



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

ÁREA BIOLÓGICA Y BIOMÉDICA.

**TÍTULO DE MAGISTER EN ANÁLISIS BIOLÓGICO Y
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.**

“Evaluación del daño genotóxico mediante el ensayo cometa en población expuesta a material particulado 2.5 residentes en la zona céntrica de la ciudad de Cuenca – Ecuador”.

TRABAJO DE TITULACIÓN.

AUTOR: Maldonado Palacios, Ana María.

DIRECTORA: Bailón Moscoso, Natalia Catalina, PhD.

CO-TUTORA: Ramírez Orellana, María Isabel, Mgtr.

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 DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Doctora

Bailón Moscoso, Natalia Catalina, PhD.

DOCENTE DE LA TITULACIÓN.

De mi consideración.

El presente trabajo de titulación, denominado: “Evaluación del daño genotóxico mediante el ensayo cometa en población expuesta a material particulado MP_{2.5} residentes en la zona céntrica de la ciudad de Cuenca – Ecuador”, realizado por Ana María Maldonado Palacios, ha sido orientado y revisado durante su ejecución, por cuanto se aprueba la presentación del mismo.

Loja, 11 de septiembre del 2018.

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHO

“Yo Ana María Maldonado Palacios declaro ser autora del presente trabajo de titulación: “Evaluación del daño genotóxico mediante el ensayo cometa en población expuesta a material particulado MP_{2.5} residentes en la zona céntrica de la ciudad de Cuenca – Ecuador” de la Titulación de Magister en Análisis Biológico y Diagnóstico de Laboratorio siendo Bailón Moscoso, Natalia Catalina, 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, procedimientos 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 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.

Autora: Ana María Maldonado Palacios.

Cédula: 0105601777

DEDICATORIA

Este estudio va dedicado a Dios por darme la oportunidad de poner metas para mi vida y caminar para cumplirlas, con la protección de su manto divino.

A mis padres Gloria y Vicente mis hermanos Mónica, Washington y Gloria por su apoyo, compañía incondicional y por inculcarme los mejores valores y principios para ser perseverante, fuerte, valiente y así alcanzar mis objetivos en la vida, a mis sobrinos Pamela, Martin, Yasemine y Matías, a mi abuelita Lola por ser mi protectora y mi segunda madre, a mis tías, y a mis abuelitos Arturo y Alberto que en el transcurso de este camino pasaron a protegerme, cuidarme y apoyarme desde el cielo.

ANA MARÍA M.

AGRADECIMIENTO

Mi sincero e infinito agradecimiento a mi maestra y directora de este estudio Bailón Moscoso, Natalia Catalina, PhD, por su asesoría, apoyo y orientación en el desarrollo de esta investigación, al Laboratorio de Genética y Toxicología de la Universidad Técnica Particular de Loja y sus colaboradores B.Q.F. Gabriela González y Andrés Quito. Al personal del Laboratorio Clínico del Hospital José Carrasco Arteaga de la ciudad de Cuenca, principalmente Romina C, Mayra C, Maribel C, Sonia A, Azucena C, Pedro S, y Xavier C. quienes desde el inicio me brindaron su apoyo sincero su confianza y su comprensión. A la ciudad de Loja, a mis maestros, compañeros y amigos de aula con quienes formamos un gran grupo y familia, gracias por compartir nuevas y grandes experiencias, de tipo personal y profesional que fueron de gran valor, por hacer al camino de esta formación grato y acogedor, gracias por ser hermanos de la vida y apoyarnos siempre.

ANA MARÍA M.

INDÍCE DE CONTENIDO

APROBACIÓN DEL DIRECTOR DEL TRABAJO DE FIN DE TITULACIÓN	II
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHO	III
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTO	V
INDÍCE DE CONTENIDO	VI
INDÍCE DE TABLAS	VII
INDÍCE DE GRÁFICAS	VII
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	2
INTRODUCCIÓN	3
MARCO TEÓRICO	5
1.1 Contaminación ambiental	6
1.1.1 Contaminación del aire.....	6
1.1.2 Material particulado atmosférico.....	6
1.1.3 Clasificación del material particulado.	7
1.2 Estándares de calidad para el material particulado	8
1.3 Material particulado MP_{2.5}	9
1.3.1 Fuentes de material particulado MP _{2.5}	10
1.4 El material particulado MP_{2.5} y su impacto sobre la salud	12
1.5 Genotoxicidad.....	14
1.6 Prueba de Genotoxicidad: Ensayo Cometa	15
1.6.1 Fundamento de ensayo cometa.	16
OBJETIVOS	17
2.1 Objetivo general	18
2.2 Objetivos específicos	18
METODOLOGÍA.....	19
3.1. Diseño de investigación.....	20
3.2. Área de estudio.....	20
3.2.1. Localización geográfica.....	20
3.3.1 Encuesta.	22
3.3.2 Obtención de las muestras.....	23
3.4 Ensayo cometa	23
3.4.1 Protocolo Ensayo Cometa.....	24
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN.....	36

CONCLUSIONES	39
RECOMENDACIONES	40
BIBLIOGRAFÍA:	41

INDÍCE DE TABLAS

Tabla 1: Estándares de calidad de aire para MP10 y MP2.5 según OMS.....	9
Tabla 2: Estándares de calidad de aire para MP10 y MP2.5 según NECA.....	9
Tabla 3: Efectos sobre la salud por exposición a material particulado PM2.5 a corto y largo plazo.	13
Tabla 4: Clasificación de compuestos capaces de producir toxicidad genética.....	14
Tabla 5: Características sociodemográficas del grupo de estudio femenino.	27
Tabla 6: Características sociodemográficas del grupo de estudio masculino.....	30
Tabla 7: Aspectos generales de fertilidad y reproducción en grupo de estudio femenino.	27
Tabla 8: Características de exposición del grupo de estudio femenino.....	28
Tabla 9: Aspectos generales de salud del grupo de estudio femenino.....	29
Tabla 10: Aspectos generales de fertilidad y reproducción en grupo de estudio masculino.	31
Tabla 11: Características de exposición del grupo de estudio masculino.	31
Tabla 12: Aspectos generales de salud del grupo de estudio masculino.	32
Tabla 13: Medicación administrada en el grupo de estudio femenino.	30
Tabla 14: Medicación administrada en el grupo de estudio masculino.....	33

INDÍCE DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Clasificación del material particulado y la intensidad de sus impactos sobre la salud.....	8
Gráfica 2: Diferencias entre MP2.5 y MP10.....	10
Gráfica 3: Fuentes de material particulado MP2.5.....	10
Gráfica 4: Esquema del proceso del ensayo cometa, en el portaobjetos y resultados de cometas en microscopio de fluorescencia.	15
Gráfica 5: Mapa de la provincia del Azuay – Cuenca.	20
Gráfica 6: Distribución del MP2.5 de cuenca, color azul alta concentración, color rojo baja concentración de MP2.5.....	21
Gráfica 7: Intersección de las calles mariscal Lamar.....	22
Gráfica 8: Intersección de las calles Altiplano y Duquilema.....	22
Gráfica 9: Esquema del ensayo cometa aplicado en las muestras de sangre recolectadas en la ciudad de Cuenca-Ecuador.	23
Gráfica 10: Incidencia de patologías del grupo poblacional femenino.	29
Gráfica 11: Incidencia de patologías del grupo poblacional masculino.	33
Gráfica 12: Comparación del promedio de largo de cometa, analizados por géneros. .	34
Gráfica 13: Comparación de promedio de intensidad del cometa, analizados por géneros.	34

Gráfica 14: Comparación del índice de daño genotóxico del cometa, analizados por géneros..... 35

RESUMEN

La contaminación ambiental es un problema para la salud de la población, dentro de los contaminantes está el material particulado 2.5 (MP_{2.5}) capaz de atravesar el aparato respiratorio y pasar al torrente sanguíneo provocando daño del ADN.

El objetivo fue evaluar el daño genotóxico en los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca – Ecuador por exposición al MP_{2.5} mediante el ensayo cometa. Los casos del estudio fueron habitantes de la zona donde el monitoreo del MP_{2.5} fue alto y para los controles el monitoreo del MP_{2.5} fue bajo.

El análisis se realizó en muestras de sangre, procesadas en la sección de Genética Humana, Microbiología y Bioquímica Clínica de la Universidad Técnica Particular de Loja, donde se evaluó el daño en el ADN de las células.

Según los parámetros del ensayo cometa las dos poblaciones estudiadas no presentan diferencia estadísticamente significativa en los datos, se relacionó aspectos generales como características sociodemográficas, aspectos de fertilidad y reproducción, agentes de exposición, consumo de medicación e incidencia de patologías.

PALABRAS CLAVES: Material Particulado, genotoxicidad, ensayo del cometa, Cuenca.

ABSTRACT

Environmental pollution is a problem for the health of the population, within the contaminants is the particulate material 2.5 (MP2.5) able to cross the respiratory system and pass into the bloodstream causing DNA damage.

The objective was to evaluate the genotoxic damage in the inhabitants of the central zone of the city of Cuenca - Ecuador by exposure to MP2.5 through the comet test. The cases of the study were inhabitants of the zone where the monitoring of the MP2.5 was high and for the controls the monitoring of the MP2.5 was low.

The analysis was performed on blood samples, processed in the Human Genetics, Microbiology and Clinical Biochemistry section of the Universidad Técnica Particular de Loja, where damage to the DNA of the cells was evaluated.

According to the parameters of the trial, the two populations studied did not present statistically significant differences in the data; general aspects were related such as sociodemographic characteristics, aspects of fertility and reproduction, exposure agents, medication consumption and incidence of pathologies.

KEYWORDS: Particulate Material, Genotoxicity, Comet Test, Cuenca.

INTRODUCCIÓN

La sociedad actual esta cursado por un alto desarrollo tecnológico, lo que ha inducido a un elevado crecimiento industrial, el mismo que con otros factores contribuyen a la eliminación de diversas sustancias y compuestos al ambiente, generando contaminación atmosférica y alterando su composición natural, esta contaminación afecta directamente a la población, provocando daños en la salud de los habitantes.

Se considera al material particulado un contaminante atmosférico común y crítico en la atmósfera, cuya composición abarca varias especies incluyendo sustancias orgánicas e inorgánicas, capaces de interactuar con diferentes compuestos presentes en el aire (Maldonado y Arizaga, 2012).

Para estimar el impacto del material particulado en la población se debe considerar la valoración del riesgo carcinógeno y genotóxico, principalmente porque se ha establecido que las partículas atmosféricas, exclusivamente las fracciones de material particulado 2.5 (MP_{2.5}) que son derivadas de la industria, la quema de combustibles fósiles y más, están constituidos por varios compuestos adsorbidos en la superficie, muchos de los cuales están caracterizados como mutágenos y carcinógenos, porque inducen daño en el ADN (Zuluaga et al., 2009).

Diferentes monitoreos en las zonas urbanas de las ciudades presentan altos niveles de contaminación por material particulado, presentando complicaciones para la salud de la población, estas zonas presentan dificultad en la dispersión de los contaminantes en el movimiento del flujo atmosférico, y por ende la comulación de dichas sustancias en ciertos puntos (Betancur, 2016).

Cuenca, es la tercera ciudad del Ecuador con alto desarrollo industrial y un elevado incremento en el tráfico vehicular, se han realizado medidas puntuales de MP₁₀, MP_{2.5} y sustancias orgánicas volátiles, donde se hallaron valores que superaron los valores establecidos por Organización Mundial de la Salud (OMS) en varios puntos (Astudillo, 2014).

El vínculo entre morbilidad y mortalidad por contaminación del aire urbano ha sido holgadamente certificada, estudiada y documentada, induciendo a tomar medidas para disminuir los niveles de los contaminantes y los padecimientos de la salud de los habitantes. Cuenca, tendría como reto disminuir los niveles de material particulado de acuerdo a los valores recomendados en la guía de la OMS, y de esta manera se evitaría la muerte de 3 a 9 personas anualmente, ya que un estudio realizados en esta ciudad

concluye que la exposición al material particulado extiende el riesgo de muerte por enfermedades cardiopulmonares y cáncer de pulmón en 3 al 9 % (Arévalo y Arpi, 2015).

