

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ELECTROFORESIS UNICELULAR EN GEL COMO
BIOINDICADOR DE GENOTOXICIDAD EN UNA POBLACIÓN
HUMANA EXPUESTA A CONTAMINANTES EMITIDOS POR
LADRILLERAS ARTESANALES EN SAN NICOLÁS,
TEQUISQUIAPAN, QUERÉTARO.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL

PRESENTA

EVA EDITH CADENA MORENO

DIRIGIDA POR

M. en C. LOURDES ELVIA RUIZ FLORES

SANTIAGO DE QUERÉTARO, QUERÉTARO, 2007.

**BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO**

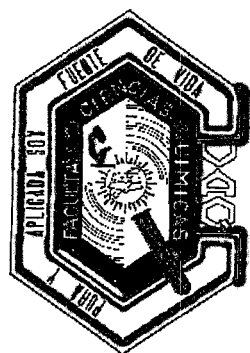
No. Adq. 7159356

No. Título _____

Clas TS

363.7392097245

C1228



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

FACULTAD DE QUÍMICA

**“ELECTROFORESIS UNICELULAR EN GEL
COMO BIOINDICADOR DE GENOTOXICIDAD EN
UNA POBLACIÓN HUMANA EXPUESTA A
CONTAMINANTES EMITIDOS POR
LADRILLERAS ARTESANALES EN SAN
NICOLÁS, TEQUISQUIAPAN, QUERÉTARO.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO AMBIENTAL

PRESENTA

EVA EDITH CADENA MORENO

DIRIGIDA POR

M. en C. LOURDES ELVIA RUIZ FLORES

SINODALES

M. en C. LOURDES ELVIA RUIZ FLORES
DIRECTOR

Q.B. SERGIO PACHECO HERNÁNDEZ
SINODAL

M. en C. YADIRA ORTEGA SILVA
SINODAL

M. en C. MARÍA EUGENIA ORTEGA MORÍN
SINODAL

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE CUADROS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	
I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	3
II.1. Contaminación Ambiental.	3
II.1.2. Contaminación de compartimientos ambientales.	4
II.1.3. Contaminación atmosférica.	5
II.2. Ladrilleras Tradicionales.	6
II.2.1. Hornos, procesos y combustibles para la elaboración de ladrillos.	6
II.2.2. Impacto Ambiental y Socioeconómico de las Ladrilleras.	9
II.2.3. Contaminantes emitidos por los hornos ladrilleros.	10
II.2.3.1. Daños a la salud.	10
II.2.3.1.1. PM10.	12
II.2.3.1.2. Óxidos de Nitrógeno (NO _x).	13
II.2.3.1.3. Monóxido de Carbono (CO).	13
II.2.3.1.4. Dióxido de Azufre (SO ₂).	14
II.2.3.1.5. Compuestos orgánicos volátiles (COV's).	14
II.2.3.1.6. Hidrocarburos Policíclicos Aromáticos (PAHs).	15
II.3. Cáncer.	17
II.4. Genotóxicidad.	18
II.4.1. Medio Ambiente y Efectos Genotóxicos.	18
II.4.2. Importancia de Evaluar la Genotóxicidad.	20
II.4.3. Ensayo de Electroforesis Unicelular en Gel. Fundamentos.	23

II.4.4 Electroforesis Unicelular en Gel, Bioindicador de Genotoxicidad.	25
II.5. Información General de San Nicolás, Tequisquiapan, Querétaro.	27
II.5.1. Ubicación.	27
II.5.2. Problemática ambiental en San Nicolás.	28
III. HIPÓTESIS	31
IV. OBJETIVOS	32
IV.1. General.	32
IV.2. Específicos.	32
V. METODOLOGÍA	33
V.1. Materiales.	33
V.2. Métodos.	34
V.2.1. Selección de la población de estudio.	34
V.2.2. Toma de muestra.	34
V.2.2.2. Ensayo Cometa.	35
V.2.2.3. Evaluación del daño al ADN.	36
V.2.3. Análisis estadístico.	36
V.2.4. Selección de posibles Factores de Riesgo Relativo.	36
VI. RESULTADOS	39
VII. DISCUSIÓN	63
VII. CONCLUSIONES	71
IX. BIBLIOGRAFÍA	73
ANEXO 1	82

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadros		Página
1	Tabla Tetracórica.	37
2	Personas estudiadas de acuerdo a la fecha de muestreo.	39
3	Media de la relación L/D de cada uno de los individuos de la población de San Nicolás y Santa Bárbara (Testigo Negativo)	40
4	Poblaciones de estudio de acuerdo a su criterio de selección.	42
5	Estadística descriptiva de la relación Longitud/Diámetro obtenida para el testigo negativo, la población ocupacional y ambientalmente expuesta.	57
6	Resultados del análisis estadístico de Tukey- Kramer ($\alpha < .05$) comparando la relación L/D de las poblaciones correspondientes al testigo negativo, al POE y PAE.	57
7	Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población en General.	59
8	Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población Testigo Negativo.	60
9	Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población Ambientalmente Expuesta.	61
10	Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población Ocupacionalmente Expuesta.	62

