



INSTITUTO  
NACIONAL DE  
PERINATOLOGÍA  
Isidro Espinosa de los Reyes



# INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA

## DOCTORADO EN SALUD PÚBLICA

### PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN ***EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LOS NIÑOS DE SALAMANCA Y LEÓN, GTO. Y SU RELACIÓN CON EL DAÑO OXIDATIVO***

ISAPEG, InPer, INSP, UG, IE, CENICA

Alumna:

**MSP Ana Teresa Romero Calderón**

Comité de Tesis:

**Director:** Dr. Albino Barraza Villarreal

**Asesores:** Dra. Hortensia Moreno Macías

Dr. Armando Pérez Cabrera

**Septiembre de 2010**



## INDICE

1. Introducción.....	5
2. Marco teórico.....	7
2.1 Salud Ambiental.....	7
2.2 Red de monitoreo .....	13
2.3 Daño Oxidativo .....	15
3. Antecedentes .....	25
3.1 Municipio León.....	26
3.2 Municipio Salamanca.....	35
4. Justificación.....	41
4.1 Planteamiento del problema .....	52
4.2 Pregunta de investigación.....	52
4.3 Hipótesis .....	52
5. Objetivos .....	53
5.1 objetivos específicos.....	53
6. Métodos.....	54
6.1 Diseño de estudio .....	54

6.2 Población de estudio.....	55
6.3. Criterios de selección.....	56
6.3.1 Criterios de inclusión .....	56
6.3.2 Criterios de exclusión .....	56
6.4 Mediciones.....	56
6.4.1 Cuestionarios .....	56
6.4.2 Biomarcadores .....	57
6.4.3 Evaluación pulmonar .....	59
6.4.4 Contaminantes del aire .....	60
6.5 Variables.....	60
6.5.1. Variables dependientes.....	60
6.5.2. Variables independientes .....	61
6.5.3 Variables de confusión .....	65
6.6 Análisis estadístico .....	65
6.7. Limitaciones.....	66
7. Consideraciones éticas .....	67
8. Financiamiento.....	67
9. Cronograma .....	68
10. Referencias .....	69
11. Glosario.....	74
11. Anexos .....	76

11.1 Técnicas de Biomarcadores .....	77
11.2 Carta de consentimiento informado .....	105
11.3. Cuestionarios.....	108
11.4. Convenio de colaboración .....	109

## 1. INTRODUCCIÓN:

La pérdida de años de vida tempranos o por discapacidad en un enfoque preventivo es identificar lo que le afecta a la salud, en el caso del efecto de la contaminación atmosférica que incide en la salud de los niños desde el período prenatal, perjudica el desarrollo pulmonar y aumenta el riesgo de muerte infantil., aumentando también las infecciones de la infancia, el desarrollo y la gravedad de enfermedades de alergia (como el asma), cáncer infantil y el desarrollo neurológico<sup>1</sup>.

Así tanto en el campo de la clínica como en la de salud pública, la contaminación atmosférica es un fenómeno que es conocido y estudiado. En el mundo contemporáneo esto cobra importancia a partir de una serie de episodios que tuvieron lugar en países industrializados durante la primera mitad del siglo XX<sup>2</sup>. Como fue en los casos ocurridos, entre los más destacables: en el valle de Mosa (Bélgica) en 1930, Donora (Pennsylvania, EEUU) en 1948, la catástrofe de Londres, en diciembre de 1952<sup>34</sup>.

De estas situaciones, el aumento de la morbilidad y mortalidad, no dejaron duda acerca de que los niveles altos de contaminación atmosférica se asocian causalmente con el aumento de muertes tempranas; por tanto creció la preocupación sobre los efectos adversos de la contaminación atmosférica en la salud humana. Los estudios epidemiológicos han demostrado una clara asociación<sup>5</sup> entre la morbilidad cardiovascular, la disminución de la función pulmonar y el aumento de los ingresos hospitalarios.

Por tanto la protección de la salud de los niños y el medio ambiente es un objetivo esencial para la salud de las sociedades modernas y sus políticas, y también es decisivo para el desarrollo sostenible (OMS, efectos de la contaminación del aire)<sup>6</sup>. Este estudio de investigación tipo panel, en la que se realizarán cuatro mediciones durante un año, en las ciudades de Salamanca y León, Gto; para evaluar el efecto de la exposición a contaminantes atmosféricos de la población infantil en las ciudades de Salamanca y León, Gto. y su relación con el daño oxidativo, se deriva

como respuesta a la demanda de la población de Salamanca sobre su preocupación de conocer del impacto de la contaminación atmosférica en su salud y favorecer la implementación de medidas de protección para proteger la salud de los niños. La metodología que se utilizará en el desarrollo de la investigación garantizará con mayor certeza la posible asociación entre los efectos a la salud y la exposición con las emisiones de contaminación a los que se expone la población infantil en estudio. Para identificar a los contaminantes durante este periodo de estudio, cuáles y en qué cantidades se encuentra presentes, se utilizarán los datos de contaminantes que se derivan de las mediciones de las estaciones de monitoreo que se encuentran en Salamanca y en León, Gto., y que son supervisadas por el Instituto de Ecología y Centro de investigación y capacitación ambiental (CENICA)<sup>7</sup>, asimismo se obtendrá información sobre estilos de vida y patrones de actividad para la evaluación y asignación de la exposición.

El efecto se medirá a través de la determinación de biomarcadores de daño oxidativo, destacando los siguientes: Daño a lípidos (Dienos conjugados, formación de hidroperóxidos, Malondialdehído), daño en proteínas (Carbonilación de proteínas) y capacidad antioxidante (Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1)<sup>8</sup>, reforzando además con la realización de espirometrías para medir función pulmonar, y para asegurar la asignación de exposición se utilizará herramientas de cuestionarios para identificar estilos de vida, factores confusores, y la georeferenciación de los lugares donde más tiempo pasan los niños objeto del estudio. Los biomarcadores, de acuerdo con la bioquímica y la biología, son estudios novedosos de la medicina que tratan de conocer las enfermedades, sus complicaciones y su tratamiento por medio de conceptos como estrés oxidativo, radicales libres, especies reactivas del oxígeno y antioxidantes, y con esto tener un adelanto en conocer su fisiopatología, tratamiento y aun lo más importante su prevención. Siendo este último lo que se puede lograr con esta investigación de antelación a daños a la salud, ya que el enfoque preventivo es valioso para la formulación de estrategias en las políticas de salud pública.

Palabras claves: Exposición, contaminación atmosférica, biomarcadores de daño oxidativo.

## **2. MARCO TEORICO.**

El interés social y científico acerca de las consecuencias de la contaminación atmosférica sobre el efecto a la salud de la población, se ha incrementado en la última década. Esto se observa en los trabajos en distintas ciudades, los cuales han encontrado evidencias firmes de que, aún por debajo de los niveles de calidad del aire considerados como seguros se asocian con efectos nocivos sobre la salud.<sup>91011</sup>

Para contribuir a la solución de problemas que afectan la salud y el desarrollo del Estado de Guanajuato, relacionado con la contaminación atmosférica, el gobierno del Estado ha promovido la realización de proyectos de investigación y/o desarrollos tecnológicos que contribuyan a identificar los efectos debidos a la contaminación atmosférica para así poder implementar políticas y estrategias de protección a la salud basadas en evidencias<sup>12</sup> .

Las demandas específicas sobre el tema de contaminación del aire y salud, guían la prioridad de estos proyectos de investigación, centrándola en generar conocimiento sobre la dinámica del problema de contaminación presente en la ciudad de Salamanca.

En respuesta a lo anterior, se han realizado estudios de efecto en el Estado de Guanajuato<sup>13</sup>, y para el caso de la presente investigación, y como respuesta a este importante problema de salud pública, se realizará considerando diferentes áreas, tales como la epidemiología y salud ambiental, la contaminación atmosférica, la exposición humana y el daño oxidativo.

### **2.1. Salud Ambiental.**

Nuestro medio ambiente tiene características específicas y complejas, tanto en aspectos biológicos como sociológicos. Salamanca y León como ciudades

progresistas, han mejorado la calidad de vida de la población, pero también han contribuido a contaminar el hábitat y por tanto crece la posibilidad de estar involuntariamente expuestos a sustancias o situaciones ambientales potencialmente dañinas para la salud, esto como consecuencia no deseada del mayor desarrollo económico de la región, en medio de una creciente demanda por mejorar las condiciones de salud de la población. Por tanto ha surgido el interés por conocer y controlar los factores ambientales dañinos para la salud. El control de estos factores representa un gran desafío, ya que debemos de asegurar que el efecto es causa de la exposición a esos factores.

La guía del Estudio será de acuerdo con el enfoque de Epidemiología ambiental que se ocupa de los efectos adversos en la salud provocados por exposiciones a factores ambientales, como pueden ser químicos, físicos y biológicos, y que pueden presentarse de forma natural o ser generados por actividades humanas, agricultura, industria manufacturera, producción de energía y transporte<sup>14</sup>; proporcionando una metodología científica para la medición y el análisis del estado de salud en poblaciones expuestas a factores ambientales nocivos.

Si se considera como exposición el contacto de un agente potencialmente dañino en algunos de los medios del ambiente (agua, aire, suelo, alimento, etc) y algunas de las superficies del cuerpo humano (piel, tracto digestivo y tracto respiratorio). Figura 1 Y dosis como la cantidad de material absorbido en el organismo por un intervalo de tiempo y medida en unidades de masa o masa por volumen en un biomarcador, así la estrategia fundamental estriba en identificar correctamente la diversidad de exposiciones ambientales, con mediciones exactas de los contaminantes criterios e identificación de otras exposiciones, en los sujetos expuestos y contrastar con la ocurrencia del efecto a la salud, para así determinar el tipo de relación, considerando la dosis y tiempo de exposición<sup>15</sup>. Figura 2.



Figura 1 EXPOSICIÓN AMBIENTAL

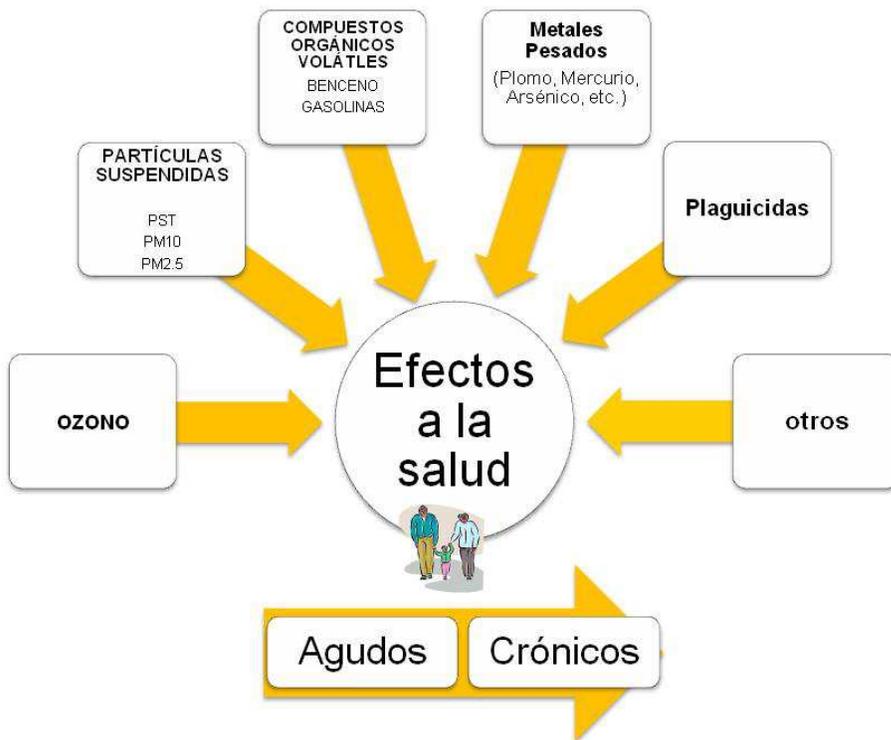


Figura 2 EXPOSICIÓN.EFECTO A LA SALUD

Para esto es importante contar con método de análisis y herramientas básicas para identificar poblaciones que tienen un alto riesgo de experimentar daños a la salud en función de su exposición a factores nocivos presentes en el ambiente, ya que existen características y conductas especiales que magnifican la exposición. Para esto existen diferentes métodos de análisis, individual y poblacional; en el método de análisis individual de exposición puede llevarse a cabo un monitoreo personal y biológico, empleando cuestionarios y monitores personales, y en los métodos poblacionales se considera tener información como demográfica, estilos de vida e información de modelos utilizados para la medición de emisiones. Para evaluar el efecto de la contaminación atmosférica utilizando estudios epidemiológicos también es importante considerar el área geográfica e indicadores de exposición (biomarcadores). Considerando que en términos de causalidad la asignación de la exposición es el criterio más importante<sup>16</sup>.

En el caso de contaminación atmosférica, una parte de la dispersión de emisión de los contaminantes es en el aire, y sabemos que este es necesario para la vida en nuestro planeta. La composición del aire puro está compuesto por proporciones ligeramente variables de nitrógeno (78%), oxígeno (21%), vapor de agua (0.7%), ozono, dióxido de carbono, hidrógeno y algunos gases nobles como el criptón o el argón. Sin embargo, esta composición se altera cuando ingresan a la atmósfera sustancias no deseadas. Esto es lo que se conoce como contaminación del aire.

Los contaminantes del aire difieren en su composición química, reactividad, persistencia en el ambiente, habilidad para transportarse a cortas y largas distancias y en su eventual impacto en la salud<sup>17</sup>.

Algunas actividades naturales pueden emitir diferentes contaminantes en el ambiente como las erupciones volcánicas o los incendios, sin embargo las actividades antropogénicas constituyen la principal fuente de contaminación ambiental<sup>18</sup>. La combustión de combustibles utilizados para generar energía y para el transporte es la principal causa de los cambios en la composición de la atmósfera.

En la tabla 1 se presentan las fuentes y características de los principales contaminantes atmosféricos.

**Tabla 1.** Fuentes y características de los principales contaminantes atmosféricos

Contaminante	Fuente de Emisión	Características
Partículas suspendidas PM	Incluye a las fuentes naturales y a las Antropogénicas. Pueden ser emitidas directamente de la fuente o formarse en la atmósfera. Polvo de suelo y calles, diesel, emisiones de procesos de combustión (automóviles, calentadores domésticos, termoeléctricas) y de procesos industriales, construcciones y demoliciones, plaguicidas, bioaerosoles, cenizas volcánicas, biomasa de quema de madera, bosques, hojas y cultivos <sup>17</sup> (14)	Amplio rango de materiales sólidos o líquidos suspendidos en el aire. Pueden trasladarse largas distancias (miles de kilómetros) (14) Su toxicidad depende del tamaño de la partícula y de su composición química. Son de particular inquietud las partículas que contienen metales como plomo, mercurio, hidrocarburos aromáticos policíclicos y compuestos orgánicos persistentes (COP's) como las dioxinas <sup>17</sup> (14)
	PM <sub>10</sub> y PM <sub>2.5</sub> : principalmente polvo suspendido en calles no pavimentadas, polvo suspendido por el viento y las operaciones de manejo de material, así como de operación de demolición y aplanado.	PM <sub>10</sub> : partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menor de 10 μ también conocidas como fracción inhalable PM <sub>10</sub> a PM <sub>2.5</sub> : fracción coercitiva
	PM <sub>2.5</sub> partículas producidas de la combustión de la biomasa y de la reacción atmosférica de gases.	PM <sub>2.5</sub> : partículas suspendidas con diámetro aerodinámico menor de 2.5μ también conocidas como fracción respirable y fina
	Partículas menores de 0.1 μ, formadas directamente de combustión excesiva	Partículas menores de 0.1 μ, fracción ultrafina
Ozono O <sub>3</sub>	Se presenta de manera natural en la estratosfera (15-20 km snm) en donde filtra la radiación UV. En la troposfera el ozono se forma cuando los compuestos orgánicos volátiles (COVs) y los NOx, que provienen de emisiones vehiculares reaccionan en presencia de luz solar <sup>17</sup> (14)	Es un contaminante secundario que se forma como el producto de reacción atmosférica de emisiones primarias. Puede viajar miles de kilómetros. Es el oxidante principal del smog. La vida media del ozono es de 1-2 semanas en verano y de 1-2 meses en invierno <sup>17</sup> (14)
Monóxido de carbono CO	Es producido por la quema incompleta de combustibles. Sus principales fuentes de emisión son los automóviles, calefacciones, quema de carbón y quema de biomasa <sup>17</sup> (14)	Gas muy reactivo incoloro e inodoro. Se produce en mayor cantidad en climas fríos o a elevadas altitudes. Su tiempo de vida media en la atmosfera es de 1-2 meses y puede viajar miles de kilómetros desde su fuente <sup>18</sup> (15)
Dióxido de Azufre SO <sub>2</sub>	Se forma durante la quema de combustibles que contienen azufre. Emitido por plantas eléctricas que queman carbono y aceites y por procesos industriales que involucran la combustión de combustible fósil.	Gas reactivo incoloro y con olor acre, soluble en agua. Se forma de la oxidación del azufre que contamina a los combustibles de carbón y de petróleo. Desempeña un papel importante en la formación de lluvia ácida y partículas secundarias.
Óxidos de nitrógeno NO <sub>x</sub>	Proceso de combustión a alta temperatura. Sus principales fuentes de emisión son los automóviles, la industria y las plantas de generación de energía.	Gas de color café muy reactivo. El NO <sub>2</sub> desempeña un papel importante en la formación de smog fotoquímico y partículas secundarias. Contribuyen a la formación de aerosoles ácidos.

Contaminante	Fuente de Emisión	Características
Compuestos orgánicos volátiles (COV)	Evaporación de combustible fósil y de combustión, uso de solventes y procesos industriales. La exposición de la población general a COVs en las áreas urbanas depende de la cantidad de benceno en la gasolina usada en el área.	Grupo de compuestos que existen en la atmósfera principalmente como gases. Incluyen una variedad de hidrocarburos como los alquenos, aldehídos, benceno, tolueno y algunos compuestos de cloro.

De estos contaminantes hay algunos que son llamados contaminantes criterios, que son aquellos que han sido monitoreados y existen evaluaciones publicadas en documentos de criterios de calidad del aire a nivel internacional. Generalmente los contaminantes criterio comprenden: al bióxido de azufre (SO<sub>2</sub>), bióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>), partículas suspendidas totales (PST), partículas de diámetro menores a 10 micras (PM<sub>10</sub>), partículas menores a 2.5 micras (PM<sub>2.5</sub>), plomo (Pb), monóxido de carbono (CO) y ozono (O<sub>3</sub>).

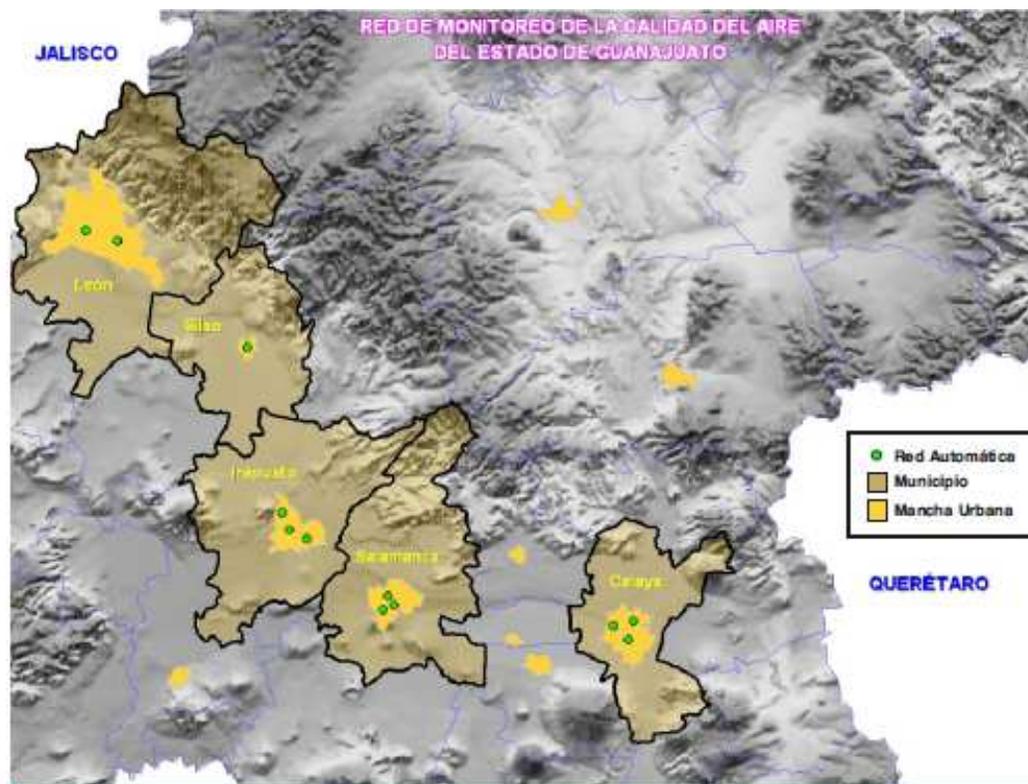
Los contaminantes del aire poseen la capacidad de producir efecto en la salud y depende fundamentalmente de dos factores: la magnitud de exposición y la vulnerabilidad de las personas expuestas. La magnitud de exposición está en función de la concentración del contaminante en la atmosfera, de la duración de la exposición y su frecuencia. La vulnerabilidad de las personas expuestas es significativamente diferente debido a que algunos grupos de la población son más sensibles o vulnerables que otros a la contaminación del aire; esto se debe a factores intrínsecos, como la genética, etnia, género y edad, y factores adquiridos como las condiciones médicas, acceso a los servicios de salud y nutrición.

En lo que se refiere al factor de la magnitud de exposición, en las ciudades de León y Salamanca, es importante considerar aspectos como las variaciones meteorológicas así como las condiciones topográficas de la zona metropolitana<sup>19</sup>, que afectan el transporte y dispersión de los contaminantes de manera diferente a lo largo del año; además del diagnóstico de la situación actual de la calidad del aire, inventario de emisiones.

## 2.2. Red de monitoreo:

Para la mejora de la calidad del aire en el Estado de Guanajuato es uno de los retos ambientales importantes para el Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato, fue el integrar una red de monitoreo automático de la calidad del aire, con el objetivo de contar con un diagnóstico real de la problemática de contaminación atmosférica en la zona del Corredor Industrial (León, Silao, Irapuato, Salamanca, Celaya), estandarizada como indica la Norma Oficial Mexicana NOM-085-SEMARNAT-1994<sup>20</sup>.

Para garantizar la operatividad de la red de monitoreo de la calidad del aire, independientemente de los cambios de administración en los diferentes Gobiernos, así como la credibilidad de la información, el Instituto de Ecología diseñó un esquema de operación a través de asociaciones civiles comprometidas con el cuidado y mejoramiento de la calidad del aire. Este esquema ha tenido éxito y por tanto le ha permitido posicionar la red estatal como un modelo a seguir a nivel nacional. Mapa 1.



Mapa 1 RED DE MONITOREO DE CALIDAD DEL AIRE DEL ESTADO DE GUANAJUATO, 2009.

Se tienen estrictos estándares van desde el uso de listas de chequeo, definición de curvas de comportamiento por equipo, así como la certificación del personal operativo, además de contar con un programa anual de mantenimiento preventivo que garantiza el correcto funcionamiento de los equipos. Aunado a esto anualmente personal del Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (CENICA), realiza supervisión de toda la red.

