup>), aunque un poco mayor al valor establecido por la OMS (10 µg/m<sup>3</sup>). El valor medio provisional de los registros horarios de la estación Colegio Carlos Arízaga Vega (CCA) asciende a 11.7 µg/m<sup>3</sup>, siendo menor al valor anual establecido por la NCAA (15 µg/m<sup>3</sup>), aunque esta sobre los valores de la OMS (10 µg/m<sup>3</sup>).

A diferencia de todos los promedios en 24 horas de  $MP_{2.5}$  de las estaciones MUN y CCA fueron menores a la concentración que establece la NCAA ( $50 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ), las concentraciones del 22 de noviembre de 2016 ( $26.6 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , estación MUN;  $30.3 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , estación CCA) son las máximas medias diarias del año 2016, y superaron el valor guía de la OMS ( $25 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Durante el 22 de noviembre de 2016, en varias zonas dentro y aledañas al Cantón Cuenca, se generaron incendios forestales. Los sensores automáticos de  $MP_{2.5}$  de las estaciones MUN y CCA registraron la influencia de las emisiones generadas por estos incendios.

### 3. Vías de exposición.

La principal vía de exposición de contaminación del aire en el ser humano es la inhalación de partículas suspendidas en el aire y la ingesta de alimentos y agua contaminada, una vía de menor exposición es el contacto dérmico (Thron, 1996). A través del tracto gastrointestinal y respiratorio se puede producir la absorción de contaminantes, mientras que un número de sustancias tóxicas se puede encontrar en la circulación general y depositarse en diferentes tejidos, lo que se resume en la **Figura 2** (Thron, 1996).



**Figura 2.** Diagrama del desplazamiento de partículas gruesa, finas y ultra finas.

**Fuente:** Modificado, adaptado y traducido de (BéruBé et al., 2007).

**Elaborado por:** Autora.

### 4. Efectos en la salud por material particulado.

La diferente composición de contaminantes del aire, la dosis y el tiempo de exposición y el hecho de que los seres humanos están generalmente expuestos a mezclas de contaminantes que a las sustancias individuales, puede conducir a diversos efectos

sobre la salud humana. Dichos efectos pueden variar desde náuseas y diferentes problemas respiratorios o de la piel, al cáncer. También incluyen defectos congénitos, retraso en el desarrollo graves en los niños y la reducción del sistema inmunológico (Cohen et al., 2005). Por otra parte, existen varios factores de susceptibilidad, tales como la edad, el estado nutricional y condiciones de predisposición. Los efectos sobre la salud se pueden distinguir entre: agudos, crónicos, no incluyendo el cáncer y procesos cancerosos. Los datos del modelo epidemiológicos y en animales indican que los sistemas principalmente afectados son el cardiovascular y el sistema respiratorio (Cohen et al., 2005).

Los episodios de contaminación atmosférica bien conocidos y graves en Europa y América del Norte antes de 1960 proporcionaron pruebas irrefutables de que altos niveles de contaminación del aire llevan a tener importantes efectos adversos para la salud, incluyendo un aumento significativo de la mortalidad. Sin embargo, los resultados de estudios epidemiológicos en los últimos 15 años han demostrado consistentemente que concentraciones moderadas y bajas de contaminantes tradicionales, tales como partículas ambientales pueden tener ambos efectos a corto y largo plazo en la salud (Järup, 2003). Es por ello que según Pope III et al. (2002) afirma que por cada incremento de  $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de  $\text{MP}_{2.5}$  se asoció con un aumento de aproximadamente 4, 6 y 8 % en la mortalidad por cáncer cardiovascular y pulmonar respectivamente.

Los efectos pulmonares del MP incluyen la activación de la inflamación en las vías respiratorias más pequeñas, que puede conducir a la exacerbación de estrés oxidativo, que provoca un aumento en la producción de enzimas antioxidantes a través de la activación de un factor de transcripción Nrf2 (Nel, 2005).

La exposición temporal, incluso a altas concentraciones de  $\text{MP}_{2.5}$  incrementa el riesgo de infarto de miocardio después de sólo unas pocas horas en una población de alto riesgo (Peters et al., 1997). Incluso breves exposiciones a la contaminación del aire se han asociado con el aumento de la mortalidad cardiovascular, particularmente en poblaciones susceptibles (Shah et al., 2012).

En un informe de Aphekom en donde Medina (2012) cita las enfermedades causadas por inhalación de MP que son las siguientes:

**A. Pulmones:**

- Inflamación.
- Stress oxidativo.
- Progresión acelerada y exacerbación de EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica).
- Aumento de síntomas pulmonares.
- Desarrollo de reflejos pulmonares.
- Reducción de función pulmonar.

**B. Inflamación sistémica y stress oxidativo:**

- Aumento de Proteína C Reactiva.
- Mediadores pro-inflamatorios.
- Activación leucocitaria y plaquetaria.

**C. Corazón:**

- Alteración de la función autónoma cardíaca.
- Stress oxidativo.
- Aumento de la susceptibilidad a alteraciones del ritmo cardíaco.
- Alteración de la repolarización cardíaca.

- Incremento de la isquemia del miocardio.

#### **D. Sangre:**

- Trombosis periférica.
- Disminución de la saturación de oxígeno.
- Translocación del material particulado al flujo sanguíneo.

#### **E. Sistema vascular:**

- Aterosclerosis.
- Progresión acelerada y desestabilización de las placas de ateroma.
- Disfunción endotelial.
- Vasoconstricción e hipertensión arterial.

#### **F. Cerebro:**

- Aumento de isquemia cerebrovascular.

### **5. Cáncer.**

Según la OMS (2005) el cáncer es la multiplicación rápida de células anormales que pueden invadir partes adyacentes del cuerpo o propagarse a otros órganos. Torre et al (2015) afirma que el cáncer es un enorme problema para la sociedad tanto en países más y menos desarrollados económicamente, también añade que la aparición de cáncer está aumentando debido al crecimiento y el envejecimiento de la población, así como un aumento de la prevalencia de los factores de riesgo establecidos, como el tabaquismo, la inactividad física, sobrepeso y el cambio de los patrones reproductivos asociados con la urbanización y el desarrollo económico.

La OMS (2005) señala los cinco tipos de cáncer más frecuentes que son los siguientes:

- ✓ Cáncer de Pulmón (1.69 millones de defunciones).
- ✓ Cáncer de Hígado (788 000 defunciones).
- ✓ Cáncer de Colon rectal (774 000 defunciones).
- ✓ Cáncer de Gástrico (754 000 defunciones).
- ✓ Cáncer de Mamas (571 000 defunciones).

Medina (2012) manifiesta que el cáncer de pulmón es frecuentemente diagnosticado. La exposición a carcinógenos ocupacionales y medio ambientales como el arsénico, radón y los hidrocarburos aromáticos policíclicos son factores de riesgo para el cáncer de pulmón (Lewis et al., 2014). Recientemente, la contaminación del aire libre también se ha determinado que causa cáncer de pulmón (Hamra et al., 2014).

Estos daños pueden ser evaluados por la vigilancia biológica, que de acuerdo con Ladeira (2016) es la evaluación de la exposición a un agente químico del medio ambiente y sus efectos sobre la salud a través de la medida de diversos marcadores biológicos.

### **6. Daño Genotóxico.**

Los estudios experimentales han sugerido que el MP grueso induce principalmente respuestas inflamatorias (Wang et al., 2009), mientras que las partículas finas da lugar al daño en ADN y la muerte celular (Mehta et al., 2008). Durante el desarrollo del cáncer, el daño en el ADN y los cambios del ciclo celular son eventos paralelos en curso. La proporción relativa de muerte celular versus señales de supervivencia celular es un

término importante que influye en la reparación del ADN y la fidelidad de *bypass* de replicación, lo que influye en el resultado mutagénico final (Sidorova, 2008).

Normalmente las condiciones de replicación del daño en el ADN se evitan mediante la detención en G<sub>1</sub>, mientras que la detención en G<sub>2</sub> evita la entrada a la mitosis. Los cambios de cromatina como roturas de doble cadena y de cadena simple activan la ataxia telangiectasia quinasa mutada (ATM), Rad3, (ATR) respectivamente y el ciclo celular es finalmente detenido por las quinasa punto de control (Chk). ATM activa Chk2, mientras que ATR activa Chk1. *ATM* y *ATR* también pueden activar p53 directa o indirectamente a través de Chk1/2, lo que finalmente desencadena la apoptosis (Vakifahmetoglu et al., 2008).

El MP especialmente las partículas finas contienen una variedad de sustancias químicas que pueden dañar directamente o interferir con la reparación y síntesis del ADN, al igual que los Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos (HAPs) y varios componentes metálicos. Es así que la exposición a metales y HAPs puede conducir a la formación de especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ROS y RNS) (Vakifahmetoglu et al., 2008).