Con lo expuesto anteriormente, la presente investigación permitió evaluar el daño genotóxico en los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca – Ecuador por exposición al $MP_{2.5}$ mediante el ensayo cometa. Los participantes que representaron los casos del estudio fueron personas que habitan entre la intersección de las calles Mariscal Lamar y Luis Cordero, donde el monitoreo de concentración de $MP_{2.5}$ fue alto, y para los controles del estudio se seleccionó habitantes de la zona del Altiplano y Daquilema sector Totoracocha, donde el monitoreo del $MP_{2.5}$ fue bajo.

El estudio fue desarrollado en la Sección departamental de Genética Humana, Microbiología y Bioquímica Clínica de la Universidad Técnica Particular de Loja y con la colaboración del Centro de Estudios Ambientales de la Universidad de Cuenca, las mismas que presentan intereses comunes en la investigación.

El análisis se realizó en muestras de sangre, se aplicó el ensayo cometa, método de genotoxicidad usado para establecer el daño en el ADN de las células. Este ensayo molecular, llamado también electroforesis alcalina de células individuales, tiene diferentes aplicaciones en las pruebas de genotoxicidad, ensayos de biomonitorio en humanos, ecotoxicología y epidemiología molecular; así como un método fundamental para investigaciones sobre daño y reparación del ADN. El ensayo cometa es simple, versátil, rápido, económico y sobre todo se caracteriza por su sensibilidad (Rodríguez et al., 2016).

Con el desarrollo de esta investigación se pudo relacionar la contaminación ambiental provocada por el $MP_{2.5}$ y los riesgos de genotoxicidad en la población de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca, donde se encontró que no hay diferencias estadísticamente significativas tanto la población de los casos y controles; sin embargo la media estadística tiene tendencia a ser superior en la población de los casos, lo que se relaciona con la exposición al $MP_{2.5}$. Con estos datos obtenidos se puede tener una percepción general de las consecuencias del $MP_{2.5}$ y proporcionar información con la finalidad de crear metodologías y procedimientos bien estandarizados permitiendo abrir a largo plazo un trayecto para mejorar y regularizar la contaminación del aire por parte de las entidades responsables y la población en general.

MARCO TEÓRICO

1.1 Contaminación ambiental

1.1.1 Contaminación del aire.

La contaminación del aire se estima que actualmente es una complicación relevante en la salud pública y un problema común tanto en países en desarrollo como en los desarrollados. Varios compuestos que invaden nuestros espacios son sustancias de la contaminación aérea que causan una fuerte señal negativa en la salud para quienes se encuentren expuestos, no solo en los sistemas cardiovascular y respiratorio, sino que también se relaciona con la causa de patologías en todo el organismo, y con reducción en la esperanza de vida e incluso aumenta la morbi-mortalidad y cambios del material genético (Restrepo et al., 2016).

Los progresos metodológicos y tecnológicos evidencian que no solo existe una conexión entre los gradientes de exposición a los contaminantes y la morbilidad y mortalidad asociada a la polución; sino también que las amenazas para la salud se eleva en ciertas poblaciones con mayor vulnerabilidad en función de las inequidades sociales de los conjuntos poblacionales que residen determinados territorios (Jiménez Benítez et al., 2016).

Según Bermúdez, et al.,(2010), la contaminación es la incorporación o la presencia en el medio ambiente de sustancias o elementos físicos, químicos y biológicos que sean nocivos y tóxicos para el hombre y los ecosistemas (seres vivos). Los recursos naturales básicos como el aire, los suelos y el agua son los más importantes cuando presentan contaminación.

Entre los componentes químicos de la contaminación ambiental están una multiplicidad de sustancias como monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO₂), ozono (O₃), dióxido de azufre (SO₂), dióxido de nitrógeno (NO₂), compuestos orgánicos volátiles y material particulado (MP) (Naddafi et al., 2012).

1.1.2 Material particulado atmosférico.

Se puntualiza el material particulado atmosférico como el combinado entre partículas líquidas y/o sólidas presentes en suspensión en la atmósfera (Meszáros, 1999) además es posiblemente el contaminante de criterio con mayor repercusión, por la variedad de fuentes y sus efectos que causa sobre la salud. (Parra M, 2005). La contaminación del medio ambiente producido por MP se establece como el trastorno de la composición

real de la atmósfera, como producto del acceso de partículas en suspensión, ya sea por causas genuinas o por acción del hombre (Meszáros, 1999).

La Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (EPA) menciona al MP como una combinación ligada de sustancias y partículas muy pequeñas, líquidas y sólidas. Estas partículas están formadas por diversos componentes como: ácidos (nitratos y sulfatos), metales, sustancias químicas orgánicas, tierra o el polvo.

Es esencial contemplar que el MP atmosférico es un concepto extenso que incluye tanto las partículas en suspensión como las partículas sedimentables (diámetro > 20 μm); se caracteriza por un corto tiempo de alojamiento en la atmósfera. Las partículas atmosféricas pueden ser provenientes de una gran variedad de fuentes, tanto de origen natural o antropogénico. En cuanto al sistema de formación, las partículas pueden ser primarias y secundarias (Parra, 2005).

Las partículas primarias son derramadas abiertamente en la atmósfera desde la fuente de emanación, mientras que las partículas secundarias se originan a partir de las emisiones de sus precursores gaseosos (Menéndez et al., 2003).

Silva (2013) manifiesta que el MP es una adversidad de la polución caracterizado por su movimiento, cuando no hay viento, las partículas pueden mantenerse en el aire durante minutos u horas, por el contrario, cuando hay viento continuamente podrían mantenerse durante días o semanas desplazándose por distintas áreas dejando indicio de su presencia en diversos sitios distintos a donde fueron originalmente generadas. El aspecto de la dimensión de las partículas es de extremado interés para entender su movimiento y sus estragos sobre la salud.

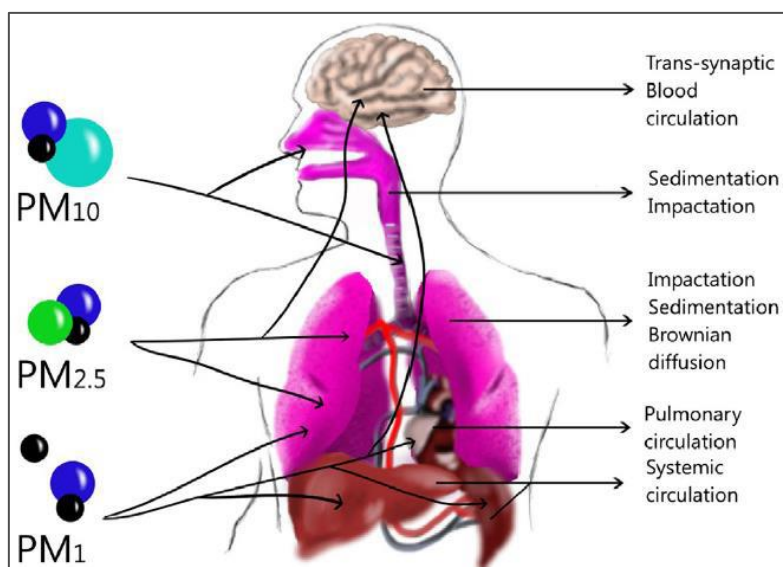
El MP, origina un fuerte impacto en la salud de las personas, denominando a dichas partículas como contaminantes criterio, por lo cual, se ha generado un ordenamiento (Tabla 1 y 2) para establecer márgenes permisibles de concentración en un ciclo de tiempo, procurando disminuir sus efectos dañinos (Silva, 2013).

1.1.3 Clasificación del material particulado.

Las partículas suspendidas que concurren en la atmósfera tienen un rango de dimensión entre 0,001 y 50 μm . (Préndez y Corvalán, 2007).

Según su diámetro, característica de la cual depende la intensidad de sus impactos, se clasifica en:

- MP_{10} o partículas gruesas, tienen un diámetro aerodinámico $\leq 10 \mu\text{m}$ y pueden penetrar y depositarse en la región traqueo bronquial en el tracto respiratorio. (Gráfica 1).
- $MP_{2.5}$ o partículas finas, tienen un diámetro aerodinámico $\leq 2.5 \mu\text{m}$ se depositan directamente en los alveolos pulmonares ya que son fácilmente respirables, llegan al torrente circulatorio y producen efectos nocivos a nivel respiratorio causando un mayor impacto sobre la salud (Gráfica 1).
- $MP_{0.1}$ o partículas ultrafinas, tienen un diámetro aerodinámico $\leq 0.1 \mu\text{m}$ (Gráfica 1) (Naddafi et al., 2012).



Gráfica 1: Clasificación del material particulado y la intensidad de sus impactos sobre la salud.

Fuente: (Rodríguez-cotto, 2015)

1.2 Estándares de calidad para el material particulado

De acuerdo a las investigaciones de la OMS se fijaron en el año 2017 los siguientes valores como estándares de la calidad del aire (Tabla 1).

Tabla 1: Estándares de calidad de aire para MP10 y MP2.5 según OMS.

Estándares de calidad de aire para MP₁₀.	
Media aritmética anual	25 µg/m ³
Promedio de 24 horas	50 µg/m ³
Estándares de calidad de aire para MP_{2.5}	
Media aritmética anual	10 µg/m ³
Promedio de 24 horas	25 µg/m ³

Fuente: OMS, 2017

Elaborado: Maldonado, A. (2018)

La Norma Ecuatoriana de Calidad de Aire (NECA), establece los siguientes valores como estándares de la calidad del aire.

Tabla 2: Estándares de calidad de aire para MP10 y MP2.5 según NECA.

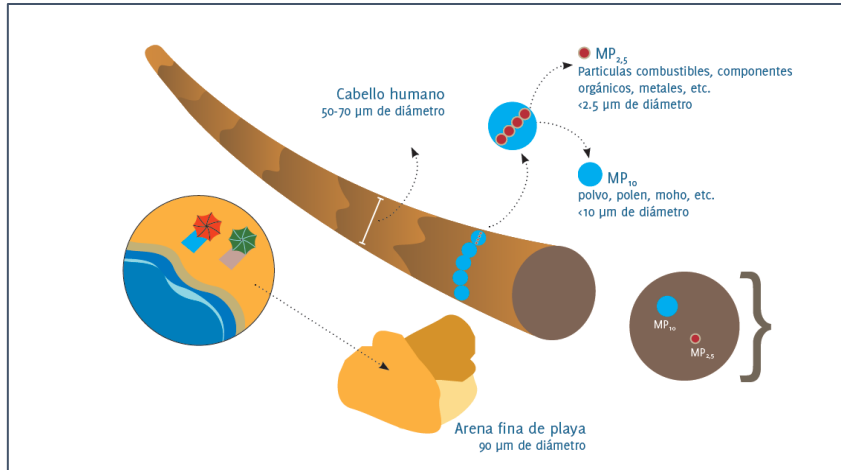
Estándares de calidad de aire para MP₁₀.	
Media aritmética anual	50 µg/m ³
Promedio de 24 horas	100 µg/m ³
Estándares de calidad de aire para MP_{2.5}.	
Media aritmética anual	15 µg/m ³
Promedio de 24 horas	50 µg/m ³

Fuente: NECA, 2016

Elaborado: Maldonado, A. (2018)

1.3 Material particulado 2.5 (MP_{2.5}).

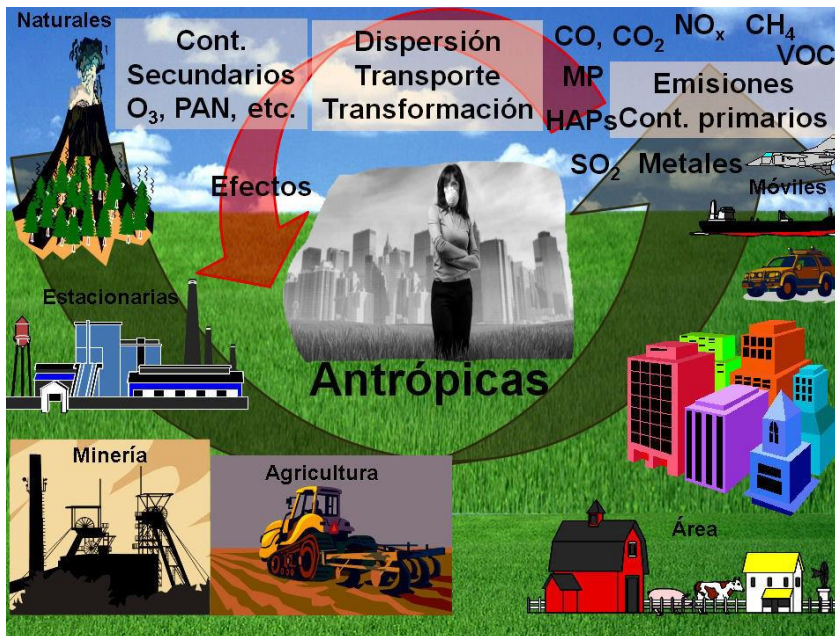
El MP_{2.5} se define como partículas de diámetro aerodinámico menor o igual a los 2.5 micrómetros, dicho en otro manera, son 100 veces más delgadas que un cabello humano (Gráfica 2), su origen es netamente de fuentes de carácter natural o antropogénico (Linares, 2012).