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Proceso de elaboración del Ladrillo.	8
2	Distribución porcentual de las principales causas de defunción por tumores malignos según sexo, 2005.	18
3	Nuclóide obtenido mediante el ensayo cometa	24
4	Imágenes de cometas que representan las 5 diferentes clasificaciones posibles de acuerdo al daño del ADN.	24
5	Ubicación de San Nicolás, Tequisquiapan, Querétaro, Qro.	27
6	Diseño experimental del ensayo genotóxico.	38
7	Relación L/D de los cuatro periodos de muestreo de las poblaciones de San Nicolás y Sta. Bárbara.	41
8	Relación L/D para cada uno de los grupos formados de acuerdo a sus criterios de selección.	43
9	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU2, NU10, NU23, NU1, NU2).	44
10	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU5, NU43, NU44, NU3, NU4).	44
11	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU9, NU45, NU46, NU5, NU6).	45
12	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU10, NU47, NU7, NU8).	45
13	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU12, NU48, NU9, NU11).	46
14	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU16, NU49, NU12, NU13).	46
15	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU19, NU51, NU14, NU15).	47
16	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU20, NU52, NU16, NU17).	47

17	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU28, NU53, NU18, NU19).	48
18	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU29, NU56, NU21, NU22).	48
19	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU30, NU59, NU24, NU25).	49
20	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU38, NU60, NU26, NU27).	49
21	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU39, NU61, NU28, NU29).	50
22	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU44, NU62, NU30, NU31).	50
23	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU45, NU65, NU32, NU33).	51
24	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU46, NU67, NU34, NU36).	51
25	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU47, NU68, NU37, NU38).	52
26	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU48, NU69, NU39).	52
27	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU51, NU70, NU42).	53
28	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU52, NU71, NU64).	53
29	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU54, NU72, NU66).	54
30	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU55, NU73, NU74).	54
31	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU57, NU77, NU75).	55

32	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU58, NU78, NU76).	55
33	Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU66, NU80, NU81).	56

RESUMEN.

San Nicolás es una localidad del municipio de Tequisquiapan, Querétaro, cuya fuente principal de trabajo es la elaboración artesanal de ladrillo. La problemática ambiental de la localidad está relacionada con los contaminantes emitidos a la atmósfera, provenientes de las ladrilleras, consideradas como un riesgo por utilizar combustibles de mala calidad. El objetivo de este estudio es evaluar el daño genotóxico en poblaciones humanas en San Nicolás mediante el ensayo de electroforesis unicelular en gel (ensayo cometa), este bioensayo permite examinar el daño al ADN en las células individuales. El estudio se realizó en tres grupos: población no expuesta a contaminantes -el testigo negativo (Santa Bárbara)-, la población ocupacionalmente expuesta (POE) y la población ambientalmente expuesta (PAE). Los resultados estadísticos señalan que el 57.14% de la POE y el 19% de la PAE presentan un daño en su ADN, y que existe una diferencia extremadamente significativa entre estos dos grupos y la población testigo negativo, indicando que los pobladores de la localidad de San Nicolás tienen más riesgo de desarrollar alguna patología crónica degenerativa, posiblemente un cáncer. Se establecieron también los factores de riesgo para la población expuesta: la ocupación, los años de residencia en la localidad, el hábito de fumar y realizar deporte al aire libre son los principales. Los resultados obtenidos en el estudio indican que el ensayo cometa es un bioindicador eficiente para detectar al ADN dañado, por lo que los contaminante emitidos por las ladrilleras en la localidad de San Nicolás se convierten en un riesgo para la población.

I. INTRODUCCIÓN.

La contaminación ambiental es un problema actual y mundial, que ha tomado fuerza e importancia con el paso del tiempo ya que tiene efectos sobre todos los seres vivos y el ambiente.

San Nicolás es una localidad del municipio de Tequisquiapan, Querétaro, cuya población tiene como fuente principal de ingresos la elaboración artesanal de ladrillos. Esta actividad, en esta localidad, presenta la problemática ambiental de utilizar como combustibles materiales de mala calidad generando impactos negativos sobre el ambiente y la salud humana.

Las ladrilleras artesanales que no utilizan los combustibles adecuados pueden generar emisiones con contaminantes a la atmósfera, tales como partículas PM10, óxidos de nitrógeno (NO_x), monóxido de carbono (CO), hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAP's) y dióxido de carbono (CO₂) entre otros. Entre las principales alteraciones a la salud humana que producen las emisiones de estas ladrilleras están las alteraciones neurológicas, respiratorias, digestivas y cáncer.