Los efectos importantes y bien caracterizados de los HAPs están mediados por la unión al receptor de hidrocarburo de arilo citosólico (AhR) y posteriormente aumentan la expresión de los genes *CYP1A1* y *-1B1*. Estudios recientes han sugerido que algunos HAPs, a través de la activación de AhR, también pueden cambiar la síntesis de lípidos con implicaciones para la composición de lípidos en la membrana plasmática, cambiando así las vías de señalización inter e intracelular implicadas en la muerte celular (Tekpli et al., 2010).

Aunque es evidente que la generación de Micronúcleos (MN) podría aumentar como resultado de la hipometilación del ADN satélite, también es posible que la hipermetilación de las islas CpG dentro o adyacente a las regiones promotoras de los genes de mantenimiento implicados en la célula provoque un aumento del daño del genoma, puntos de control de ciclo y reparación de ADN. Por ejemplo, la hipermetilación de islas CpG de genes del punto de control del huso mitótico tales como *APC*, *BUBR1* y *hCDC4* podría reducir su expresión y por lo tanto, aumentar la posibilidad de una mala segregación cromosómica que conduzca a la formación de MN<sub>47,48</sub>. El silenciamiento o la pérdida de la función de los genes *ATM*, *FANC* y *BRCA1* o *BRCA2* implicados en la reparación del ADN también podrían dar como resultado frecuencias de MN iniciales más elevadas en las células humanas (Trenz et al., 2002).

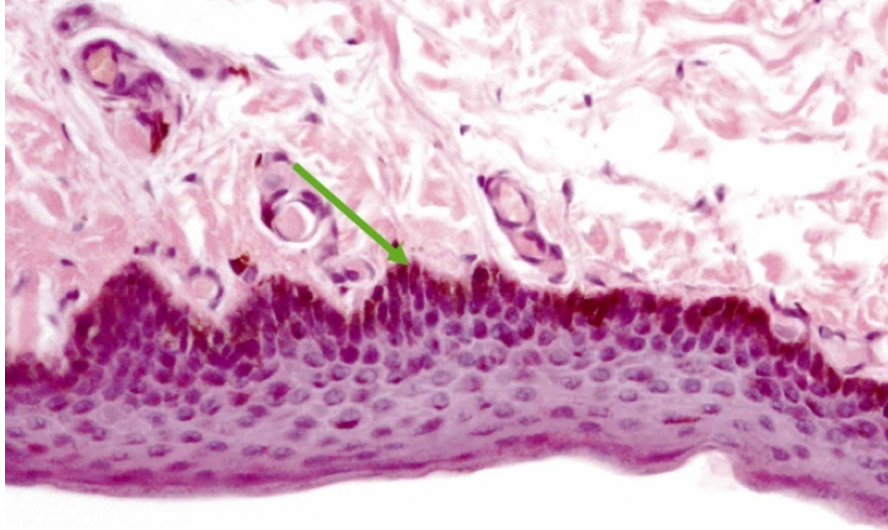
## **7. Mucosa oral en la evaluación de daño genotóxico.**

Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra (2013) señalan que el epitelio de la mucosa oral es una barrera protectora contra carcinógenos puesto que es el sitio de contacto con agentes peligrosos, es por ello que sus características favorece la utilización en pruebas para evaluar genotoxicidad y citotoxicidad.

Por otra parte, Squier y Kremer (2001) añaden que la superficie del revestimiento oral es no queratinizado, lo que facilita la absorción de colorantes y una buena visualización de membrana y nucleó celular.

Slack (2000) manifiesta que el epitelio de la mucosa oral es proliferativo, siendo esto muy importante ya que conservan la población celular, pero esta característica lo vuelve

más vulnerable a lesiones producidas en el ADN; el 90 % de los tipos de cáncer tiene origen epitelial, siendo así la mucosa oral un buen indicador para monitorear genotoxicidad causada por cancerígenos inhalados o ingeridos, como se esquematiza en la **Figura 3**.



**Figura 3.** Epitelio oral estratificado plano no queratinizado  
**Fuente:** tomado de (Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra, 2013).  
**Elaborado por:** Autora

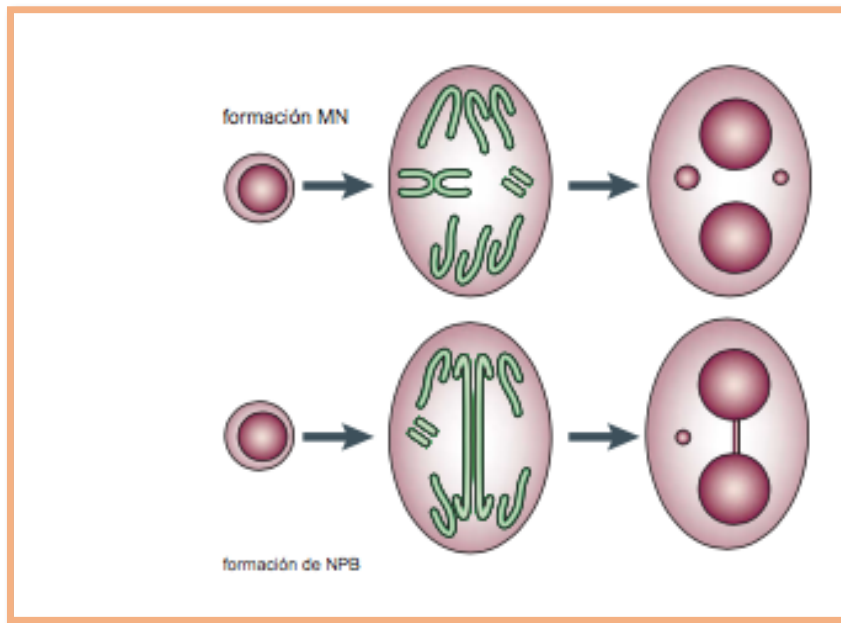
Otra ventaja de las células de la mucosa oral según Squier y Kremer (2001) es que tienen abundante citoplasma y conservan su núcleo al momento de ser recolectadas. Por otro lado, Bonassi et al., (2011) añaden que este epitelio es de fácil obtención y no necesita de técnicas invasivas.

#### **8. Biomarcador: Micronúcleos.**

Bonassi et al., (2011) manifiesta que los biomarcador son herramientas útiles para el monitoreo del daño genético en las poblaciones expuestas; además añaden que el ensayo de micronúcleos valora el proceso celular, como rupturas cromosómicas inducidas (clastogénesis), pérdidas de cromosomas completos (anaugénicos) o mal funcionamiento del huso celular (anefogénesis). Por otra parte, Schmid (1975) explica que los MN se forman durante la mitosis en la transición de metafase - anafase, como se muestra en la **Figura 4**.

Heddle et al., (1991) añaden que la presencia de MN se convierten en indicadores del efecto de agentes mutágenos, genotóxico o teratógenos específicamente, micronucleogénicos.





**Figura 4.** Micronúcleos (MN) y la formación de NPB (Puentes nucleoplásmicos) en las células sometidas a la división nuclear.

**Fuente:** (Fenech, 2007)

**Elaborado por:** Autora

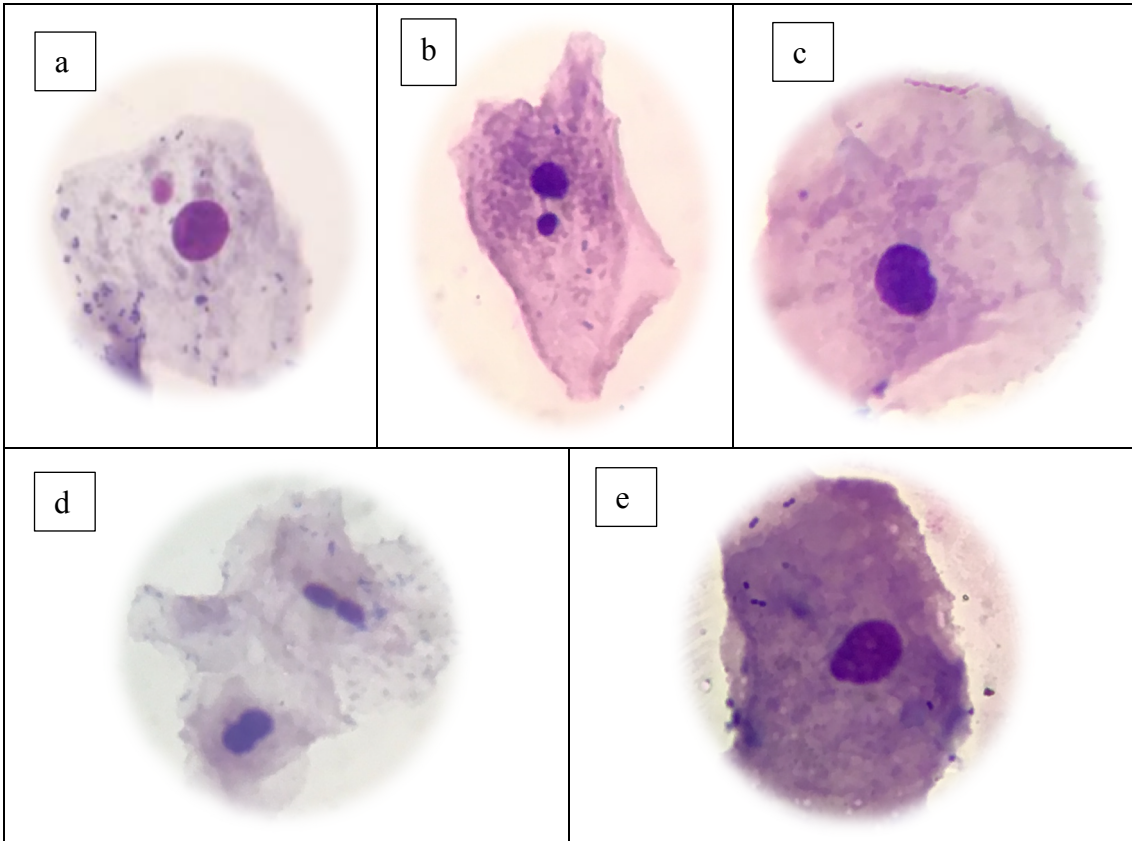
### 8.1 Criterios para identificar micronúcleos.