Los datos de la Red de Monitoreo se comunican por medio del inventario de emisiones, herramienta que se utiliza como base para la formulación de estrategias y medidas de control orientadas a disminuir la contaminación en una determinada región; en el caso de la ciudad de Salamanca y León se cuenta con el Programa de mejora de calidad de aire 2007-2012. Este proporciona un panorama de las emisiones y sus generadores en cuanto a emisiones lanzadas a la atmósfera, de tal manera que permite la toma de decisiones orientadas a realizar medidas de prevención y control de la contaminación del aire, específicas para cada tipo de fuente y contaminante en particular. Así de esta manera permite la planeación e implementación de programas de gestión de la calidad del aire para la región. Además fundamenta la evaluación y actualización de la normatividad correspondiente<sup>12</sup> (16).

El inventario de Emisiones del Estado de Guanajuato estima 1, 425, 766 toneladas en el año 2006. Los contaminantes criterios y variables meteorológicas medidas en cada una de las estaciones se presentan en la Tabla 1, datos que se consideraran para asegurar la asignación de la exposición en este estudio de efecto de la contaminación atmosférica.

**Tabla 1 CONTAMINANTES CRITERIO Y VARIABLES METEOROLOGICAS.**

CIUDAD	ESTACION	O <sub>3</sub>	SO <sub>2</sub>	CO	NO	NO <sub>2</sub>	NOX	PM10	CH <sub>4</sub>	NMHC	THC	WS	WD	TEMP	H.R	P.BAR	RADSOL
Salamanca	NAT	ppb	ppb	ppm	ppb	ppb	ppb	µg/m <sup>3</sup>	ppm	ppm	ppm	m/s	°	°C	%	milibar	w/m <sup>2</sup>
	CR	ppb	ppb	ppm	ppb	ppb	ppb	µg/m <sup>3</sup>	ppm	ppm	ppm	m/s	°	°C	%	-	-
	DIF	ppb	ppb	ppm	ppb	ppb	ppb	µg/m <sup>3</sup>	-	-	-	m/s	°	°C	%	milibar	w/m <sup>2</sup>
León	CICEG	ppb	ppb	ppm	ppb	ppb	ppb	µg/m <sup>3</sup>	-	-	-	m/s	°	°C	%	milibar	w/m <sup>2</sup>

**Tabla 2 UNIDADES DE MEDICION  
DE LOS CONTAMINANTES  
CRITERIOS**

Donde:

ppb	partes por billón
ppm	partes por millón
$\mu\text{g}/\text{m}^3$	Microgramos / metro cúbico
m/s	Metros /segundo
°	Grados
°C	Grados centígrados
mmHg	Milímetros de mercurio
w/m <sup>2</sup>	Wats / metros cuadrados

### **Daño oxidativo.**

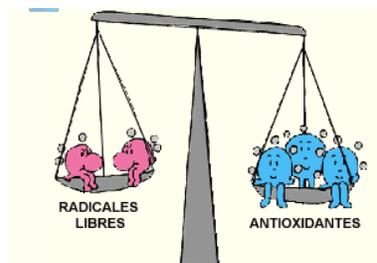
De acuerdo con el enfoque de Epidemiología ambiental en la determinación de efectos adversos en la salud provocados por exposiciones a factores ambientales, además de identificar correctamente la diversidad de exposiciones ambientales, con mediciones exactas de los contaminantes criterios e identificación de otras exposiciones, es necesario tener la medición del efecto a la salud, en este caso por biomarcadores de daño oxidativo para así determinar el tipo de relación.

De los avances en la medicina en los últimos 30 años, con el objeto de conocer mejor las enfermedades, su origen, tratamiento y complicaciones, es que se ha dado gran importancia a la bioquímica y la biología, con esto ha aumentado el interés por los problemas relacionados con daño oxidativo, radicales libres, especies reactivas del oxígeno y los antioxidantes, esto en un importante progreso en la ciencia para la prevención<sup>21</sup>. Como dijo Paul Naim Berg, bioquímico y profesor emérito en la Universidad de Stanford<sup>22</sup>, al recibir el Premio Nobel, en 1981... *“Tendremos que tener médicos que dominen la anatomía molecular y la fisiología de los cromosomas y los genes, de la misma forma que el cirujano cardíaco domina la lectura y funcionamiento del árbol coronario”*.

De acuerdo con la Bioquímica, las reacciones químicas que permiten obtener energía, en los organismos aeróbicos como el ser humano utilizan al oxígeno para el proceso de obtención de esta en el metabolismo, el oxígeno sirve como aceptor

de electrones, mecanismo de reducción. En el desarrollo de este mecanismo de reducción se acumulan intermediarios, llamados radicales libres, que son cualquier átomo o grupo de átomos que posee uno o más electrones desapareados, por tanto puede robar un electrón de moléculas estables, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena, siendo por tanto altamente reactivas y capaces de producir daño a nivel molecular.

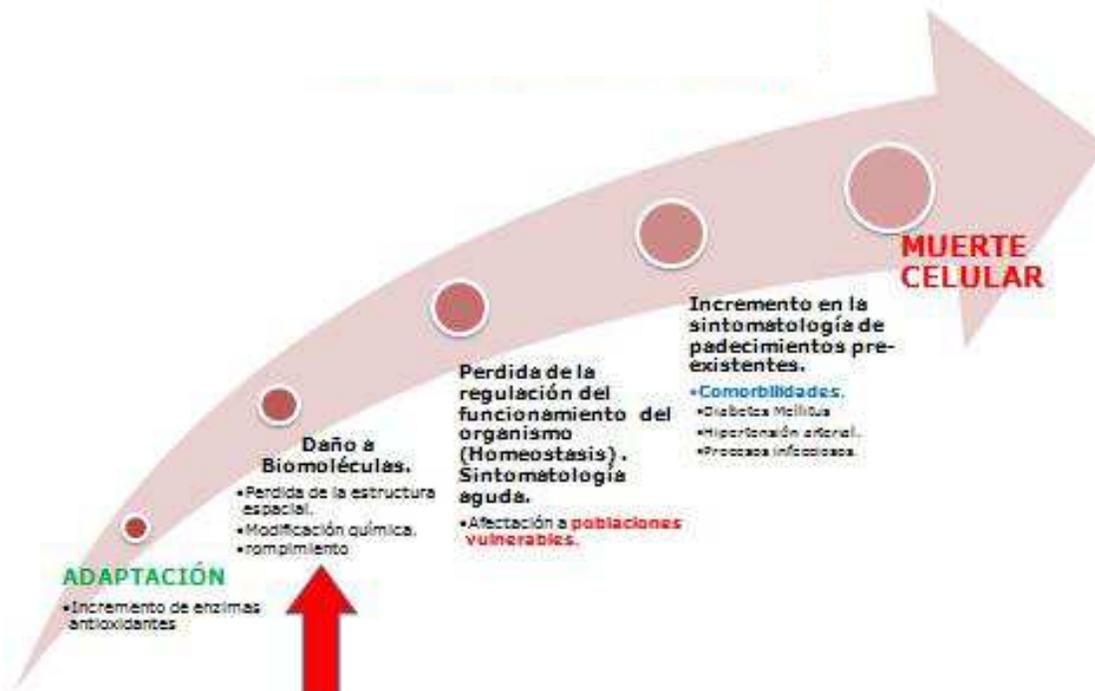
Sin embargo en el organismo existe un equilibrio entre las especies reactivas de oxígeno y el sistema antioxidante; así el cuerpo humano produce unas enzimas (la catalasa o la dismutasa) que son las encargadas de neutralizarlos. Cuando este equilibrio se desbalancea a favor de las especies reactivas de oxígeno, radicales libres, se produce el denominado estrés oxidativo.



**Figura 3 ESTRES OXIDATIVO**

**ENFERMEDAD** ← → **SALUD**

El estrés oxidativo se define como una condición en la que existe un aumento en la velocidad de generación de especies reactivas del oxígeno, EROs, como una disminución de los sistemas de defensa, lo que resulta en una mayor concentración de EROs Figura 3. Es en esta situación de estrés oxidativo se presentan las lesiones que producen los radicales libres. Estos reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN al interior de las células, y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy amplio, puede llevar a la muerte celular. Figura 4.



**Figura 4 EVOLUCION DE LOS EFECTOS A NIVEL CELUAR POR EXPOSICIÓN A LA CONTAMINACION.**

El organismo lucha constantemente contra radicales libres, en reacciones químicas que son necesarias para la salud, este proceso se controla con una adecuada cantidad de antioxidantes. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad.

El problema para la salud se produce cuando el organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos mayormente por contaminantes externos que penetran en nuestro organismo como consecuencia de la contaminación atmosférica, el humo de cigarrillos que contiene hidrocarburos aromáticos polinucleares<sup>23</sup>.

El estrés oxidativo se puede ocasionar por dos situaciones: por la disminución de antioxidantes, causa endógena que puede ser por malnutrición; y la siguiente causa por la producción excesiva de las especies reactivas de oxígeno por exposición a contaminantes, radiaciones y rayos x; o excesiva activación de los

sistemas naturales que producen radicales libres (en enfermedades crónicas inflamatorias como artritis reumatoide o situaciones agudas en las que se desencadena una respuesta inflamatoria, enfermedad grave<sup>24</sup> Figura 5.

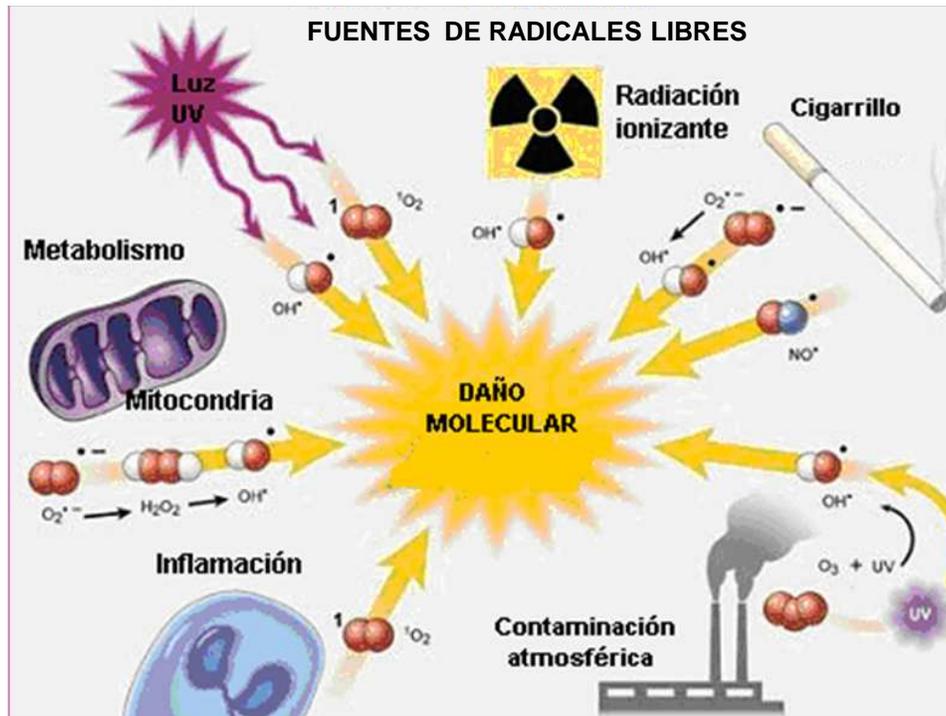


Figura 5 FUENTES QUE PROBOCAN RADICALES LIBRES EN EL HUMANO.

Por tanto el estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico de desintoxicar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Así que todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células. Este entorno reductor es protegido por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Desbalances en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ADN<sup>25</sup>. Figura 6.



**Figura 6 NIVEL DE DAÑO EN LA CELULA**

La literatura científica actual muestra datos acerca del estrés oxidativo en los sistemas biológicos y la función de los distintos antioxidantes, tanto en estados fisiológicos como el crecimiento y el envejecimiento, y también en condiciones patológicas como aterosclerosis, enfermedades neurodegenerativas y neoplasias<sup>26</sup>.

Estudios recientes de la exposición humana a agentes contaminantes específicos, han demostrado que la exposición a corto plazo conduce a un efecto inflamatorio agudo de las vías aéreas, sobre un ser humano normal, en una proporción pequeña (10-20%) contra individuos sanos<sup>27</sup>. Por tanto se ha identificado el estrés oxidativo como una característica tóxica de los agentes contaminantes del aire. Ahora, con esta evidencia, indica que la respuesta inflamatoria pulmonar, se presenta después de la exposición a un episodio de contaminación, mediante la vía oxidativa. Por otra parte, la sensibilidad de un individuo a la contaminación está relacionada, con sus defensas antioxidantes pulmonares, característica determinada genéticamente.

La medición de algunos biomarcadores como indicadores de respuesta bioquímica ante los contaminantes atmosféricos, sirven para mejorar la valoración de las exposiciones e identificar el riesgo de las poblaciones expuestas.

En este caso el estrés oxidativo juega un importante papel en la patogénesis de la enfermedad crónica obstructiva del pulmón (EPOC). Para esto existen biomarcadores en plasma de la inflamación crónica y del daño oxidativo que se relacionan con el progreso de EPOC<sup>28</sup>.

Los estudios en niños y adultos han demostrado que la exposición a partículas, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre, están asociados con síntomas de bronquitis<sup>29</sup> y a la reducción de la función pulmonar<sup>30</sup>. Se sabe que el pulmón es una estructura heterogénea de gran complejidad con la principal función de entrega de oxígeno y eliminación de dióxido de carbono del cuerpo. Tomando en cuenta el gran volumen de aire que pasa a los pulmones durante la ventilación, este debe de estar bien para neutralizar o descomponer sustancias químicas y biológicas presentes en el aire inhalado. El epitelio que recubre las vías aéreas y los alvéolos tiene una gran capacidad para proteger las células y tejidos de los tóxicos inhalados<sup>31</sup>. En el caso de la contaminación atmosférica exterior, son las vías oxidativas las especialmente importantes, ya que la mayoría del daño a los tejidos son efectos del ozono, óxidos de nitrógeno y las partículas resultando un daño directo o indirecto de su acción como oxidantes<sup>27, 30</sup>. (8, 10).

Los síntomas por exposición a la contaminación del aire se manifiestan principalmente por la disminución de la capacidad respiratoria, incremento en la frecuencia de enfermedades respiratorias crónicas y agudas, aumento de ataques de asma e incremento en casos de enfermedades cardiacas. Cuando las células de las vías aéreas del pulmón se inflaman se reduce la habilidad del sistema respiratorio para combatir las infecciones y eliminar partículas extrañas, lo que aumenta el riesgo de la salud. El desequilibrio bioquímico propiciado por la producción excesiva de especies oxidantes que provocan daño oxidativo a las

biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes se denomina estrés oxidativo<sup>32</sup>

Es así que un grupo que merece especial atención por su susceptibilidad a los efectos en la salud debido a la contaminación atmosférica es la infantil; debido a los factores relacionados con su fisiología y desarrollo, así como su conducta y condición social<sup>33</sup>. Se considera a los niños como una población susceptible de la contaminación del aire. Tabla 3, en esta se presenta una lista de factores que pueden aumentar la susceptibilidad de los niños a la contaminación del aire. La lista inicia con la exposición prenatal y se continúa hasta la adolescencia. En términos generales, los posibles factores que determinan la susceptibilidad incluyen el proceso continuo de crecimiento y desarrollo pulmonar, sistemas metabólicos incompletos, patrón de defensas inmaduro, las altas tasas de infección con patógenos respiratorios, y patrones de actividad que incrementan la exposición a la contaminación del aire y la dosis de los contaminantes al pulmón<sup>34</sup>. Tabla 3

Categorías de los factores determinantes de la susceptibilidad de los niños al inhalar contaminantes<sup>34</sup> (23).

**Tabla 3**

CATEGORIA	FACTORES DETERMINANTES DE SUSCEPTIBILIDAD.
Relacionada con el crecimiento y desarrollo del pulmón.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vulnerabilidad del desarrollo y crecimiento de las vías respiratorias y alveolos.</li> <li>• Programas de mecanismos de defensa inmaduros</li> </ul>
Relacionada con los patrones de tiempo y actividad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tiempo pasado al aire libre.</li> <li>• Incremento de la ventilación con juego o ejercicios</li> </ul>
Relacionados con enfermedades crónicas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Alta prevalencia de asma.</li> <li>• Aumento de la prevalencia de la fibrosis quística.</li> </ul>
Relacionado con enfermedades agudas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Altas tasas de infecciones respiratorias agudas</li> </ul>

Además, los niños pueden tener diversos grados de susceptibilidad y enfermedad pulmonar crónica (especialmente el asma) esto incrementa el riesgo.

Así que los factores genéticos tienen gran importancia en la determinación de sensibilidad individual a la contaminación del aire<sup>35</sup>. Ahora es cada vez más evidente que las interacciones entre genes y medio ambiente son fundamentales

en la determinación de la susceptibilidad de los individuos a los efectos perjudiciales de los contaminantes del aire y sus efectos a largo plazo<sup>36, 37</sup>.

La evidencia existe de que los niños se han visto afectados por la contaminación del aire, y que su sensibilidad debe ser considerada cuando se desarrollan las regulaciones de contaminantes en el aire, para proteger la salud pública<sup>38</sup>.

Después de conocer los factores determinantes para los contaminantes atmosféricos, el interés es: ¿cómo es que los contaminantes atmosféricos afectan a la salud? El mecanismo de acción, del daño a la salud por estrés oxidativo actúa con el siguiente mecanismo en el cual la mayoría de los contaminantes del aire provocan efectos adversos a la salud, es su habilidad para funcionar como prooxidantes de lípidos y proteínas o como radicales libres (especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno), provocando daño oxidativo y la inducción de respuestas inflamatorias. La inhalación de contaminantes como O<sub>3</sub>, NO<sub>2</sub> y partículas reaccionan con antioxidantes no enzimáticos del tracto respiratorio como: glutatión reducido (GSH), vitamina C y ácido úrico. Así como con antioxidantes enzimáticos como la superóxido dismutasa (ecSOD), la glutatión peroxidasa (esGSHpx) y la tioredoxina<sup>39, 40</sup>. Estas moléculas protegen contra los contaminantes. Pero si las defensas son excedidas, con altas concentraciones de contaminantes, se incrementa la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) y entonces los oxidantes pueden reaccionar con moléculas orgánicas, como proteínas o lípidos y alterar el epitelio. Esto inicia el proceso inflamatorio, la activación de los neutrofilos y la liberación de citoquinas, quemoquinas y moléculas de adhesión celular. Una respuesta inflamatoria aumentada puede conducir a la generación adicional de ROS y de especies reactivas de nitrógeno (RNS), junto con daños oxidativos al DNA. **Fig. 7.**

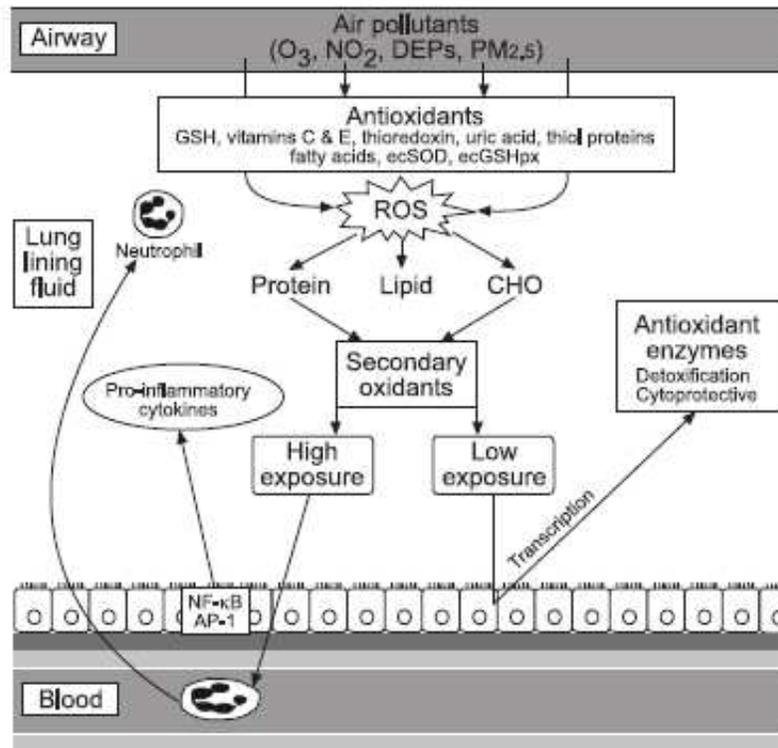


Figura 7 MECANISMO DE ESTRÉS OXIDATIVO

Fuente (Romieu et al. 2008)

Los radicales libres (especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno) son dañinos para lípidos, proteínas y DNA, inhibiendo su función normal. Conjuntamente, un estado de daño oxidativo se ve implicado en una variedad de enfermedades degenerativas como aterosclerosis, ataques al corazón, infarto, enfermedades inflamatorias crónicas (artritis reumatoide por ejemplo), catarata, desordenes en el sistema nervioso central (Parkinson y Alzheimer) y cáncer (Kampa and Castanas 2008).

En 1999 se llevo a cabo en Cuba el “Simposio Internacional daño Oxidativo en Biomedica”; donde se trato de la relevancia del tema, también se encuentran

trabajos en los cuales se exponen la relación que existe entre las algunas enfermedades y el daño oxidativo<sup>41 42</sup>, Así en nuestros días es tema de gran interés ya que es una herramienta más que ayudará a la comprensión de las enfermedades que afectan a la humanidad<sup>43</sup>.

Marcadores Plasmáticos de daño oxidativo y capacidad antioxidante que se determinaran, técnicas para marcadores en anexos<sup>44</sup>:

- ✓ *Cuantificación de la lipoperoxidación* (formación de malondialdehído, dienos conjugados y lipo-hidroperóxidos). El malondialdehído se medirá espectrofotométricamente usando metil-fenil-indol y ácido tiobarbitúrico como reactivos. Los dienos conjugados por el método espectrofotométrico, después de la extracción de lípidos, según el método de Richard y col. Los Lipo-hidroperóxidos, mediante el método iodométrico de El-Saadani y col.
- ✓ *Cuantificación de las alteraciones en las proteínas*. La carbonización de proteínas es uno de los marcadores de daño a proteínas más utilizados y se medirán por el método espectrofotométrico para la formación de fenilhidrazonas, de acuerdo a Dalle-Done y mediante el método de reducción de NBT de Gieseg SP y cols.
- ✓ *Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1)*.

Es una esterasa dependiente de calcio se le confiere propiedades antioxidantes sobre HDL para disminuir la acumulación de los productos de lipoperoxidación.

PON-1 es capaz de hidrolizar cierto número de sustratos, así como paraoxon y fenilacetato, peróxidos lipídicos colesteril éster hidroperóxido y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sin embargo, el sustrato fisiológico de PON-1 es desconocido.

Se sugiere que PON-1 está relacionado con el riesgo al daño coronario cardiaco

Por lo tanto la medición de estos biomarcadores como indicadores de respuesta bioquímica ante los contaminantes atmosféricos, sirven para mejorar la valoración del riesgo de las poblaciones expuestas e identificar la relación.

### **3. ANTECEDENTES.**

Con base en reclamos de la población de Salamanca, a las autoridades, en la Cámara de Diputados se escuchó la inquietud y en la Tercera Reunión Plenaria de esta Comisión Ordinaria, el día 14 de diciembre de 2006; se creó la Subcomisión sobre la Contaminación en la Ciudad de Salamanca, Gto.; a quien le dieron el mandato de investigar los efectos en la salud causados por las elevadas concentraciones de contaminantes en aire, agua y suelo en la ciudad de Salamanca, Guanajuato; entre otros.