Gráfica 2: Diferencias entre MP_{2.5} y MP₁₀
Fuente: Ministerio del Medio Ambiente, 2016.
Elaborado: Ministerio del Medio Ambiente, 2016.

1.3.1 Fuentes de material particulado MP_{2.5}.

El MP_{2.5} es de origen natural o antropogénico cuyas partículas se clasifican en primarias emitidas como tales a la atmósfera y secundarias las cuales son creadas en la atmósfera por modificaciones de las transmisiones gaseosas como el óxido de azufre, nitrógeno y las sustancias orgánicas volátiles, y también existe una fuente biogénica. (Gráfica 3).



Gráfica 3: Fuentes de material particulado MP_{2.5}.
Fuente: Navarro, 2014.
Elaborado: Navarro, 2014.

Partículas Primarias Naturales o Antropogénicas.

- Las partículas primarias naturales están constituidas por las emisiones naturales que provienen de los suelos, presentan en su composición química una fracción de origen mineral las mismas que cambia de una zona a otra dependiendo de sus características y la combinación de los suelos, comúnmente están constituidas por: Calcita, Cuarzo, Dolomita, Arcillas, Feldespatos, Sulfato cálcico, Óxidos de hierro (Rojas-Bracho y Garibay-Bravo, 2015).
- También forman parte de las partículas primarias naturales aquellas sustancias que son de origen de la superficie de los mares y océanos, formando la fracción de aerosol marino, la misma que está compuesta por cloruros y sulfatos.
- Las partículas biogénicas tiene sus fuentes como residuos biológicos, compuestos por restos vegetales como fragmentos de plantas, polen, microorganismos y esporas (Campos et al., 2014).

Partículas Secundarias Naturales o Antropogénicas.

- Los sulfatos se forman por la oxidación de gases sulfurados naturales, se muestran sus emisiones en los procedimientos de calcinación de fósiles, en plantas industriales y en centrales térmicas, procesos de combustión emitida en el ámbito de los mares y océanos.
- Los nitratos tienen su fuente de emisión es la oxidación de los óxidos de nitrógeno producidos por los automóviles, los procesos industriales y en determinadas plantas de producción eléctrica, las descargas eléctricas naturales, la transpiración de los suelos son otras de sus fuentes.
- Los aerosoles orgánicos secundarios son los denominados hidrocarburos, cuyos precursores gaseosos tienen origen en fuentes vegetales, incendios forestales, combustibles fósiles, están integrados principalmente de carbono e hidrógeno y, en menor cantidad por azufre (Suárez et al., 2017).

Los elementos que forman parte de éstas son altamente nocivos, entre ellos están los metales pesados y sustancias orgánicas, las mismas que se relacionan con generar cáncer. Es de gran importancia conocer los componentes químicos del MP_{2.5}, puesto que resalta desde el punto de vista de la química de la atmósfera y también sobre la

calidad del aire que los habitantes respira en las ciudades, y el efecto que provoca sobre la salud (Parra et al., 2010)

1.4 El MP_{2.5} y su impacto sobre la salud

Un agente tóxico se considera a cualquier agente nocivo capaz de provocar una reacción contraria en un sistema biológico, dichos agentes pueden presentarse en forma de energía como calor, toxinas vegetales, radiaciones y algunos alcaloides o productos sintéticos (xenobióticos) (Balmaceda, 2016). Los efectos de los compuestos orgánicos volátiles para la salud varían según sus características y comprenden desde un alto grado de toxicidad hasta ausencia de efectos conocidos. Esos efectos dependerán de la naturaleza de cada uno de ellos y del grado y del período de exposición al mismo. Los contaminantes tóxicos actúan como agentes ambientales no infecciosos que tienen variados efectos, desde la irritación hasta la muerte de las células y tejidos, incluso, el organismo (Quintero et al., 2009).

El análisis del impacto sobre la salud del MP_{2.5} presenta gran relevancia, puesto que su exposición temporal o permanente puede ocasionar efectos sobre la salud provocando daños que pueden llegar a ser irreversibles. La característica de las partículas MP_{2.5} es de tener un tamaño pequeño, lo cual le da la particularidad de provocar daños más severos.

Betancur (2016), expresa que “A mayor cantidad de MP_{2.5} se presenta más daño a nivel celular y del ADN”. Eso demuestra que en la medida en que se vaya acumulando el material particulado en una persona o en un sistema biológico, va a conllevar a alteraciones patológicas”. Según su estudio se pudo observar una disminución en la población celular por la presencia del material particulado, el cual generó rupturas en su ADN.

Según Beleño y Quijano (2013) concluyen que la fracción respirable de MP_{2.5}, en las áreas con una elevada circulación vehicular se estima uno de los factores de amenaza que coopera al incremento del índice de cáncer en los residentes expuestos, ya que se relacionan con la inducción del cambio en el genoma de las células e igualmente pueden atravesar y llegar al núcleo de linfocitos humanos y causar daño en su ADN.

En la Tabla 3 se describen los efectos en la salud por exposición a diferentes concentraciones de PM_{2.5} a corto y largo plazo.

Tabla 3: Efectos sobre la salud por exposición a material particulado PM2.5 a corto y largo plazo.

	Efecto a corto plazo	Efecto a largo plazo
Sistema respiratorio	Aumento de morbilidad respiratoria Disminución en la función pulmonar Interferencia en mecanismos de defensa pulmonar: fagocitosis y depuración mucociliar Síndrome bronquial obstructivo	Menor desarrollo de la estructura y función del sistema respiratorio mayor riesgo de cáncer en la edad adulta.
Sistema cardiovascular	Disminución de la variabilidad en la frecuencia cardíaca ante el estrés	
Unidad materno - fetal	Infertilidad Abortos espontáneos Bajo peso de nacimiento Baja talla al nacer	
Cáncer	Crecimiento rápido y disperso de células anormales. Mutación celular del sistema respiratorio. Cáncer cervicouterino. Metástasis.	
Otros	Irritación y trastornos visuales. Náusea, dolor y mareo de cabeza. Fatiga con pérdida de coordinación. Reacciones alérgicas de la piel. Trastornos de la memoria.	Lesiones en el hígado, riñones y el sistema nervioso central.

Fuente: Díaz, 2014 , Quintero et al., 2009.

Elaborado: Maldonado, A. (2018)

Otro dato de relevancia según Oyarzún (2010) es que el MP_{2.5} presenta en su composición química hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAPs); éstos son derivados de la combustión incompleta del material orgánico (petróleo, gasolina, leña, carbón y biomasa en general), por ello el estudio de los altos niveles de contaminación atmosférica por MP_{2.5} en las ciudades ha permitido identificar varias especies de HAPs de las cuales seis de éstas se les ha catalogado como cancerígenos; por el benzo a-pireno que es el HAPs emitido por en el humo del cigarrillo y en el smog de ciudades con niveles altos de contaminación, es considerado un agente con mayor agresión cancerígena. Estos HAPs pueden reaccionarse con NO₂ generando daño oxidativo del ADN, lo que conduce a una gran actividad mutagénica, dando lugar a mortalidad cardiopulmonar, origen de cáncer pulmonar, cánceres de otros órganos o sistemas, efectos reproductivos y genotoxicidad (Parra et al., 2013).

Según Quintero et al., (2009) el MP_{2.5} es un tipo de agente contaminante que induce a algún tipo de cambio en el material genético o en sus componentes asociados, conociéndolos como agentes genotóxicos.

1.5 Genotoxicidad

Según Abrevaya y Fuente (2008), la genotoxicidad es la destreza referente de un agente de provocar alteraciones en el material genético, produciendo resultados biológicos adversos. La afectación provocada en el “material genético” no solo se produce en el ADN, sino también en compuestos celulares que se tienen relación con la funcionalidad y comportamiento de los cromosomas en el interior de la célula, entre ellas están las proteínas que participan en la reparación, condensación y descondensación del ADN en los cromosomas y otras estructuras.

En la Tabla 4 se observa la clasificación general de los compuestos genotóxicos, de acuerdo a su origen y su modo de acción.

Tabla 4: Clasificación de compuestos capaces de producir toxicidad genética.

CLASIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS XENOBIOTICOS		
	ORIGEN	EJEMPLO
SEGÚN SU ORIGEN	Físico	Radiaciones
	Químico	Medicación
	Biológico	Virus, bacterias
SEGÚN SU MODO DE ACCIÓN	Mutágenos	Mutaciones genéticas en un gen o cromosoma sobre las células somáticas y/o germinales.
	Carcinógenos	Involucra los estadios de iniciación, promoción y progresión provocando una transformación celular de tipo irreversible.
	Teratógenos	Implica el daño inducido sobre los distintos períodos de gestación o a lo largo de la misma, como las malformaciones fetales

Fuente: : González, 2013.

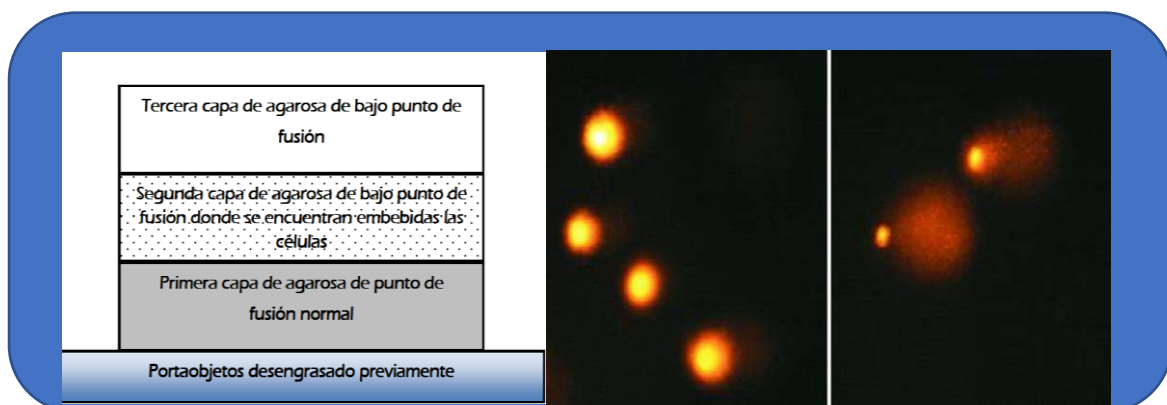
Elaborado: Maldonado, A. (2018)

El daño causado por los xenobióticos está influenciado por diversas condiciones tales como el tiempo de exposición, la dosis de exposición al agente y la condición genética de cada individuo, lo cual define su propio grado de susceptibilidad.

1.6 Prueba de Genotoxicidad: Ensayo Cometa.

El ensayo molecular Cometa, o también denominado electroforesis alcalina de células individuales, es un método creado para la observación del daño en el ADN y se emplea en diversos ensayos, como genotoxicidad, biomonitorio en seres humanos, epidemiología molecular y ecotoxicología; así como se le denomina un medio fundamental para investigaciones sobre daño y reparación del ADN. Se caracteriza por su simplicidad, sensibilidad, versatilidad, rapidez y económica (Rodríguez-rey et al., 2016).