Como se mencionó anteriormente, los HAP's son compuestos orgánicos que se encuentran en las emisiones de las ladrilleras como consecuencia de una combustión incompleta. Lo importante de estos contaminantes es que son compuestos cancerígenos y se sabe, gracias a estudios realizados, que pueden causar cáncer de mama y pulmonar. En el año 2005, la Secretaría de Salud estimó que el cáncer muestra una tendencia ascendente en el mundo, colocándose en el tercer lugar como causa de mortalidad en nuestro país. El cáncer es una enfermedad provocada por varios factores, entre ellos los genéticos, químicos, ambientales y los hábitos de vida. Esta enfermedad se caracteriza por el crecimiento incontrolable de células con la capacidad de propagarse y se inicia con un daño al ADN, efecto conocido como genotoxicidad. La genotoxicidad es un daño en el material genético provocado por agentes ambientales físicos, químicos o biológicos. Existen varios bioensayos para medir la genotoxicidad, entre éstos se

encuentra el de electroforesis unicelular en gel, también conocido como ensayo cometa, el cual es un método microscópico fluorescente muy sensible y que tiene aplicaciones como bioindicador de genotoxicidad en pobladores expuestos a contaminantes atmosféricos. Las ventajas que presenta el ensayo cometa son la sensibilidad de detectar el daño al ADN, la rapidez y su bajo costo han hecho de esta técnica una eficiente prueba para exposiciones que podrían provocar daños genotóxicos

Por lo anteriormente mencionado, es de vital importancia evaluar el daño que las emisiones de la elaboración artesanal de ladrillos puedan estar causando sobre los pobladores de San Nicolás. Es así, que el presente trabajo permitirá estudiar el posible efecto genotóxico al cual están expuestos los trabajadores y sus familias de esta localidad.

II. ANTECEDENTES.

II.1. Contaminación Ambiental.

La contaminación ambiental esta definida por la Ley General del Equilibrio Ecológico (LGEEPA, 2003) como: “La presencia en el ambiente de uno o más contaminantes o de cualquier combinación de ellos que cause desequilibrio ecológico”. Por otro lado, la Agencia de Protección Ambiental (EPA, 2006_a) define a la contaminación ambiental como: “la presencia de una sustancia en el ambiente que debido a su composición química o cantidad impide el funcionamiento de procesos naturales y produce efectos indeseables en el ambiente y en la salud”. Al comparar ambas definiciones, se puede entender y complementar el concepto de la contaminación ambiental como la presencia cuantitativa y cualitativa en el ambiente de cualquier agente indeseable que modifique sus condiciones naturales y que pueda causar efectos adversos a la salud del ser humano, animales y vegetales. Es así que la contaminación es uno de los problemas ambientales más importantes que afectan a nuestro planeta.

El origen de la contaminación ambiental puede ser natural o antropogénica. La contaminación natural es la producida por eventos naturales y no esta influida por las actividades humanas. Algunos ejemplos de la contaminación natural son los contaminantes emitidos por las erupciones volcánicas, por el mar, por el suelo y por la vegetación. Se ha observado que los volcanes emiten dióxido de azufre, dióxido de carbono, ácido sulfhídrico, mercurio, cloro y en menor medida etano, propano y otros hidrocarburos volátiles no metánicos, por otro lado, el fitoplancton del mar y los océanos emiten compuestos orgánicos. Entre las emisiones del suelo se encuentran compuestos nitrogenados tales como NO, NO₂, N₂O, NH₃ y ácido nítrico. Esos compuestos se producen por la actividad microbiana del suelo. Entre los principales compuestos emitidos por la vegetación se pueden mencionar al isopropeno, compuestos aromáticos (p- cimeno), aldehídos y cetonas (Guenther y col., 2000; Velasco y Bernabé, 2004).

Por otro lado, la contaminación antropogénica es la contaminación provocada por las actividades del ser humano. Esta contaminación se debe a que el hombre, desde el inicio de su existencia siempre ha tenido necesidades de bienestar y comodidad. Esas necesidades han ido en aumento de la mano con su crecimiento social y económico, por lo que el hombre ha tenido que usar los recursos naturales con el propósito de satisfacer sus necesidades diarias. Como resultado de estas actividades el medio ambiente se ha contaminado. Entre algunas fuentes de contaminación antropogénica se encuentran las industrias que generan contaminantes gaseosos, sólidos y líquidos, así como los gases y ruidos producidos por los automóviles. Un caso especial de contaminación antropogénica es la elaboración artesanal del ladrillo. La industria ladrillera produce grandes cantidades de contaminantes (Romo y col., 2004) que pueden tener efectos adversos en los ecosistemas.

II.1.2. Contaminación de compartimientos ambientales.

En general, la contaminación de compartimientos ambientales específicos, depende del tipo de fuente y de las características fisicoquímicas de los contaminantes, tales como la constante de Henry y el coeficiente de partición octanol-agua (K_{ow}). La constante de Henry permite conocer la tendencia que un contaminante tiene de particionarse entre el agua y el aire. Por otro lado, el coeficiente de partición octanol-agua indica la capacidad que tiene el contaminante de particionarse entre una fase acuosa y una orgánica (octanol) y proporciona un valor de polaridad del contaminante. Mientras menor sea el valor de este coeficiente, mayor es su distribución en agua (Díaz- Barriga, 1999). Un valor alto del K_{ow} significa que el compuesto químico es soluble en lípidos y por lo tanto puede ser absorbido por organismos.