Salamanca y León, son ciudades progresistas, que forman parte de los 46 municipios del Estado de Guanajuato, en las cuales se encuentran Industrias importantes, en Salamanca la de producción de energía la Refinería Ing. Antonio M. Amor (RIAMA) y la Central Termoeléctrica de Comisión Federal de Electricidad (CFE) entre otras y en León la industria del calzado, las ladrilleras, aunado a esto el crecimiento del parque vehicular y lo que conlleva al aumento de servicios con el crecimiento de las ciudades. En respuesta al contexto de contaminación de estas ciudades, y el convenio de Coordinación y Concentración para la Ejecución del Programa para mejora de Calidad del Aire (Abril 2004) cuentan con una Red de Monitoreo de Calidad de Aire, que tiene información objetiva, confiable y oportuna acerca del comportamiento de los contaminantes monitoreados.

**Municipio de León:**

León de los Aldama con una extensión territorial de 1,883.20 Km, representa el 3.96 % del territorio del estado y el 0.062% del país; colinda al norte con los municipios de San Felipe y Lagos de Moreno, al sur con San Francisco del Rincón y Romita, al este con Guanajuato y Silao y al oeste con Purísima del Rincón. La altitud media es de 1800 msnm. Mapa 2.

El municipio de León de los Aldama es el segundo más importante del estado de Guanajuato el área del territorio municipal comprende 1,219.67 km<sup>2</sup>, equivalentes al 4.8% de la superficie estatal y de acuerdo con el Censo de Población y Vivienda 2005, la ciudad de León contaba con una población de 1'283,143 habitantes, representando el 26% de la población estatal, situando a la ciudad como la más poblada del estado de Guanajuato, y la quinta Zona Metropolitana más poblada de México<sup>45</sup>. En 1997 había en el municipio de León 157, 422 vehículos y ahora circulan más de 350 mil vehículos es decir un incremento del 45% cuyas emisiones representan el 75 por ciento del total de contaminantes emitidos a la atmósfera. Se ubica como uno de los municipios claves para la economía del estado, pero también como el principal generador de monóxido de carbono (CO) y de óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>).<sup>45</sup> (17)



**Mapa 2 Estado de Guanajuato**

Fuente: Sistema de Información Ambiental, Instituto de Ecología del Estado. 2008.

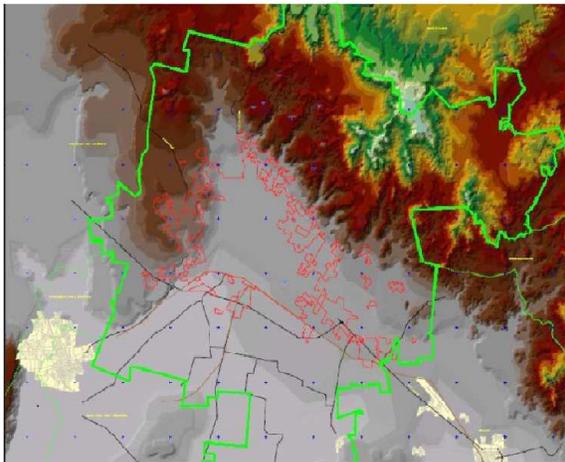
Los factores naturales predominantes de la ciudad de León son de un clima semiseco, aunque la zona sur y parte del norte es semicálido, mientras que en la otra parte de la zona norte se presenta un clima templado subhúmedo. La temperaturas máxima y la mínima son de 37 °C d y -6 °C, la temperatura media histórica es de 19.3 °C y la precipitación promedio anual es de 697.6 mm. En aspectos de orografía en el municipio existen un conjunto de montañas pertenecientes a la Sierra de Guanajuato, las cuales son: Sierra de Ibarra, Comanja y de Lobos. La parte sur pertenece a una serie de valles del Bajío<sup>46</sup>. Mapa 3.

En municipio los suelos que abundan son los vertisoles y los phaeozems. Los vertisoles se encuentran comúnmente en los valles, mientras que los phaeozems se distribuyen tanto en los valles como en las sierras y lomeríos. En el nororiente

del municipio, así como en la zona cercana a la comunidad de Duarte, existen problemas por erosión eólica<sup>47</sup>, debido a la merma de la cubierta vegetal.

El área de Sierra de Lobos se ubica en la unión de los límites de los Municipios de Ocampo, León y San Felipe, esta zona ha sido identificada para ser integrada al SANPEG (el Sistema de Áreas Naturales Protegidas del Estado de Guanajuato), en la categoría de Área de Uso Sustentable, debido a que en ella se encuentran espacios forestales, flora y fauna silvestres, zonas de desarrollo agropecuario y potencial recreativo que aún conservan rasgos y funciones de importancia ecológica.

En los aspectos socioeconómicos de acuerdo a las Proyecciones de la Población 2005-2050 (CONAPO, 2006) en el 2005 la población de León era de 1'283,143 habitantes Tabla 4, representando el 26% de la población estatal. Asimismo, se estima que en el año 2012 la población alcance 1'484,326 habitantes lo que representará un incremento de 15.7%.



**Mapa 3 OROGRAFÍA DEL MUNICIPIO DE LEÓN**

Fuente: Dirección de Protección al Ambiente y Desarrollo Sustentable de León

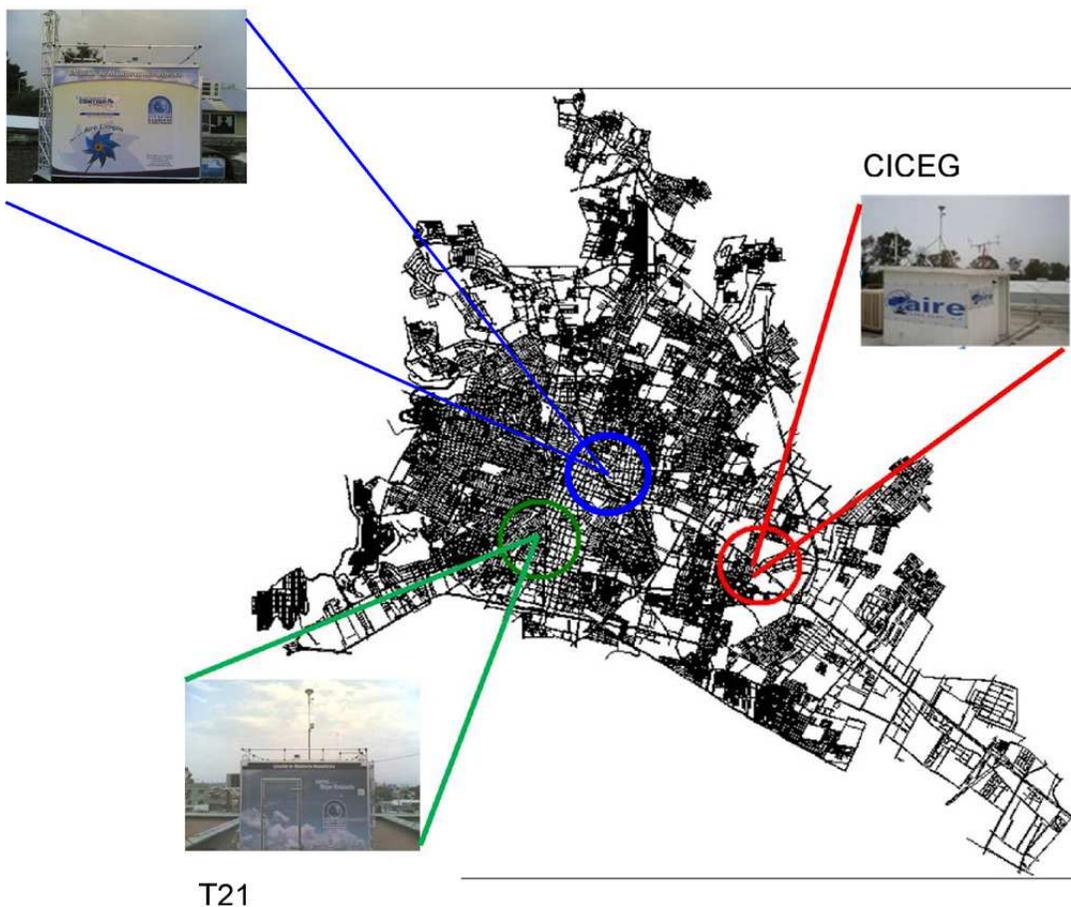
**Tabla 4 DISTRIBUCION DE LA POBLACION EN LEÓN**

Fuente: CONAPO, 2006.

<b>Grupo de población</b>	<b>Población</b>	<b>Porcentajes</b>
0 a 14 años	429,836	33.5%
15 a 65 años	804,660	62.7%
más de 65 años	48,647	3.8%
<b>Suma</b>	<b>1'283,143</b>	<b>100%</b>

El Sector industrial es muy importante en el municipio de León, debido a que es una de las principales fuentes generadoras de empleos; en el 2004 la población ocupada representó casi el 40% de este sector, mientras que a nivel nacional era el 25% y a nivel estatal el 29%. La industria manufacturera sobresaliente es la del sector cuero y calzado. El Sistema de Información Empresarial Mexicano (SIEM) registró la existencia de 8 mil 164 empresas en el municipio de las cuales el 20% de estas corresponden al sector industrial.

Con respecto a la Red de Monitoreo de León, cuenta actualmente con tres estaciones, forma parte de la Red Estatal, misma que es coordinada y supervisada por el gobierno del Estado de Guanajuato, a través del Instituto de Ecología (IEE). En el caso de la Red de León, ésta es operada por la Universidad Tecnológica de León (UTL), y las estaciones cumplen con los lineamientos de operación de la Red Estatal. El Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (CENICA), del Instituto Nacional de Ecología (INE), realiza evaluaciones técnicas periódicas a la Red Estatal, para garantizar el buen funcionamiento de las estaciones, Tabla 5. En la Mapa 4 se presenta la ubicación de las tres estaciones, clínica IMSS T-21 (inició operaciones en abril del año 2006), CICEG (inició operaciones en el año 2005), Facultad de Medicina de la Universidad de Guanajuato (inició actividades en el segundo semestre del año 2007).



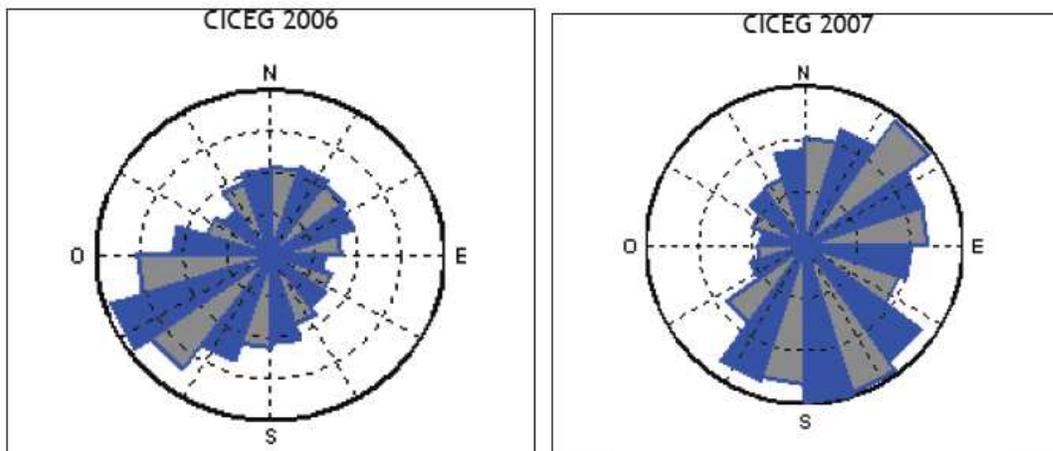
Mapa 4 Localización de estaciones de monitoreo, León, Gto.

Tabla 5 Contaminantes y condiciones meteorológicas monitoreados.

O <sub>3</sub>	SO <sub>2</sub>	CO	NO	NO <sub>2</sub>	NO <sub>x</sub>	PM <sub>10</sub>	T	WS	WD	P. BAR	RAD	HR
ppb	ppb	ppm	ppb	ppb	ppb	µg/m <sup>3</sup>	°C	m/s	°	mm Hg	W/m <sup>2</sup>	%

T = temperatura ambiente, WS = velocidad del viento, WD = dirección del viento, P. BAR = presión barométrica, RAD = radiación solar, HR = humedad relativa, ppb: partes por billón (una parte por mil millones), ppm: partes por millón, µg/m<sup>3</sup>: microgramos por metro cúbico, °C: grados Celsius, m/s: metros por segundo, °: grados sexagesimales, mm Hg: milímetros de mercurio, W/m<sup>2</sup>: watts por metro cuadrado, %: por ciento (Programa para mejorar la Calidad del Aire en León, 2008-2012).

A continuación se presentan las rosas de vientos de los años 2006 y 2007 en la estación de monitoreo CICEG, Figura 8, en las cuales se observa que en el año 2007 tiene una mayor frecuencia de vientos provenientes del sur, en cambio, la dirección predominante en año 2006 fue el sur-oeste.



**Figura 8 Rosa de vientos estación CICEG, León, Gto.**

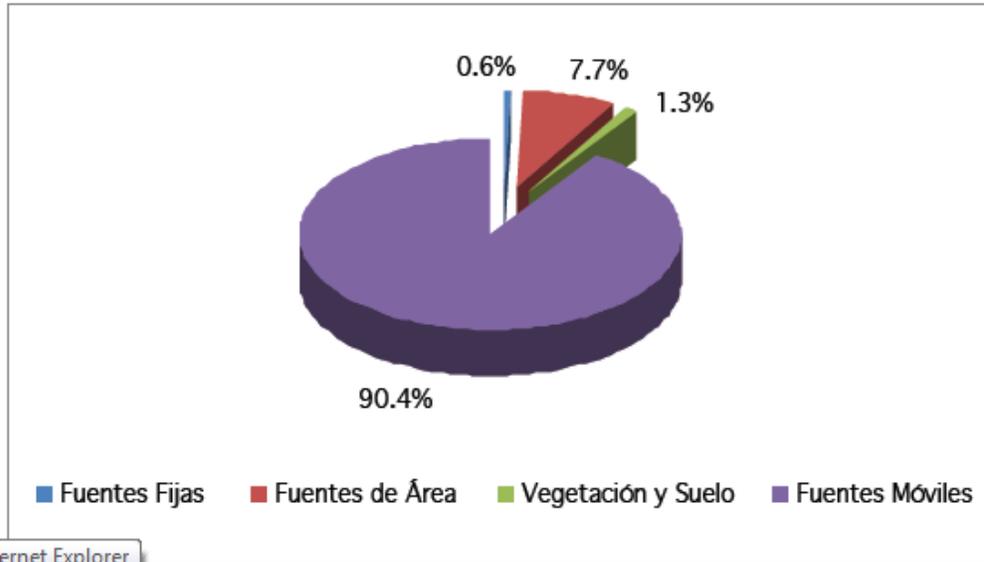
En los años de 2006 y 2007 examinados se tienen vientos con mayor frecuencia de velocidades menores a 3 m/s. Por la velocidad del viento obtenido nos indica que en el Municipio de León se presenta una “brisa débil”<sup>48</sup>. La variable de temperatura oscila entre clima templado a fresco, en comparación de 2006 y 2007 se observa que en el 2007 mostro temperaturas más altas que en el 2006, ya que la media anual fue de 20.9°C y en 2006 con una media de 19.9 °C.<sup>48</sup> (19). Los reportes de humedad relativa indican como máximos 85%, medias 50% y mínimos de 10% de humedad relativa.

En La precipitación pluvial en el municipio de León en la temporada de lluvias coincide con la temporada de ciclones en el Golfo de México, del mes de mayo a octubre. El mes de julio es el de mayores precipitaciones pluviales. En promedio, en la cabecera municipal se registran 600 mm de lluvia al año. La obtención de agua es a través de presas como la del Palote, la de San Antonio, Bordos, la Cinco de Mayo, Ciudad Aurora; también hay bordos como el Mastranzo, Trinidad y el Verde. León pertenece en su gran mayoría a la cuenca Lerma – Santiago y otra pequeña parte al Río Verde – Santiago. El Río Turbio es la principal corriente del municipio, con diversos arroyos y pequeños ríos tributarios, tal como el Río Los

Gómez que cruza la ciudad y hace años fue integrado y canalizado dentro de la urbanización<sup>46</sup> (20).

Conocer la meteorología ayuda a ajustar sistemas de dispersión y transporte de los contaminantes, así como las horas probables de aumento de concentraciones (ej. la formación de ozono. incrementa en las horas de mayor temperatura del día). La meteorología no sólo influye en el modo de contaminación presente en un sistema, sino que también determina la dirección de estos contaminantes, las velocidades de transportación y la permanencia de los contaminantes en cada ciclo.

En el Inventario de Emisiones del municipio de León correspondiente al año 2006, Grafica 1, identificamos los principales contaminantes atmosféricos, las cantidades en que éstos son emitidos y las fuentes generadoras. Se observa que la mayor contribución en la emisión de contaminantes corresponde a las fuentes móviles (sector transporte), que aportan el 90.4% de las emisiones generadas, lo cual dejar ver la importancia del control de esta fuente en la ciudad. También se observa que las fuentes de área (comercios, servicios y otros como caminos sin pavimentar y quema de esquilmos) que tienen el segundo lugar en importancia de emisión con un 7.7%, seguido de la vegetación y suelos con el 1.3% y finalmente, a diferencia de otras ciudades, las fuentes fijas (sector industrial) con una baja aportación del 0.6%. Tabla 6.

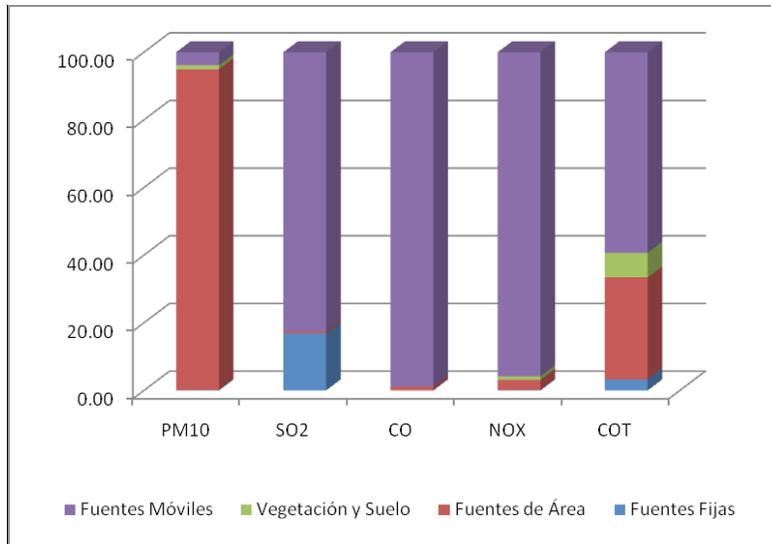


Gráfica 1 Contribución porcentual de emisiones por tipo de fuente, León, Gto. (SEMARNAT, IEE)

Tabla 6 Inventario de emisiones porcentual 2006. León, Gto. (SEMARNAT, IEE)

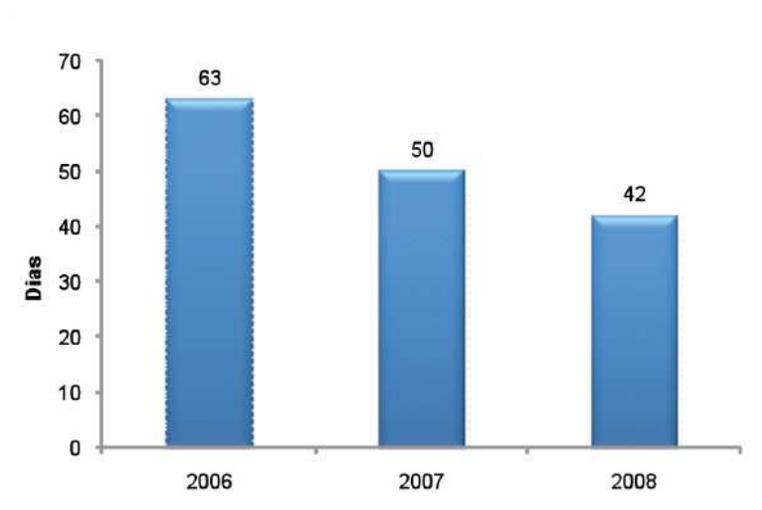
Tipo de fuente	Emisiones totales, porcentual					
	PM <sub>10</sub>	SO <sub>2</sub>	CO	NO <sub>x</sub>	COT	Total
Fuentes Fijas	0.15	16.03	0.00	0.13	3.13	0.6
Fuentes de Área	94.46	0.55	0.95	2.75	28.83	7.7
Vegetación y Suelo	1.24	0.00	0.01	1.01	6.98	1.3
Fuentes Móviles	4.15	83.42	99.04	96.11	61.05	90.4
<b>Total</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>	<b>100.0</b>

Las categorías de las fuente que contribuyen con la mayor cantidad de emisiones por contaminante; en PM10 son los caminos sin pavimentar y las fuentes móviles que contribuyen con un 83% de emisiones de SO<sub>2</sub>, los principales generadores de CO y NO<sub>x</sub> en general son por fuentes móviles, la aportación porcentual es de 76%, la contribución por COT es principalmente por fuentes móviles, como camiones de carga a gasolina mayores a 3-5 ton y los autos particulares. Grafica 2.

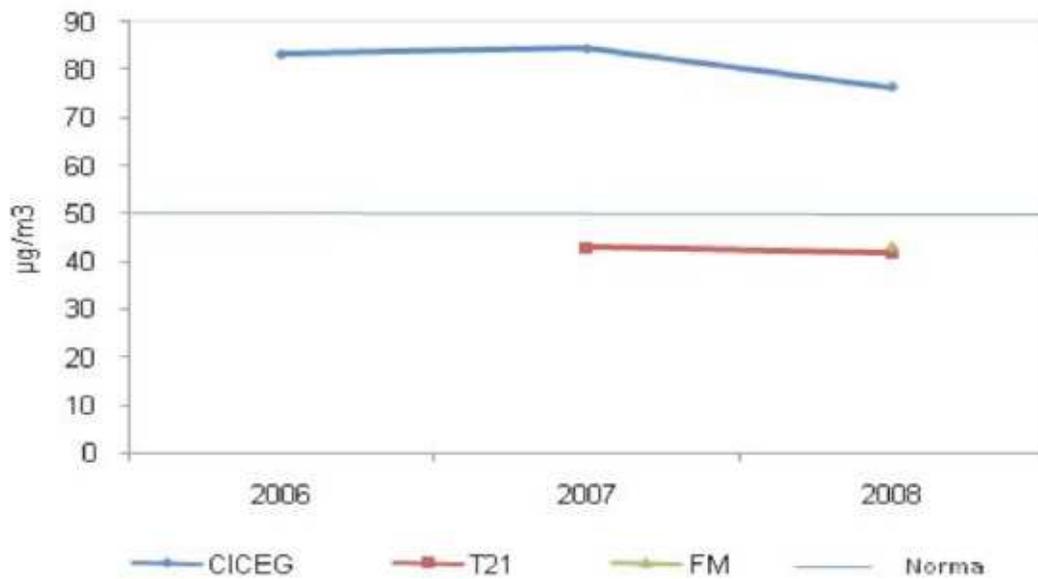


**Gráfica 2** Contribución de emisiones por tipo de fuente, León, Gto.  
(programa para mejora del aire León 2008-2012)

Es importante resaltar que, la ciudad de León, Gto., en los últimos dos años algunas zonas del municipio han rebasado los valores normados para partículas menores a 10 micras (PM<sub>10</sub>) y para el ozono (O<sub>3</sub>). Gráfica 3.