Fenech, (2007) estableció varios parámetros para distinguir los MN, los mismos que citamos a continuación:

- No son refráctiles.
- No están vinculados o conectados a los núcleos principales.
- Puede tocar, pero no superponerse, los núcleos principales y el límite micronuclear debe distinguirse del límite nuclear.
- Generalmente tienen la misma intensidad de tinción que los núcleos principales, pero en ocasiones la tinción puede ser más intensa.

### 8.2 Anormalidades nucleares (AN) en células de mucosa oral.

Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra (2013) señalan que hay otro tipo de anormalidades nucleares donde el tamaño, densidad y distribución de la cromatina son modificadas tanto en el citoplasma o en la morfología de su núcleo, la presencia de este tipo de células son indicadores de daño al ADN, citotoxicidad y muerte celular; estas células presentan la cromatina condensada (CC), cariorrexis (CR), núcleo picnótico (NP), cariólisis (CL), núcleo lobulado, también llamado prolongación nuclear (budcell o brokeneggs) (NL, BE) y la presencia de células con dos núcleos, llamadas células binucleadas (BN), **Figura 5.**



**Figura 5.** (a) Micronúcleos, (b) Puente, (c) NOTCH, (d) Binucleadas, (e) BUDS

Fuente: Autora

Elaborado por: Autora

## **METODOLOGÍA**

## 9. Área de estudio.

### 9.1. Localización Geográfica.

El área de estudio se localiza en la zona urbana del Cantón Cuenca, el cual está ubicado al centro sur del Ecuador, es cabecera cantonal de la provincia del Azuay, tiene una superficie total 3086 km<sup>2</sup>, una altitud de 2800 m.s.n.m, su población total es de 505.585 hab y sus Coordenadas son 2°54'00"S 78°59'00"O (INEC, 2010)

### 9.2. Sitio de estudio.

Para este estudio se escogió como casos a pobladores de la zona céntrica del Cantón Cuenca- Ecuador, específicamente Luis Cordero y Mariscal Lamar y como controles a pobladores de la zona Antiplano y Duquilema (sector Totoracocha), previo a un monitoreo de MP<sub>2.5</sub> realizado por el Centro de Estudios Ambientales de la Universidad de Cuenca (CEA) en el 2017, para determinar los puntos de monitoreo se basó en un criterio de la delimitación del área geográfica, en donde dividieron en cuadrículas el mapa de la zona urbana del cantón Cuenca, luego se procedió a ubicar qué puntos de la zona céntrica del cantón Cuenca tiene una alta concentración de MP<sub>2.5</sub> como se demuestra en la **Figura 6**, que corresponde al sector de Luis Cordero y Mariscal Lamar, también cerca a esta zona ya se hizo un estudio previo de MP<sub>10</sub> en donde evidenciaron un daño genotóxico en células epiteliales alveolares A549 (Astudillo-Alemán et al., 2015), seguidamente se observó el punto que tenga baja concentración de MP<sub>2.5</sub> y se escogió el sector de Antiplano y Duquilema (sector totoracocha) debido a que se encuentran en la misma terraza y en la misma curva de nivel (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Localización de los sitios de Estudio.

Ubicación		Coordenadas	
		Latitud	Longitud
<b>Casos</b>	Luis Cordero y Mariscal Lamar	2°53'41,96" S	79°0'12,96" O
<b>Controles</b>	Antiplano y Duquilema (Sector Totoracocha)	2°53'25,89" S	78°58'10,29" O

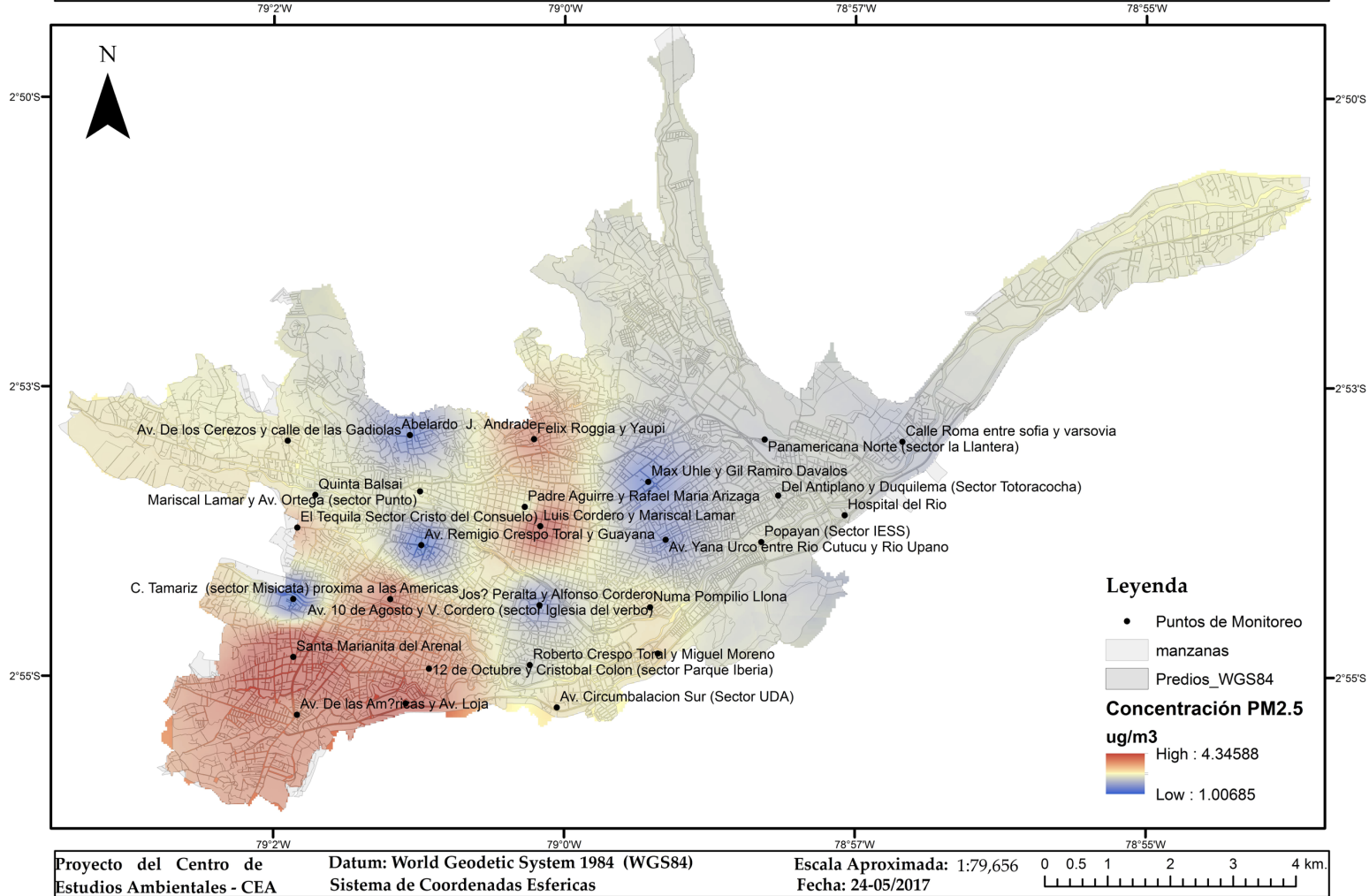
**Fuente:** (Astudillo, Moscoso, & Ambientales, 2018).