Algunos tipos de contaminación de compartimientos ambientales específicos son la contaminación acuática, la contaminación del suelo y la contaminación atmosférica. La contaminación de estos compartimientos tiene como fuente principal a las actividades humanas. Esto se debe a que cualquier acción que

realicemos, por cotidiana que sea, genera contaminación. Otra fuente de contaminación son las industrias y los automóviles. Las industrias generan efluentes contaminados con agentes químicos, físicos y biológicos que por lo general van al agua, o bien, tienen derrames en el suelo. Tanto las industrias como los automóviles generan emisiones de contaminantes a la atmósfera. Los automóviles, por su parte, generan también la contaminación acústica. La construcción de carreteras o zonas ocupacionales es también una de las causas principales de contaminación atmosférica y acústica (Crovetto, 2004).

Debido a que los compartimentos ambientales son continuos, no importa cuál es el compartimento ambiental al que inicialmente ingresan los contaminantes. Al final, los contaminantes se distribuyen en todos los compartimentos ambientales incluso en la biota.

II.1.3. Contaminación atmosférica.

De acuerdo a la definición de contaminación ambiental, se puede deducir que la contaminación del aire es cualquier condición atmosférica en la cual las sustancias presentes producen un efecto adverso medible en la salud del hombre, animales y vegetales, o bien producen un daño físico en los materiales, edificaciones y monumentos. Es decir es toda aquella sustancia que causa una desviación en la composición química media de la atmósfera. Los contaminantes atmosféricos pueden ser sólidos, líquidos o gaseosos (Rivero y col., 1993).

Las fuentes antropogénicas de contaminación atmosférica pueden clasificarse como fuentes móviles (o estacionarias) y fijas (o puntuales). Las fuentes móviles son aquellas que no se encuentran en un punto fijo, por ejemplo: automóviles, barcos, aviones, etc. Las fuentes fijas se refieren a aquellas fuentes que se encuentran en un punto determinado y no tienen movimiento, por ejemplo: chimeneas industriales y artesanales, plantas generadoras de energía, quema de vegetación para agricultura y de basura.

Cuando el proceso de emisión de contaminantes es un proceso de combustión, para ambas fuentes (móviles y fijas), los productos de la emisión están en función de la composición del combustible, de las tecnologías y de las condiciones operacionales existentes tales como la temperatura, la presión y la cantidad de oxígeno presente.

Otro tipo de fuente de contaminación es la de área. Las fuentes de área son las fuentes que se encuentran en grandes cantidades y están dispersas, y que sus emisiones a la atmósfera no representan un problema para la calidad del aire, pero en conjunto pueden dañar o afectar esta calidad. Entre las fuentes de área están las imprentas, las tintorerías y el uso de madera (INE, 2006).

II.2. Ladrilleras Tradicionales.

La elaboración de ladrillos de manera artesanal es una actividad común en México, pues está relacionado directamente con la construcción de casas-habitación, y se realiza en gran parte del territorio nacional. Querétaro cuenta con aproximadamente 497 hornos artesanales para la fabricación del ladrillo (Anaya, 2006) y esta actividad es realizada por la gente más pobre y más limitada económicamente de la localidad donde se encuentran estas ladrilleras. Por otro lado, la fabricación de ladrillos es una fuente de trabajo para muchos pobladores donde se realiza dicha práctica. Por ejemplo, las ladrilleras de Ciudad Juárez, en México, generan más de 2000 empleos en esa zona (Blackman, 2000).

II.2.1. Hornos, procesos y combustibles para la elaboración del ladrillo.

En la fabricación de ladrillos de forma artesanal se usan hornos contruidos por los propios ladrilleros. El diseño consta de una estructura cúbica y se utiliza ladrillo de adobe crudo. Estos hornos deben cumplir ciertas especificaciones en cuanto a medidas. Por otro lado, constan de un agujero en el suelo de aproximadamente dos metros de profundidad, que es donde se coloca el combustible que se va a quemar (Tello, 2000; Houston y col., 2002).

Existen dos tipos de hornos: el discontinuo y el continuo. El horno discontinuo es aquel que quema productos especiales que no sean dóciles y cuya eficiencia no es muy buena pues tiene una considerable pérdida de calor. Los hornos continuos son los que tienen mejor eficiencia ya que existe una recuperación de calor a partir de los gases emitidos haciéndolo termalmente eficiente. Un mecanismo de funcionamiento de este tipo de horno consiste en que los combustibles permanecen inmóviles durante el precalentamiento con el fin de mantener fresco las zonas vecinas a dicho horno. El consumo de energía está típicamente alrededor de 2 a 2.5 GJ por tonelada de combustible (EIG, 1996).

El proceso de la elaboración de ladrillo empieza con una mezcla de adobe crudo, muchos ladrilleros de la republica mexicana usan también la arena y la arcilla como material para elaborar sus ladrillos. Esta mezcla es hecha por los mismos ladrilleros con sus pies. Después, una vez moldeados los ladrillos se colocan en el horno ya precalentado. Durante la elaboración del ladrillo las caras del horno se calientan debido al diseño del horno. En la Figura 1 se puede observar el procedimiento general en la elaboración del ladrillo de manera artesanal así como las emisiones producidas durante el proceso (EPA, 2003_a).