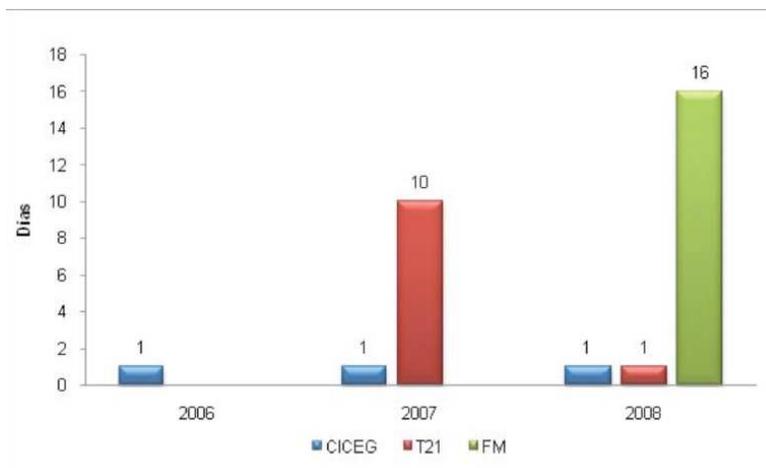


**Gráfica 3** Días en que se sobrepasa el valor establecido por la Norma **PM<sub>10</sub>**.  
Estación CICEG, León, Gto.



**Gráfica 4** Media aritmética Anual de PM<sub>10</sub>, León, Gto.

La media aritmética anual para PM<sub>10</sub> establecida por la norma con un valor 50 µg/m<sup>3</sup> se ha sobrepasado solamente en la estación ubicada en CICEG, Gráfica 4; puede verse que durante el 2008 se tuvo una ligera disminución.



**Gráfica 5** Número de días fuera de Norma por O<sub>3</sub>. León, Gto.

El ozono es otro de los contaminantes asociados a las mega ciudades como lo es León, el análisis de este contaminante, determina que se tuvieron 18 días fuera de norma, de los cuales 16 de ellos se presentaron en la estación de Facultad de Medicina; es importante mencionar que en 2008, año en que se incremento la cobertura de monitoreo en el municipio; Gráfica 5.

### **Municipio de Salamanca:**

La ciudad de Salamanca es también parte de los 46 municipios que conforman al estado de Guanajuato, tiene una extensión territorial de 745.96 kilómetros cuadrados, equivalentes al 2.53% de la superficie total del Estado. Se localiza en el suroeste del Estado, sus límites son: al Norte con los municipios de Irapuato y Guanajuato, al Noreste con San Miguel de Allende, al Este con Santa Cruz de Juventino Rosas y Villagrán, al Sureste con Cortazar y al Sur con Jaral del Progreso y Valle de Santiago, al Oeste con los municipios de Irapuato y Pueblo Nuevo, Mapa 5. La ubicación del Municipio de Salamanca es en la parte central del estado de Guanajuato y está situado a 20°34' 13" de latitud norte y 101°11' 50" de longitud oeste, a una altura de 1,721 metros sobre el nivel del mar.

La ciudad de Salamanca es parte importante del desarrollo económico de la región, en donde se encuentra unas fuentes de energía importante, la Refinería Ing. Antonio M. Amor (RIAMA y la Central Termoeléctrica de Comisión Federal de Electricidad (CFE)).



**Mapa 5** Salamanca en el Estado de Guanajuato.

Fuente: Dirección de Protección al Ambiente y Desarrollo Sustentable de León

Al año 2005 Salamanca contaba con un total de 233,623 habitantes, representando el 4.77% de la población estatal, de los cuales el 52.4% son mujeres y el 47.6% son hombres. Cerca del 30% de la población de Salamanca está catalogada como población vulnerable a los efectos de la contaminación atmosférica<sup>12</sup> (16)

Los factores naturales con que cuenta la ciudad de Salamanca son que cuenta con elevaciones con una altura promedio de 2000 metros sobre el nivel del mar localizada en la parte norte del municipio; le atraviesa el río Lerma de oriente a poniente y forma la cuenca hidrológica “Lerma-Santiago” una de las más importantes en la entidad. El uso del suelo es en el 72% agrícola de riego y de temporal, 9% entre pastizal y bosque (al norte) y el 18% de matorral.

Salamanca cuenta con un clima predominante semicálido subhúmedo excepto en la parte norte es templado subhúmedo; por lo general las lluvias son en verano, también cuenta con Área Natural Protegida (ANP) en la categoría de Uso

Sustentable; declarada el 06 de Junio de 2000, es la “Cuenca Alta Río Temascatio”.

El crecimiento de desarrollo de la ciudad se orienta en sentido norponiente y poniente, en el 2006 el Producto Interno Bruto fue del 7.04% del PIB estatal, ubicando al municipio en el quinto lugar en importancia económica en la entidad. Las principales actividades económicas en Salamanca es el sector terciario (comercio, turismo y servicios) 48.8%, el sector secundario (industria de la electricidad, manufacturera, petróleo y construcción) 36.6%, el sector primario (agricultura y ganadería) 14.6% <sup>46</sup>(20) En las principales actividades industriales son la generación de energía eléctrica, la refinación del petróleo, la industria química y de alimentos.

La Red de Monitoreo de Salamanca, cuenta actualmente con tres estaciones, estas forman parte de la Red Estatal, y son la estación de monitoreo Cruz Roja (ubicada en avenida Faja de Oro), estación de monitoreo Nativitas (ubicada en avenida Juárez 1198) y estación de monitoreo DIF (se localiza en calle Rosario Castellanos 104), cuenta también con una unidad móvil, Mapa 6. Con la operación de las tres estaciones de monitoreo se cubre aproximadamente el 80% de la mancha urbana, el restante 20% es cubierto con la operación de una estación móvil. Figura 5, misma que es coordinada y supervisada por el gobierno del Estado de Guanajuato, a través del Instituto de Ecología (IEE). El Centro Nacional de Investigación y Capacitación Ambiental (CENICA), del Instituto Nacional de Ecología (INE), realiza evaluaciones técnicas periódicas a la Red Estatal, para garantizar el buen funcionamiento de las estaciones.

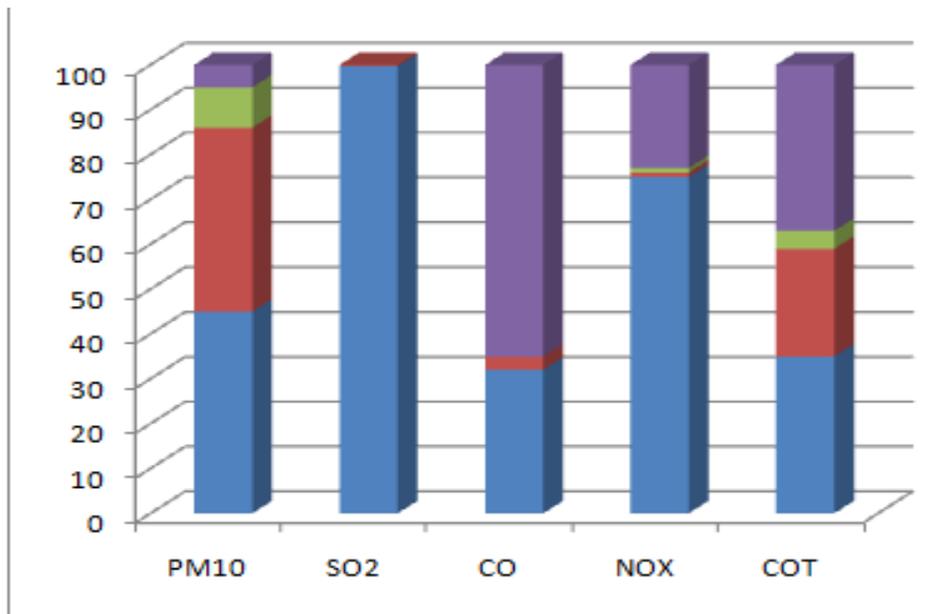


**Mapa 6 Ubicación de estaciones de monitoreo en Salamanca, Gto. (21)**

La dinámica de los vientos en Salamanca, con valores del año 2006 en cada una de las estaciones se observa que predominan primordialmente vientos noreste a este (NE y E) cuyos rangos de velocidad, fluctúan entre los 1.5 y 6.0 m/s. El segundo bloque de vientos predominantes es en sentido contrario con direcciones oeste (W) y sudoeste (SW) con velocidades en el rango de 1.0 a 4.0 m/s. (IEE). La humedad relativa máxima promedio en el año es de 80% (mes de agosto), la temperatura media máxima en el año es de 24°C (mes de abril).

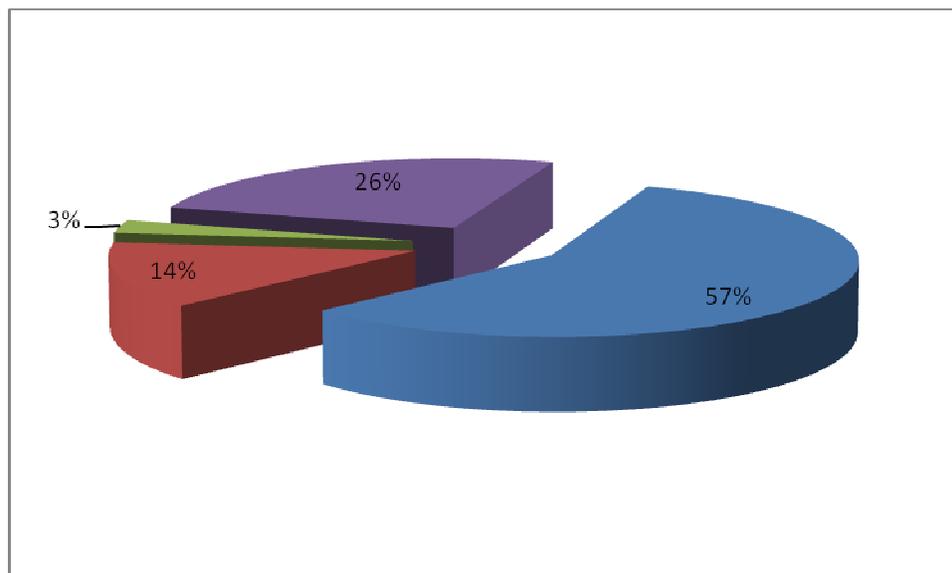
En el Inventario de Emisiones del municipio de Salamanca correspondiente al año 2006<sup>12</sup> (16), se han identificado los principales contaminantes atmosféricos, las cantidades en que éstos son emitidos y las fuentes generadoras. En la Grafica 6, se observa que la mayor contribución en la emisión de contaminantes en la zona del bióxido de azufre generado es predominantemente por el sector energía, mientras que para el caso de las emisiones de monóxido de carbono son las fuentes móviles ya que aportan aproximadamente el 66% y el sector industrial el

33%, en el caso de los compuestos orgánicos volátiles (COV's) las principales aportaciones provienen del transporte y la industria y, en menor proporción del sector comercios y servicios. Así como los NO<sub>x</sub> son originados predominantemente por la industria (75%). Gráfica 7.



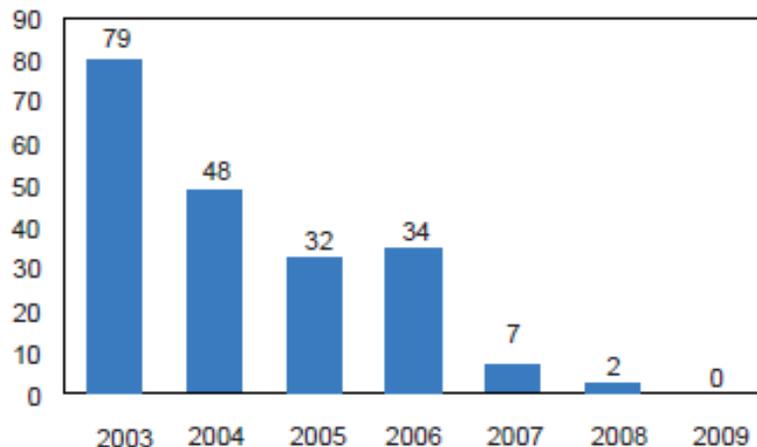
■ Fuentes Móviles ■ Vegetación y Suelo ■ Fuentes de Área ■ Fuentes Fijas

**Gráfica 6** Distribución porcentual de emisiones en Salamanca . (Fuente IEE, SEMARNAT)



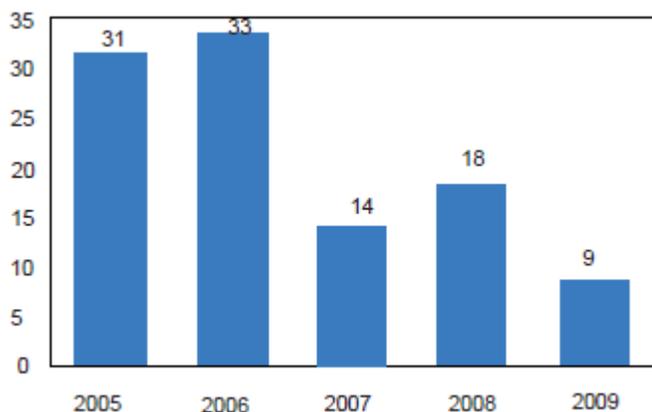
**Gráfica 7** Contribución porcentual de emisiones por tipo de fuente. Salamanca, Gto. (SEMARNAT, IEE)

La Gráfica 8, muestra que por primera vez, durante el 2009, no se tuvieron días fuera de norma por bióxido de azufre SO<sub>2</sub>; resultado que fue producto de las acciones comprometidas por parte de las instituciones y dependencias involucradas en el Programa para Mejorar la Calidad del Aire en Salamanca.



**Gráfica 8** Número de días que sobrepasó el valor establecido por la Norma SO<sub>2</sub>. Salamanca, Gto.  
Fuente: Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE)

El contaminante que tiene segundo lugar en mayor incidencia en la Ciudad de Salamanca, las PM<sub>10</sub>, observando una reducción del 50% de días en los que se sobrepasó el valor establecido por la norma de PM<sub>10</sub>, lo que muestra también los esfuerzos realizados. Gráfica 9.



**Gráfica 9** Número de días en los que se rebasó el valor establecido por la Norma de PM<sub>10</sub>.  
Fuente: Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato (IEE)

#### 4. JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

De acuerdo con la percepción social, la población de Salamanca realiza declaraciones como la siguiente: *“Aquí siempre huele a ajo, a cebolla y azufre, por lo que tenemos fuertes dolores de cabeza y estómago; asegura Soledad Hernández”* y *“Es el municipio más contaminado del país por emisiones de bióxido de azufre que generan la Termoeléctrica de la Comisión Federal de Electricidad (CFE) y la Refinería de Petróleos Mexicanos (Pemex) instalada en esa Ciudad, Director de Ecología, Miguel Cordero<sup>49</sup>.”* Son situaciones donde se observa la demanda de la población en el tema de contaminación desde el año de 2004.

En el año de 2005 la protesta por la contaminación en Salamanca llegó hasta el presidente en ese momento Vicente Fox, que quien junto con el alcalde de Salamanca Genaro Carreño firmaron un Programa de Contingencias Ambientales Atmosféricas para el municipio y un convenio para mejora del aire; que tenía como objeto la reducción urgente e inmediata de las concentraciones de bióxido de azufre y partículas menores a 10 micrómetros, mediante la reducción de emisiones de las fuentes; para lo cual se estableció las siguientes fases operativas de Precontingencia Ambiental según el tipo de contaminante y contingencia Ambiental<sup>50</sup>.

Sin embargo la población Salmantina, se organizo en “Fuerza Ciudadana”, y aseguro que ese y otros convenios han tenido escasos beneficios para el municipio, refiriendo “Es una burla. Lo único que se logró es conocer los grados de contaminación y quien la produce”, manifestación en el año de 2006 por Ramírez Aguilar.<sup>51</sup>

Con base en estos reclamos de la población, las autoridades, en la Cámara de Diputados se escuchó la inquietud y en la Tercera Reunión Plenaria de esta Comisión Ordinaria, el día 14 de diciembre de 2006; se creó la Subcomisión sobre la Contaminación en la Ciudad de Salamanca, Gto.; a quien le dieron el mandato de investigar: a) los efectos en la salud causados por las elevadas concentraciones de contaminantes en aire, agua y suelo en la ciudad de Salamanca, Guanajuato; b)

la existencia de pasivos ambientales confinados en las industrias paraestatales y privadas en la ciudad de Salamanca y sus alrededores, así como las opciones para su adecuado manejo; y c) el impacto que el depósito de estos pasivos ambientales ha tendido en el suelo y los mantos acuíferos de la región.

Para contribuir a la solución de problemas que afectan el desarrollo del Estado relacionado con la contaminación atmosférica, el gobierno del Estado de Guanajuato ha promovido la realización de proyectos de investigación y/o desarrollos tecnológicos que contribuyan a mejorar la calidad del Aire<sup>52</sup>.

Las demandas específicas sobre el tema de contaminación del aire y salud, guían la prioridad de estos proyectos de investigación, centrándola en generar conocimiento sobre la dinámica del problema de contaminación presente en Salamanca.

El estudio del “Efecto de la contaminación atmosférica en los niños de Salamanca y León, Gto. y su relación con el daño oxidativo” es en respuesta de las autoridades de Gobierno Estatal a la preocupación sentida y expresada sobre los efectos de la exposición a contaminantes atmosféricos de la población Salmantina.

Considerando que los síntomas por exposición a la contaminación del aire se manifiestan principalmente por la disminución de la capacidad respiratoria; se tiene que el asma y los desórdenes respiratorios y alérgicos relacionados con la niñez han aumentado en frecuencia durante las últimas décadas. (CDC, 1998). Los estudios realizados en niños mexicanos han encontrado asociaciones entre la exposición a contaminantes aéreos y un aumento en las admisiones de hospitales por asma, por síntomas respiratorios, y por disminución en la función respiratoria<sup>39</sup>, <sup>53</sup>. La Secretaría de Salud de México informó que el asma era la 11 causa de mortalidad en niños menores de 5 años, y la 16a causa en niños entre los 5 y 14 años de edad. (S.S.A., 2001).

En el Estado de Guanajuato se cuenta con datos que indican que el asma se encuentra entre las 20 principales causas de enfermedad (14ª causa) con un total

de 6035 casos, Tabla 7, el 28% corresponde a niños entre edades de 5 a 14 años, en las Ciudades de Salamanca y León se cuenta con datos de incidencia de asma y estado asmático de los años 2002 hasta la semana 29 del 2009, Gráfica 10. En la cual se observa que en la ciudad de Salamanca ha disminuido la incidencia de casos de asma y estado asmático, del 2008 al 2009 en un 23.4%; mientras que en León se observa un incremento del 41.2% en estos años. En el canal endémico se aprecia que la incidencia de los casos en León está en una zona de alarma, a diferencia de la ciudad de Salamanca que se mantienen dentro de la zona de seguridad y éxito (30). Graficas 11 y 12.

En el cronograma de la puesta en operación de la Red de Monitoreo de calidad del aire en el estado de Guanajuato<sup>54</sup> se inicia de 1999 en Salamanca, y en 2002 se puso en marcha la tercera estación de monitoreo, observando una disminución del 70.6% en la incidencia de casos de asma en el año de 2005. En León se inicia con operación de una estación de monitoreo en el 2003 y en el 2007 se puso en marcha la tercera estación de monitoreo, a la fecha no se observa disminución en la incidencia de asma.

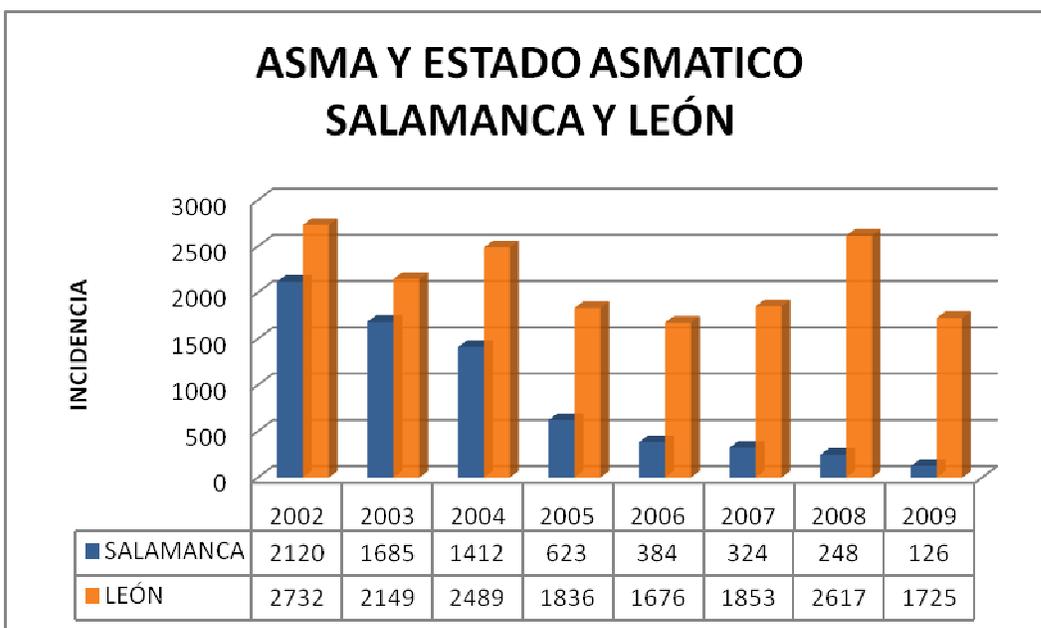
En base a estos datos se considera de importancia desarrollar investigación científica sobre los efectos de la contaminación atmosférica en la población vulnerable, los niños de Salamanca y León, Gto. con el objeto de tener evidencia científica para desarrollar políticas que coadyuven a proteger la salud de la población.