**Elaborado por:** Autora

**Luis Cordero y Mariscal Lamar.** - está ubicado en el centro histórico de la ciudad de Cuenca, poca vegetación, a su alrededor están varios locales comerciales, restaurantes, escuelas, entre otros. Es una de las zonas más comerciables y administrativas, sus calles son asfaltadas.

**Antiplano y Duquilema (sector Totoracocha).** - zona con bajo tráfico vehicular, cuenta con mayor vegetación, a su alrededor encontramos viviendas, tiendas, restaurantes, se caracteriza porque su suelo esta designado a la vivienda, sus calles son asfaltadas.

# DISTRIBUCIÓN DEL MATERIAL PARTICULADO PM2.5 DE CUENCA



**Figura 6.** Mapa de Distribución del Material Particulado PM<sub>2.5</sub> de Cuenca.

**Fuente:** Centro de Estudios Ambientales - CE.

**Elaborado por:** Centro de Estudios Ambientales - CE.

### **9.3 Población en estudio.**

En el presente estudio se trabajó con 2 grupos, los habitantes que se encuentran en la zona céntrica de alta concentración de  $MP_{2.5}$  y los otros que se encuentran en una zona de baja concentración de  $MP_{2.5}$ , los mismos que ingresaron al estudio de forma voluntaria y previa a la firma del consentimiento informado, al igual que cumplían los criterios de inclusión.

**9.3.1 Criterios de Inclusión.** Formaran parte de la investigación hombres y mujeres aparentemente sanos que habitan como mínimo 3 años en la zona céntrica y Totoracocha de Cuenca – Ecuador, con un rango de edad de 18 a 65 años y que cotidianamente se encuentran 8 horas durante el día y haya firmado el consentimiento informado.

**9.3.2 Criterios de Exclusión.** Menores de 18 años y mayores de 65 años, mujeres en estado de gestación; personas que padezcan de cualquier tipo de cáncer, personas que trabajen en gasolineras, con pinturas, odontólogos, radiólogos, mecánicos y otras profesiones que describan en la literatura que pueda ocasionar daño genotóxico y finalmente quienes no accedan voluntariamente a participar en el estudio.

### **9.4. Tamaño de la muestra.**

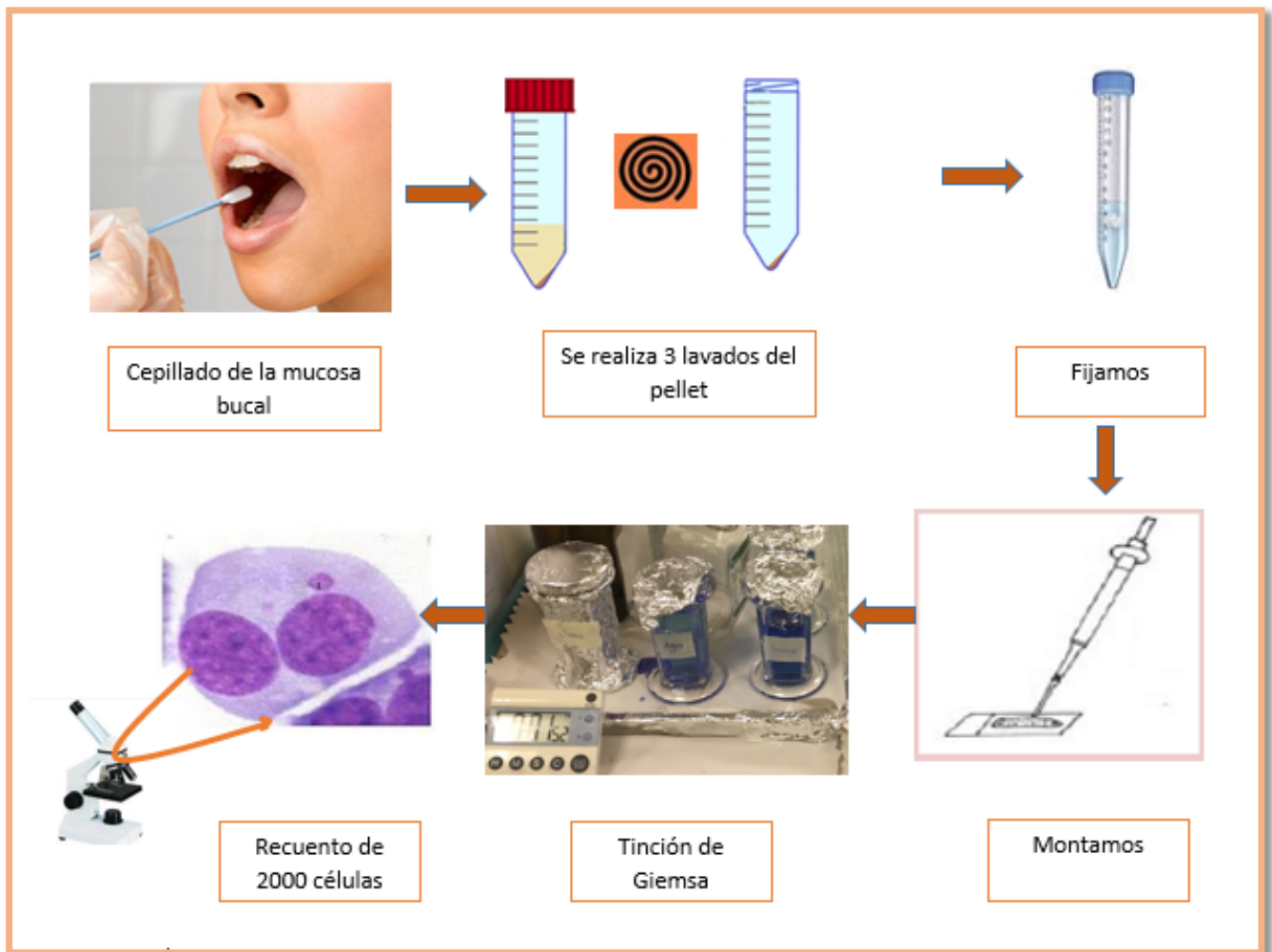
El presente trabajo participó 76 habitantes entre las dos zonas, tanto de la zona céntrica que presentaban una concentración alta de  $MP_{2.5}$ , como de la zona Totoracocha con baja concentración de  $MP_{2.5}$  de la ciudad de Cuenca - Ecuador.

### **9.5. Diseño de estudio.**

Para evaluar el daño genotóxico de los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca - Ecuador expuestos a  $MP_{2.5}$  se determinó mediante el ensayo de Micronúcleos, ilustrada en la **Figura 7**. Previo a esto se realizó una encuesta, la misma que se analizaron y si cumplían con los criterios de inclusión, se procedió a tomar una muestra de cepillado bucal de ambas mejillas de cada participante.

#### **9.5.1. Protocolo.**

Las muestras resuspendidas en PBS (tampón de fosfato salino), se centrifugaron a 6800 r.p.m durante 10 minutos. Luego se aspiró el sobrenadante y desechó. Seguidamente se añadió 1 mL de Buffer para células bucales (Tris-HCL 1.6 g, EDTA 1,2 g, Cloruro de Sodio 37.2 g y Agua Destilada 600 mL) y se resuspende, este paso se repitió 3 veces. Seguidamente fijamos con 1 mL de Fijador de Saccomann's (Etanol 50 %, polietilenglicol 2 %). Luego se realizó una dilución con 50  $\mu$ L de DMSO con 150  $\mu$ L de la suspensión de células fijadas y se coloca gota a gota sobre un portaobjetos. La tinción se realizó con un kit de tinción para microscopia Hemacolor (Merck Millipore) por 3 minutos, luego se deja en agua destilada 3 minutos y seguidamente se deja 1 minuto en Buffer Sorenson's pH 7.2, dejamos secar. Finalmente se observó al microscopio con un aumento de 40x, la evaluación se realizó en 2000 células (Micronúcleos, Binucleada, NOTCH, Puente, Chichón, Normal) por individuo y siguiendo los criterios establecidos por (Fenech, 2007), **Figura 7**.



**Figura 7.** Esquema del ensayo de Micronúcleos.

Fuente: Autora.

Elaborado por: Autora.

## 9.6 Análisis Estadístico

**Ensayo de Micronúcleos:** Los datos obtenidos se analizaron mediante la prueba de análisis de varianza de una sola vía (ANOVA), post test Bonferroni, mediante el programa estadístico Gradphpad primis 7.