En la actualidad, es una de las técnicas más empleada para valorar quiebres en el ADN, fue desarrollado en el año de 1978 como una metodología que permitió valorar el daño en células individuales, la técnica en el transcurso de su empleo fue sometida a modificaciones, Ostling y Johanson (1988), introdujeron el corrido electroforético luego de la lisis celular en el microgel de agarosa, y estimaron el daño por medio de la visualización de la fluorescencia del ADN migrado con una previa tinción con bromuro de etidio, por otro lado Singh (1991) refinó la técnica exponiendo a condiciones alcalinas para desnaturalizar las estructuras secundaria y terciaria del ADN, lo cual permitió la eliminación del ARN, y como estandarización final se introdujo un paso con proteinasa K para que el material genético migre durante el corrido electroforético (Gráfica 4).



Gráfica 4: Esquema del proceso del ensayo cometa, en el portaobjetos y resultados de cometas en microscopio de fluorescencia.

Fuente: Venegas, 2009.

Elaborado: Venegas, 2009.

Según Carmona (2009) la metodología del ensayo cometa comprende 7 pasos:

- Las células que van a ser estudiadas se mezclan con agarosa y posteriormente se suspenden en placas cubiertas previamente con agarosa.

- Se provoca la ruptura de las células sometiéndolas a una alta concentración de sales para libera el ADN y expulsar los restos proteicos de las células.
- Se expone a un pH alcalino usualmente 13, donde el ADN se desenrolla y se relaja, permitiendo expresar el quiebre de las cadenas simples y los sitios álcali lábil.
- Se realiza el ensayo de electroforesis en condiciones con un pH > 13, permitiendo que las fracciones del ADN o sus espirales relajados se desplacen hacia el ánodo por las condiciones del campo eléctrico del ensayo.
- Se compensa el pH alcalino.
- Se realiza la tinción de ADN, para la observación al microscopio de fluorescencia de los posibles cometas formados.
- Para finalizar se hace el contaje y estudio de los diferentes grados de daño genético, según lo que se observe.

1.6.1 Fundamento de ensayo cometa.

El ensayo del cometa tiene como fundamento que el ADN estudiado en condiciones normales presenta una estructura altamente ligada y ordenada con la parte central de las proteínas en el núcleo de la célula. A diferencia que el ADN averiado presenta en su organización alteraciones, perdiendo la contextura compacta de las cadenas simples de ADN, provocando su relajación, y propagándose en el exterior de la su cavidad. Al ser sometido a un campo eléctrico, el ADN, que presenta carga negativa, se desplaza al ánodo. Las secuencias de ADN en condiciones normales son muy grandes, y no se desplazan a de la cavidad, mientras que el ADN averiado está fragmentado, los mismos que tienen la facultad de moverse con facilidad a través de la agarosa. Por lo tanto, la cantidad de ADN que se desplaza permite medir la cantidad de ADN dañado en la célula (Gráfica 4).

Esta técnica cuenta con la cualidad de localizar el daño genético ocasionado por los quiebres del ADN de doble y simple cadena, sitios álcali -lábil, daño oxidativo, y enlaces ADN-ADN, ADN-proteína, así como el daño genético debido a desigualdad en la reparación del ADN (Carmona, 2009).

OBJETIVOS

2.1 Objetivo general

Evaluar el daño genotóxico en los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca – Ecuador por exposición al MP 2.5 mediante el ensayo cometa.

2.2 Objetivos específicos

1. Seleccionar las zonas céntricas de la ciudad de Cuenca que presentan concentraciones altas y bajas de MP_{2.5}.
2. Evaluar el daño genotóxico de los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca mediante el ensayo cometa.
3. Relacionar el daño genotóxico de los donantes y la concentración ambiental de MP_{2.5}.

METODOLOGÍA

3.1. Diseño de investigación

En el desarrollo de este trabajo se utilizó el diseño de investigación de corte transversal comparativo, que nos permitió realizar el análisis del daño genotóxico en los habitantes de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca expuestas a altas concentraciones de $MP_{2.5}$ y controles en los habitantes que están expuestos a bajas concentración de $MP_{2.5}$ (Gráfica 6) y de esta manera comparar el efecto directo de las $MP_{2.5}$ en la salud de los habitantes.

3.2. Área de estudio



Gráfica 5: Mapa de la provincia del Azuay – Cuenca.
Fuente: Emov Ep, 2013.
Elaborado: Emov Ep, 2013.

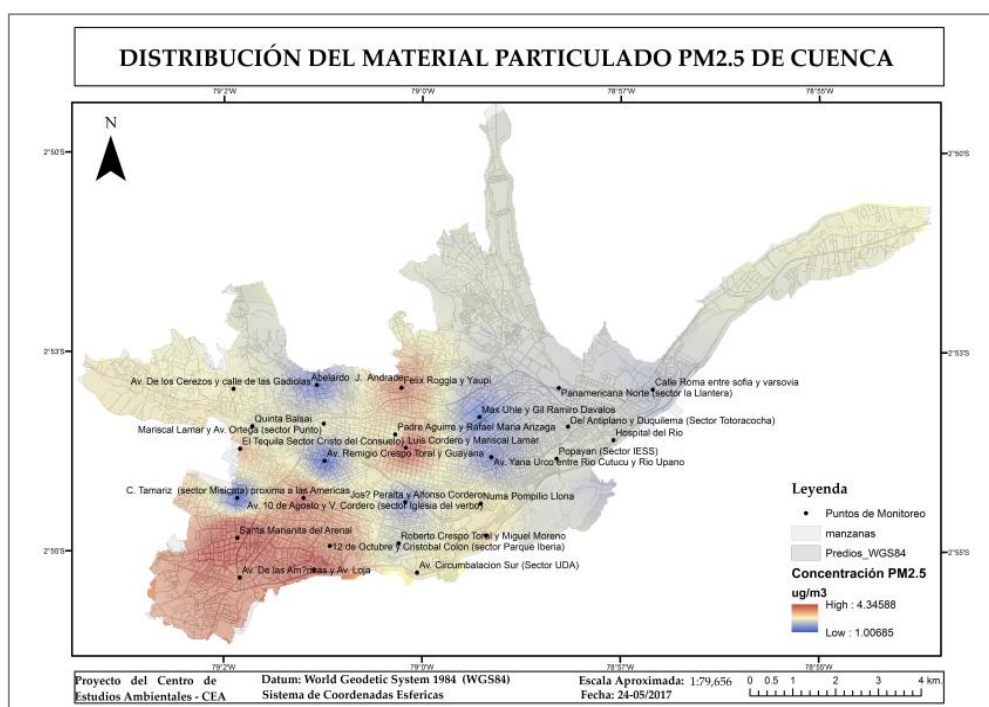
3.2.1. Localización geográfica.

Esta investigación se realizó en Cuenca (Gráfica 5), que es una ciudad del centro austral de la República del Ecuador y es la capital de la provincia del Azuay. Las coordenadas geográficas de la ciudad son 2°39' a 3°00' de latitud sur y 78°54' a 79°26' de longitud oeste, con una altura sobre el nivel del mar que varía de 100 a 4560 m., la zona urbana se encuentra a una altitud de 2560 msnm aproximadamente.

Limita al norte con la Provincia del Cañar, al sur con los Cantones Camilo Ponce Enríquez, San Fernando, Santa Isabel y Girón, al este con los Cantones Paute, Gualaceo y Sígsig y hacia el oeste con la Provincia del Guayas.

Está dividido en 21 parroquias rurales y quince parroquias urbanas con un área total de 3086 km². Las quince parroquias urbanas conforman la Ciudad de Cuenca, con un área de 72.32 km.

3.2.1 Población de estudio.

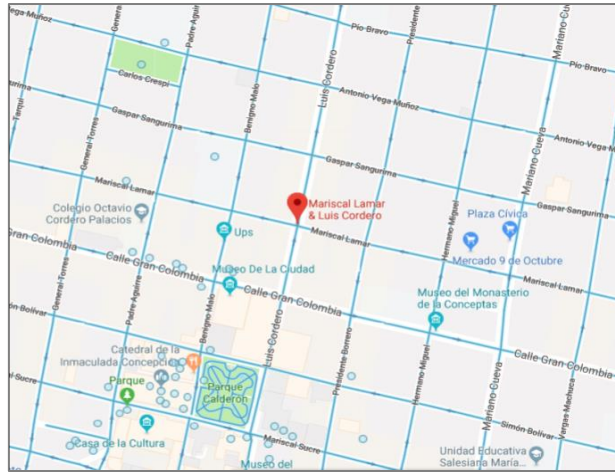


Gráfica 6: Distribución del MP_{2.5} de Cuenca, color azul alta concentración, color rojo baja concentración de MP_{2.5}.

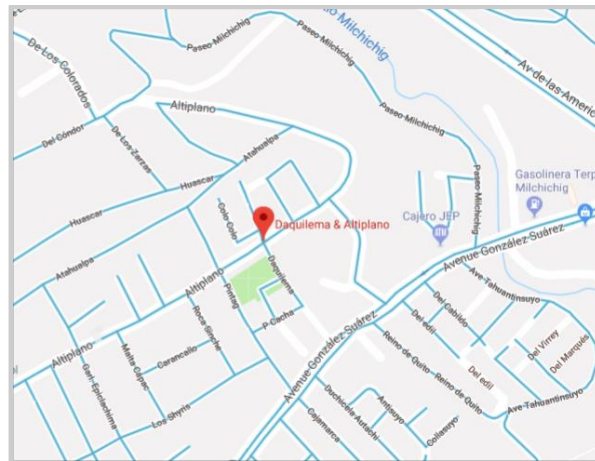
Fuente: Centro de Estudios Ambientales de la Universidad de Cuenca (CEA), 2016.

Elaborado: Centro de Estudios Ambientales de la Universidad de Cuenca (CEA), 2016.

Para evaluar el daño genotóxico en los habitantes de la ciudad de Cuenca – Ecuador se seleccionó 33 habitantes de la zona céntrica entre la intersección de las calles Mariscal Lamar y Luis Cordero y en el perímetro de tres calles alrededor de las mismas (Gráfica 7), donde el monitoreo de concentración de MP_{2.5} es alto, siendo esta población los casos del estudio, y se seleccionó 28 habitantes de la zona del Altiplano y Duquilema sector Totoracocha (Gráfica 8), donde el monitoreo del MP_{2.5} es bajo, considerando esta población los controles del estudio.



Gráfica 7: Intersección de las calles mariscal Lamar y Luis Cordero, población casos
Fuente: Google Maps, 2017.
Elaborado: Google Maps, 2017.



Gráfica 8: Intersección de las calles Altiplano y Duquilema sector Totoracocha, población controles.
Fuente: Google Maps, 2017.
Elaborado: Google Maps, 2017.

La participación fue voluntaria, donde cada participante firmo el consentimiento informado para autorizar la toma de muestra de sangre, se expuso la información sobre el objetivo del trabajo y se aplicó una encuesta estandarizada, donde se recopiló la información necesaria para conocer características importantes de sus antecedentes personales y familiares, que nos permitió clasificar a los colaboradores e incluirlos en el proyecto, tanto en los que forman parte de los casos y controles.

3.3.1 Encuesta.

Previo a la extracción de las muestras biológicas de sangre, para tener un amplio conocimiento acerca de las características tanto de la población de casos y controles, se sometió a una encuesta exhaustiva con la finalidad de obtener información más

detallada sobre su actividad laboral, estado de salud, antecedentes personales y familiares.

La encuesta está formulada por datos generales, antecedentes familiares y personales, historial médico, actividad laboral y lugar de trabajo.