**Tabla 7 Veinte principales causas de enfermedades en Guanajuato, 2007.**

*Veinte principales causas de enfermedad en Guanajuato por grupo de edad  
Población General  
Estados Unidos Mexicanos  
2007*

Número	Paciente	Código de la lista detallada CIE 10a. Revisión	Grupos de edad											Ign.	Total
			< 1	1 - 4	5 - 9	10 - 14	15 - 19	20 - 24	25 - 44	45 - 49	50 - 59	60 - 64	65 y +		
1	Infecciones respiratorias agudas	J00-J06, J20, J21 excepto J02.0 y J03.0	140 162	304 860	188 774	99 484	52 611	45 522	158 888	34 298	45 696	18 923	35 329	171	1 124 727
2	Infecciones int. por otros organismos y las mal definidas	A04, A08-A09	26 732	50 740	21 657	13 856	9 344	10 931	35 875	7 552	10 869	4 699	11 645	35	203 935
3	Infección de vías urinarias	N30, N34, N39.0	585	4 335	5 767	4 705	8 162	11 611	39 040	7 622	10 620	4 512	9 917	34	106 910
4	Úlceras, gastritis y duodenitis	K25-K29	N.A.	N.A.	N.A.	3 521	5 192	6 142	21 241	5 560	6 698	2 938	6 129	42	57 463
5	Intoxicación por picadura de alacrán	T63.2, X22	192	2 313	3 358	4 004	4 001	3 469	9 145	1 403	2 021	723	1 644	15	32 288
6	Otitis media aguda	H65.0-H65.1	1 095	4 967	5 989	3 056	1 685	1 376	4 550	1 138	1 075	454	734	15	25 494
7	Hipertensión arterial	I10-I15	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	65	227	4 397	2 441	4 946	2 519	5 582	24	20 201
8	Varicela	B01	1 135	5 285	4 970	1 726	633	490	828	37	30	15	26	2	15 177
9	Diabetes mellitus no insulino dependiente (Tipo II)	E11-E14	0	0	0	3	13	123	3 494	1 867	4 159	1 877	3 280	4	14 820
10	Gingivitis y enfermedad periodontal	K05	7	243	781	846	1 147	1 373	4 767	1 271	1 584	751	1 091	3	13 864
11	Amebiasis intestinal	A06.0-A06.3, A06.9	688	2 500	1 904	1 326	803	757	2 600	593	755	306	637	6	12 875
12	Candidiasis urogenital	B37.3-B37.4	1	6	17	46	601	1 439	5 319	979	694	220	186	1	9 509
13	Neumonías y bronconeumonías	J12-J18 excepto J18.2	1 809	1 760	391	162	99	114	486	118	307	206	1 065	6	6 523
14	Asma y estado asmático	J45, J46	192	980	987	700	334	285	1 182	318	441	198	415	3	6 035
15	Intoxicación por ponzoña de animales	T63, X21, X23, X27, excepto T63.2	56	626	709	677	636	557	1 641	243	363	106	284	1	5 899
16	Otras helmintiasis	B65-B67, B70-B76, B78, B79, B81-B83	187	1 248	1 228	702	333	291	952	155	315	107	220	2	5 830
17	Mordeduras por perro	W54	8	639	1 184	896	475	334	1 080	190	357	133	388	5	5 689
18	Desnutrición leve	E44.1	1 003	2 703	790	464	194	34	68	11	13	4	20	0	5 304
19	Quemaduras	T20-T32	99	705	432	337	384	432	1 330	163	309	119	193	2	4 505
20	Conjuntivitis	B30, H10.0	403	627	528	361	316	217	818	247	270	113	259	0	4 159
TOTAL 20 PRINCIPALES CAUSAS			174 354	384 546	238 846	136 962	87 008	85 724	297 701	66 206	91 522	38 923	79 044	371	1 681 207
OTRAS CAUSAS			1 074	3 413	2 960	2 177	2 791	3 469	11 225	2 419	2 751	1 141	2 221	10	35 651
TOTAL GLOBAL			175 428	387 959	241 806	139 139	89 799	89 193	308 926	68 625	94 273	40 064	81 265	381	1 716 858

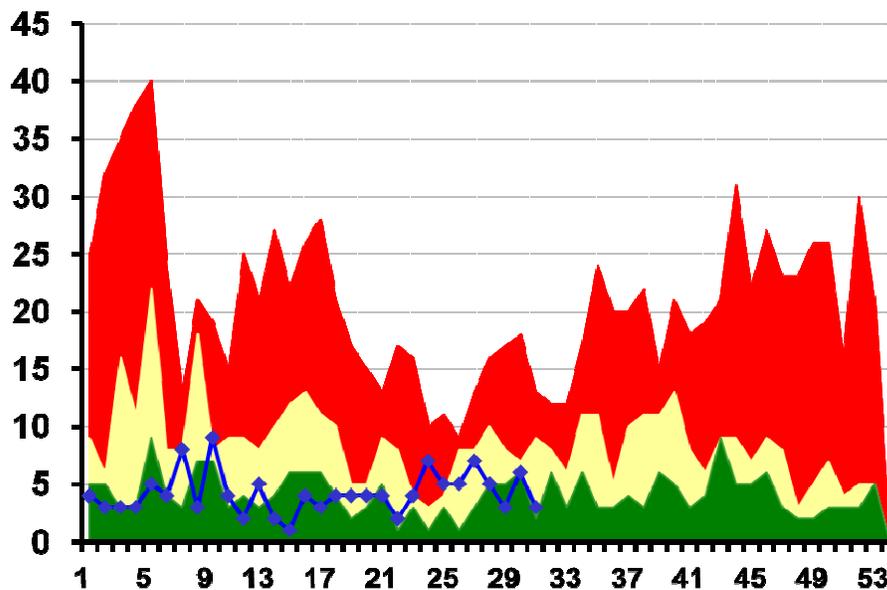
FUENTE: Sistema Único de Información para la Vigilancia Epidemiológica/Dirección General de Epidemiología/SSA  
N.A.—No aplica en el grupo de edad



**Gráfica 10** Incidencia de asma y estado asmático. 2002 hasta la semana 29 del 2009

Fuente: Sistema unico de información para la vigilancia epidemiologica.ISAPEG.

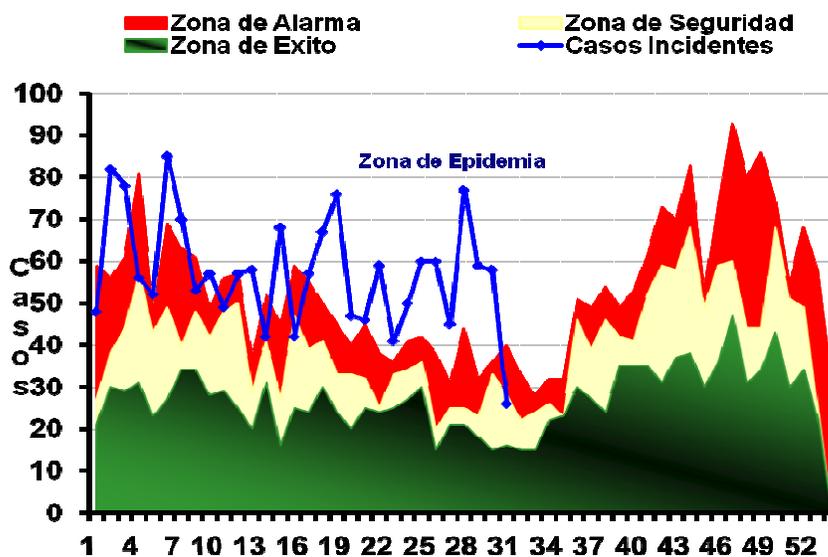
### Ciudad de Salamanca



Gráfica 11 Canal endémico del Asma en Salamanca. Casos de Asma hasta semana 29 de 2009.

Fuente: Sistema unico de información para la vigilancia epidemiologica.ISAPEG.

### Ciudad de León

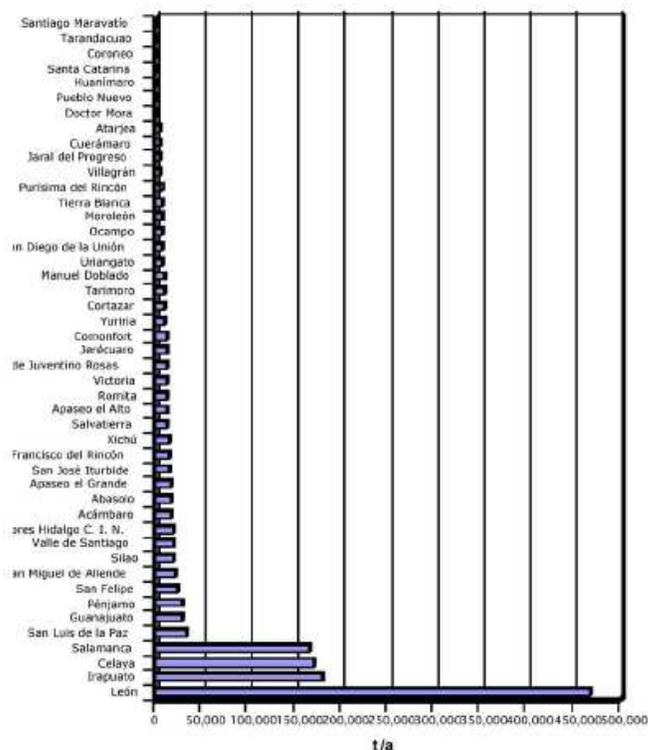


Gráfica 12 Canal endémico del Asma en León. Casos de Asma hasta semana 29 de 2009.

Fuente: Sistema unico de información para la vigilancia epidemiologica.ISAPEG.

Los cambios en la susceptibilidad de la población, dentro de las modificaciones en el ambiente, podría justificar el aumento en la frecuencia de la enfermedad y el incremento en la frecuencia de personas que experimentan cuadros severos de su enfermedad<sup>55</sup>. Varios factores se han involucrado en el aumento de la frecuencia de enfermedades alérgicas de las vías respiratorias en la década pasada y la contribución de los contaminantes atmosféricos se han mencionado, destacando que tanto el material particulado así como la contaminación atmosférica derivada de gases provenientes como subproducto de la industrialización, han contribuido en la agudización de la enfermedad, la disminución en la función pulmonar e incremento en la mortalidad<sup>56, 57</sup>. Sin embargo a pesar de los datos experimentales, no es claro que la inhalación de contaminantes atmosféricos en concentraciones ambientales tengan efectos significativos sobre los marcadores de daño oxidativo, por lo que, el desarrollo de estudios epidemiológicos en poblaciones es importante para tratar de entender el impacto potencial de estos contaminantes sobre estos efectos a la salud.

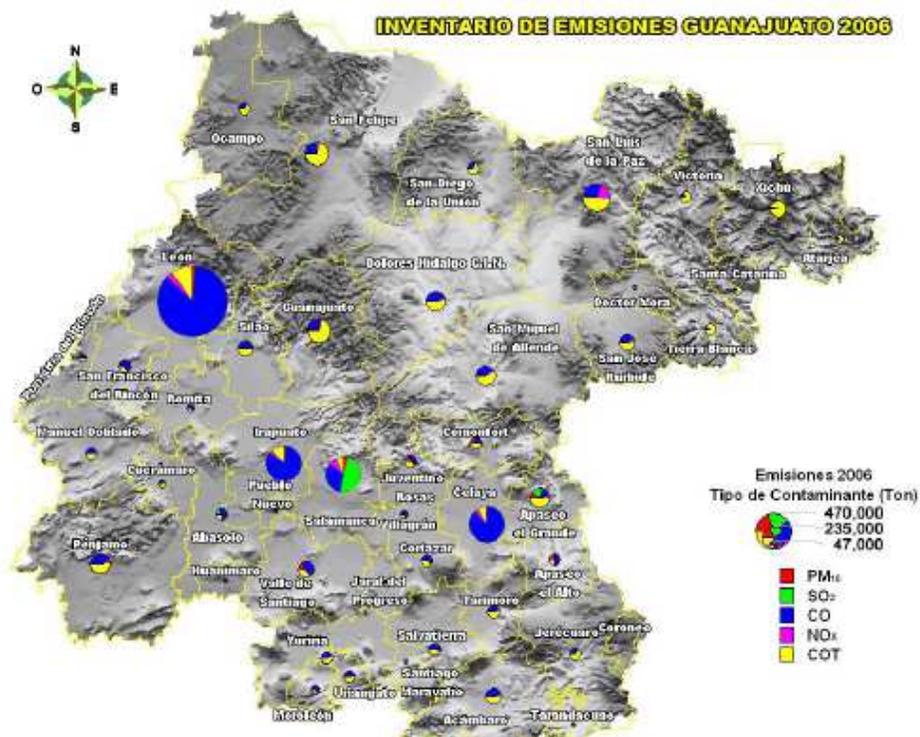
Se eligió las ciudades de Salamanca y León, zonas con mayor desarrollo, densidad de población e importancia económica en el Estado <sup>45</sup>(17) , donde el inventario de emisiones en Guanajuato 2006, informa que el contaminante emitido en mayor proporción es el monóxido de carbono, su contribución del 67.3% del total de los contaminantes y la principal fuente generadora es el transporte, representado por las fuentes móviles con el 96.7%, así como también genera el 60.2% de emisiones de óxidos de nitrógeno. Como se observa en la emisión total de contaminantes por toneladas anuales en el estado se observa que el municipio de León ocupa el primer lugar en aporte de contaminantes en la entidad. Gráfica 13.



**Gráfica 13** Inventario de emisiones por municipio.

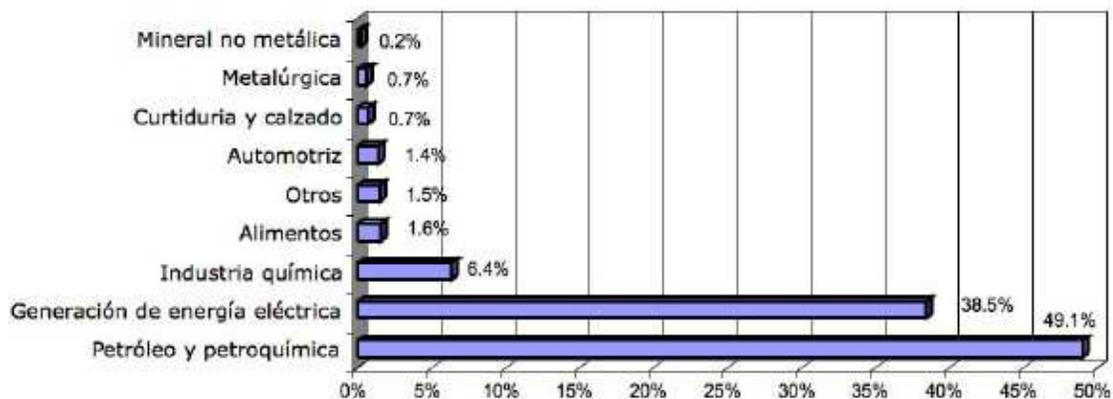
Fuente: Inventario de Emisiones Guanajuato 2006.IEE.

En la evaluación de las actividades productivas, como la industria del petróleo y petroquímica y la generación de energía eléctrica, se observa que son las que más aportan a las emisiones totales, con el 49.1% y el 38.5%, respectivamente, y estas industrias con mayor contribución se encuentran en el municipio de Salamanca Mapa 7, <sup>54</sup>(31). Esto también se puede observar en la Gráfica 14, Contribución total de contaminantes por sector.



**Mapa 7** Inventario de emisiones Guanajuato.  
Fuente: Inventario de emisiones de Guanajuato 2006. IEE.

Por las razones anteriores, es el interés de evaluar el efecto a la salud de la población vulnerable a la exposición de la contaminación atmosférica en este caso por una técnica novedosa y por medio de biomarcadores de daño oxidativo.



**Gráfica 14** Contribución total de contaminantes por sector.  
Fuente: Inventario de Emisiones Guanajuato 2006.IEE.

Es así que se realiza esta investigación donde se evaluará y analizará los biomarcadores de daño oxidativo y los contaminantes atmosféricos que nos permitan identificar el efecto de la exposición a partículas así como a otros contaminantes atmosféricos como el ozono (O<sub>3</sub>) y el bióxido de nitrógeno (NO<sub>2</sub>) que son contaminantes igualmente importantes. A nuestro conocimiento, el estudio propuesto es el primer estudio que evalúa los efectos de exposición a contaminantes atmosféricos por medio de biomarcadores de daño oxidativo en población infantil en la ciudades de León y Salamanca.

Por otro lado, si bien aunque hay un gran número de estudios realizados en animales y datos en humanos sobre exposición controlada a estos productos, el impacto de la exposición en concentraciones reales aun es controversial y la interpretación de estudios existentes es limitada ya que la mayoría han sido estudios transversales y ninguno de ellos se han enfocado principalmente a este tipo de marcadores. Además, ningún estudio epidemiológico en el presente ha tratado de evaluar mecanismos específicos que pueden esclarecer de una mejor manera las asociaciones entre los contaminantes atmosféricos y los posibles daños a la salud de las personas en estas ciudades. Los estudios que se han realizado entre los años 2002 a 2010, en el Estado de Guanajuato, con respecto al impacto de la contaminación son los siguientes, Tabla 8, 9 y 10.

**Tabla 8** Proyectos de investigación apoyados por el Concyteg<sup>58</sup>

Año	Nombre del proyecto	Responsable
2002	Impacto ambiental de la contaminación de la ciudad de Salamanca, Gto. sobre las fluctuaciones de las radiaciones solares que dañan la estructura del material genético.	Universidad de Guanajuato
2002	Enfermedades respiratorias agudas en niños de la ciudad de Salamanca, Gto., asociadas a PM <sub>10</sub> y contaminantes criterio (dióxido de azufre, de nitrógeno y monóxido de carbono).	Universidad de Guanajuato
2004	Desarrollo de procedimientos para Validar y Procesar la Información de la Red Estatal de Monitoreo de la Calidad del Aire.	Universidad de Guanajuato
2004	Contaminación ambiental en Salamanca y su impacto en los síntomas y función respiratoria en escolares.	IMSS
2005	Diseño de un módulo automático para la estimación del Índice de la Calidad del Aire para la Red de Monitoreo Ambiental de Salamanca, Gto.	Universidad de Guanajuato
2006	Impacto de las contingencias ambientales en Salamanca sobre la inflamación pulmonar en niños sanos y con enfermedad pulmonar.	Universidad de Guanajuato
2006	Desarrollo de prototipos de quemadores de gas para el sector ceramista y ladrillero para el estado de Guanajuato.	Universidad de Guanajuato

**Tabla 9** Proyectos apoyados por IEE<sup>59</sup>.

Año	Nombre del proyecto	Responsable
2005	Estudio de Modelación en Salamanca incluido dentro del proyecto "Fortalecimiento del Monitoreo Atmosférico en México"	INE-JICA-IEE
2006	Diseño de un módulo automático para la estimación del índice de la calidad del aire para la red de monitoreo ambiental de Salamanca	Universidad de Guanajuato
2006	Optimización del proceso de quemado de ladrillo	Universidad de Guanajuato
2006	Diagnóstico de presencia y rangos de ácidos sulfhídrico, mercaptanos, compuestos orgánicos persistentes, así como contaminantes criterio en la zona sureste de Salamanca, Gto.	INE-SEMARNAT-UAM-IEE

**Tabla 10** Proyectos Realizados en coordinación con la Secretaria de Salud de Guanajuato.2007-2010

ESTUDIO	TITULO	RESPONSABLE
2007-2009	Contaminación ambiental en Salamanca y su impacto en los síntomas y la función respiratoria en escolares	Benigno Linares Segovia, Juan Manuel Guízar, Norma Amador Licona, Alfonso García Vela, José Rogelio Pérez Padilla y Rocío Chapela Mendoza.
2007-2009	“Plomo, Vanadio y Manganeso como Biomarcadores de exposición ambiental en Niños de edad escolar.”	IBQ. Everardo Arredondo Guerrero. ISAPEG.
2008-2009	Función pulmonar y síntomas en escolares de cinco ciudades del corredor industrial de Guanajuato	Dr. Benigno Linares Segovia. Universidad de Guanajuato. UG.
2007-2009	Espirometrías en población ocupacionalmente expuesta a contaminación en Salamanca, Gto.	Ing. Paloma Robles Lacayo. ISAPEG.
2007-2010	Aductos de PAH-DNA y su asociación con PoliformismosCYP1A1 en mujeres embarazadas y recién nacidos expuestos a contaminantes atmosféricos en el Estado de Guanajuato.”IMUG	Dra. Herlinda Aguilar Zavala. Instituto de la Mujer de Guanajuato. IMUG.
2009-2010	Correlación entre diagnostico de enfermedades respiratorias y días declarados de Pre-contingencia ambiental en la ciudad de Salamanca, Gto.”UTL	Maestra Ana Laura Rodríguez Sotelo. Universidad Tecnológica de León. UTL.

De tal manera que las demandas específicas sobre el tema de contaminación del aire y salud, guían la prioridad de estos proyectos de investigación, centrándola en generar conocimiento sobre la dinámica del problema de contaminación presente en Salamanca.

Este estudio incluirá además a niños asmáticos, que son los que están en mayor riesgo de sufrir los efectos de la exposición a este tipo de contaminantes debido a sus condiciones de susceptibilidad propias de su enfermedad, así como al desarrollo de sus pulmones y a su actividad, ya que generalmente pasan mayor tiempo al aire libre en comparación con los adultos. Asimismo el diseño longitudinal del estudio permitirá evaluar de una mejor manera la presencia de los efectos en la salud y correlacionarlos con la exposición de contaminantes atmosféricos; proporcionando información útil que puede influir en la toma de decisiones y en el ámbito normativo o de asuntos de regulación ambiental, con el objeto de proteger contra riesgos a la población.

#### **4.1 El planteamiento del problema:**

Desde un marco de Salud ambiental donde comprende aspectos de la salud humana, incluyendo la calidad de vida, que está determinada por diversos factores como son los físicos, químicos, biológicos, sociales y psicológicos en el medio ambiente. De esta manera se trata de valorar, corregir, y controlar aquellos factores del medio ambiente que potencialmente puedan perjudicar a la salud de generaciones actuales y futuras (OMS, 1993)

El análisis de riesgo es una herramienta de apoyo para los tomadores de decisiones, compañías (industrias) y ciudadanos a identificar los contaminantes, las exposiciones y las fuentes de riesgos. Ya que el propósito del análisis de riesgo, es el de ayudar a los responsables de las áreas de Salud Pública a tomar decisiones informadas y efectivas basadas en evidencias con el fin de tener la posibilidad de un mejoramiento en la salud y el ambiente.

Desde esta perspectiva es importante realizar investigaciones sobre los efectos a la salud y la relación con exposición a contaminantes, en este caso las ciudades consideradas en este estudio León y Salamanca, Gto. como ciudades progresistas en las que se necesita tomar acciones de identificación de impacto a la salud de la población; se eligió a la población vulnerable, como es la infantil; para realizar el estudio de *“Efecto de la contaminación atmosférica en los niños de León y Salamanca, Gto. y su relación con el daño de estrés oxidativo”*

#### **4.2 Pregunta de investigación:**

¿Existe relación entre la exposición específica a contaminantes atmosféricos y el incremento del daño oxidativo y el decremento en la función pulmonar en la población infantil residente de las Ciudades de Salamanca y León, Gto?

#### **4.3 HIPOTESIS:**

El incremento de los biomarcadores de daño oxidativo y la disminución de la función pulmonar se asocia con la exposición a contaminantes atmosféricos en la población infantil residente de las Ciudades de Salamanca y León, Gto.

## **5. OBJETIVO:**

Evaluar el efecto de la contaminación atmosférica sobre los marcadores de daño oxidativo (biomarcadores plasmáticos) y la función pulmonar en niños residentes de las ciudades de Salamanca y León, Gto.

### **5.1. Objetivos específicos:**

- Determinar y evaluar los biomarcadores de daño oxidativo en niños asmáticos y no asmáticos residentes de estas ciudades.
- Evaluar el efecto de la contaminación atmosférica sobre la función pulmonar (espirometría) en esta población infantil.
- Determinar las emisiones de los contaminantes de aire atmosférico en las ciudades de Salamanca y León.
- Evaluar y determinar la exposición a contaminantes atmosféricos en cada uno de los niños.
- Evaluar la asociación entre la medición de los biomarcadores de daño oxidativo y función pulmonar y la exposición a contaminantes atmosféricos en esta población infantil.