## **RESULTADOS**



El presente estudio se llevó a cabo en dos grupos, aquellos que están expuestas a alta concentraciones de MP<sub>2.5</sub> (Zona céntrica) y al grupo expuesto a concentraciones bajas MP<sub>2.5</sub> (Zona Totoracocha); participaron 76 habitantes de las dos zonas, de los cuales sus características demográficas se describen en la **Tabla 4**, la edad media de la zona céntrica es de 45 ± 12,91 años mientras que la zona de Totoracocha es de 35 ± 13,66. Los años de exposición de los habitantes al medio ambiente de las dos zonas de estudio ya sea que se encuentren trabajando o que habiten en dichas zonas por más de 8 horas al día es de 15 ± 10,46 años para los del sector céntrica y de 14 ± 10,37 años para los del sector Totoracocha. Al igual se valoró el hábito de fumar en el cual en las dos zonas más del 60 % no fuma y más del 70 % no consume alcohol.

**Tabla 4.** Características Demográficas de los grupos de Estudio.

Característica	Zona céntrica (n=37)	Zona Totoracocha (n=39)	p value
<b>Edad<sup>a</sup> (Años)</b>	45.00 ± 12,91	35.05 ± 13.66	0.0062 <sup>b</sup>
<b>Años de Exposición<sup>a</sup></b>	15.86 ± 10.46	14.18 ± 10.37	0.4625 <sup>b</sup>
<b>Hábito de Fumar</b>			
<b>No Fuma</b>	23 (62.16%)	32 (82.05%)	0.1897 <sup>c</sup>
<b>Fumador</b>	3 (8.11%)	2 (5.13%)	
<b>Fumador Pasivo</b>	9 (24.32%)	5 (12.82%)	
<b>Ex Fumador</b>	2(5.41%)	0 (0.00%)	
<b>Consumo de Alcohol</b>			
<b>Consume Alcohol</b>	8 (21.62%)	5 (12.82%)	0.3703 <sup>c</sup>
<b>No consume Alcohol</b>	29 (78.38%)	34 (87.18%)	

**a:** Mean ± SD.

**b:** t-test.

**c:** Chi-square test

**Fuente:** Resultados del estudio

**Elaborado por:** Autora

Los aspectos de salud de los dos grupos de estudio se describen en la **Tabla 5**, como se puede evidenciar el 89,74 % de los participantes de la zona céntrica manifiestan que se encuentra en un buen estado de salud, mientras que el 97,30 % en la zona Totoracocha, siendo no estadísticamente significativo ( $p = 0,3589$ ); las dos zonas no tuvieron problemas de fertilidad, ni dificultad para tener hijos, ni problemas con su descendencia, ( $p = 1,00$ ;  $p = 1,00$ ;  $p = 0,1684$  respectivamente).

**Tabla 5.** Aspecto de Salud en los grupos de Estudio.

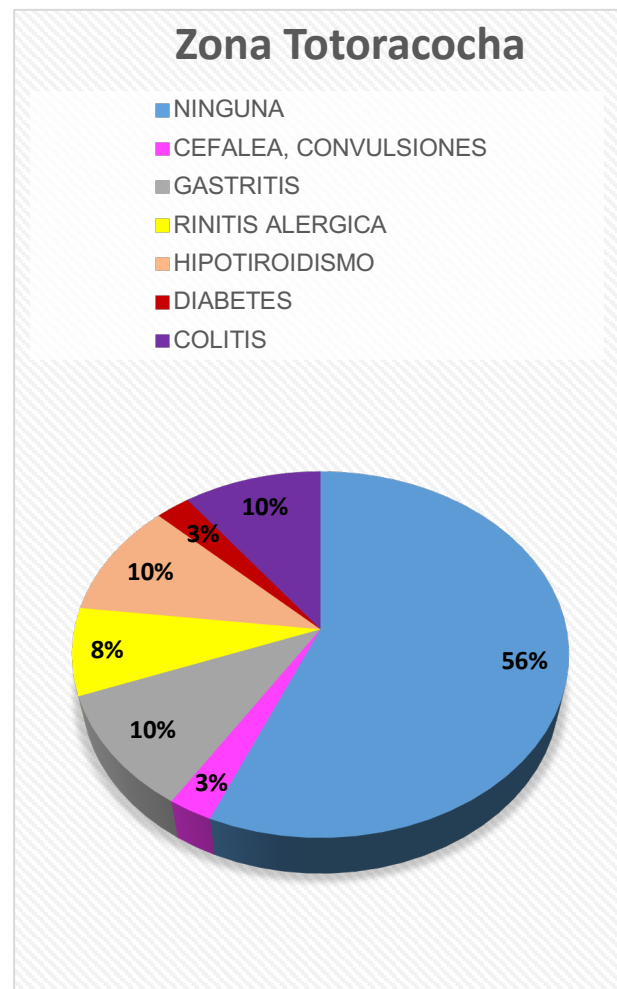
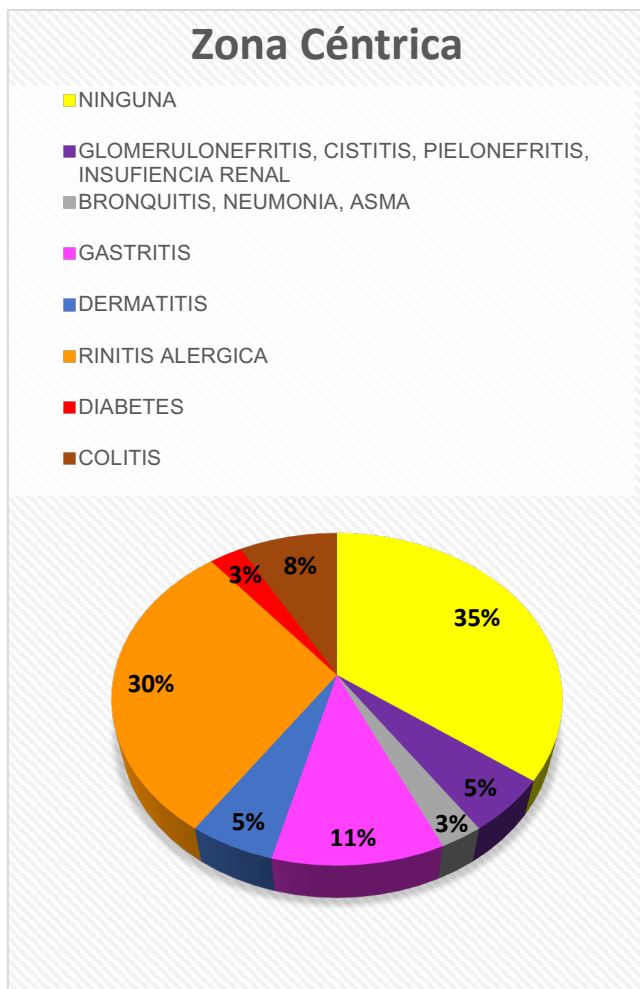
	<b>Zona Céntrica (n=37)</b>	<b>Zona Totoracocha (n=39)</b>	<b>p value</b>
<b>Problemas de Fertilidad, Defectos de Nacimiento, Alteraciones Genéticas o Cáncer</b>			
<i>No presenta</i>	25 (67,57%)	20 (51,28%)	0,1684 <sup>a</sup>
<i>Si presenta</i>	12 (32,43%)	19 (48,72%)	
<b>Ha tenido dificultad para tener hijos</b>			
<i>Si</i>	3 (8,11%)	4 (10,26%)	1,00 <sup>a</sup>
<i>No</i>	34 (91,89%)	35 (89,74%)	
<b>Problemas con su Descendencia</b>			
<i>Ninguna</i>	35 (94,59%)	37 (94,87%)	1,00 <sup>a</sup>
<i>Abortos</i>	2 (5,41%)	2 (5,13%)	
<i>Muertos neonatales, Partos prematuros</i>	0	0	
<i>Bajo peso al nacer, Malformaciones Enfermedades Congénitas</i>			
<b>Su Estado de Salud es subjetivamente bueno</b>			
<i>SI</i>	36 (97,30%)	35 (89,74%)	0,3589 <sup>a</sup>
<i>NO</i>	1 (2,70%)	4 (10,26%)	

a= Chi-square test

**Fuente:** Resultados del estudio

**Elaborado por:** Autora

De acuerdo a los procesos patológicos de la población de la zona céntrica podemos evidenciar en la **Gráfica 1** que la patología que más presenta dicha población es rinitis alérgica con un 30 %, seguida de gastritis (11 %), colitis (8 %), dermatitis (5 %), glomerulonefritis, cistitis, pielonefritis, insuficiencia renal (5 %), bronquitis, neumonía, asma (3 %) y diabetes (3 %), siendo estadísticamente significativo ( $p = 0,0489$ ) que los procesos patológicos de la zona Totoracocha ya que el 56 % de la población no presenta ninguna patología y entre las patologías que presenta en menor porcentaje dicha zona es gastritis (10 %), colitis (10 %), hipotiroidismo (10 %), rinitis alérgica (8 %), cefalea, convulsiones (3 %), diabetes (3 %).