El periodo de calentamiento debe durar de 12 a 30 horas y se debe considerar el tipo de combustible, la temperatura a la cual se esta quemando el ladrillo (mínima de 600 grados Celsius) y las condiciones climatológicas como la dirección del viento y los meses del año (Tello, 2000). Se han hecho estudios que muestran que en los meses de invierno es cuando los hornos tienen menos eficiencia y producen menos ladrillos (Houston y col., 2002).

Otro estudio realizado por Romo y colaboradores (2004) indica que el mayor número de elaboración de ladrillos se realiza en “tiempos buenos” (meses sin lluvia y sin calor), mientras que en “tiempos malos” (meses con lluvias) solo se elaboran ladrillos cada dos meses.

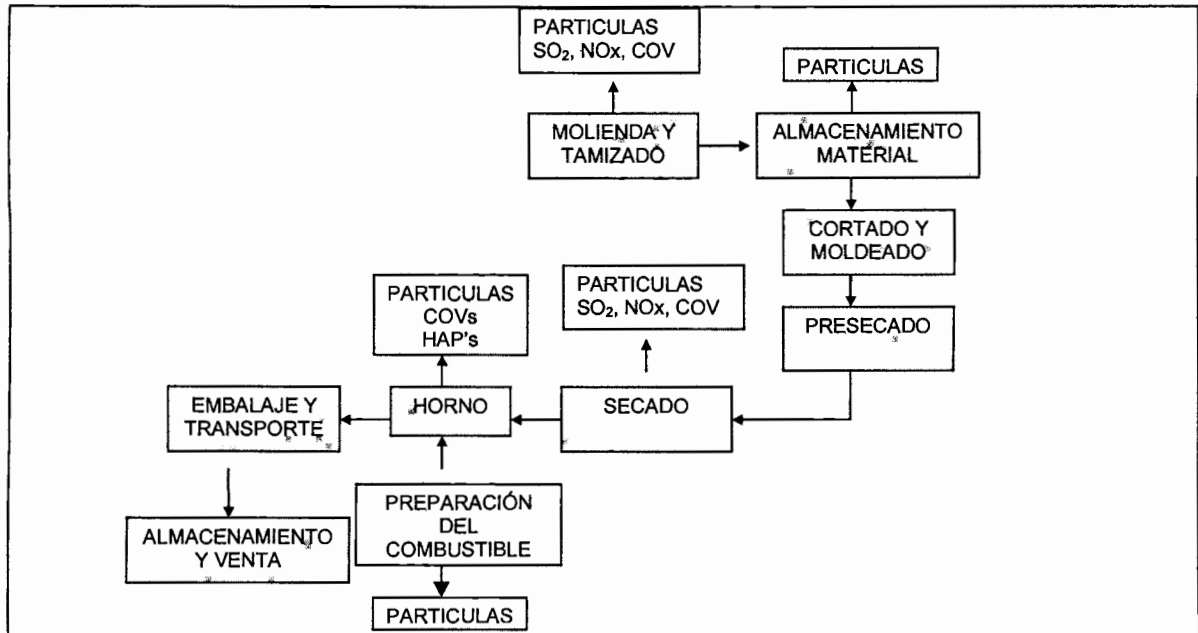


Figura 1. Proceso de elaboración del ladrillo (EPA, 2003_a).

La elección del combustible para la elaboración del ladrillo está relacionada muchas veces con su costo y no con su calidad. Desafortunadamente, en muchas ladrilleras del país se usan combustibles de baja calidad y que están afectando la calidad del medio ambiente. Entre algunos materiales usados como combustibles se encuentran la basura, la leña, aceites usados, carbón, diesel, llantas, plásticos y en gran parte del país se utiliza la madera, el aserrín o bien la mezcla de ambos (Codes y col., 2002; Romo y col., 2004; Zuñiga, 2004). Estos materiales son usados por que pueden contribuir a la producción de grandes cantidades de ladrillos y además por que son materiales de bajo costo.

Estudios realizados por Codes y colaboradores (2002) mostraron que los ladrilleros de una región de Argentina llamada "El Algarrobal" utilizan 667 kg de leña como combustible por semana debido al fácil acceso que se tiene a este material, provocando que la deforestación sea cada vez mayor en esta zona.

La madera también es muy usada como combustible, por ejemplo, las ladrilleras de Ciudad Juárez, Chihuahua, utilizan para un solo horno promedio 2400

kg de madera y 1921 kg de aserrín por quema (Romo y col., 2004). Efectivamente, la mezcla de la madera con el aserrín también ha resultado ser uno de los combustibles preferidos por los fabricantes del ladrillo ya que 6 toneladas de esta mezcla pueden producir hasta 25, 000 ladrillos (Houston y col., 2002).

II.2.2. Impacto Ambiental y Socioeconómico de las ladrilleras.

Todas las actividades antropogénicas generan un impacto positivo o negativo sobre el ambiente. La Ley General del Equilibrio Ecológico (LGEEPA, 2003) define impacto ambiental como la “modificación del ambiente ocasionada por la acción del hombre o de la naturaleza.”

De acuerdo a la definición, la elaboración artesanal de ladrillos ocasiona alteraciones en el ambiente. Desafortunadamente, la mayoría de estos impactos son negativos pues se producen emisiones contaminantes a la atmósfera, tales como NO_x, SO_x, CO, CO₂ Y HAP's, entre otros, provocando daños irreversibles al ambiente (Zuñiga, 2004).