## **6- METODOS**

### **6.1 Diseño de estudio:**

Se realizará un estudio longitudinal tipo panel para evaluar el efecto de la contaminación atmosférica en los niños residentes en León y Salamanca, Gto. mediante la medición de biomarcadores de daño oxidativo y función pulmonar. El periodo de seguimiento es de 12 meses. Fechas (Septiembre 2010 a Septiembre 2011). Cada cuatro meses se realizaran las mediciones en cuestión (pruebas de función pulmonar y medición de biomarcadores de daño oxidativo) (Figura 9)

La ventaja de este tipo de estudio es que permite valorar la evolución del efecto en el tiempo.

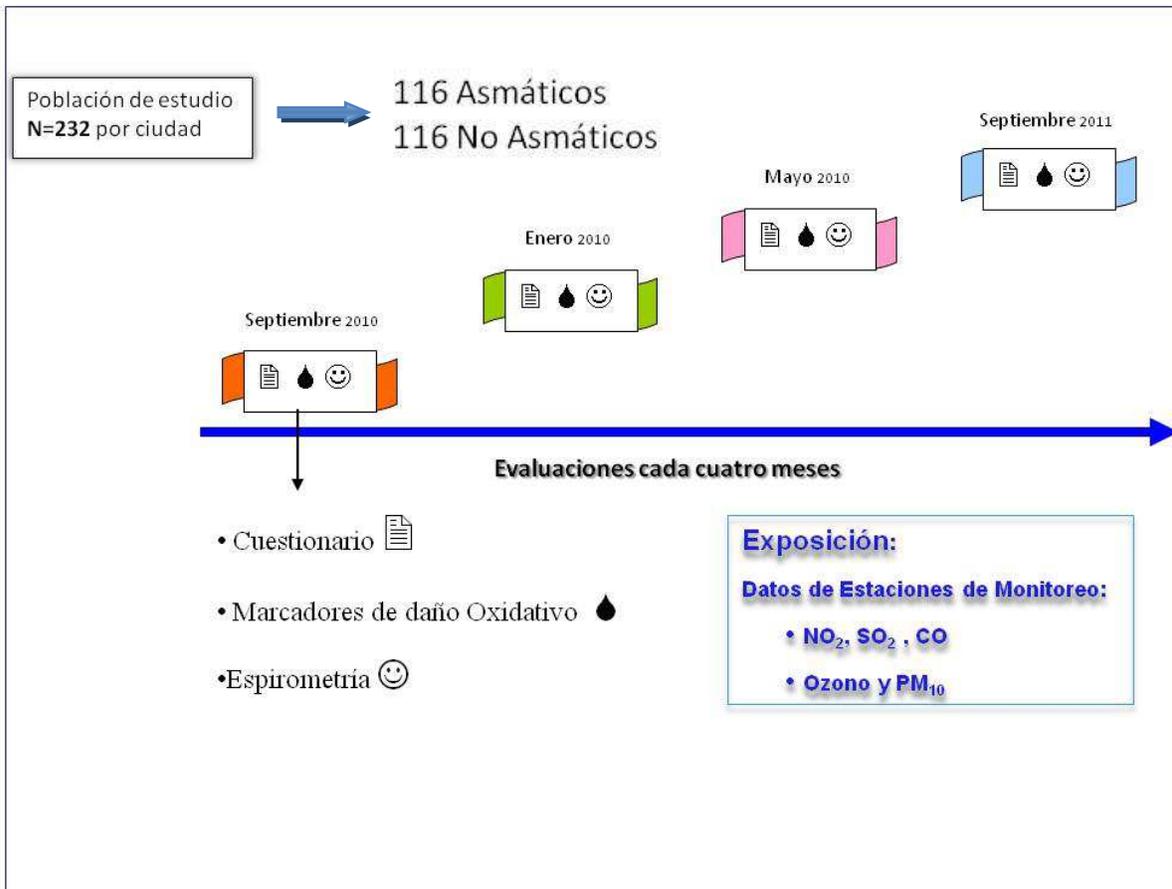


Figura 9

## 6.2 Población de estudio:

El tamaño de muestra considerado para el estudio será de 232 participantes por ciudad, 116 niños asmáticos y 116 niños no asmáticos.

Los niños serán seleccionados considerando una base de datos que contiene información sobre el total de niños asmáticos atendidos en Hospitales del sector Salud (IMSS; ISSSTE; PEMEX; SSG) y se seleccionaran de manera aleatoria en cada una de las ciudades. Para la selección de los niños no asmáticos, la muestra se realizará por conveniencia mediante la invitación directa del niño considerando

características similares de residencia y de exposición y se realizará en las escuelas de los asmáticos.

### **Calculo del tamaño de muestra:**

Por tratarse de un diseño longitudinal y las variables respuesta son de tipo continuo, utilizaremos como referencia el estudio realizado por Romieu et al 2008, para sustentar una diferencia mínima detectable en los niveles de malondialdehído como marcador de daño oxidativo en niños asmáticos. De esta manera y, siguiendo la recomendación de Diggle (1994) para el cálculo de tamaño de muestra a un nivel de significancia de 0.05 (utilizando prueba de dos vías) con un poder del 80% se seleccionarán a 116\* niños por grupo.

$$n = \frac{2(z_{\alpha} + z_{\beta})^2 \sigma_y^2}{\sigma_x^2 d^2}$$

**$Z_{\alpha}$  y  $Z_{\beta}$  = Cuantiles de distribución Gaussiana estándar.**

**$\sigma_x^2$  = Varianza de concentraciones de la exposición.**

**$\sigma_y^2$  = Varianza de concentraciones de MDA en el niño.**

**$d^2$  = Coeficiente de regresión que se asume entre niveles del contaminante y concentraciones de MDA en el niño escolar.**

**\*En el tamaño de muestra también se considero la factibilidad económica.**

### **6.3. CRITERIOS DE SELECCIÓN:**

#### *6.3.1. Criterio de inclusión:*

- Población infantil de ambos sexos.
- Con edad de 7 a 12 años.
- Tener residencia mínima de dos años en la ciudad (León, Salamanca).
- Si es asmático estar en listados de atención médica del sector Salud.
- No asmático ser de características similares de exposición al asmático.

#### *6.3.2. Criterios de exclusión:*

- Niños que no puedan llevar a cabo una espirometría.
- Niños con deformidades torácicas óseas de cualquier origen (Pectum excavatum, raquitismo y con antecedentes de cirugía cardíaca torácica).
- Niños con alteración en la compliance pulmonar: con fibrosis quística.
- Niños con cirugía reciente (ojos, tórax abdomen)
- Niños con taquicardia importante.
- Niños que no les permitan sus papas o tutores participar.

### **6.4 Mediciones (recolección de información):**

#### **6.4.1 Cuestionario de salud (Anexo 1):**

Cuestionario validado<sup>60</sup>

- Base de información general (datos antropométricos, socioeconómicos, vivienda, salud y estilos de vida, de exposición a contaminantes)

Se realizará proceso de respaldo en computadora.

#### 6.4.2 Biomarcadores de estrés oxidativo.

Los biomarcadores utilizados en este estudio son en daño a lípidos (Dienos conjugados, formación de hidroperóxidos, Malondialdehído), en proteínas (Carbonilación de proteínas) y capacidad antioxidante (Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1)). Estas técnicas se implementarán con la capacitación del Instituto Nacional de Perinatología “Isidro Espinosa de los Reyes” (INPerler) “ (Anexo 3) y se llevaran a cabo en el Laboratorio Estatal de Salud Pública del estado de Guanajuato (LaEsp).

Marcadores Plasmáticos de daño oxidativo y capacidad antioxidante que se determinaran, técnicas para marcadores en anexos<sup>44</sup> (39):

- ✓ *Cuantificación de la lipoperoxidación* (formación de malondialdehído, dienos conjugados y lipo-hidroperóxidos). El malondialdehído se medirá espectrofotométricamente usando metil-fenil-indol y ácido tiobarbitúrico como reactivos. Los dienos conjugados por el método espectrofotométrico, después de la extracción de lípidos, según el método de Richard y col. Los Lipo-hidroperóxidos, mediante el método iodométrico de El-Saadani y col.
  
- ✓ *Cuantificación de las alteraciones en las proteínas.* La carbonización de proteínas es uno de los marcadores de daño a proteínas más utilizados y se medirán por el método espectrofotométrico para la formación de fenilhidrazonas, de acuerdo a Dalle-Donne y mediante el método de reducción de NBT de Gieseg SP y cols.
  
- ✓ *Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1).*

Es una esterasa dependiente de calcio se le confiere propiedades antioxidantes sobre HDL para disminuir la acumulación de los productos de lipoperoxidación.

PON-1 es capaz de hidrolizar cierto número de sustratos, así como paraoxon y fenilacetato, peróxidos lipídicos colesteril éster hidroperóxido y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sin embargo, el sustrato fisiológico de PON-1 es desconocido.

Se sugiere que PON-1 está relacionado con el riesgo al daño coronario cardiaco

De acuerdo con los parámetros de validez interna, consideramos la Sensibilidad, que indica la probabilidad que tiene una prueba diagnóstica de dar resultados positivos,  $S = (VP + FN)$ . Y la Especificidad (E) que indica la probabilidad que tiene una prueba de dar resultados negativos entre los sujetos que no presentan el problema,  $E = VN/(VN+FP)$ , que como parámetros de validez interna de la prueba se controlaran para su estabilidad<sup>61</sup>. Tabla 11.

**Tabla 11**  
**Distribución para valorar la validez de una prueba diagnóstica**

		Criterio de verdad	
		+	-
Prueba	+	VP	FP
	-	FN	VN

VP, verdaderos positivos; VN, verdaderos negativos; FP, falsos positivos; FN, falsos negativos.

#### 6.4.3. Evaluación de Función pulmonar:

- Tipo de espirómetro
- Numero de mediciones.

- Control de calidad de las pruebas y supervisión

La prueba de espirometría forzada se llevará a cabo utilizando un equipo portátil ((Easy-uno, desde DDN, Technopark Zurich Switzerland). Este espirómetro portátil se ha utilizado en diferentes campos de estudio (GOLD). que llena los criterios de la Sociedad Americana de Tórax (ATS) 1994<sup>62</sup>, para diagnóstico. Este equipo integra criterios de aceptabilidad, reproducibilidad y calificación a técnicos, y tiene mensajes que facilitan la obtención de buenas espirometrías. Para su realización se apegará a las recomendaciones de la ATS, y se obtendrán los siguientes parámetros: capacidad vital forzada (FVC), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1), relación FEV1%/FVC y el flujo espiratorio máximo (PEFR). Se emplearán los valores de referencia de Hankinson y cols., para México-Americanos y de Pérez Padilla y cols., para niños mexicanos. Se considerará anormal la presencia de valores espirométricos por debajo de la percentila cinco del valor de referencia de acuerdo a la talla, el peso, el género y edad. El patrón obstructivo se definió como una disminución del FEV1 y del cociente FEV1%/FVC; el no obstructivo por disminución del FVC, sin cambio o con incremento (mayor a la 95) del cociente FEV1%/FVC; y el mixto en caso de disminución del FEV1 y de la FVC).

Técnica:

Posición adecuada: La prueba se hará en posición sentada con clips de nariz. Un máximo de ocho maniobras de espiración forzada se tratará de obtener tres maniobras aceptables de acuerdo a la American Thoracic Society criterios.

La base de la evaluación se hará de la función pulmonar (VEF1 específicamente, FVC, FEF25-75 y PEFR) y la prueba va a ser repetido por lo menos cada cuatro meses recomendado por ATS. Esta prueba se realizará por Doctor especializado. Si la prueba no tiene la calidad adecuada se repetirá la siguiente semana.

Se realizará supervisión de la calidad de las pruebas por semana esto permitirá estar en tiempo de repetirla.

#### **6.4.4. Contaminantes de Aire:**

Se obtendrán de las estaciones automatizadas de la red de monitoreo los niveles ambientales de ozono, dióxido de nitrógeno, dióxido de azufre, monóxido de carbono y de las variables climáticas

En León la red de monitoreo fija cuenta con tres estaciones, que forman parte de la Red Estatal de monitoreo, esta es coordinada y supervisada por el gobierno del estado a través del Instituto de Ecología (IEE), en esta ciudad opera la estación la Universidad Tecnológica de León (UTL). La ubicación de las estaciones de monitoreo se encuentran en: clínica IMSS T-21 (inició operaciones en abril del año 2006), CICEG (inició operaciones en el año 2005), Facultad de Medicina de la Universidad de Guanajuato (inició actividades en el segundo semestre del año 2007).

En la ciudad de Salamanca se cuenta actualmente con tres estaciones, estas forman parte de la Red Estatal, y son la estación de monitoreo Cruz Roja (ubicada en avenida Faja de Oro), estación de monitoreo Nativitas (ubicada en avenida Juárez 1198) y estación de monitoreo DIF (se localiza en calle Rosario Castellanos 104), cuenta también con una unidad móvil.

### **6.5 VARIABLES**

#### **6.5.1 VARIABLE DEPENDIENTE:**

Medición de los marcadores de estrés oxidativo y evaluación de la función pulmonar

Los biomarcadores de daño oxidativo que se evaluarán en este estudio son:

- ✓ Daño a lípidos (Dienos conjugados, formación de hidroperóxidos, y Malondialdehído)
- ✓ Daño a proteínas (Carbonilación de proteínas) y
- ✓ Capacidad antioxidante (Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1)).

### 6.5.2. VARIABLES INDEPENDIENTES:

- Antropométricas: peso, talla.
- Demográficas: Edad, genero, escolaridad, ingreso mensual, ocupación
- Práctica: horarios y lugar de juego, alimentación, costumbres.
- Estructurales: lugar donde habita, servicios con los que cuenta en la vivienda, distancia de avenidas principales y caminos sin pavimentar.
- De percepción: de riesgo, a la contaminación atmosférica.
- Datos de las Estaciones de Monitoreo de las ciudades de León y Salamanca, Gto.

**Tabla 12** Definición y descripción operacional de variables y unidades de medición

Variables Dependientes	Tipo	Escala	Descripción operacional	Índice	Fuente
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Dienes conjugados,</li> <li>• Formación de hidroperóxidos, y</li> <li>• Malondialdehido</li> </ul>	Continua	Discreta	Daño a lípidos	Adaptado Leve Moderada Severo	Resultado Laboratorio
Carbonilación de proteínas	Continua	Discreta	Daño a proteínas	Adaptado Leve Moderada Severo	Resultado Laboratorio
Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1)	Continua	Discreta	Capacidad antioxidante	Disminuido Basal Incrementado	Resultado Laboratorio
. Función Pulmonar	Continua	Continua	Evaluación de la función pulmonar	Normal disminuida	o Resultado espirometría

Variable Independientes	Tipo	Escala	Descripción operacional	Índice	Fuente
Escolaridad	Categórica	Ordinal	Escolaridad	Analfabeta, primaria, secundaria, preparatoria, técnico, profesional.	Encuesta
Ocupación	Categórica	Ordinal	Empleo actual	Obrero, campesino, comerciante, profesionista, técnico.	Encuesta
Tipo de vivienda actual	Categórica	Ordinal	Tipo de vivienda	Casa, apartamento, cuarto o local apartado, otros	Encuesta
Tipo de construcción	Categórica	Ordinal	Material de construcción	Ladrillo, madera, adobe, cartón, otros.	Encuesta
Edad	Continua	Discreta	Edad	1, 2, 3, 4, 5...	Encuesta
Sexo	Categórica	Nominal	Sexo	Masculino, femenino.	Encuesta
Estado civil	Categórica	Ordinal	Estado civil	Casado, soltero, viudo, divorciado, unión libre.	Encuesta
Tipo de combustible	Categórica	Ordinal	Combustible utilizado	Gas, leña, petróleo, carbón.	Encuesta
Salario	Categórica	Ordinal	Salario	Menor al mínimo	Encuesta
Afiliación a servicios de salud	Categórica	Ordinal	Utilización de los servicios de Salud.	IMSS, ISSSTE, Seguro Popular, Oportunidades.	Encuesta

Variable Independientes	Tipo	Escala	Descripción operacional	Índice	Fuente
Embarazos	Continua	Discreta	Número de embarazos	1, 2, 3, 4, 5...	Encuesta
Higiene	Categórica	Ordinal	Higiene	Buena, mala	Encuesta
Consumo de agua	Categórica	Ordinal	Consumo de Agua.	Hervida, clorada, purificada, otra	Encuesta
Medicina Tradicional	Categórica	Ordinal	Utilización de medicina tradicional	Curandero, huesero, boticario, yerbero.	Encuesta
Diabetes	Categórica	Nominal	Diabetes.	Si, no.	Encuesta
Hipertensión	Categórica	Nominal	Hipertensión	Si, no.	Encuesta
Obesidad	Categórica	Nominal	Obesidad	Si, no.	Encuesta
Tosedor	Categórica	Nominal	Tosedor	Si, no.	Encuesta
Pérdida de peso	Categórica	Nominal	Pérdida de peso	Si, no.	Encuesta
Aumento de peso	Categórica	Nominal	Aumento de peso	Si, no.	Encuesta
Alcoholismo	Categórica	Nominal	Alcoholismo	Si, no.	Encuesta
Religión	Categórica	Ordinal	Religión profesada	Católica, cristiana, testigo de Jehová, otra.	Encuesta
Hacinamiento	Categórica	Nominal	Hacinamiento	Si, no.	Encuesta
Convivencia con animales domésticos	Categórica	Ordinal	Convive con animales	Perros, gatos, otros.	Encuesta
Disposición de basura	Categórica	Ordinal	Disposición de basura	Red municipal, enterramiento incineración, tiradero, otros.	Encuesta
Calles sin pavimentar	Categórica	Nominal	Calles sin pavimentar	Si, no.	Encuesta
Renuencia a la vacunación	Categórica	Nominal	Renuente a vacunación	Si, no.	Encuesta

<b>Variable Independientes</b>	<b>Tipo</b>	<b>Escala</b>	<b>Descripción operacional</b>	<b>Índice</b>	<b>Fuente</b>
Fármaco-dependencias	Categórica	Nominal	Farmacodependencias.	Si, no.	Encuesta
Tabaquismo	Categórica	Nominal	Tabaquismo.	Si, no.	Encuesta
Migración	Categórica	Nominal	Migración	Si, no.	Encuesta
Esquema básico de inmunizaciones <1 año	Categórica	Nominal	Vacunación menores de 1 año	Si, no.	Encuesta
Esquema básico de inmunizaciones 1 a 4 años	Categórica	Nominal	Vacunación 1-4 años	Si, no.	Encuesta
Esquema básico de inmunizaciones en pacientes de la tercera edad.	Categórica	Nominal	Vacunación >60 años	Si, no.	Encuesta
Madre capacitada manejo en el hogar de IRA'S	Categórica	Nominal	Capacitación en manejo de IRA's	Si, no.	Encuesta
Madre capacitada manejo en el hogar de EDA'S	Categórica	Nominal	Capacitación en manejo de EDA's	Si, no.	Encuesta
Madre capacitada manejo Lactancia	Categórica	Nominal	Capacitación en lactancia	Si, no.	Encuesta
Madre capacitada manejo Nutrición	Categórica	Nominal	Capacitación en nutrición	Si, no.	Encuesta
Protección antitetánica en M.E.F.	Categórica	Nominal	Vacunación antitetánica.	Si, no.	Encuesta

### 6.5.3. VARIABLES DE CONFUSION

Alguna enfermedad que no se haya detectado al inicio de la investigación o que realice o este expuesto a una actividad que aumente su daño oxidativo, como mayor tiempo de juego al aire libre en piso de tierra, exposición al humo de cigarro, consumo de combustibles orgánicos, uso de leña dentro del hogar.

Cuando se intenta controlar varios factores de confusión en un estudio, es necesario controlarlos todos a la vez. Uno de los principios en epidemiología para poder controlar adecuadamente es la medición correcta de las variables. La imprecisión que resulta de ellas puede causar distorsiones importantes.

## 6.6 ANALISIS ESTADISTICO

Por tratarse de datos longitudinales y mediciones no independientes se analizaran usando modelos lineales de efectos mixtos para variables respuesta continua. La estructura de correlación se explorará, y la asociación entre resultados de los biomarcadores de daño oxidativo y la función pulmonar y los niveles de contaminantes atmosféricos en especial material particulado PM<sub>10</sub> se realizará por medio de Modelos para evaluar el efecto individual de cada de cada contaminante a través de modelos separados y también se evaluara el efecto de los contaminantes a través de modelos que incluyan más de un contaminante, ajustando por confusores potenciales, variables climatológicas y factores de exposición intra-domiciliarios.

## 6.7. LIMITACIONES

- Pérdida de participantes por abandono del estudio.
- Pérdida de muestra en el seguimiento de espirometrías.
- Pérdida de muestras por hemolisis, en la toma de la muestra.
- Problemas en el monitoreo ambiental por caída del sistema.

## **7. CONSIDERACIONES ETICAS**

En este estudio todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el “Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud”. Título 1º, capítulo único, Art. 3, fracc. I V, Capítulo I, Art. 13, 17, fracc. II, 18, 21, 22, Capítulo III, Art, 34, 39 fracc. I. <sup>36</sup>(25)

Este estudio comprende el desarrollo de acciones que contribuyen al conocimiento y evaluación de los efectos nocivos del ambiente en la salud.

En el desarrollo del estudio predomina el criterio del respeto a la dignidad y la protección al sujeto de estudio además de sus derechos y bienestar. Al padre o tutor del niño se le proporcionara información clara y completa, con objeto de que comprenda el objetivo del estudio de investigación y se solicitará por escrito su consentimiento de participación durante todo el estudio. Así mismo se le informa que en el momento en que se desee podrá retirarse del estudio.

Se respetara la confidencialidad de los datos, donde ninguno de los participantes en el estudio será identificado por su nombre en cualquier informe producto del estudio y todos los resultados de las pruebas serán confidenciales.

Cumpliendo así este estudio con los tres principios éticos: Respeto a las personas, de Beneficencia y de Justicia.

## **8. FINANCIAMIENTO:**

El financiamiento será por parte de Instituto de Salud Pública del Estado de Guanajuato (ISAPEG) con recursos presupuestales del Proyecto de Inversión K985 denominado “Investigación de daños a la salud en Salamanca”. Esto será por medio de un convenio de colaboración (Anexo 4 ), en donde se establecen las bases de colaboración entre las instituciones participantes, donde se formaliza la relación académica de capacitación, asesoría y asignación de recursos para la realización del estudio de investigación “Efecto de la contaminación atmosférica en los niños de León y Salamanca, Gto. y su relación con el daño oxidativo”.