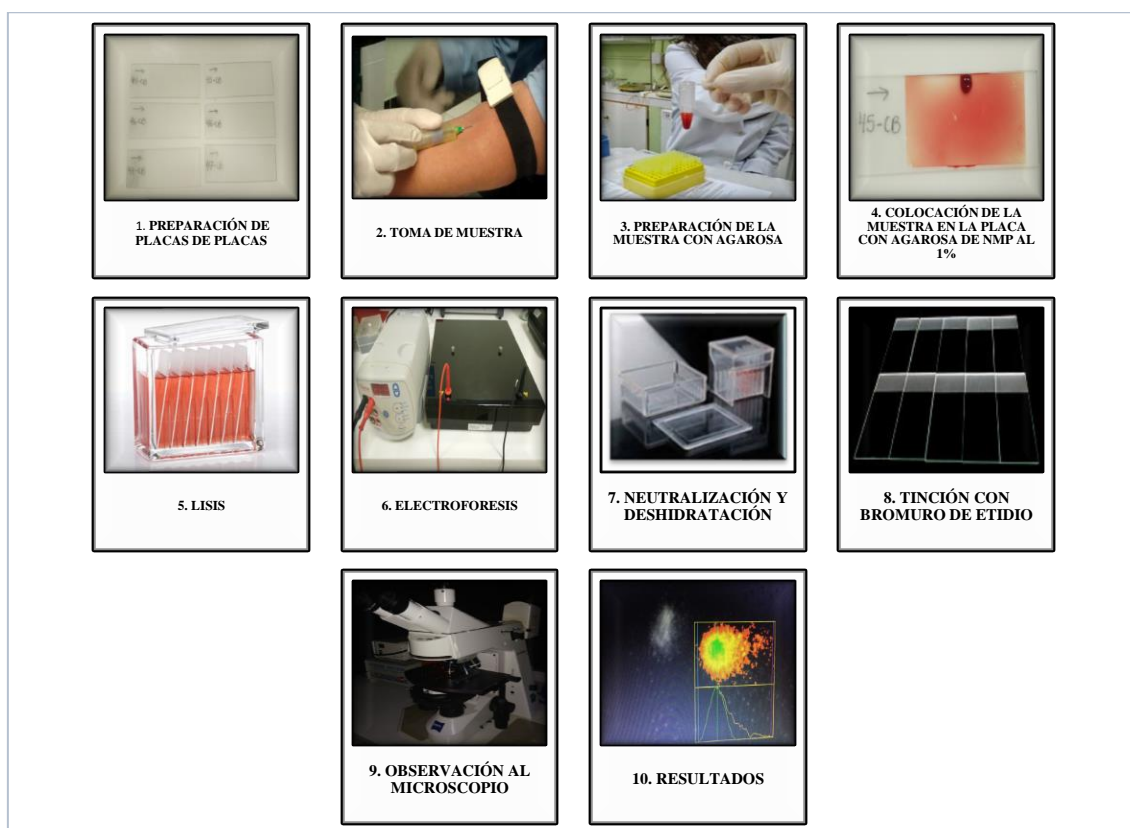
3.3.2 Obtención de las muestras.

La obtención de todas las muestras de sangre se realizó a lo largo de los meses de octubre del 2017 a enero del 2018.

Las muestras de sangre fueron obtenidas por punción intravenosa del antebrazo del participante, se usó tubos vacutainer con anticoagulante heparina. Las muestras fueron sometidas al proceso según los protocolos estandarizados para el ensayo molecular cometa.

3.4 Ensayo cometa

Las muestras de sangre total con heparina fueron concentradas en agarosa, lisadas y sometidas a una electroforesis a pH 13 (Gráfica 9).



Gráfica9: Esquema del ensayo cometa aplicado en las muestras de sangre recolectadas en la ciudad de Cuenca-Ecuador.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

3 .4.1 Protocolo Ensayo Cometa.

1. Preparación de los microgeles de agarosa.

Según el protocolo estandarizado para el ensayo cometa, se utilizó portaobjetos esmerilados, los mismos que fueron sometidos a un lavado previo además de desengrasados con etanol, se identificó cada placa con el código por donante.

Luego se cubrieron con 130 μL de UltraPure™ Agarosa (Invitrogen) de normal punto de fusión (NMP) al 1% disuelta en agua desionizada, y manteniendo una temperatura de 37 °C, las placas preparadas se dejaron secar y se guardaron protegidas de la luz.

2. Preparación de las muestras.

Se separo 75 μL de muestra de sangre en un microtubo (1,5 mL) y se agregó 150 μL de Agarosa de bajo punto de fusión (LMP) (Promega). De ésta mezcla preparada se agregó 75 μL en cada placa preparada con agarosa (por duplicado), se cubrió con cubreobjetos de 25 x 75 mm y se refrigero a 4°C durante 6 min, luego se retiró el cubreobjetos con cuidado, se colocó 130 μL de una tercera capa de Agarosa LMP a 37 °C y se colocó el cubreobjetos de 25 x75 mm, se refrigeró a 4° C durante 6 min, se retiró el cubreobjetos.

Las placas se colocaron en la solución de lisis, protegido de la luz y se refrigeraron a 4°C durante al menos 12 horas.

Solución de Lisis: se realizó la preparación de dos soluciones.

1. La solución de lisis madre que está compuesta por agua desionizada, cloruro de sodio (NaCl) (Fisher), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (Invitrogen), Tris Base, e hidróxido de sodio (NaOH) (Fisher).

2. La solución de lisis del día que está compuesta por solución de lisis madre, dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma Aldrich) y Tritón de Promega.

3. Electroforesis

Luego las placas en solución de lisis, se colocaron dentro de la cámara de electroforesis (Comet 20 Scie Plas). Se ordenó las placas considerando la migración del ADN. Se ajustaron las condiciones de corrida (25 V, 300 mA y 20 min), se dejaron reposar las

placas dentro del buffer de corrida durante 20 min para llevar a cabo la desnaturalización. Se inició la corrida electroforética con la fuente de poder (Thermo Scientific).

4. Neutralización y deshidratación

Finalizada la electroforesis, en un frasco de tinción se colocaron las placas en buffer de neutralización (Trizma pH 7.5), durante 5 min, protegidas de la luz. Posteriormente, se sumergieron en metanol frío durante 5 min. Las placas fueron secadas a temperatura ambiente.

5. Tinción y conteo de células

Las placas fueron mantenidas protegidas de la luz y previo al contaje de las células se hidrataron en agua desionizada fría durante 5 a 10 min. Se realizó la tinción de las placas con 60 μ L de Bromuro de Etidio (1.5 g/mL Promega) y se cubrió con cubreobjetos de 25 x 75 mm, se eliminó el exceso de Bromuro de Etidio con papel absorbente. Para el contaje de las células se colocó las placas en el microscopio de fluorescencia Axioskop2 Plus (Carl Zeiss), se usó el software Comet Assay System IV versión 4.3.2(Perceptive), y se procedió a contar 100 células/placa descartando las que se encuentran en los extremos del portaobjetos, nubes y cometas superpuestos.

RESULTADOS

Las características sociodemográficas del grupo de estudio del sexo femenino se resumen en Tabla 5. Participaron 14 y 19 mujeres de las poblaciones con altas y bajas concentraciones a MP_{2.5}, con una edad promedio de 42 y 36 años respectivamente y con una exposición al área de 14 años aproximadamente.

Las dos poblaciones no presentan diferencias significativas en sus hábitos con el consumo de alcohol y cigarrillo, presentando más del 78 % de la población que no consume dichas sustancias.

Tabla 5: Características sociodemográficas del grupo de estudio femenino.

Características	Expuestos a alta concentración (n=14)	Expuestos a baja concentración(n=19)	p value
Edad ^a (Años)	42,79 ± 11,11	36,05 ± 13,59	0,14 ^b
Años de Exposición ^a	14,36± 9,38	14,53 ± 10,13	1,000 ^b
Hábito de Fumar %			0,1416 ^c
No Fuma	85,71	78,95	
Fumador	0,00	10,53	
Fumador Pasivo	14,29	10,53	
Ex Fumador	0,00	0,00	
Consumo de Alcohol %			1,000 ^c
Consume Alcohol	92,86	89,47	
No consume Alcohol	7,14	10,53	

a: Media ± DE

b: t-test.

c: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018)

Según la Tabla 6 la población en estudio del género femenino no presenta diferencias significativas ($p = 0,0733$) con problemas de fertilidad, defectos de nacimiento y alteraciones genéticas, el 57,89 % de mujeres de la zona de bajas concentraciones a MP_{2.5} aportaron que familiares habían presentado algún tipo de padecimiento antes mencionado, a comparación de la otra población que presento una relación del 21,43%; más del 89 % de las dos poblaciones no presentaron dificultad de tener hijos y problemas con su descendencia.

Tabla 6: Aspectos generales de fertilidad y reproducción en grupo de estudio femenino.

Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	p value
Alteraciones genéticas, fertilidad y nacimiento.			0,0733 ^a
Ninguna o no	78,57	42,11	

Si o Familiares	21,43	57,89	
Dificultad para tener hijos.			0,4643 ^a
No	92,86	89,47	
Si	7,14	10,53	
Problemas con su descendencia			0,4242 ^a
Ninguna	92,86	100	
Abortos	7,14	0,00	
Muertos neonatales, bajo peso al nacer, malformaciones, enfermedades congénitas	0,00	0,00	

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018)

En la Tabla 7 se demuestra que la población de estudio se encuentra expuesta al área geográfica durante un periodo de tiempo de 3 – 26 años y no presenta diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,714$). En cuanto a los agentes de exposición se demuestra que existe una diferencia significativa ($p = 0,0234$) entre las mujeres que se encuentran en la zona de alta concentración de $MP_{2.5}$ ya que expresan que se encuentran expuestas en su área geográfica a ruido de 28,57 % y polvo de 57,14 %, mientras que las mujeres que se encuentran en la zona de baja concentración de $MP_{2.5}$ presentan una exposición al ruido de 36,84 % y al polvo de 5,26%.

Tabla 7: Características de exposición del grupo de estudio femenino.

Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	p value
Tiempo de exposición a la zona geográfica.			0,7141 ^a
3-6	21,43	26,32	
7-10	28,57	15,79	
11-14	0,00	15,79	
15-18	28,57	15,79	
19-22	7,14	5,26	
23-26	14,29	15,79	
> 26 años	0,00	5,26	
Agentes expuestos			0,0234 ^a
Sin Exposición	14,29	57,89	
Ruido	28,57	36,84	
Polvo	57,14	5,26	
Gasolina, Metales, Minería, Pinturas, Asbesto, Pesticidas.	0,00	0,00	

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la Tabla 8 se presenta aspectos generales en relación al estado de salud del grupo de estudio femenino, más del 57 % de la población femenina realizaron una visita médica entre un periodo de 0 a 6 meses, solo el 21 % se sometió a estudios de RX; sin embargo, el 89 % goza de un buen estado de salud.

Tabla 8: Aspectos generales de salud del grupo de estudio femenino.