Estudios de impacto ambiental realizados por Codes y colaboradores (2002) en la región de Algarrobal, en Argentina, muestran que los hornos ladrilleros dañan el suelo donde se localizan provocando su pérdida y consecuentemente, lo convierten en áreas no productivas ecológica y económicamente. Otro factor que contribuyo a que se considere principalmente como impacto negativo es el hecho de que las emisiones originadas por las ladrilleras están directamente relacionadas con las enfermedades respiratorias de la población expuesta. Estos estudios fueron realizados mediante matrices de aptitud, de impacto ambiental y de ponderación de impactos.

Por otro lado, la generación de trabajo es la única que contribuye a que se generen impactos positivos en aspectos socioeconómicos, un ejemplo de esto es que, en el estado de Nayarit la elaboración artesanal de ladrillos genera 830 empleos aproximadamente; sin embargo es importante mencionar que estos

empleos dependen de la duración que tenga esta actividad. Al mismo tiempo, la elaboración de ladrillos provoca alteraciones negativas en el paisaje donde se localizan los hornos ladrilleros (Zuñiga, 2004).

II.2.3. Contaminantes emitidos por los hornos ladrilleros.

Los contaminantes emitidos dependen del tipo de horno, de la eficiencia de este horno y del combustible que se este utilizando así como de su calidad. Un horno artesanal típico puede producir hasta 391 Kg de contaminantes por quema de combustible (Houston y col., 2002).

Entre los principales contaminantes emitidos por las ladrilleras se encuentran las partículas PM10, los óxidos de nitrógeno (NO_x), el monóxido de carbono (CO), compuestos orgánicos volátiles (COVs), dióxido de sulfuro (SO₂), ácidos, metano (CH₄), dióxido de carbono (CO₂) e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAP's) incluyendo HI, HF y PAH's metálicos (EIG, 1996; EETM, 1998; Houston y col., 2002; EPA, 2003_a).

II.2.3.1. Daños a la salud.

La contaminación atmosférica tiene repercusiones nocivas sobre la salud humana. Se han hecho estudios que muestran una relación directa entre la contaminación atmosférica y la salud. Efectivamente, se sabe que la contaminación atmosférica afecta la función pulmonar y circulatoria (Rosales- Castillo y col., 2001), también se sabe, según estudios realizados por la Agencia de Protección del Ambiente (EPA, 2003) que altos niveles de contaminación atmosférica perjudican principalmente a las personas que padecen asma o enfermedades cardiacas.

Los efectos de los contaminantes atmosféricos ejercidos sobre la salud humana van desde mortalidad y enfermedades crónicas hasta efectos neurológicos y efectos originados por la acumulación de contaminantes en el organismo a lo largo del tiempo (Corvalán, 1998).

El efecto causado por la contaminación atmosférica sobre cada individuo depende de varios factores: el lugar y tiempo de exposición, las características del individuo (edad, salud general, hábitos de fumar, características de la vivienda, características laborales, etc.), y factores ambientales, tales como temperatura ambiente, humedad relativa, etc. (Belmar, 1993).

Estudios realizados por Rosales-Castillo y colaboradores (2001), de la Dirección General de Salud Ambiental de la Secretaría de Salud de México, muestran que no todos los contaminantes atmosféricos tienen la misma capacidad de producir efectos tóxicos ni todos producen el mismo daño, sino que más bien, los efectos dependen de las propiedades físicas y químicas de los contaminantes atmosféricos.

Desafortunadamente, las emisiones producidas por las ladrilleras son una fuente de compuestos dañinos para los trabajadores y para sus familias, así como para las poblaciones cercanas.

Entre las principales enfermedades que producen las emisiones de las ladrilleras están las enfermedades respiratorias. Estas enfermedades son muy frecuentes en las zonas donde hay hornos artesanales y están asociadas con la desnutrición que, generalmente, la población infantil la presenta debido a la pobreza y a las limitaciones que se puedan tener en la localidad (Codes y col., 2002).

Blackman (2000) mostró que entre los efectos de las partículas PM10 emitidos por las ladrilleras de Ciudad Juárez, Chihuahua, sobre la salud están los ataques de asma y la muerte. En este estudio se encontraron aproximadamente 14 casos significativos de muerte, 262 casos de ingresos hospitalarios por enfermedades respiratorias, 42,680 casos de ataques de asma y 1,637 casos de bronquitis crónica en niños.

II.2.3.1.1. PM10.

Las emisiones de las ladrilleras contienen partículas sólidas. Se han realizado estudios donde se muestran que el tamaño de las partículas tiene una relación directa con la salud humana. En efecto, se ha visto que a menor tamaño de las partículas hay un mayor daño, pues pueden penetrar más profundamente a los pulmones al nivel de los bronquiolos y alvéolos (Rosales-Castillo y col., 2001; Donaldson y col., 2000).