## ANEXO B PRESUPUESTO

### EFECTO DE LA CONTAMINACION ATMOSFERICA EN LOS NIÑOS DE SALAMANCA Y LEON, GTO. Y SU RELACION CON EL DAÑO DE ESTRÉS OXIDATIVO

(Guanajuato , México)

**RESPONSABLE: Instituto de Salud Pública del Estado de Guanajuato**

FEBRERO 2010

PESOS MEXICANOS

#### Recursos humanos

Función	Meses/grupos	Salario/mes	Fondo
<b>ASESORES</b>			
Responsable técnico del estudio. Dr. Juan José Hicks Gómez. INPerIER	10	\$9,450.00	<b>\$94,500.00</b>
Coordinador y profesor para las técnicas de biomarcadores en el ISAPEG. M en C. Yessica Dorin Torres Ramos. INPerIER.	10	\$8,925.00	<b>\$89,250.00</b>
Evaluador del control de calidad de los ensayos del ISAPEG. Investigador INPerIER. Dr. Alberto Martín Guzmán Grenfell	10	\$6,300.00	<b>\$63,000.00</b>
Análisis e interpretación de resultados. Biol. Nayeli Goreti Nieto	10	\$5,250.00	<b>\$52,500.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$299,250.00</b>

#### Supervisión

Concepto	Días/Cantidad	Monto diario	Fondo
Evaluación Técnica (Reactivos laboratorio)	1	\$33,180.00	<b>\$33,180.00</b>
Viáticos (alimentos y hospedaje) investigadores. INPerIER.	25	\$945.00	<b>\$23,625.00</b>
Transporte (ida y vuelta) para investigadores. INPerIER. 12 viajes de 5 días	12	\$3,255.00	<b>\$39,060.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$95,865.00</b>

#### Productos

Concepto	Cantidad	Monto	Fondo
Actividades, publicaciones y materiales. INPerIER.	1	\$25,515.00	<b>\$25,515.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$25,515.00</b>
<b>INPerIER Total</b>			<b>\$420,630.00</b>

PERSONAL DE CAMPO	meses	Monto	Fondo
Técnico laboratorista (LESP)	12	\$8,925.00	<b>\$107,100.00</b>
Químico (LESP)	12	\$12,600.00	<b>\$151,200.00</b>
Médico para toma de espirometrias	4	\$12,600.00	<b>\$50,400.00</b>
Médico para toma de espirometrias	4	\$12,600.00	<b>\$50,400.00</b>
Entrevistador/técnico de campo	6	\$8,925.00	<b>\$53,550.00</b>
Entrevistador/técnico de campo	6	\$8,925.00	<b>\$53,550.00</b>
Entrevistador/técnico de campo	6	\$8,925.00	<b>\$53,550.00</b>
Chofer	4	\$6,825.00	<b>\$27,300.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$547,050.00</b>

PERSONAL DE CAMPO	meses	Monto	Fondo
Investigador INSP. Horacio Riojas Rodríguez.	10	\$9,450.00	<b>\$94,500.00</b>
Investigador INSP. Dr. Albino Barrasa Villareal.	10	\$8,925.00	<b>\$89,250.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$183,750.00</b>

#### Trabajo de campo

Concepto	Meses/Cantidad	Monto mensual	Fondo
Consumibles (papelería, copias, correo, toner, revelado, etc.)	14	\$1,050.00	<b>\$14,700.00</b>
Consumibles (papelería, copias, correo, toner, revelado, etc.)	1	\$3,150.00	<b>\$3,150.00</b>
Comunicación con personal de campo (teléfono)	12	\$525.00	<b>\$6,300.00</b>
Cuestionarios (impresión)	12	\$1,050.00	<b>\$12,600.00</b>
Movimiento de vehículo (gasolina 750 semanal*4)	8	\$3,150.00	<b>\$25,200.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$61,950.00</b>

#### Supervisión

Concepto	Días/Cantidad	Monto diario	Fondo
Viáticos (alimentos y hospedaje) investigadores. INSP.	25	\$945.00	<b>\$23,625.00</b>
Transporte (ida y vuelta) para investigadores. INSP. 10 viajes de 5 días	12	\$3,255.00	<b>\$39,060.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$62,685.00</b>

#### Productos

Concepto	Cantidad	Monto	Fondo
Publicación artículos. ISAPEG.	1	\$24,885.00	<b>\$24,885.00</b>
<b>Subtotal</b>			<b>\$24,885.00</b>

<b>ISAPEG</b>	<b>Total</b>	<b>\$880,320.00</b>
<b>Gran Total</b>		<b>\$1,300,950.00</b>

**9. CRONOGRAMA:**

La realización de la investigación será de julio de 2010 a diciembre del 2011.

## ANEXO A

### CRONOGRAMA

Actividad	2010						2011												
	semestre I						Semestre II						Semestre III						
	J	A	S	O	N	D	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	
Protocolo de investigación	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	
Definición de la muestra	■	■	■																
Capacitación para recopilar los datos		■				■				■									
Coordinación, evaluación y seguimiето	■	■	■			■	■				■	■		■	■		■		
Recopilar los datos, muestra de sangre, espirometría, cuestionario			■				■					■				■			
Determinación de biomarcadores				■	■		■	■				■	■			■	■		
Reunión de comité Técnico		■	■			■	■			■	■			■	■		■	■	
Analizar los resultados								■	■				■	■			■	■	■
Presentación de resultados																		■	

## 11. Glosario

EROs o ROS.: especies reactivas del oxígeno.

EPOC. Enfermedad crónica obstructiva del pulmón.

ROS: especies reactivas de oxígeno.

DEPs: partículas de escape diesel.

t/a: toneladas anuales.

$\text{NO}^\bullet$  Óxido nítrico

$\text{HO}^\bullet$  Radical Hidroxilo

$^1\text{O}_2^*$  Singulete de oxígeno

ENOS Especies reactivas de óxidos de nitrógeno

CAT Catalasa

DNPH 2,4-Dinitrofenilhidrazina

ERO Especies reactivas de oxígeno

GOLD Iniciativa global para la enfermedad pulmonar obstructiva crónica

GSH Glutation reducido

GSH-Px Glutation Peroxidasa

$\text{H}_2\text{O}_2$  Peróxido de Hidrógeno

TBA Ácido tiobarbitúrico

$\text{O}_2^{\bullet-}$  Anión superóxido

$\text{ONOO}^-$  Peroxinitrito

MDA	Malondialdehído
PON-1	Paraoxonasa.
RL	Radicales Libres
BHT	Hidroxitolueno butilado
SOD	Superóxido Dismutasa
TCA	Ácido tricloroacético
LPx	Lipoperoxidación
PCR	Proteína C reactiva
CRAT	Compuestos reactivos al ácido tiobarbitúrico.
FEV <sub>1</sub>	Volumen espiratorio forzado en el primer segundo
FVC	Capacidad vital forzada
S5P8	Solución 5mM pH 8.0
EPOC	Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica

# 11. ANEXOS

# **ANEXO 1**

## **Técnicas para Biomarcadores**

## **Técnicas para biomarcadores.**

**Metodología comprometida para implementarse en los laboratorios del ISAPEG  
Marcadores Plasmáticos de daño oxidativo y capacidad antioxidante.**

### **DAÑO A LIPIDOS**

- Dienes Conjugados
- Formación de hidroperóxidos
- Malondialdehído

### **DAÑO A PROTEÍNAS**

- Carbonilación de proteínas

### **CAPACIDAD ANTIOXIDANTE**

- Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1)

**Cuantificación de la lipoperoxidación (formación de malondialdehído, dienos conjugados y lipo-hidroperóxidos).** El malondialdehído se medirá espectrofotométricamente usando metil-fenil-indol y ácido tiobarbitúrico como reactivos. Los dienos conjugados por el método espectrofotométrico, después de la extracción de lípidos, según el método de Richard y col. Los Lipo-hidroperóxidos, mediante el método iodométrico de El-Saadani y col.

**Cuantificación de las alteraciones en las proteínas.** La carbonización de proteínas es uno de los marcadores de daño a proteínas más utilizados y se medirán por el método espectrofotométrico para la formación de fenilhidrazonas, de acuerdo a Dalle-Done y mediante el método de reducción de NBT de Giese SP y cols.

#### **Actividad enzimática de Paraoxonasa (PON-1)**

Es una esterasa dependiente de calcio se le confiere propiedades antioxidantes sobre HDL para disminuir la acumulación de los productos de lipoperoxidación.

PON-1 es capaz de hidrolizar cierto número de sustratos, así como paraoxon y fenilacetato, peróxidos lipídicos colesteril éster hidroperóxido y  $H_2O_2$ , sin embargo, el sustrato fisiológico de PON-1 es desconocido.

Se sugiere que PON-1 esta relacionado con el riesgo al daño coronario cardiaco

## CURVA ESTÁNDAR DE LIPOHIDROPEROXIDOS CON TERBUTILHIDROPEROXIDO

### Ter-butilhidroperoxido

PM= 90.12 g/mol

[10mM]

5 $\mu$ L en un  $V_F$  de 1000  $\mu$ L = [0.05mM]

10 $\mu$ L [0.10mM]

15 $\mu$ L [0.15mM]

20 $\mu$ L [0.20mM]

25 $\mu$ L [0.25mM]

30 $\mu$ L [ 0.3 mM]

Frasco tiene una [5.5M = [5500mM]

5500mM = 550 = 1:550

10mM

1:549

9.10 $\mu$ L: 5000  $\mu$ L

**Tomar 9.10  $\mu$ L y aforar con H<sub>2</sub>O a 5mL**

**KI [1M]**

300  $\mu$ L en un  $V_F$  de 1000  $\mu$ L = [0.3M]

PM= 166.01

166.01 — 1.0M — 1000mL

4.150g ————— 25mL

8.300g ————— 50mL

Buffer de Fosfatos pH 7.4 [50mM]	Ter-butilhidroperoxido [10mM]	KI [1M]	Kit
200	-----	300	500
195	5	300	500
190	10	300	500
185	15	300	500
180	20	300	500
175	25	300	500
170	30	300	500



☺ Incubar 30' a obscuras

Leer a 360nm

## DETERMINACIÓN DE HIDROPEROXIDOS EN PLASMA.

A spectrophotometric assay for lipid peroxides in serum lipoproteins using a commercially available reagent. M. El Saadani, H Esterbauer, M El-Sayed, M-Galter. A.Y Nassar and G.Jurgens. Journal of lipid Research 30: 627-630. 1989.

Reactivo "M" comercial de Merck, cat.nom 14106

Potassium phosphate, pH 6.2	0.2M
Potassium iodide	0.12M
Sodium azide	0.15mM
Polyenthlenglicol mono [p-(1,1',3,3'-tetramethyl-butyl)phenyl]ether	2g/L
Alkylbenzyltrimethylammonium chloride	0.1g/L
Ammonium molybdate	10µM

### **KI [1M]**

PM= 166.01

166.01 — 1.0M — 1000mL

4.150g ————— 25mL

8.300g ————— 50mL

### Procedimiento:

Se utilizan 30  $\mu$ L de plasma + 480  $\mu$ L del reactivo M + 500  $\mu$ L de KI [1M]

Incubar 30' a T.A a oscuras

Leer a 360nm, cuidar de la luz.

Calibrar con el reactivo M + KI

La concentración de lipohidroperoxidos se calcula por el factor de la curva st de terbutil hidroperoxido.

**TÉCNICA PARA LA DETERMINACIÓN DE MDA POR EL MÉTODO DE  
1-METHYL-2-PHENYLINDOLE**

**SOLUCIONES**

**Tetraetoxipropano (TEP) [50 nmoles/mL]**

PM = 220.3, >95%

D= 0.92 g/mL

4.1M ( 4.1  $\mu$ moles/ $\mu$ L )

**Tomar 61  $\mu$ L (250  $\mu$ moles) y disolver en 50  $\mu$ L de H<sub>2</sub>O = solución 1 = [5  $\mu$ L/mL]**

Agitar vigorosamente

Realizar una dilución 1:100 de la sol. 1

0.5 mL : 50mL H<sub>2</sub>O = [50 nmol/mL]

**1-Methyl-2-phenylindole (MPI) [15mM]**

PM = 207.3

207.3g —1000mM

3.109 —15Mm —1000mL

0.06218 g ————— 20 mL en acetonitrilo-metanol

**Acetonitrilo-Metanol 3:1**

45 mL de acetonitrilo + 15 mL de metanol

Tubo	TEP [50 nmol/mL]	H <sub>2</sub> O	MPI [15Mm]	HCl 37%
------	---------------------	------------------	---------------	------------

0	-----	200	650	150
1	10	190	650	150
2	20	180	650	150
3	50	150	650	150
4	100	100	650	150
5	200	-----	650	150
	μL	μL	μL	μL

Tapar con papel parafilm y agitar

Incubar 40' a 45° C

Dejar enfriar 5 min (muy importante para desarrollar color)

Agitar

Leer a 584 nm

$$\epsilon_{586 \text{ nm}} = 110 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

Tubo	Buffer de fosfatos [50mM] pH 7.4	Plasma	MPI [15Mm]	HCl 37%
B	200	-----	650	150
P	150	50	650	150

Mismo procedimiento hasta agitar.

Centrifugar 10,000 rpm durante 5 minutos.

Leer a 584 nm.

## DIENOS CONJUGADOS

Richard O. Recknagel and A. Glende, JR. Spectrophotometric detection of lipid conjugated dienes. Methods in enzymology, vol. 105. 331-335, 1984.

### Reactivos

Mezcla de cloroformo:metanol (2:1)

Corriente de nitrógeno (cromatográfico (99.998%))

Ciclohexano

### Procedimiento

Plasma	H <sub>2</sub> O	Clorof:metanol
50µL	170µL	1300 µL

Mezclar en el vortex durante 2 minutos

Centrifugar a 4000rpm durante 10 minutos a 20°

Tomar 500  $\mu\text{L}$  de la fase orgánica, sin tocar la capa amarilla

Evaporar a sequedad (calentar a 37°C en la campana) en corriente de nitrógeno

Resuspender en ciclohexano, mantener los tubos tapados y a oscuras

Se determina la absorbancia a 234nm utilizando para los cálculos un coeficiente de extinción molar de  $\epsilon = 2.7 \times 10^4 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ . (Prior y Castle, 1984)

## CARBONILACIÓN DE PROTEÍNAS

### REACTIVOS

#### **DNP 10mM EN HCl 2.5M**

2,4-dinitrofenilhidrazina PM = 198.1

198.1g — 1000mM

1.98g — 10mM — 1000ml

0.495g — 250ml

#### **HCl 2.5M**

36.46g — 1.0M

91.15g — 2.5M — 1000ml

37g — 100ml

91.15g — 246.35 ml

246.35 ml — 1000ml

61.58 ml — 250 ml

### **GUANIDINA HIDROCLORADA 6M EN FOSFATO DE POTASIO 20mM pH 2.3**

PM= 95.53g

95.53g — 1.0M

91.15g — 6.0M — 1000ml

143.38g — 250 ml

### **FOSFATO DE POTASIO 20mM**

PM= 136.09

136.09 g — 1000mM

2.72g — 20mM — 1000ml

0.68g — 250ml

### **ACIDO TRICLOROACETICO AL 20 % Y AL 10%**

20g — 100ml

50g — 250ml

### **SOLUCIÓN DE EXTRACCIÓN ACETATO DE ETILO-ETANOL**

acetato de etilo : etanol 1 : 1

TUBO	PLASMA ( $\mu\text{L}$ )	DNPH 10 M ( $\mu\text{L}$ )	HCl 2.5 M ( $\mu\text{L}$ )
BLANCO	100/50	-----	1000/500
PROBLEMA	100/50	1000/500	-----

## PROCEDIMIENTO

- 1.- Incubar 1 hora a obscuras, agitando cada 15 minutos.
- 2.- Agregar 1 mL (500 $\mu\text{L}$ ) de TCA al 20%,
- 3.- Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm.
- 4.- Tirar el sobrenadante, dejando únicamente la pastilla.
- 5.- Agregar 1 MI (500 $\mu\text{L}$ ) de TCA al 10% y disolver la pastilla.
- 6.- Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm
- 7.- Tirar el sobrenadante, dejando únicamente la pastilla
- 8.- Agregar 3 mL (1.5mL) de la solución de extracción etanol-acetato de etilo y disolver la pastilla
- 9.- Centrifugar 5 minutos a 3000 rpm
- 10.- Retirar el sobrenadante y secar perfectamente las pastillas.
- 11.- Disolver la pastilla en 1 ml (500 $\mu\text{L}$ ) de Guanidina
- 12.- Incubar 10 min a 37° C.
- 13.- Leer a 370 nm, utilizando, guanidina para calibrar.

## DETERMINACIÓN DE PESO SECO

Bernal, A., Méndez, J.D. Rosado, A. (1981). Determinación rápida del peso por colorimetría. Arch. Invest. Med. México, 12, pp. 83-88.

Este método se basa en la oxidación de la materia orgánica por el dicromato de potasio en una solución fuertemente ácida.

### Reactivos

Solución estándar de manitol: 0.02g en 10mL de agua destilada.

Dicromato de potasio ( $K_2Cr_2O_7$ ) al 2% en  $[H_2SO_4]$

### Curva estándar

TUBO	MANITOL		H <sub>2</sub> O (μL)	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> O <sub>7</sub> (mL)
	μL	mg		
B	-----		500	1000
1	50	0.1	450	1000
2	100	0.2	400	1000
3	150	0.3	350	1000
4	200	0.4	300	1000
5	250	0.5	250	1000

Los tubos se colocaran en hielo para agregarles el dicromato de potasio, se agitan con cuidado manteniéndolos en el hielo para evitar que se sobrecaliente la mezcla.

Posteriormente los tubos se colocan en baño maria durante 20'.

Se enfrían los tubos y se lee a 660 nm.

### PLASMA

Se realiza una dilución de 1:100 del plasma, de esta dilución se toman 500  $\mu$ L y se le agrega el mL de dicromato, se sigue el procedimiento señalado anteriormente.

Para realizar los cálculos es utilizado el factor obtenido de la curva de calibración que es de **1.6**

## PROTEINAS POR EL MÉTODO DE LOWRY

### Reactivos

**A)** Solución de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 2% y tartrato de sodio y potasio al 0.02% en NaOH 0.1N.  
 $\text{Na}_2\text{CO}_3$

2g —100mL

10g —500mL

Tartrato de sodio y potasio

0.02g —100mL

0.10g —500mL

NaOH

40g —1N

4.0g —0.1N —1000mL

2.0g — 500mL

**B)** Solución de  $\text{CuSO}_4$  al 0.5% en agua destilada.

0.5g — 100mL

1.25g —250mL

**C)** Solución cupro-alkalina, 50 ml de la solución A con 1ml de la solución B. *Se prepara al momento de usarse.*

**D)** Reactivo de Folin-Ciocalteu. Diluido en una proporción 1:1 en agua destilada.

**E)** Solución estándar. Albúmina bovina 0.3 mg en 1 ml de agua destilada.

**CURVA ESTANDAR**

TUBO	ASB ( $\mu$ l) - [ ]	H <sub>2</sub> O ( $\mu$ l)	SOL. C (mL)	SOL. D ( $\mu$ l)
0	---- ----	250	1.0	100
1	50----0.015	200	1.0	100
2	100—0.03	150	1.0	100
3	150—0.045	100	1.0	100
4	200—0.06	50	1.0	100
5	250—0.075	-----	1.0	100

\*

\*\*

\* Mezclar e incubar 10 minutos a T.A.

\*\* Mezclar e incubar 45 minutos a T.A.

Leer a 550nm

### Método

El plasma se diluye **1:100** con agua bidestilada, (10µl plasma + 990µl H<sub>2</sub>O)

TUBO	PLASMA (µl)	H <sub>2</sub> O (µl)	SOL. C (mL)	SOL. D (µl)
CALIBRAR	----	250	1.0	100
PROBLEMA	100	150	1.0	100
STANDAR	100	150	1.0	100

\*

\*\*

\* Mezclar e incubar 10 minutos a T.A.

\*\* Mezclar e incubar 45 minutos a T.A.

Leer a 550nm.

### **CURVA ESTANDAR**

[mg proteína]	As	As'	Media
0	0	0	0

0.015	0.11	0.11	0.11
0.03	0.233	0.23	0.2315
0.045	0.352	0.349	0.3505
0.06	0.454	0.452	0.453
0.075	0.527	0.541	0.534
$\Sigma=0.225$			$\Sigma=1.679$

$$\text{FACTOR} = \frac{0.225}{1.679} = \mathbf{0.1340}$$

Cálculos (plasma)

$$0.534(\text{As}) \times 0.1340(\text{Factor}) = 0.0715 \times 100(\text{F.D}) = 7.15 \times 10(\text{mL})$$

## TÉCNICA DE PARAOXONASA

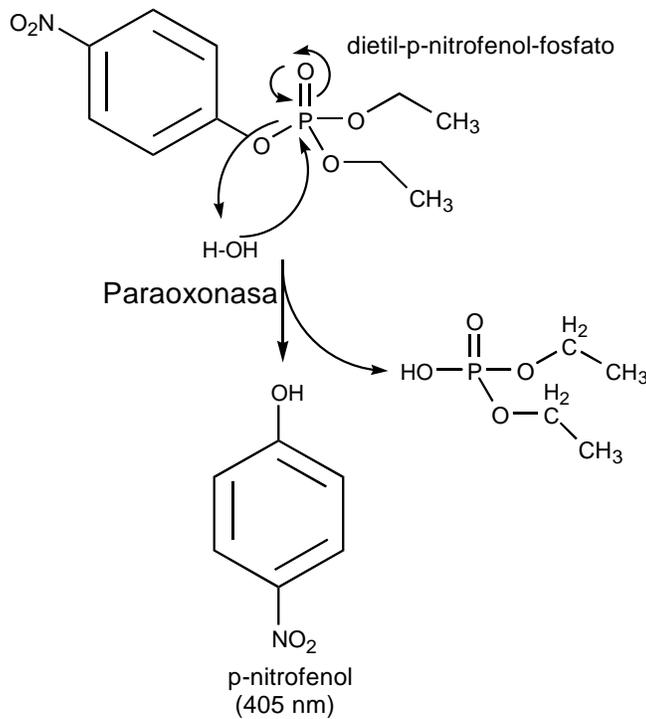
Diethyl-p-nitrophenyl phosphate (paraoxon) – 90%

Phosphoric acid diethyl 4 nitrophenyl ester;

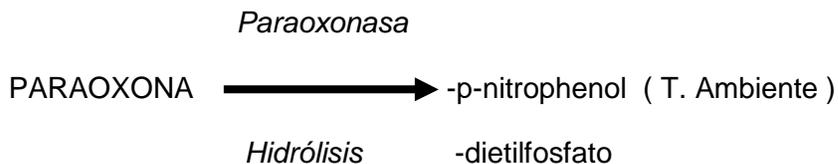
Diethyl p-nitrophenyl phosphate; phosphacol;

$C_{10}H_{14}NO_6P$  PM 275.19

Precaución; inhibidor de colinesterasas



## REACCIÓN



### Paraoxonasa (PON-1)

Es una esterasa dependiente de calcio se le confiere propiedades antioxidantes sobre HDL para disminuir la acumulación de los productos de lipoperoxidación.

PON-1 es capaz de hidrolizar cierto número de sustratos, así como paraoxon y fenilacetato, peróxidos lipídicos colesteril éster hidroperóxido y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, sin embargo, el sustrato fisiológico de PON-1 es desconocido.

Se sugiere que PON-1 esta relacionado con el riesgo al daño coronario cardiaco

### Paraoxonasa aryldialkyl fosfatasa

- Sintetizada por el hígado
- Su actividad depende del polimorfismo (cambió en un aminoácido en el sitio activo de la enzima)
- Esta en HDL, su sitio de acción previene las modificaciones oxidativas de LDL *in vitro*.

### REACTIVOS Y SUS CONCENTRACIONES

Paraoxon	2.5 mM	} <b>P</b>
CaCl <sub>2</sub>	1.9mM	} <b>TCN</b>
Tris HCl pH 8.5	90mM	
NaCl	3.6 mM	

### INCUBAR EL PLASMA CON ESERINA:

Eserina  $5 \times 10^{-6}$  mol/L durante diez minutos para inhibir la butilnesterasa (arteriosclerosis, Trombosis an vascular Biology 1995;15:1812-1818.). Preparar en Eppendorf café por que se pone roja al contacto con la luz.

Eserina PM 275.35

Concentrar 300 veces más, entonces:  $5 \times 300 = 1.500$ , preparar eserina 1mM

275.35 g 1M 1L

275.35 mg 1mM 1L

0.275 mg en 1 ml

1.1mg/ml 4mM

0.0011g en 1 ml de agua.