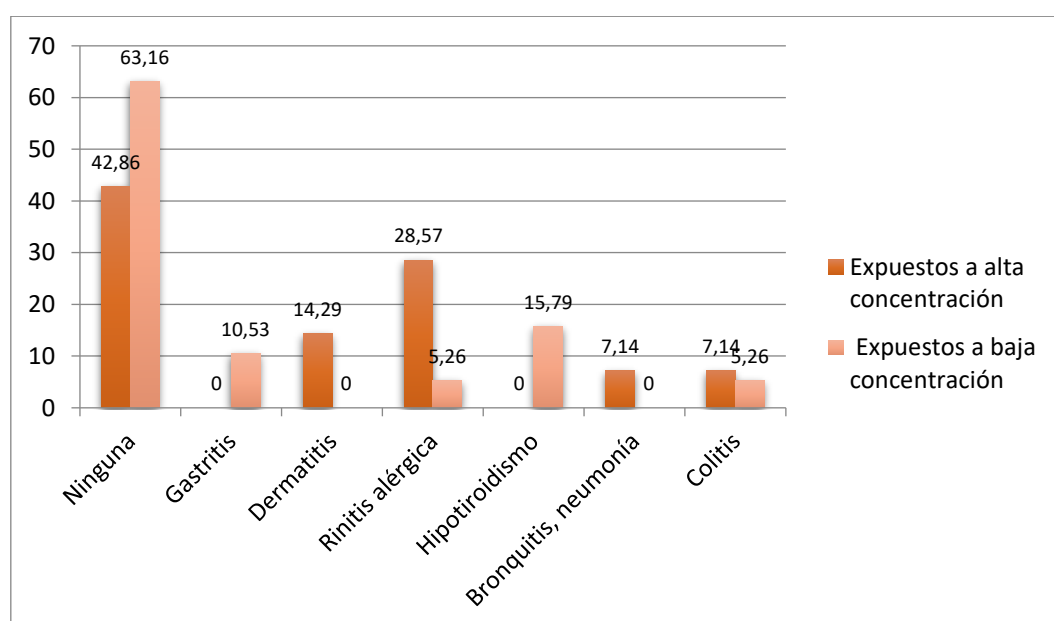
Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	p value
Buen estado de salud			1,000 ^a
Si	92,86	89,47	
No	7,14	10,53	
Última visita médica.			0,6723 ^a
0 a 6 meses	64,29	57,89	
7 a 12 meses	35,71	36,84	
más de 1 año	0,00	5,26	
Radiografías realizadas			1,0000 ^a
0 radiografías	78,57	78,95	
1 o más radiografías	21,43	21,05	

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la Gráfica 10, se puede observar la incidencia de patologías del grupo poblacional femenino, la población de estudio expuesta a altas concentraciones de MP_{2.5} destaca que el 42,86% de la población no presenta patologías y el 28,57 % padece de rinitis alérgica; en comparación con la población de los controles donde el 63,16% no padecen de patologías, solo 5,26 % rinitis alérgica, aunque un 15,79 % presentó un diagnóstico de hipotiroidismo; sin embargo se demostró que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las patologías de mayor incidencia en las dos poblaciones como rinitis alérgica y colitis ($p = 0,2882$ y $p = 1,000$, respectivamente).



Gráfica 10: Incidencia de patologías del grupo poblacional femenino.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la tabla 9 se demuestra que no hay diferencias significativas ($p = 0,360$) con el consumo de medicación para la población femenina, puesto que menos del 50 % se administran medicación como: antihistamínicos (5,26 %), antibióticos y antiácidos (7,14 %), hormona tiroidea (10,53 %), y vitaminas y minerales (15 %).

Tabla 9: Medicación consumida por el grupo de estudio femenino.

Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	p value
Medicación consumida			0,3600 ^a
No	42,86	63,16	
Antibióticos	7,14	5,26	
Antiácidos	7,14	0,00	
Antihistamínicos	0,00	5,26	
Vitaminas/minerales	14,29	15,79	
Antipiréticos/analgésicos	7,14	0,00	
Hormona Tiroidea	0,00	10,53	
Insulina/tratamiento diabetes, tranquilizantes, diuréticos.	0,00	0,00	

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la Tabla 10 se especifica las características sociodemográficas del grupo de estudio del sexo masculino. Participaron 15 y 13 personas de las poblaciones con altas y bajas concentraciones a $MP_{2.5}$ respectivamente, con una edad promedio de 39 y 32 años, y con una exposición al área entre 14 y 15 años. Las dos poblaciones no presentan diferencias significativas en sus hábitos con el consumo de alcohol y cigarrillo; sin embargo, dichos hábitos son superiores en la población que está expuesta a mayores concentraciones de $MP_{2.5}$ con porcentajes superiores al 40 % para los dos hábitos.

Tabla 10: Características sociodemográficas del grupo de estudio masculino.

Características	Expuestos a alta concentración (n=15)	Expuestos a baja concentración(n=13)	p value
Edad ^a (Años)	39,67 ± 13,87	32,08 ± 15,73	0,0879 ^b
Años de Exposición ^a	15,07 ± 9,758	14,38 ± 11,30	0,6937 ^b
Hábito de Fumar %			0,1162 ^c
No Fuma	40,00	76,92	
Fumador	13,33	0,00	
Fumador Pasivo	40,00	23,08	
Ex Fumador	6,67	0,00	
Consumo de Alcohol %			0,4348 ^c
Consume Alcohol	60,00	76,92	
No consume Alcohol	40,00	23,08	

a: Media \pm DE

b: t-test.

c: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018)

Según la Tabla 11 más del 70 % las dos poblaciones del género masculino no presentan diferencias significativas ($p = 0,067$), con problemas de fertilidad, defectos de nacimiento y alteraciones genéticas, mientras que más del 92 % no presentaron dificultad de tener hijos y problemas con su descendencia.

Tabla 11: Aspectos generales de fertilidad y reproducción en grupo de estudio masculino.

Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	p value
Alteraciones genéticas, fertilidad y nacimiento.			0,0679 ^a
Ninguna o no	70,00	61,54	
Si o Familiares	30,00	38,46	
Dificultad para tener hijos.			0,4242 ^a
No	93,33	92,31	
Si	6,67	7,69	
Problemas con su descendencia			0,4643 ^a
Ninguna	100,00	92,31	
Abortos	0,00	7,69	
Muertos neonatales, bajo peso al nacer, malformaciones, enfermedades congénitas	0,00	0,00	

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la Tabla 12 se demuestra que la población de estudio del género masculino se encuentra expuesta al área geográfica durante un periodo de tiempo de 3 - 26 años y no presenta diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,856$). En cuanto a los agentes de exposición se demuestra que no existe una diferencia significativa ($p = 0,055$) entre las poblaciones masculinas; el 13,33 % del primer grupo están expuestas a ruido y un 80 % a polvo, mientras que el 36,84 % de la segunda población está expuesta a ruido y un 5,26 % a polvo.

Tabla 12: Características de exposición del grupo de estudio masculino.

Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	p value
Tiempo de exposición al área geográfica.			0,8567 ^a
3-6	13,33	23,08	
7-10	46,67	38,46	
11-14	6,67	0,00	
15-18	6,67	7,69	

19-22	0,00	7,69
23-26	0,00	15,38
> 26 años	6,67	7,69
<hr/>		
Agentes expuestos		0,0553 ^a
Sin Exposición	6,67	46,15
Ruido	13,33	7,69
Polvo	80,00	46,15
Gasolina, Metales, Minería, Pinturas, Asbesto, Pesticidas.	0,00	0,00

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la Tabla 13 se presenta aspectos generales en relación al estado de salud del grupo de estudio masculino, más del 50 % de esta población realizaron una visita médica entre el periodo de 0 a 12 meses, solo el 24 % se sometió a estudios de RX; sin embargo, el 94 % goza de un buen estado de salud.

Tabla 13: Aspectos generales de salud del grupo de estudio masculino.

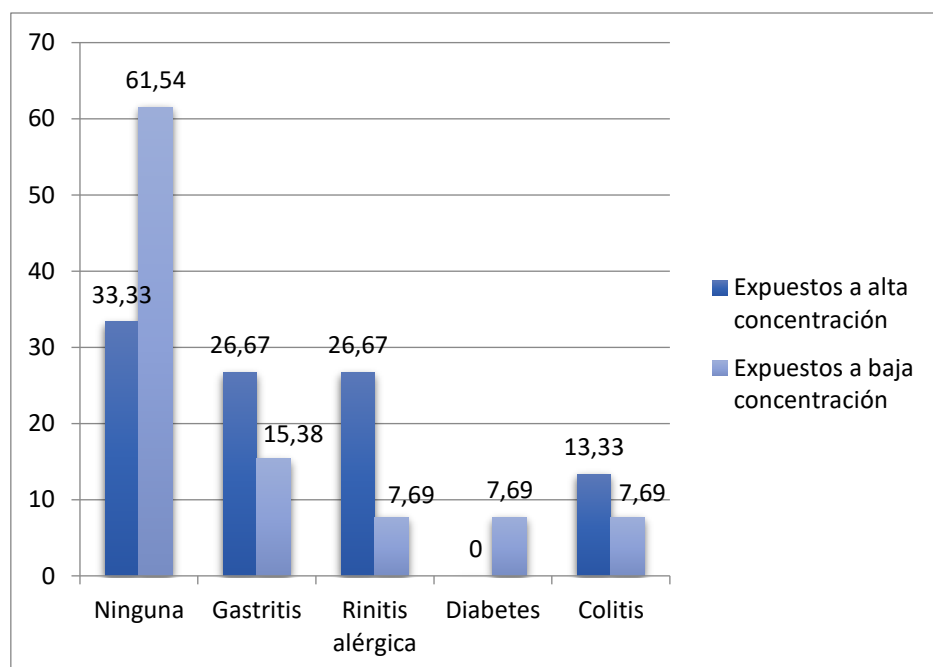
Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	p value
Buen estado de salud			1,000 ^a
Si	94,86	94,47	
No	5,14	5,53	
Última visita médica.			0,3283 ^a
0 a 6 meses	53,33	30,77	
7 a 12 meses	33,33	61,54	
más de 1 año	13,33	7,69	
Radiografías realizadas			0,6389 ^a
0 radiografías	86,67	76,92	
1 o más radiografías	13,33	23,08	

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la Gráfica 11 se observa la incidencia de patologías del grupo poblacional masculino, donde el 33,33 % la población expuesta a altas concentraciones de MP_{2.5} no presentan patologías, el 26,67 % presenta rinitis alérgica y gastritis y un 13,33 % colitis, en comparación a la población de los controles el 61,54 % no presentan patologías, el 15,38 % gastritis y solo el 7,69 % de la población manifestó presentar rinitis alérgica y colitis; sin embargo, se demostró que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre las patologías de mayor incidencia en las dos poblaciones como rinitis alérgica, colitis y gastritis ($p = 0,1550$, $p = 0,5901$ y $p = 0,3707$, respectivamente).



Gráfica 11: Incidencia de patologías del grupo poblacional masculino.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

En la tabla 14 se demuestra que no hay diferencias significativas ($p = 0,3922$) con la administración de medicación para la población del grupo masculino, menos del 50 % consume medicación como: antihistamínicos (26,67 %), antiácidos, tranquilizantes y hormona tiroidea (6,67 %), vitaminas y minerales (13,33 %).

Tabla 6: Medicación consumida por el grupo de estudio masculino.

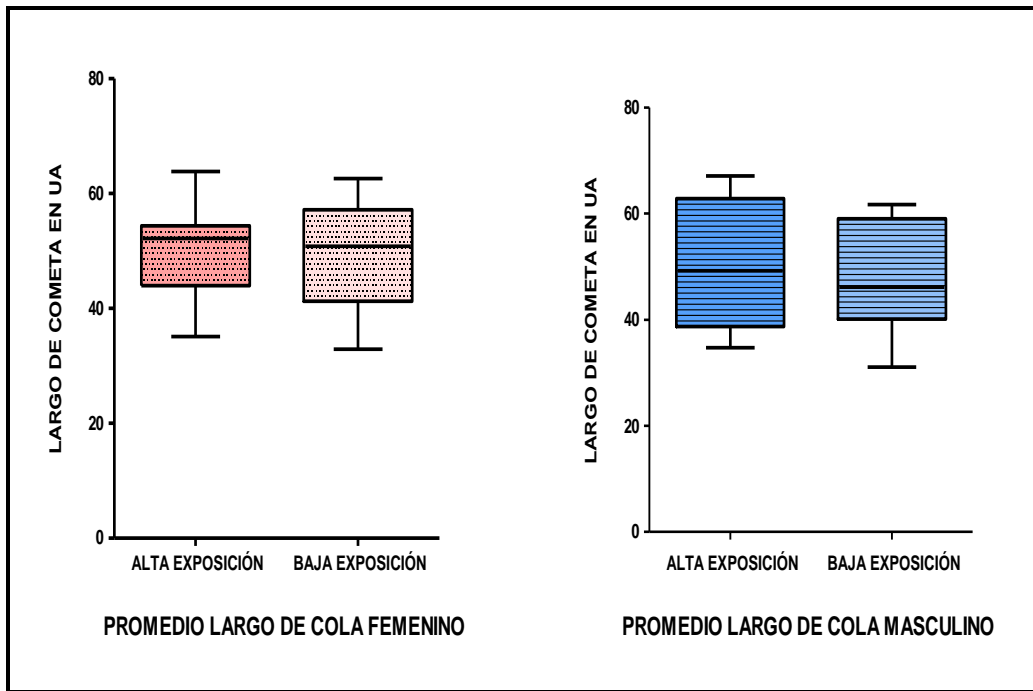
Encuesta	Expuestos a alta concentración %.	Expuestos a baja concentración %.	<i>p</i> value
Medicación consumida			0,3922 ^a
No	40,00	50,00	
Antiácidos	6,67	0,00	
Antihistamínicos	26,67	8,33	
Vitaminas/minerales	13,33	33,33	
Tranquilizantes/psicofármacos	6,67	0,00	
Hormona Tiroidea	6,67	6,67	
Insulina/tratamiento diabetes, Diuréticos, Antibióticos.	0,00	0,00	

a: Mann Whitney test.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

La Gráfica 12 representa el daño genotóxico según el largo de la cola del cometa, no presenta diferencias significativas tanto para la población del género masculino y femenino que se encuentra expuesta a altas y bajas concentraciones de MP_{2.5}, (Femenino; $p = 0.4150$) (Masculino; $p = 0,7822$).