En otros estudios realizados por la Comisión Nacional del Medio Ambiente de Chile (CONAMA, 2006_a) se observó que las partículas que tienen un diámetro mayor a 5 micrómetros se depositan y se acumulan en la nariz, en la traquea y en los bronquios. Por otro lado, ese mismo estudio apoya los resultados de Rosales-Castillo y colaboradores (2001), pues se observó que las partículas menores a 5 micrómetros se acumulan en los alvéolos. Entre las partículas cuyo diámetro es mayor a 5 micrómetros se encuentran las llamadas PM10. Se tiene datos de que las PM10 están relacionadas con el asma. Efectivamente, las partículas PM10 ingresan a los pulmones y se depositan en la periferia de los pulmones causando su inflamación y empeorando los síntomas del asma (Li y col., 1997).

Reyna y colaboradores (2003) realizaron estudios en Mexicali, Baja California con un modelo basado en la regresión de Poisson que los ayudó a conocer el impacto de estas partículas sobre la salud humana, teniendo como resultado que las principales enfermedades son asma, neumonía e infecciones respiratorias agudas.

Estudios realizados por Donaldson y colaboradores (2000) muestran que entre los componentes principales de las partículas PM10 se encuentran compuestos de carbono, metales de transición, hidrocarburos y partículas de endotoxinas. De acuerdo a este mismo autor, estos componentes pueden llegar a causar estrés oxidativo.

II.2.3.1.2. Óxidos de Nitrógeno (NO_x).

Los compuestos de nitrógeno son la suma del óxido de nitrógeno (NO) y del dióxido de nitrógeno (NO₂). Efectivamente, estos compuestos pueden tener efectos adversos en la salud. Por ejemplo, al estar expuesto a estos contaminantes a bajas concentraciones y a periodos cortos suele producir irritación en los ojos, la nariz, la garganta, los pulmones y cansancio. Sin embargo, conforme aumenta la concentración de estos gases y el periodo de exposición, puede producir quemaduras en los ojos y piel, dilatación en los tejidos de las vías respiratorias, además reduce la oxigenación de los tejidos del cuerpo provocando que se acumule líquido en los pulmones y por consecuencia, la muerte (ATSDR, 2002_a).

Estudios muestran que la exposición prolongada al óxido de nitrógeno (NO₂) a altas concentraciones puede influir en el aumento de los síntomas de bronquitis y asma así como disminuir la función pulmonar en niños (WHO, 2000).

II.2.3.1.3. Monóxido de Carbono (CO).

El monóxido de carbono es uno de los gases contaminantes emitidos en cualquier combustión. Las personas más afectadas son las mujeres embarazadas, los niños, las personas que sufren problemas cardiovasculares y respiratorios y las de edad avanzada. Este gas afecta al ambiente y a la salud humana. Efectivamente, el monóxido de carbono a bajas concentraciones provoca dolor de cabeza, náuseas y mareos ligeros (EPA, 2006).

Estudios realizados por Raub y Benignus (2002) señalan que se reduce la cantidad de oxígeno que llega al cerebro, corazón y al cuerpo en general al exponerse a altas concentraciones de CO. Esto sucede por que, al entrar el monóxido de carbono al organismo del ser humano, desplaza al oxígeno y por lo tanto la hemoglobina reparte este gas en el cuerpo en lugar del oxígeno provocando un envenenamiento que si no es atendido puede causar inclusive la muerte. Este mismo autor encontró que a bajas concentraciones de monóxido de carbono se reduce la percepción visual y problemas de aprendizaje. Por otro lado,

la exposición a altas concentraciones de este gas puede provocar alteraciones en el sistema nervioso central causando desorientación, confusión, colapsos y coma.

II.2.3.1.4. Dióxido de Azufre. (SO₂).

El dióxido de azufre es otro de los contaminantes emitidos a la atmósfera por actividades antropogénicas, entre ellas, la elaboración artesanal del ladrillo; sin embargo, este gas también es resultado de las emisiones volcánicas (Guenther y col., 2000).

Estudios realizados por la Comisión Nacional del Medio Ambiente de Chile (CONAMA, 2006) muestran que estos contaminantes no solo afectan al ambiente, sino también a la salud humana. Estos mismos estudios señalaron que los gases de dióxido de azufre son el resultado de la combustión del azufre que se encuentra en la gasolina, petróleo diesel y carbón, entre otros.

El dióxido de azufre se introduce en el cuerpo humano por inhalación provocando daños en la salud. Efectivamente, la exposición a dióxido de azufre puede causar opacamiento de córnea, dificultad para respirar, inflamación de las vías respiratorias, edema pulmonar, y paros cardiacos, además este gas esta directamente ligado con enfermedades como el asma y la bronquitis crónica (ATSDR, 2002; CONAMA, 2006).

II.2.3.1.5. Compuestos orgánicos volátiles (COV's).

Los compuestos orgánicos volátiles son químicos formados estructuralmente por carbono y tiene la característica de evaporizarse fácilmente a temperatura ambiente por lo que la principal ruta de exposición humana es la inhalación (Jurvelin, 2003; MDH, 2005).

Los COV's son importantes por dos razones: primeramente, estos compuestos junto con los óxidos de nitrógeno forman ozono así como otros gases

fotoquímicos. La segunda razón es que los COV's pueden provocar efectos crónicos en la salud humana.