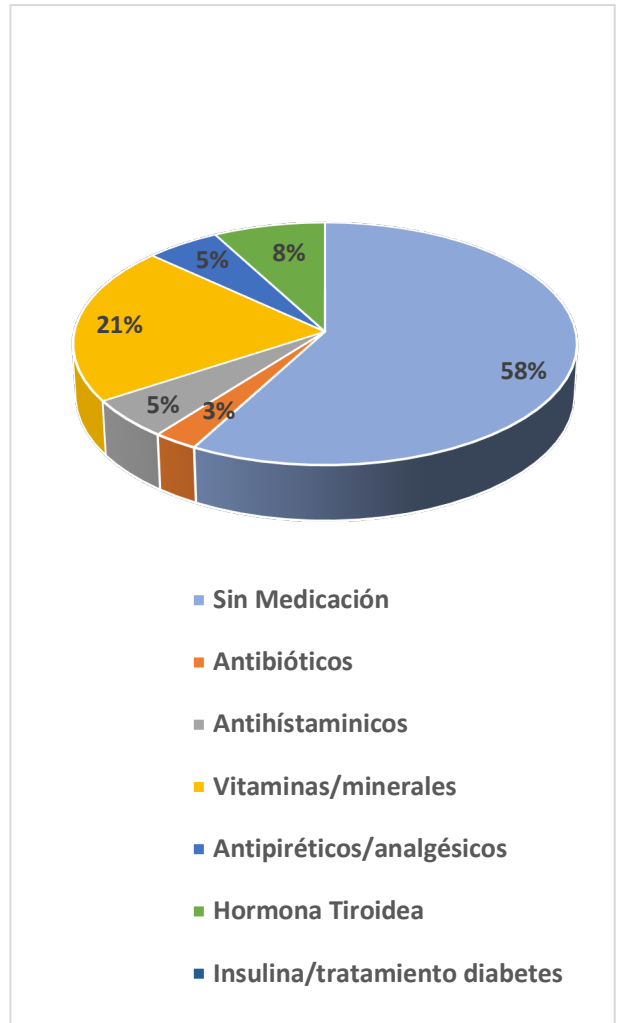
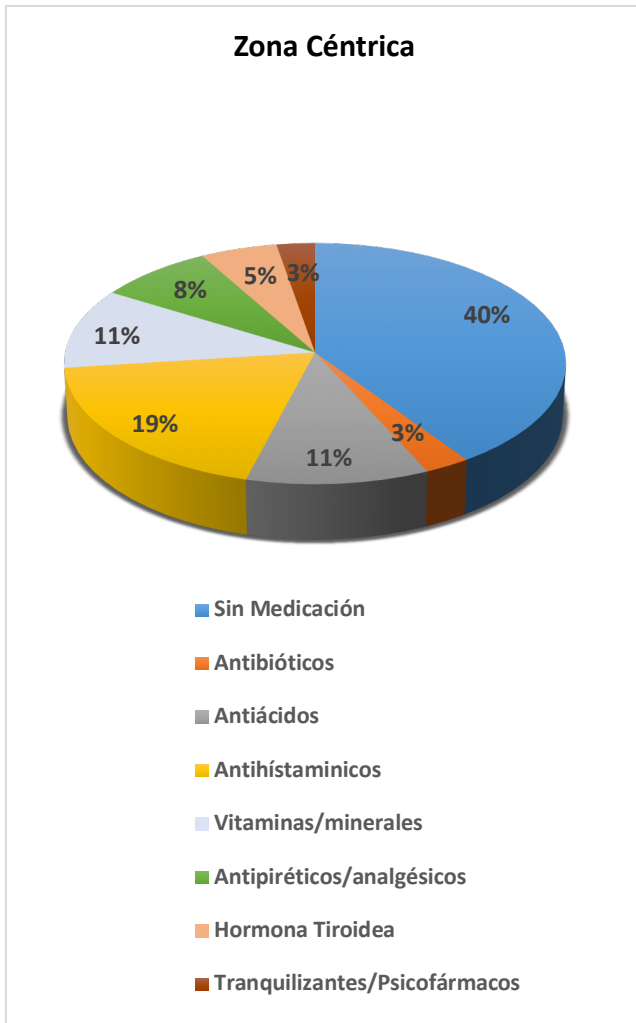


**Gráfica 1.** Patologías de la Población Zona Céntrica y Totoracocha.

*Fuente:* Resultados del estudio

*Elaborado por:* Autora

Entre los medicamentos que más consumen los donantes de la Zona Céntrica son los antihistamínicos (19 %), al igual podemos observar que el 40 % de la población de esta zona no utiliza ningún medicamento, entre los otros medicamentos administrados en menor porcentaje tenemos antiácidos (11 %), vitaminas y minerales (11 %), antipiréticos/analgésicos (8 %), hormona tiroidea (5 %), antibióticos (3 %) y tranquilizantes/psicofármacos (3 %) (**Gráfica 2**). También en la misma gráfica podemos observar que el 58 % de la población de la zona Totoracocha no recibe ninguna medicación, entre los medicamentos más administrados son las vitaminas / minerales (21 %) seguido de hormona tiroidea (8 %), antihistamínicos (5 %), antipiréticos/analgésicos (5 %) y antibióticos (3 %).



**Gráfica 2:** Medicamentos Administrados de la Población Zona Céntrica y Totoracocha.

**Fuente:** Resultados del estudio

**Elaborado por:** Autora

En la **Tabla 6** se puede observar que al agente que más estuvieron expuestos las dos zonas de estudio es al polvo con un 78,38 % para la zona céntrica y un 79,49 % para la zona Totoracocha y en menor porcentaje al ruido, ( $p = 0,1342$ ).

**Tabla 6.** Agentes expuestos los grupos de Estudio.

	Zona Céntrica (n = 37)	Zona Totoracocha (n = 39)	p value
<b>Radiografías que se realizó en los últimos 3 años</b>			
Ninguna radiografía	28 (75,68%)	27 (69,23%)	0,6121 <sup>a</sup>
1 o más radiografías	9 (24,32%)	12 (30,77%)	
<b>Se ha expuesto a alguno de estos agentes.</b>			
Sin Exposición	2 (5,41%)	6 (15,38%)	0,1342 <sup>a</sup>
Ruido	6 (16,22%)	2 (5,13%)	
Polvo	29 (78,38%)	31 (79,49%)	

a : Chi-square test

**Fuente:** Resultados del estudio

**Elaborado por:** Autora

De acuerdo con los biomarcadores de genotoxicidad se obtuvo que la frecuencia fue mayor de Mn, Bn, BUDs, NOTCH en los donantes de la zona céntrica que en los donantes de la zona Totoracocha ( $p = 0,0004$ ;  $p = 0,0001$ ;  $p = 0,0001$ ;  $p = 0,0001$ , respectivamente), como se detalla en la **Tabla 7**.

**Tabla 7.** Frecuencia de Biomarcadores de Genotoxicidad Cuenca – Ecuador

Biomarcador / 2000 células	Zona Céntrica	Zona Totoracocha	p value <sup>a</sup>
	Mean ± SD	Mean + SD	
<b>Mn</b>	0,54 ± 0,98	0,15 ± 0,96	0,0004 <sup>***</sup>
<b>BN</b>	7,24 ± 8,95	0,76 ± 2,13	< 0.0001 <sup>***</sup>
<b>BUDs</b>	3,10 ± 2,22	0,53 ± 1,07	< 0.0001 <sup>***</sup>
<b>NOTCH</b>	1,94 ± 2,05	0,05 ± 0,22	< 0.0001 <sup>***</sup>

a: **Significa** entre grupos

**MN** Micronúcleos, **BN** Células Binucleadas, **BUDs** Células con yemas nucleares, **NOTCH** Células con nucleó en forma arriñonada.

**Fuente:** Resultados del estudio

**Elaborado por:** Autora

## DISCUSIÓN

En los últimos años la contaminación ambiental ha sido un tema muy estudiado debido a los problemas de salud que causa. El MP está constituido por un gran número de sustancias genotóxicas capaces de poner en peligro la salud humana (Aravind y Dhanya, 2016), Los estudios experimentales han sugerido que el MP grueso induce principalmente respuestas inflamatorias (Wang et al., 2009), mientras que la partículas finas da lugar el daño del ADN y la muerte celular (Mehta et al., 2008); es por ello que en la ciudad de Cuenca hay algunos estudios sobre MP<sub>2.5</sub> y MP<sub>10</sub>, ya que son una de las sustancias químicas que contaminan el aire (Kampa y Castanas, 2008)

Un estudio en el cual realizó un monitoreo de MP<sub>10</sub> de la zona urbana de Cuenca – Ecuador, Astudillo-Alemán et al (2015) señalan que los promedios de MP<sub>10</sub> superan el valor establecido por la normativa nacional, además añaden que el aire ambiente de la ciudad de Cuenca está constituido por metales pesados (Fe, Zn, Mn, Cu, Ni), y aniones (Cl<sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>; SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>).