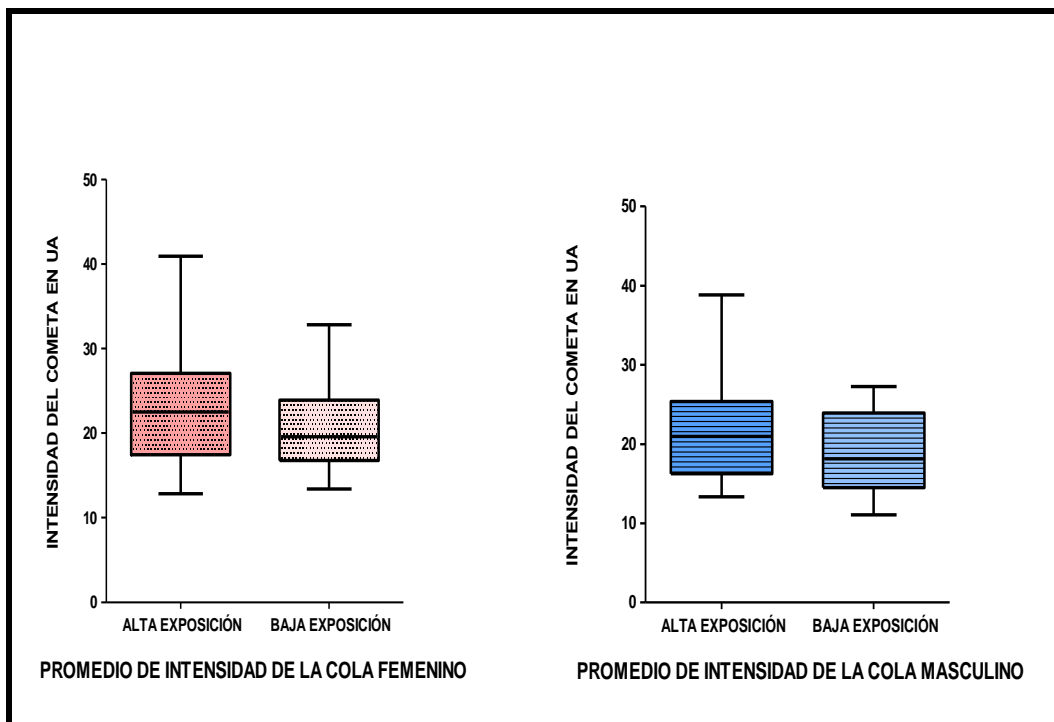


Gráfica 12: Comparación del promedio de largo de cometa, analizados por géneros.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

La gráfica 13 representa el daño genotóxico según la intensidad de la cola del cometa, no presenta diferencias significativas tanto para la población del género masculino y femenino ($p = 0,7471$ y $p = 0,9130$, respectivamente).

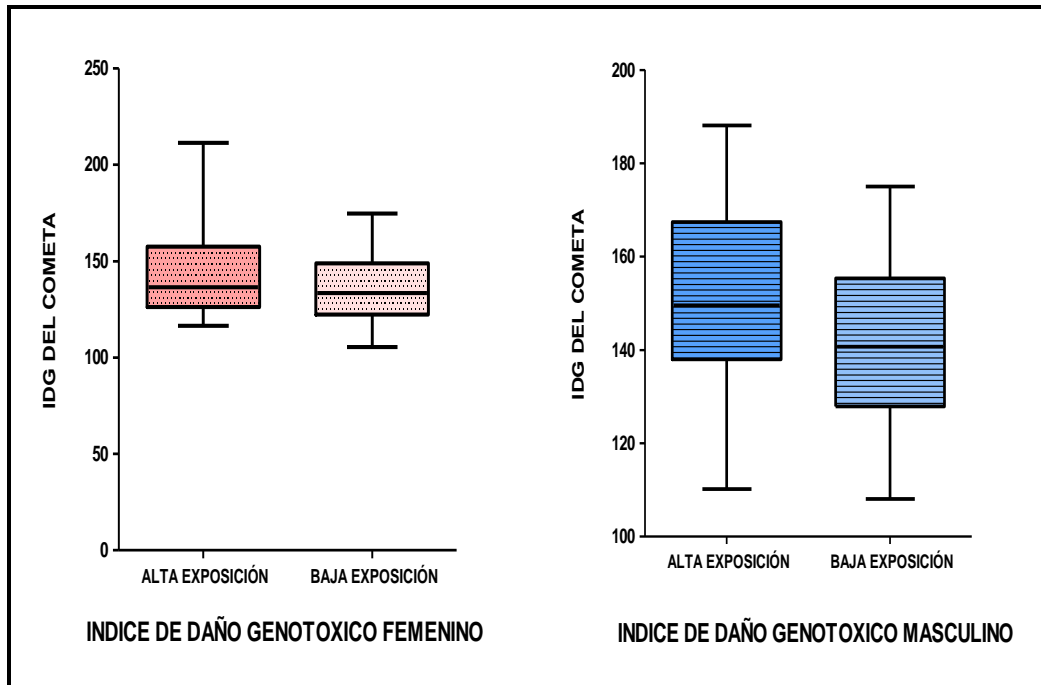


Gráfica 13: Comparación de promedio de intensidad de la cola del cometa, analizados por géneros.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

La Gráfica 14 representa el índice de daño genotóxico de las células de los grupos de estudio, los mismos que no presenta diferencias significativas tanto para la población del género masculino y femenino ($p = 0,1971$ y $p = 0,3435$, respectivamente).



Gráfica 14: Comparación del índice de daño genotóxico del cometa, analizados por géneros.

Fuente: Maldonado, A. (2018).

Elaborado: Maldonado, A. (2018).

DISCUSIÓN

Varios estudios establecen una relación causal entre la contaminación ambiental y los efectos adversos sobre la salud, el daño que produce los contaminantes ambientales en el ADN es causado principalmente por el estrés oxidativo que se produce cuando existe un aumento de las especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas por los contaminantes del $MP_{2.5}$ provocando lesiones en el organismo (Kaphingst et al., 2015).

El daño genotóxico del grupo de estudio se realizó en las áreas, con altas y bajas concentraciones de $MP_{2.5}$ de la zona céntrica de la ciudad de Cuenca- Ecuador, se analizó por géneros, la edad promedio de los participantes fue de 32 – 42 años, presentaron un promedio de exposición al área entre 14 – 15 años, las dos poblaciones no presentaron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a sus hábitos de fumar y de consumo de alcohol, estos datos garantizan que la población del estudio cumplen con que las muestras están pareadas en estos aspectos y no influyen en los datos observados, según el estudio de Muñoz y Quiroz, 2014 concluyen que las poblaciones investigadas (más expuestos y menos expuestos a MP) fueron muy similares en sus características de edad, género, peso y talla; no se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos estudiados en las variables consumo de cigarrillo, alcohol, nivel educativo y estrato socioeconómico; es importante considerar que el consumo de cigarrillo y alcohol son agentes genotóxicos, según Tonina et al., 2017 , en su estudio se comprobó que el consumo de alcohol y tabaco está relacionado con la alteración del daño del material genético, evidenciado y cuantificado por el porcentaje de ADN en la cabeza y cola en el ensayo cometa.

En este estudio tanto, la población del género femenino y masculino, no presenta diferencias significativas ($p = 0,0733$, $p = 0,0679$, respectivamente), con problemas de fertilidad, defectos de nacimiento y alteraciones genéticas, aproximadamente el 89 % de las dos poblaciones no presentaron dificultad de tener hijos y problemas con su descendencia, a diferencia de otros estudios que confirman que el $MP_{2.5}$ tienen un efecto negativo en la fertilidad, donde se establece el riesgo de infertilidad femenina en relación con el lugar de residencia, donde se encontró una reducción de la fertilidad de 13 % cuando aumentan estas partículas (Bizarro-Nevarés et al., 2018), probablemente debido al tamaño de la muestra estudiada.

Se encontró en la población femenina expuestas a altas concentraciones de $MP_{2.5}$, que el 57,14 % está expuesta a polvo y un 28,57 % a ruido, dando diferencias estadísticamente significativa ($p = 0,0234$), mientras que las mujeres que se encuentran en la zona de baja concentración de $MP_{2.5}$ su exposición al polvo fue 5,26 % y al ruido

un 36,84 %, la población masculina no presentaron diferencia significativa ($p = 0,553$) en cuanto a la exposición a estos agentes, este dato se correlaciona con el aumento de daño genotóxico, pues el $MP_{2.5}$ puede provenir de diferentes fuentes como las de carácter antropogénico tales como las emisiones de los vehículos diésel, emisiones de fábricas y partículas de polvo (Linares y Díaz, 2008) que según INE-SEMARNAT, 2011, la suspensión del $MP_{2.5}$ en el aire representa un peligro para la salud; al ser inhaladas alcanzan los alveolos pulmonares y muchos de sus compuestos tóxicos pueden ingresar al torrente sanguíneo y ser distribuidos a todo el organismo provocando daño del material genético, estas partículas tienen la particularidad de mantenerse suspendidas en el aire durante días o incluso semanas.

En cuanto a la incidencia de patologías, el grupo poblacional femenino, destaca que la población expuesta a altas concentraciones a $MP_{2.5}$ presentó una incidencia del 28,57 % de rinitis alérgica y las expuesta a bajas concentraciones presentó solo un 5,26 %, la población masculina expuesta a altas concentraciones a $MP_{2.5}$ presentó una incidencia del 26,67 % y la población expuesta a bajas concentraciones presento un 7,69%, la rinitis alérgica al ser un trastorno heterogéneo nasal sintomático que cursa con inflamación de la mucosa nasal (Salud , 2000) se relaciona con la exposición a contaminantes ambientales entre ellos el $MP_{2.5}$, partículas derivadas del diésel, ozono, NO_2 y humo de cigarrillo los cuales pueden exacerbar síntomas respiratorios con diferentes grados de severidad y facilitar la sensibilización a aeroalérgenos (Meeting et al., 2014). Sin embargo, se debería considerar este punto en estudios a futuro, con un número de participantes mayor, con ello aumenta la posibilidad de que sea más representativa la muestra, y se confirmaría las diferencias estadísticas del estudio.

Se probó que no hay diferencias estadísticamente significativas ($p = 0,360$; $p = 0,392$) con la administración de medicamentos tanto para la población femenina como masculina, respectivamente, se destaca la administración de antihistamínicos los mismos que se podrían relacionar con procesos alérgicos por exposición a agentes ambientales, como el $MP_{2.5}$, de la población femenina solo 5,26 % los consume, a diferencia del 26,67 % de la población masculina, es importante recalcar que un mínimo porcentaje de la población en estudio consumen otro tipo de medicación tales como hormona tiroidea, antiácidos, vitaminas, minerales, analgésicos y antipiréticos; según estudios realizados, la frecuencia de exposiciones a MP del ambiente constituye un factor precipitante del ingreso hospitalario por enfermedades respiratorias y cardiovasculares aumentado significativamente la prevalencia del tratamiento (Oyarzún, 2010). Según Maya et al.,(2013) su estudio concluye que la mezcla de analgésico,

antipirético y antihistamínico de una pastilla antigripal no provoca daño celular pero muestra daño clastogénico durante el tratamiento agudo aplicado en ratones de la línea árabe, el mismo que mostró sensibilidad a los efectos de los agentes genotóxicos y, por tanto, este organismo debería ser incluido para estudios de genotoxicidad.