Estrategias seguidas para evitar la hidrólisis espontánea de la solución de paraoxon:

- Tener un blanco, mezcle sin el suero
- Guardar alícuotas de 5mM de paraoxon y congelarlas a  $-40^{\circ}\text{C}$  . Para descongelarlos y usarlos justo antes de usarlos.

Coeficiente de extinción:  $18053 (\text{mol/L})^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$  a pH 8.5 [nmol/min/ml]

*PREPARACIÓN DE REACTIVOS*

**CaCl<sub>2</sub> anhidro [1.9 mM] P.M 110.99**

110.99g ——— 1000mM

0.2108g ——— 1.9mM

0.2108g ——— 1000mM

0.02108g ——— 100ml

**0.02108g**

**NaCl [36 mM] P.M 58.44**

58.44g ——— 1000mM

2.103g ——— 36mM

2.103g ——— 1000mM

0.2103g ——— 100ml

**0.2103g**

**Trizma Pre-set pH 8.5 [90mM] P.M 154.8**

154.8g ——— 1000mM

13.932g ——— 90mM

13.932g ——— 1000ml

1.3932g ——— 100ml

Preparar 200 ml

**2.7864g con 150 ml de H<sub>2</sub>O  
desionizada llevar a pH 8.5,  
posteriormente aforar 200 ml**

Paraoxon [2.5 mM] 90% PM 275.2

275.2g — 1000mM

0.688g — 2.5 mM

0.688g — 1000ml

0.000688g — 1ml

0.000688g — 10 $\mu$ l [concentrada 100 veces]

0.344g — 5000 $\mu$ l (congelar viales)

90g — 100ml

0.344g — 0.382ml

**382 $\mu$ l aforar a 5.0ml ----- 500 muestras**

**100 $\mu$ l aforar a 1.3ml -----130 muestras**

## **MÉTODO**

**Solución P:** En un vial color ámbar adicionar 50  $\mu$ l de paraoxon y agregar 653  $\mu$ l de Trizma Pre-set pH 8.5, 90 mM. Mezclar en vortex hasta que no se vean micelas ya que el paraoxon es aceitoso.

**Solución TCN:** Mezclar el CaCl<sub>2</sub> + NaCl y aforar con Trizma Pre-set pH 8.5, 90 mM a 100 ml.

**Solución TCNP:** Tomar 50  $\mu$ l de la solución P y adicionar 4950  $\mu$ l de la solución TCN.

**INCUBACION:** Tomar 25  $\mu$ l de plasma mas 5  $\mu$ l de eserina, mezclar e incubar a obscuras durante diez minutos para posteriormente colocar 20  $\mu$ l del plasma y la solucion TCNP en la celdilla para leer en el espectrofotometro..

**OJO:** mezclar bien en vortex y tomar de inmediato la solución P.

Mantener en hielo la solución TCNP.

Tomar 500  $\mu$ l, ponerlos en un tubo ependorf ámbar a temperatura ambiente para iniciar las lecturas.

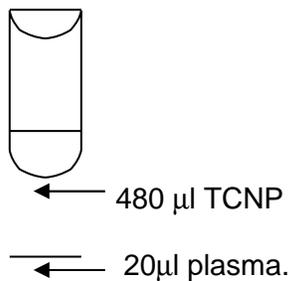
Tomar 20  $\mu$ l de plasma y adicionar 480  $\mu$ l de la solución TCNP que tenemos a temperatura ambiente mezclar y dejar correr 1 minuto antes de leer

Calibrar con la solución TCNP a 405 nm. Calibrar cada vez que preparamos la sol. TCNP

Utilizar las celdillas de cuarzo.

Tomar las lecturas cada minuto durante 4 minutos y calcular las  $\Delta$  (al minuto 2 se le resta el minuto 1 y así sucesivamente)

Las lecturas se realizan por duplicado.

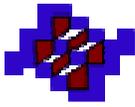


#### CALCULOS

$$U = \frac{\Delta(1 \times 10^6)}{18053} = \text{nmol/ml/min de formación de p-nitrofenol}$$

## **ANEXO 2**

**Carta de consentimiento informado.**



## CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL ESTUDIO<sup>1</sup>:

### **Efecto de la contaminación atmosférica en los niños de León y Salamanca y su relación con estrés oxidativo**

Estimada Sr.(a):

Con esta carta le invitamos a que participe en un estudio que se está desarrollado de manera conjunta por la Secretaria de Salud del Estado de Guanajuato, el Instituto de Perinatología, la Universidad de Guanajuato y el Instituto Nacional de Salud Pública. El estudio tiene la finalidad de entender más acerca del efecto que tiene la contaminación atmosférica sobre la salud respiratoria de niños asmáticos y niños sanos de 7 a 12 años de edad de la Ciudad de \_\_\_\_\_.

Si usted permite que su hijo participe, se le pedirá su autorización para lo siguiente:

### **Procedimientos:**

#### **Revisión médica de su hijo y aplicación de cuestionario:**

Al inicio del estudio su hijo será revisado por el Médico Pediatra, en una consulta médica en la cual se realizara una historia clínica que consta de preguntas sobre antecedentes patológicos y no patológicos de los familiares y personales, padecimientos actuales, exploración física y posible diagnóstico. También se realizará un cuestionario escrito donde se le harán preguntas relacionadas con la salud de su hijo, esto tendrá una duración aproximada de aplicación de 30 minutos.

**La duración para la participación en el estudio en total será de un año, tiempo durante el cual se le solicita su participación en 4 ocasiones. En cada una de esas visitas realizaremos las siguientes mediciones:**

#### **Toma de muestra de sangre venosa:**

Se le pedirá su autorización para tomarle una muestra de sangre a su hijo(a) de aproximadamente 5 ml de la vena del brazo, el equivalente a 1 cucharadita. El material empleado será estéril, desechable y único para cada niño.

Para esto se utilizara material nuevo y estéril y será tomada por personal capacitado y con amplia experiencia para ello, a su hijo le ocasionara una ligera molestia en el sitio de la punción pero no implica ningún riesgo para su salud.

A través de esta muestra de sangre que se le tome a su hijo, se determinarán algunos análisis que nos indicaran si hay daño a lípidos, daño a proteínas y capacidad antioxidante. Esto nos permitirá contar con información que servirá para identificar si existen daños a la salud que se puede asociar a la exposición a contaminantes del aire.

#### **Espirometría:**

Asimismo, se le realizará un estudio de espirometría el cual permite medir la función respiratoria del niño(a). Esta prueba se realizará también en cada una de las participaciones. Para realizar esta prueba se le pedirá a su hijo que sople con fuerza en un tubo de material desechable en un mínimo de tres ocasiones, lo que permitirá conocer como están

este documento indica que permito la participación de mi hijo(a) cuyo nombre aparece en la parte inferior. (Se le proporcionara una copia de esta carta de consentimiento).

\_\_\_\_\_  
Nombre del niño (a) participante

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre del padre/madre del niño (a)

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Nombre del testigo

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Parentesco con el participante \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nombre del testigo

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_  
Dirección del testigo \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Parentesco con el participante \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Nombre del Investigador Principal

\_\_\_\_\_  
Firma

\_\_\_\_\_ Gto. a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_

**Muchas gracias por su participación**

<sup>1</sup> INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA. CENTRO DE INVESTIGACIONES EN SALUD POBLACIONAL.

**Para estudios futuros: Acepta que la muestra que ya se obtuvo**

Se conserve en un banco de sueros, para estudios posteriores.

Solo para que se utilice para este estudio en particular.

## **ANEXO 3.**

### **Carta de asentimiento.**



SECRETARIA DE SALUD DEL ESTADO DE GUANAJUATO

**CARTA DE ASENTIMIENTO**

Folio. \_\_\_\_\_

Fecha: a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

**Adolescentes para participar en el estudio:**

**EFFECTO DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LOS NIÑOS DE LEÓN Y SALAMANCA Y SU RELACIÓN CON ESTRÉS OXIDATIVO**

De junio 2010 a junio 2011

**Buenos días/tardes/ Estimado(a):**

Nuestros nombres son (nombres del personal de salud) y formamos parte de equipo del estudio **“EFFECTO DE LA CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA EN LOS NIÑOS DE LEÓN Y SALAMANCA, GTO Y SU RELACIÓN CON DAÑO OXIDATIVO.”**

Te hacemos una cordial invitación para que participes como voluntario en el estudio que tiene como propósito de **entender** más acerca del efecto que tiene la contaminación atmosférica sobre la salud respiratoria de niños asmáticos y niños sanos de 7 a 12 años de edad de la Ciudad de \_\_\_\_\_.

En este estudio participaran aproximadamente 232 adolescentes. Esta misma invitación se la hemos realizado a tu madre/padre/responsable y ellos saben que te estamos preguntando a ti también para tu aceptación.

Para llevar a cabo los objetivos del estudio es necesario que contestes un cuestionario con preguntas relacionadas con características personales como: tu edad; características de tu familia; asimismo te preguntaremos como son tus estilos de vida como a que dedicas el tiempo libre y qué tipo de alimentos acostumbras comer. Para completar el estudio te solicitamos que nos autorices tomarte una muestra de sangre aproximadamente 5 ml de la vena del brazo, el equivalente a 1 cucharadita y realizar una espirometría que consiste en soplar en un aparato especial para checar tu función pulmonar.

El tiempo aproximado que durará será de 30 minutos en cada una de las veces que acudas, son 4 veces al año.

Los riesgos: la revisión médica, aplicación de cuestionario y la Espirometría: no causa ningún riesgo a la salud. La Toma de muestra de sangre venosa: no implica ningún riesgo para su salud. Solo te ocasionara una ligera molestia en el sitio de la punción. Ambas, son fáciles de practicar, sin embargo pueden llegar a suspenderse en el caso de que no desees cooperar.

Los beneficios que obtendrás al aceptar participar en el estudio es que recibirás información sobre cómo te encuentras de salud y en caso de que requieras se te atenderá en el Hospital de Enfermedades Respiratorias de la Secretaria de Salud.

Tú participación en este estudio es absolutamente voluntaria o dejar de participar en el estudio en cualquier momento que lo desees.

Agradecemos tú atención y en caso de **aceptar** participar en nuestro estudio, por favor Marques una (X) en los cuadros de abajo para mostrar tu decisión **de aceptación**.

- Contestar el cuestionario
- Autorizar la toma de muestra de sangre
- Realizar la espirometría

## **ANEXO 4.**

### **Cuestionario de Salud.**

## **ANEXO 5.**

### **Convenio de colaboración.**

---

## REFERENCIAS

- <sup>1</sup> Cohen AJ et al. Mortality impacts of urban air pollution. In: Ezzati M et al.eds. Comparative quantification of health risks: global and regional burden of disease attributable to selected major risk factors. Geneva, World Health Organization, 2004, Vol. 2.
- <sup>2</sup> Díez Ballester Ferran, Tenías José María y Pérez Hoyos Santiago. Efectos de la contaminación atmosférica sobre la salud. Marzo de 1999. España. <http://www.cepis.ops-oms.org/bvsea/e/fulltext/salud/salud.pdf>
- <sup>3</sup> Eschenbacher w, Holian A, Campion R. Air toxics and asthma: impacts and end points. Environ Health Perspect, 1995; 103 Suppl 6:209-11.
- <sup>4</sup> Ware J., Thibodeau L. Speizer F., Colome S., Ferris B. Assessment of the health effects of atmospheric sulphur oxide and particulate matter: evidence from observational studies. Environ Health Perspect 1981; 41:255-76.
- <sup>5</sup> Kelly. Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. Occup Environ Med.2003; 60: 612-616. <http://oem.bmj.com/cgi/content/extract/60/8/612>
- <sup>6</sup> Organización Mundial de la Salud (OMS). Medio ambiente: dónde están los riesgos, dónde se encuentran seguros los niños. Budapest/Ginebra 22 de junio de 2004
- <sup>7</sup> Programa para mejorar la calidad del aire en Salamanca 2007-2012. Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato, 2007.
- <sup>8</sup> Instituto Nacional de Perinatología Isidro Espinosa de los Reyes. Marcadores Plasmáticos de daño oxidativo y capacidad antioxidante. INPer.
- <sup>9</sup> F. DE PABLO, A. LÓPEZ, L. RIVAS SORIANO, C. TOMÁS, Relationships of daily mortality and hospital admissions to air pollution in Castilla-León, Spain, Facultad de Ciencias, Universidad de Salamanca, España Correspondi Received

---

September 25, 2003; accepted October 25, 2005.

<http://www.scielo.org.mx/pdf/atm/v19n1/v19n1a03.pdf>

- <sup>10</sup> Burnett R. T., S. Cakmak, M. E. Raizenne, D. Stieb, R. Vincent, D. Krewski, J. R. Brook, O. Philips and H. Ozkaynak, 1998. The association between ambient carbon monoxide levels and daily mortality in Toronto, Canada. *J. Air Waste Manag. Assoc.* 48, 689-700.  
<http://www.scielo.org.mx/pdf/atm/v19n1/v19n1a03.pdf>
- <sup>11</sup> Hernández-Cadena L, Barraza-Villarreal A, Ramírez-Aguilar M, Moreno-Macías H, Miller P, Carbajal-Arroyo LA, Romieu I. Morbilidad infantil por causas respiratorias y su relación con la contaminación atmosférica en Ciudad Juárez, Chihuahua, México. *Salud Publica Mex* 2007;49:27-36.  
<http://www.scielosp.org/pdf/spm/v49n1/a05v49n1.pdf>
- <sup>12</sup> Programa para la mejora de la Calidad del Aire, de Salamanca 2003-2006. Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato, Enero de 2007. Consejo de Ciencia y Tecnología (Concyteg) 18 de marzo de 2002.
- <sup>13</sup> Secretaria de Salud del Estado de Guanajuato. Joel David Manrique Moreno, “Plomo, Vanadio y Manganeso como Biomarcadores de exposición ambiental en Niños de edad escolar”, “Función pulmonar y síntomas respiratorios en escolares de cinco ciudades del corredor industrial de Guanajuato”, “Espirometrías en población ocupacionalmente expuesta a contaminación en Salamanca, Gto”, “Aductos de PAH-DNA y su asociación con Polimorfismos CYP1A1 y GSTP1 en mujeres embarazadas y recién nacidos expuestos a contaminantes atmosféricos en el Estado de Guanajuato.”, “Correlación entre diagnóstico de enfermedades respiratorias y días declarados de Pre-contingencia ambiental en la ciudad de Salamanca, Gto.” Julio 2009.
- <sup>14</sup> World Health Organization/IPCS. Guidelines of studies in Environmental Epidemiology. Ginebra, WHO, 1983. Environmental Health Criteria, No. 27.

- 
- <sup>15</sup> Blumental, D.S. Introduction to environmental health. New York. Springer Publishing Co. 1985.
- <sup>16</sup> Kelsey JL, Thompson WD, Evans AS. Methods in observational epidemiology. Nueva York: Oxford University Press, 1986.
- <sup>17</sup> Curtis L, Rea W, Smith-Willis P, Fenyves E, Pan Y. 2006. Adverse health effects of outdoor air pollutants. *Environ Int* 32(6): 815-830.
- <sup>18</sup> Kampa M, Castanas E. 2008. Human health effects of air pollution. *Environ Pollut* 151(2): 362-367.
- <sup>19</sup> Definición del libro Delimitación de las Zonas Metropolitanas de México 2005, CONAPO, SEDESOL, INEGI.  
<http://poblacion.hidalgo.gob.mx/descargables/Definicion%20de%20Zona%20metropolitana%20y%20criterios%20de%20delimitacion.pdf>.
- <sup>20</sup> Red de Monitoreo de la Calidad del Aire del Estado de Guanajuato. 2005.
- <sup>21</sup> Romero Alvira D, Bueno Gómez J. Radicales libres del oxígeno y antioxidantes en medicina (Editorial). *Rev Clin Española* 1998;184(7):345-6.
- <sup>22</sup> Berg P. Dissections and reconstructions of genes and chromosomes, (Nobel lecture). *Science* 1981;213:296-303.
- <sup>23</sup> Stanner, S.A, Hughes, J., Kelly, C.N.M., Butriss, J. (2004). A review of the epidemiological evidence for the “antioxidant hypothesis”. *Publ. Health Nutr.* 7, 407-422.
- <sup>24</sup> Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur J Biochem* 1993; 215, 213-219.
- <sup>25</sup> Schafer F, Buettner G (2001). «Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple». *Free Radic Biol Med* 30 (11): 1191-212. [http://es.wikipedia.org/wiki/Estr%C3%A9s\\_oxidativo](http://es.wikipedia.org/wiki/Estr%C3%A9s_oxidativo)
- <sup>26</sup> Tomas MJ The role of free radicals and antioxidants: How do we Know that they are working? *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1995; 35: 21-39.

- 
- <sup>27</sup> Kelly FJ, Sandstrom T. Air pollution, oxidative stress, and allergic response. *Lancet*, 2004, 363:95–96.
- <sup>28</sup> Torres Ramos Yessica D., García Guillen María L., Olivares corichi Ivonne M. y Hicks J.J. Correlation of plasma Protein Carbonyls an C-Reactive Protein with GOLD Stage Progression in COPD Patients, México, 2009.
- <sup>29</sup> Pope C, Kanner R. Acute Effects of PM10 Pollution on Pulmonary Function of Smorlers with Mild to Moderate Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Am Rev Respir dis* 1993; 147:1336-40.
- <sup>30</sup> Kelly FJ. Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects. *Occupational and Environmental Medicine*, 2003, 60:612–616.
- <sup>31</sup> Bucher U, Reid L. Development of the intrasegmental bronchial tree: the pattern of branching and development of cartilage at various stages of intrauterine life. *Thorax*, 1961, 16:207–218.
- <sup>32</sup> Martha A. Sánchez-Rodríguez, Edelmiro Santiago-Osorio, Luis Alberto Vargas, Víctor Manuel Mendoza-Núñez. Unidad de Investigación en Gerontología, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Becaria CONACYT registro No. 126123 y DGAPA, UNAM. 2004.
- <sup>33</sup> Pope, C. A. I. (2000). Epidemiology of fine particulate air pollution and human health: biological mechanisms and who's at risk. *Environ Health Perspec*, 108, 713-723.
- <sup>34</sup> Efects of air pollution on children's helth an development. World Health Organization. Special Programme on Health an environment. European Centre For Environment an Health Bonn Office. 2005.

- 
- <sup>35</sup> Bastain TM et al. Intraindividual reproducibility of nasal allergic responses to diesel exhaust particles indicates a susceptible phenotype. *Clinical Immunology*, 2003, 109:130–136.
- <sup>36</sup> Plopper CG et al. Factors modulating the epithelial response to toxicants in tracheobronchial airways. *Toxicology*, 2001, 160:173–180.
- <sup>37</sup> Holgate ST. Genetic and environmental interaction in allergy and asthma. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 1999, 104:1139–1146.
- <sup>38</sup> Samet JM, Lange P. Longitudinal studies of active and passive smoking. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 1996, 154(6, part 2):S257–S265.
- <sup>39</sup> Romieu, I., Meneses, F., Ruiz, S., Sienna, J. J., Huerta, J., White, M. C., & Etzel, R. A. (1996). Effects of air pollution on the respiratory health of asthmatic children living in Mexico City. *Am J Respir Critic Care Med*, 154(2 Pt 1), 300-7.
- <sup>40</sup> Romieu I, Castro-Giner F, Kunzli N, Sunyer J. 2008. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review. *Eur Respir J* 31(1): 179-197.
- <sup>41</sup> Kipen H, Rich D, Huang W, Zhu T, Wang G, Hu M, Lu SE, Ohman-Strickland P, Zhu P, Wang Y, Zhang JJ. Measurement of inflammation and oxidative stress following drastic changes in air pollution during the Beijing Olympics: a panel study approach. University of Medicine and Dentistry of New Jersey - School of Public Health and Robert Wood Johnson Medical School, 2010 Aug;1203:160-7. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20716299>
- <sup>42</sup> Robert J. Laumbach, Howard M. Kipen. Acute effects of motor vehicle traffic-related air pollution exposures on measures of oxidative stress in human airways. 17 Agosto 2010. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1749-6632.2010.05604.x/abstract>
- <sup>43</sup> Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutrition* 1996;16:33-50.

- 
- <sup>44</sup> Instituto de Investigaciones Respiratorias “Ismael Cosío Villegas “(INER), Departamento de investigación Bioquímica y Medicina Ambiental.
- <sup>45</sup> Instituto Nacional de Estadística y Geografía. Censo de Población y vivienda 2005.
- <sup>46</sup> Programa para mejorar la Calidad del Aire en León 2008-2012. Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato. 2008.
- <sup>47</sup> Diccionario de datos de uso del suelo y vegetación (Vectorial). Sistema Nacional de Información Geográfica.
- <sup>48</sup> Estación de monitoreo fija CICEG, León, Guanajuato. México.
- <sup>49</sup> El Universal. Amenaza industria a la vida en Salamanca. Xochilt Alvarez. Domingo 16 de julio de 2006.
- <sup>50</sup> Programa de contingencias Ambientales Atmosféricas y manual de aplicación, municipio de Salamanca, Gto. 2005.
- <sup>51</sup> El Universal. Amenaza industria a la vida en Salamanca. Xochilt Alvarez. Domingo 16 de julio de 2006
- <sup>52</sup> Programa para la mejora de la Calidad del Aire, de Salamanca 2003-2006. Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato, Enero de 2007. Consejo de Ciencia y Tecnología (Concyteg) 18 de marzo de 2002.
- <sup>53</sup> Romieu, I., Meneses, F., Sierra-Monge, J. J., Huerta, J., Ruiz Velasco, S., White, M. C., Etzel, R. A., & Hernandez-Avila, M. (1995). Effects of urban air pollutants on emergency visits for childhood asthma in Mexico City. *Am J Epidemiol* 141(6), 546-53.
- <sup>54</sup> Inventario de Emisiones Guanajuato 2006, Instituto de Ecología del Estado. Mexico, 2007.

- 
- <sup>55</sup> Warner, O. J., Pohunek, P., Marguet, C., Roche, W. R., & Clough, J. B. (2000). Issues in understanding childhood asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 105, S473-S476.
- <sup>56</sup> Pope, C. A. I. (2000). Epidemiology of fine particulate air pollution and human health: biological mechanisms and who's at risk. *Environ Health Perspec*, 108, 713-723.
- <sup>57</sup> Thurston, G. D., & Kazuhiko, I. (1999). Epidemiological studies of ozone exposure effects. In S. T. Holgate, J. M. Samet, H. S. Koren, & R. Maynard (Eds.), *Air pollution and health* (pp. 485-510). New York: Academic Press.
- <sup>58</sup> Concejo de ciencia y Tecnología del Estado de Guanajuato, 2004-2006.
- <sup>59</sup> Instituto de Ecología del Estado de Guanajuato. 2005-2006.
- <sup>60</sup> Cuestionario de Salud respiratoria en niños de la ciudad de México. Emisiones Vehiculares y Asma, Iztapalapa. 2008.
- <sup>61</sup> Bland JM, Altman Dg. Comparing methods of measurement: why plotting difference against standard method is misleading. *Lancet* 1995; 346: 1085,1087.
- <sup>62</sup> Torres Ramos Yessica D., García Guillen María L., Olivares corichi Ivonne M. y Hicks J.J. Correlation of plasma Protein Carbonyls an C-Reactive Protein with GOLD Stage Progression in COPD Patients, México, 2009.