Según Astudillo et al (2018) las concentraciones más altas de MP<sub>2.5</sub> de la zona urbana Cuenca – Ecuador están al suroeste, centro histórico y Norte, aunque en estas zonas hay una baja densidad vehicular, esto es debido a que el centro histórico tiene una infraestructura que forma callejones estrechos sin mayor ventilación y por ende tiende a acumularse más el MP, además se añade que el tráfico vehicular es lento y los motores de los autos permanecen encendidos mientras los autos están detenidos.

Nuestro estudio se realizó en uno de los puntos de la zona céntrica de Cuenca- Ecuador, con altas concentraciones de MP<sub>2.5</sub> (Astudillo et al., 2018), donde se pudo evidenciar como resultado un daño genotóxico en los habitantes de dicha zona en comparación con la zona Totoracocha, al igual que un estudio donde (Alija et al., 2016) se suma a la evidencia de que la contaminación atmosférica es un inductor significativo de daño genético, siendo un precursor probable de cáncer y además obtuvieron como resultado daños en el ADN encontrado niveles significativamente elevados de daño en los sujetos a partir de dos zonas muy contaminadas en comparación con los sujetos de una ciudad sin industria pesada y el aire limpio. El presente estudio se realizó en células bucales, ya que Torres-Bugarín y Ramos-Ibarra (2013) afirman que el epitelio de la mucosa oral tiene características favorables para evaluar genotoxicidad o citotoxicidad y lo que corroborar (Mrdjanović et al., 2014). Se utilizó como biomarcador MN ya que, Heddle et al (1991) señalan que la presencia de MN se convierten en indicadores del efecto de agentes mutágenos, genotóxicos o teratógenos y micronucleogénicos. Si bien es cierto, no hay estudios similares en nuestro medio, pero hay un estudio que se realizó en una zona cercana a nuestro punto de estudio donde demuestra un daño genotóxico tipo I en células epiteliales alveolares A-549 a 24 horas de exposición de MP<sub>10</sub> (Astudillo-Alemán et al., 2015)

Por otro lado, se pudo evidenciar que la patología que presenta un mayor porcentaje es Rinitis alérgica en un 30 % de la zona céntrica que es la población que se encuentra expuesta a altos niveles de MP<sub>2.5</sub>, corroborando el mismo con un estudio que demostró que el MP<sub>2.5</sub> sirve como adyuvante de la alergias y contribuye a una respuesta inmune alérgica (Ogino et al., 2014), y también al agente que más estuvieron expuestos es al polvo con un 78,38 % para la zona céntrica esto debido a que esta zona es comercial por lo tanto están en constante remodelación de los locales e edificios y últimamente por la construcciones de los carriles del tranvía.

## CONCLUSIONES

- Los dos grupos de estudio se encuentra subjetivamente en un buen estado de salud y no tuvieron problemas de fertilidad, ni dificultad para tener hijos, ni problemas con su descendencia.
- Al agente que más estuvieron expuestos las dos zonas de estudio es al polvo con un 78,38 % para la zona céntrica y un 79,49 % para la zona Totoracocha y en menor porcentaje al ruido.
- La patología que más presenta la zona Céntrica es Rinitis alérgica con un 30 %, seguida de gastritis (11 %), colitis (8 %). En cambio la zona Totoracocha el 56 % de la población no presenta ninguna patología, entre las patologías que presenta en menor porcentaje es gastritis (10 %), colitis (10 %), hipotiroidismo (10 %), rinitis alérgica (8 %), cefalea, convulsiones (3 %), diabetes (3 %).
- En los resultados obtenidos en esta investigación de evaluar daño genotóxico en células bucales mediante el ensayo de micronúcleos, se encontró que hubo un daño genotóxico en los habitantes de la zona céntrica que es la zona que tiene altas concentraciones de  $MP_{2.5}$ , en comparación con los sujetos de la zona Totoracocha, cuya zona tiene bajas concentraciones de  $MP_{2.5}$ .
- El daño genotóxico es comparable con la observada en otros estudios, lo que con lleva a concluir que esto puede ser un factor de riesgo para la salud de dicha población que está expuesta a  $MP_{2.5}$  a altas concentraciones. También es necesario establecer un sistema de vigilancia biológica continua de las poblaciones humanas, tanto en zonas de alta y baja concentraciones de  $MP_{2.5}$ .

## **RECOMENDACIONES**

- Se recomienda tomar medidas para mejorar la calidad de aire de Cuenca – Ecuador para disminuir los problemas de salud a dicha población.
- En el ensayo de micronúcleos se recomienda escoger una buena tinción ya que de esta manera podríamos obtener una placa de calidad y se nos facilitaría el recuento de las células.



## BIBLIOGRAFÍA

- Alcaldía de Cuenca, Red de Monitoreo EMOV EP, Informe de la calidad del aire, 2010.
- Actualización mundial 2005. (2005).
- Alija, A. J., Asllani, F., Bajraktari, I. D., Collins, A. R., Dreshaj, S., Bresgen, N., & Eckl, P. M. (2016). Atmospheric pollution in Kosovo is associated with increased DNA damage in the human population. *Biomonitoring*, 2(1), 35-41. <https://doi.org/10.1515/bimo-2015-0006>
- Alvarado-Cruz, I., Sánchez-Guerra, M., Hernández-Cadena, L., De Vizcaya-Ruiz, A., Mugica, V., Pelallo-Martínez, N. A., ... Quintanilla-Vega, B. (2017). Increased methylation of repetitive elements and DNA repair genes is associated with higher DNA oxidation in children in an urbanized, industrial environment. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 813(December), 27-36. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2016.11.007>
- Aravind, A., & Dhanya, S. (2016). In-silico design, synthesis and anti-proliferative evaluation of acetidino-quinazoline derivatives. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 36(1), 249-255. <https://doi.org/10.1002/em>
- Arkhipchuk, V. V., & Garanko, N. N. (2005). Usando el biomarcador nucleolar y el ensayo de micronúcleos en in vivo fi sh fi células n, 62, 42-52.
- Astudillo-Alemán, A. L., Ramirez Orellana, M. I., Garcia Alvear, N. B., Gónzales Arévalo, G. J., Gutierrez Valle, I. A., & Bailón Moscoso, N. C. (2015). Caracterización química del material particulado {PM}10 de la zona urbana de {Cuenca}- {Ecuador} e investigación de su genotoxicidad e inducción de estrés oxidativo en células epiteliales alveolares {A}549. *Revista de Toxicología*, (32), 121-126.
- Astudillo, A., Moscoso, D., & Ambientales, C. D. E. (2018). Niveles de material particulo en la zona urbana de Cuenca- Ecuador y su relacion con el trafico vehicular, 9(20), 41-55.
- BéruBé, K., Balharry, D., Sexton, K., Koshy, L., & Jones, T. (2007). Combustion-derived nanoparticles: Mechanisms of pulmonary toxicity. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 34(10), 1044-1050. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2007.04733.x>
- Bonassi, S., Coskun, E., Ceppi, M., Lando, C., Bolognesi, C., Burgaz, S., ... Fenech, M. (2011). The HUman MicroNucleus project on eXfoLiated buccal cells (HUMNXL): The role of life-style, host factors, occupational exposures, health status, and assay protocol. *Mutation Research - Reviews in Mutation Research*, 728(3), 88-97. <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2011.06.005>
- Bustos-Obregón, E., & Hartley, R. (2007). Contaminación química ambiental y daño espermatogénico. *Revista Internacional de Andrologia*. [https://doi.org/10.1016/S1698-031X\(07\)74080-3](https://doi.org/10.1016/S1698-031X(07)74080-3)
- Cohen, A. J., Anderson, H. R., Ostro, B., Pandey, K. D., Krzyzanowski, M., Künzli, N., ... Smith, K. (2005). The global burden of disease due to outdoor air pollution. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A*, 68(13-14), 1301-1307. <https://doi.org/10.1080/15287390590936166>
- Ecuadoriana, N., & Del, D. E. C. (2011). Norma ecuatoriana de calidad del aire.
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. <https://doi.org/10.1038/nprot.2007.77>