Según los parámetros del ensayo cometa, el largo de la cola, la intensidad de la cola y el índice del daño genotóxico, en la población de estudio, tanto de género femenino y masculino de los casos y controles no presentaron diferencias estadísticamente significativas, ($p = 0.415$, $p = 0,782$; $p = 0,913$, $p = 0,747$; $p = 0,335$; $p = 0,197$), respectivamente. Sin embargo según los resultados la media estadística tiene tendencia a ser superior en la población de los casos, es decir la población que se encuentra expuesta a mayores concentraciones de $MP_{2.5}$. Es probable que este daño sea ocasionado por los diferentes compuestos químicos presentes en las partículas de $MP_{2.5}$, según Quijano Y Parra, (2016) en su estudio se halló una asociación directa entre la genotoxicidad producida por las partículas respirables $MP_{2.5}$ definida como los niveles de aductos en el ADN y la presencia de HPAs, comúnmente el benzo(a) pireno (BaP), así como el estudio de Betancur, (2016) al estimar los efectos sobre la viabilidad y el potencial genotóxico sobre las líneas celulares CHO-K1 y Jurkat y sobre linfocitos T de sangre periférica del material particulado $MP_{2.5}$, mostro que en sus datos existe una diferencia significativa respecto al control no tratado que con ello la autora sugiere que el monitoreo para MP las diversas estaciones presenta consecuencias genotóxicas agudas, lo que podría acumularse en el transcurso del tiempo y a futuro generar deterioro a nivel de genoma total.

CONCLUSIONES

Los participantes que representaron los casos del estudio se seleccionaron en la zona céntrica de la ciudad de Cuenca - Ecuador entre la intersección de las calles Mariscal Lamar y Luis Cordero, donde el monitoreo de concentración de $MP_{2.5}$ fue alto, y para los controles del estudio se seleccionó habitantes de la zona del Altiplano y Daquilema sector Totoracocha, donde el monitoreo de $MP_{2.5}$ fue bajo.

Al analizar el daño genotóxico mediante el largo de la cola del cometa, la intensidad de cometa y el índice de daño genotóxico se encontró que las dos poblaciones estudiadas, casos y controles, no presentan diferencia estadísticamente significativa en los resultados, sin embargo se probó que la media estadística tiene tendencia a ser superior en la población de los casos.

Los participantes quienes representan a los casos están expuestos a polvo y ruido y presentan afecciones alérgicas, lo que se asocia con consumo de medicación en esta población; sin embargo, no se encontró relación con los aspectos de fertilidad y reproducción en los grupos de estudio.

RECOMENDACIONES

Se recomienda que las muestras de los participantes, tanto de los casos y controles sean representativas y equilibradas, en número y género, con ello aumenta la posibilidad de que sea más representativa la población, reducimos un posible sesgo, evitamos inexactitud en nuestros resultados.

BIBLIOGRAFÍA:

- Abrevaya, X., y Fuente, I. (2008). ¿ Qué es la genotoxicidad ? *INTRAMED*, 1–2.
- Arévalo, C., y Arpi, L. (2015). Universidad De Cuenca, 32(2), 1–93.
- Astudillo, A. L. (2014). *Estudio De Genotoxicidad Del Material Particulado (Pm10) De La Zona Urbana Del Cantón Cuenca Magister En Toxicología Industrial Y Ambiental. Tesis previa a la obtencion de de titulo de magister en toxicologia industrial y ambiental.*
- Balmaceda, M. (2016). Normativa de Emisión de Material Particulado Fino (Ley.
- Beleño H Ricardo, Quijano P Alfonso, M. G. I. (2013). Actividad mutagénica y genotóxica del material, 18, 3731–3737.
- Bermúdez, M. (2010). Contaminacion Y Turismo Sostenible, 25.
- Betancur, A. (2016a). Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad del material químico en filtros PM 2.5 de las estaciones de monitoreo de la red de calidad del aire del Valle de Aburrá.
- Betancur, A. (2016b). Evaluación de la citotoxicidad y genotoxicidad del material químico en filtros PM 2.5 de las estaciones de monitoreo de la red de calidad del aire del Valle de Aburrá, 47. Retrieved from <http://www.bdigital.unal.edu.co/51942/1/1128438656.2016.pdf>
- Bizarro-Nevarés, P., Rojas-Lemus, M., González-Villalva, A., López-Valdez, N., Albarrán-Alonso, J. C., & Fortoul Van Der Goes, T. I. (2018). Estilo de vida, contaminación atmosférica y problemas que afectan la salud reproductiva en la mujer, 61(2), 7–15. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2018/un182b.pdf>
- Campos, A., Alcaraz, G. I., Herrera, E. F., Sosa, M., Jiménez, J., Delgado, M., ... Puga, S. (2014). Análisis temporal de las concentraciones, distribución de tamaño y morfología de partículas suspendidas menores a 10 micras en la ciudad de Chihuahua, México. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*, 3(1), 44–51.
- Carmona, E. (2009). Evaluación genotóxica de algunos metales pesados en *Drosophila melanogaster* mediante los ensayos SMART de alas y Cometa, 185.
- Díaz, V. (2014). Informe Anual de Calidad del Aire en Quito, Ecuador. Retrieved from <http://www.quitoambiente.gob.ec/>
- Emov Ep. (2013). Informe de calidad aire Cuenca 2013.
- GONZÁLEZ, E. A. P. (2013). Biomarcadores de dano genetico. enfoque práctico.
- INE-SEMARNAT. (2011). *Guía metodológica para la estimación de emisiones de PM2.5*. Retrieved from www.ine.gob.mx

- Jiménez Benítez, M., Ferrer Botero, A., Chaves Castaño, L., Navarro Carrascal, O. E., Marín Fuentes, J. G., Cárdenas Herrera, J., & Rodríguez Velásquez, S. C. (2016). Análisis preliminar de un cuestionario de evaluación de la percepción social de la contaminación atmosférica. *Revista de Salud Pública*, 17(5), 713–727. <https://doi.org/10.15446/rsap.v17n5.38474>
- Kaphingst, K. A., Persky, S., & Lachance, C. (2015). NIH Public Access, 14(4), 384–399. <https://doi.org/10.1080/10810730902873927>.Testing
- Linares, C., & Díaz, J. (2008). Un buen indicador de las contaminación por causas antropogénicas Las PM 2,5 y su afección a la salud. *EL Ecologista*, 58, 46–50.
- Linares Cristina, D. J. J. (2012). “Las PM2,5 y su impacto sobre la salud. El caso de la ciudad de Madrid”. *ECOLOGISTA EN ACCION*, 58, 15. Retrieved from <https://www.ecologistasenaccion.org/article17842.html>
- Maldonado Arizaga, M. J. (2012). *Caracterización del material particulado suspendido PM10 de la red de monitoreo de aire de la ciudad de Quito de los años 2009 y 2010 por Espectroscopía de Absorción Atómica*.
- Marcos Restrepo Arango, María Vélez Peláez, Esteban Vallejo Agudelo, L. M. S. (2016). Impacto Clínico De La Contaminación Aérea. *Universidad de Manizales - Facultad de Ciencias de La Salud*, 57(4), 373–384.
- Marina Menéndez, J. I. G. I. (2003). Análisis de contribución de fuentes en PM10 y PM2.5 en un área de fondo urbano con influencia de emisiones industriales (Abanto, Vizcaya), 12.
- Maya, F., Héctor, B. E., Alexis, F. C., Elizabeth, V. D., Cruz, H., Cristina, A., Ivonne, L. (2013). www.iztacala.unam.mx/biocyt, 6(20), 388–397.
- Meeting, F. S., Allergy, R., & Practice, C. (2014). Primeras Jornadas de Primavera : Alergia Respiratoria Clínica Práctica, 129–132. <https://doi.org/10.4067/S0717-73482014000300001>
- Mészáros E. (2016). Fundamentals of Atmospheric Aerosol Chemistry. *Akadémiai Kiado.*, 31.
- MINISTERIO DEL MEDIO AMBIENTE. (2016). Contaminación del Aire.
- Muñoz A, Quiroz C, P. J. (2014). *Efectos de la contaminación atmosférica sobre la salud en adultos que laboran en diferentes niveles de exposición*.
- Naddafi, K., Hassanvand, M. S., Yunesian, M., Momeniha, F., Nabizadeh, R., Faridi, S., & Gholampour, A. (2012). Health impact assessment of air pollution in megacity of Tehran, Iran. *Iranian Journal of Environmental Health Science Engineering*, 9(1), 28. <https://doi.org/10.1186/1735-2746-9-28>
- Navarro, A. E. (2014). Impactos antrópicos en la calidad del aire: el particulado atmosférico 1, 20–26.

- NECA. (2015). Guía de Calidad del Aire.
- Oyarzún, M. (2010). Contaminación aérea y sus efectos en la salud. *Revista Chilena de Enfermedades Respiratorias*, 26, 16–25. <https://doi.org/10.4067/S0717-73482010000100004>
- Parra, A. Q., & M, J. A. O. (2005). Monitoreo De Material Particulado-Fraccion Respirable (Pm 2 . 5) En Pamplona, 3, 1–11.
- Parra, A. Q., Quijano Vargas Mónica Juliana, M., & Gélvez. (2013). Influencia de los hidrocarburos aromaticos policiclicos (HAPs) y metales en la calidad de aire. (HAPs), 23–34.
- Parra, Q., Vargas, Q., Juliana, M., Martínez, H., & Antonio, J. (2010). Caracterización fisicoquímica del material particuladofracción respirable PM2.5 en Pamplona-Norte de Santander-Colombia.
- Préndez, M., & Corvalán, R. M. (2007). Estudio Preliminar del Material Particulado de Fuentes Estacionarias : Aplicación al Sistema de Compensación de Emisiones en la Región Metropolitana , Chile, 18, 93–103.
- Quijano-parra, A. (2016). Mutagenicidad y genotoxicidad en fracciones de PM 2 , 5 del aire de Villa del Rosario , Colombia. *Actualidades Biológicas*, 38(105), 191–196. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v38n105a06>
- Rodríguez-cotto, R. I., & Ph, D. (2015). Contaminación por material partuculado, estres oxidativo, e inflamación., 58–65.
- Rodríguez-rey, A., Noris-garcía, I. E., María, I. I., & Fundora, T. (2016). Principios y relevancia del ensayo cometa Principles and relevance of the comet assay. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédica* 2016;35(2):184-194, 35(2), 184–194.
- Rojas-Bracho, L., & Garibay-Bravo, V. (2015). Las partículas suspendidas , aeropartículas o aerosoles : ¿ hacen daño a la salud ?; ¿ podemos hacer algo ? *Gaceta Ecológica*, 69(octubre-diciembre), 29–44.
- Salud, N. De, & M, R. M. (2000). Rinitis alérgica, 1–15.
- Silva, V. (2013). Contaminación del Aire por Material Particulado (PM 10 y PM 2.5), 5. Retrieved from http://tallerdearquitecturamexicana.com/observaleon.org/wp-content/uploads/2010/03/Material-Particulado_Vicente-Silva.pdf
- Suárez-Salas Luis*a, Álvarez Tolentinoa Daniel, Bendezúb Yéssica, P. J. (2017). Caracterización Química Del Material Particulado Chemical Characterization of Particulate Matter At an Urban Site of Huancayo City , Peru, 83(2).
- Tonina E, Garcete T, Samaniego T , Aveiro M.J., A. R., & Ortiz A. (2017). Test Del Cometa En Sangre Periférica De Estudiantes Fumadores De La Facultad De Ciencias De La Salud ,.
- Venegas, L. a Z. (2009). Optimizaciones metodológicas del ensayo del cometa y su

aplicación en biomonitorización humana. *Tesis Doctoral*, 223.

Zuluaga Quintero, M., Valencia Ruiz, A. M., & Ortiz Trujillo, I. C. (2009). Efecto genotóxico y mutagénico de contaminantes atmosféricos. *Medicina UPB*, 28(1), 33–41.