- Gualtieri, M., Longhin, E., Mattioli, M., Mantecca, P., Tinaglia, V., Mangano, E., ... Battaglia, C. (2012). Gene expression profiling of A549 cells exposed to Milan PM2.5. *Toxicology Letters*, 209(2), 136-145. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.11.015>
- Gualtieri, M., Øvrevik, J., Mollerup, S., Asare, N., Longhin, E., Dahlman, H. J., ... Holme, J. A. (2011). Airborne urban particles (Milan winter-PM2.5) cause mitotic arrest and cell death: Effects on DNA, mitochondria, AhR binding and spindle organization. *Mutation Research - Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 713(1-2), 18-31. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.05.011>
- Hamra, G. B., Guha, N., Cohen, A., Laden, F., Raaschou-Nielsen, O., Samet, J. M., ... Loomis, D. (2014). Outdoor particulate matter exposure and lung cancer: A systematic review and meta-analysis. *Environmental Health Perspectives*, 122(9), 906-911. <https://doi.org/10.1289/ehp.1408092>
- Heddle, J. A., Cimino, M. C., Hayashi, M., Romagna, F., Shelby, M. D., Tucker, J. D., ... MacGregor, J. T. (1991). Micronuclei as an index of cytogenetic damage: Past, present, and future. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 18(4), 277-291. <https://doi.org/10.1002/em.2850180414>
- Hites, R. A. (2011). Dioxins: An overview and history. *Environmental Science and Technology*, 45(1), 16-20. <https://doi.org/10.1021/es1013664>
- Järup, L. (2003). Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin*, 68, 167-182. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg032>
- Jos, A., Pichardo, S., Puerto, M., Grilo, A., & Am, C. (2009). Nuevos riesgos tóxicos por exposición a nanopartículas.
- Kampa, M., & Castanas, E. (2008). Human health effects of air pollution. *Environmental Pollution*, 151(2), 362-367. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.012>
- Katsouyanni, K. (2017). Ambient air pollution and health, (December), 143-156. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldg028>
- Krzyzanowski, M., & Cohen, A. (2008). Update of WHO air quality guidelines, 7-13. <https://doi.org/10.1007/s11869-008-0008-9>
- Ladeira Carina, V. S. (2016). *Human biomonitoring an overview on biomarkers and their application in occupational and environmental health.pdf*.
- Lewis, D. R., Check, D. P., Caporaso, N. E., Travis, W. D., & Devesa, S. S. (2014). US lung cancer trends by histologic type. *Cancer*, 120(18), 2883-2892. <https://doi.org/10.1002/cncr.28749>
- Medina, S. (2012). Summary report of the Aphekom project 2008-2011, (2), 12. Recuperado a partir de [http://www.aphekom.org/c/document\\_library/get\\_file?uuid=5532fafa-921f-4ab1-9ed9-c0148f7da36a&groupId=10347](http://www.aphekom.org/c/document_library/get_file?uuid=5532fafa-921f-4ab1-9ed9-c0148f7da36a&groupId=10347)
- Mehta, M., Chen, L. C., Gordon, T., Rom, W., & Tang, M. shong. (2008). Particulate matter inhibits DNA repair and enhances mutagenesis. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 657(2), 116-121. <https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2008.08.015>
- Migliore, L., Cocchi, L., & Scarpato, R. (1996). Detection of the centromere in micronuclei by fluorescence in situ hybridization: Its application to the human lymphocyte micronucleus assay after treatment with four suspected aneugens. *Mutagenesis*, 11(3), 285-290. <https://doi.org/10.1093/mutage/11.3.285>

- Mrdjanović, J., Šolajić, S., Dimitrijević, S., Dan, I., Nikolić, I., & Jurišić, V. (2014). Assessment of micronuclei and sister chromatid exchange frequency. *Food and Chemical Toxicology*, 69, 63-68. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.03.041>
- Nel, A. (2005). ATMOSPHERE: Enhanced: Air Pollution-Related Illness: Effects of Particles. *Science*, 308(5723), 804-806. <https://doi.org/10.1126/science.1108752>
- Ogino, K., Zhang, R., Takahashi, H., Takemoto, K., Kubo, M., Murakami, I., ... Fujikura, Y. (2014). Allergic airway inflammation by nasal inoculation of particulate matter (PM2.5) in NC/Nga mice. *PLoS ONE*, 9(3), 1-9. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092710>
- Peters, A., Wichmann, H. E., Tuch, T., Heinrich, J., & Heyder, J. (1997). Respiratory effects are associated with the number of ultrafine particles. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 155(September 1990), 1376-1383. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.155.4.9105082>
- Pope III, C. A., Burnett, R. T., Thun, M. J., Calle, E. E., Krewski, D., & Thurston, G. D. (2002). to Fine Particulate Air Pollution. *The Journal of the American Medical Association*, 287(9), 1132-1141. <https://doi.org/10.1001/jama.287.9.1132>
- Pöschl, U. (2005). Atmospheric Chemistry Atmospheric Aerosols: Composition , Transformation , Climate and Health Effects *Angewandte*, 7520-7540. <https://doi.org/10.1002/anie.200501122>
- Schmid, W. (1975). The micronucleus test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 31(1), 9-15. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(75\)90058-8](https://doi.org/10.1016/0165-1161(75)90058-8)
- Schuler, M., Rupa, D. S., & Eastmond, D. A. (1997). A critical evaluation of centromeric labeling to distinguish micronuclei induced by chromosomal loss and breakage in vitro. *Mutation Research - Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 392(1-2), 81-95. [https://doi.org/10.1016/S0165-1218\(97\)00047-5](https://doi.org/10.1016/S0165-1218(97)00047-5)
- Shah, A. S. V, Langrish, J. P., Nair, H., Mcallister, D. A., Hunter, A. L., Donaldson, K., ... Mills, N. L. (2012). Global association of air pollution and heart failure : a systematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 382(9897), 1039-1048. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60898-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60898-3)
- Sidorova, J. M. (2008). Roles of the Werner syndrome RecQ helicase in DNA replication. *DNA Repair*, 7(11), 1776-1786. <https://doi.org/10.1016/j.dnarep.2008.07.017>
- Slack, J. M. (2000). Stem Cells in Epithelial Tissues. *Science*, 287(5457), 1431-1433. <https://doi.org/10.1126/science.287.5457.1431>
- Squier, C., & Kremer, M. (2001). Biology of oral mucosa and esophagus. *Journal of the National Cancer Institute. Monographs*, 29, 7-15. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.jncimonographs.a003443>
- Tekpli, X., Rissel, M., Huc, L., Catheline, D., Sergent, O., Rioux, V., ... Lagadic-Gossmann, D. (2010). Membrane remodeling, an early event in benzo[α]pyrene-induced apoptosis. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 243(1), 68-76. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2009.11.014>
- Thron, R. (1996). Direct and indirect exposure to air pollution. *Otolaryngology--head and neck surgery: official journal of American Academy of Otolaryngology-Head and Neck Surgery*, 114(2), 281-5. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8637751>
- Tolbert, P. E., Shy, C. M., & Allen, J. W. (1992). Micronuclei and other nuclear anomalies

- in buccal smears: methods development. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 271(1), 69-77. [https://doi.org/10.1016/0165-1161\(92\)90033-l](https://doi.org/10.1016/0165-1161(92)90033-l)
- Torre, L. A., Bray, F., Siegel, R. L., Ferlay, J., Lortet-tieulent, J., & Jemal, A. (2015). Estadísticas Mundial del Cáncer 2012, 87-108.
- Torres-Bugarín, O., & Ramos-Ibarra, M. L. (2013). Utilidad de la Prueba de Micronúcleos y Anormalidades Nucleares en Células Exfoliadas de Mucosa Oral en la Evaluación de Daño Genotóxico y Citotóxico. *International Journal of Morphology*, 31(2), 650-657. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022013000200050>
- Trenz, K., Rothfuss, A., Schütz, P., & Speit, G. (2002). Mutagen sensitivity of peripheral blood from women carrying a BRCA1 or BRCA2 mutation. *Mutation research*, 500(1-2), 89-96. Recuperado a partir de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11890937>
- Vakifahmetoglu, H., Olsson, M., & Zhivotovsky, B. (2008). Death through a tragedy: Mitotic catastrophe. *Cell Death and Differentiation*, 15(7), 1153-1162. <https://doi.org/10.1038/cdd.2008.47>
- Valavanidis, A., Vlahoyianni, T., & Fiotakis, K. (2005). Comparative study of the formation of oxidative damage marker 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) adduct from the nucleoside 2'-deoxyguanosine by transition metals and suspensions of particulate matter in relation to metal content and redox reactivity. *Free Radical Research*, 39(10), 1071-1081. <https://doi.org/10.1080/10715760500188671>
- Wang, L.-S., Wang, L., Wang, L., Wang, G., Li, Z.-H., & Wang, J.-J. (2009). Effect of 1-butyl-3-methylimidazolium tetrafluoroborate on the wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings. *Environmental toxicology*, 24(3), 296-303. <https://doi.org/10.1002/tox>