También es importante mencionar que estos compuestos orgánicos son emitidos como gases de forma natural y antropogénica. Efectivamente, entre las fuentes naturales, los COV's pueden ser emisiones producidas por bosques, pantanos y tundras, mientras que las fuentes antropogénicas incluyen procesos industriales, la quema de combustibles fósiles, productos químicos (pinturas, cosméticos, productos de limpieza, pesticidas, materiales de construcción, etc.), rellenos sanitarios y residuos de los tratamientos de aguas (EPA, 2003; Jurvelin, 2003).

Se sabe que los COV's pueden causar irritación de ojos, nariz y garganta, así como náuseas, vómitos y asma (MDH, 2005). Estudios realizados muestran que estos compuestos pueden provocar cáncer en animales y, aunque aún no se ha comprobado el efecto crónico sobre la salud humana, se sospecha que también puede causar daños en el riñón, en el sistema nervioso central y cáncer dependiendo de factores como dosis y tiempo de exposición (Jurvelin, 2003; MDH, 2005).

II.2.3.1.6. Hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAP's).

Los Hidrocarburos policíclicos aromáticos son algunos de los compuestos orgánicos que contaminan la atmósfera, están formados principalmente por hidrógenos, carbonos y por la fusión de anillos benzoicos.

Los HAP'S tienen baja solubilidad con el agua, son lipofílicos y persistentes en el ambiente, semivolátiles (pueden transportarse largas distancias), además poseen características mutagénicas y cancerígenas cuando están formados por más de cuatro anillos benzoicos.

Estos compuestos orgánicos se forman por la combustión incompleta de materiales que contengan carbono e hidrógeno y tienen dos fuentes: la antropogénica y la natural, aunque ésta última tiene una contribución menor. Estudios realizados por Boström y colaboradores (2002) señalan que las fuentes naturales aportan tan solo el 0.4% de estos compuestos a la atmósfera, un ejemplo son las emisiones volcánicas.

Entre las fuentes antropogénicas están el humo del cigarro, los gases emitidos por los automóviles, calentadores domésticos y las industrias (Villar, 2004).

Actualmente, están identificados más de 100 HAP's; Sin embargo, únicamente 11 están considerados como prioritarios: fenantreno, antraceno, fluoranteno, benzo(a)antraceno, benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, benzo(a)pireno, dibenzo(a,h)antraceno, benzo(g,h,i)perileno, indeno(a)pireno y criseno. De estos compuestos, se han encontrado que el benzo(a)pireno, benzo(a)antraceno, benzo(k)fluoranteno, benzo(b)fluoranteno, el criseno y el dibenzo(a,h)antraceno causan daños en el material genético, por lo que son potencialmente carcinógenos (Böstrom y col., 2002; Villar, 2004).

Los HAP's entran al organismo a través de el tracto respiratorio, digestivo o por la piel y pueden causar cefalea, náuseas, poco apetito, reacciones lentas, cansancio y cáncer de mama así como también en pulmón (afectando principalmente los bronquios), piel, esófago, colon, páncreas y vejiga. Estos compuestos, al entrar al organismo, se biotransforman a compuestos intermedios que son capaces de mutar la cadena de ADN para posteriormente romperla y entonces provocar la formación y proliferación de células malignas (Mastrangelo y col., 1996; Böstrom y col., 2002; Villar, 2004).

II.3. Cáncer.

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por el crecimiento incontrolable de células con la capacidad de propagarse causado por el mal funcionamiento de genes y se inicia con un daño al ADN, efecto conocido como genotoxicidad.

El cáncer puede ser provocado por factores externos e internos. Entre los externos se puede mencionar los hábitos de vida como fumar, los compuestos químicos, la contaminación ambiental y radiaciones, mientras que los internos incluyen factores hereditarios, mal funcionamiento de hormonas y mutaciones que ocurren desde el metabolismo. Efectivamente, se sabe que del 5% al 10% de los casos de cáncer, estos se deben a factores hereditarios, mientras que el otro 90% se desarrolla a lo largo de la vida del individuo que esta en contacto con factores externos (ACS, 2006).

El cáncer es una enfermedad de importancia mundial y que ha cobrado fuerza con el paso del tiempo, se sabe que es una de las principales causas de muerte a nivel internacional y que, efectivamente, la contaminación atmosférica esta muy relacionada con el cáncer.

Datos estadísticos (ACS, 2006) muestran que en México, durante el año 2002, se presentaron aproximadamente 180 casos de cáncer por cada 100,000 habitantes, donde el 48% corresponde a hombres y el 42% a mujeres. También se sabe que en el año 2005, la tercera causa de muerte en nuestro país fueron los tumores malignos, registrándose 495 240 defunciones, 55.2% correspondiendo a hombres y 44.8% en mujeres.

En la Figura 2 se puede observar que entre las dos principales causas de muerte por cáncer en varones corresponden a los de: traquea, bronquios y pulmón (15.6%), y próstata (15.5%), mientras que en la mujer, el cáncer cérvico-uterino

(13.3%) representa el principal tipo de cáncer que causa la muerte, seguido del cáncer de mama (13.1%) (INEGI, 2007).

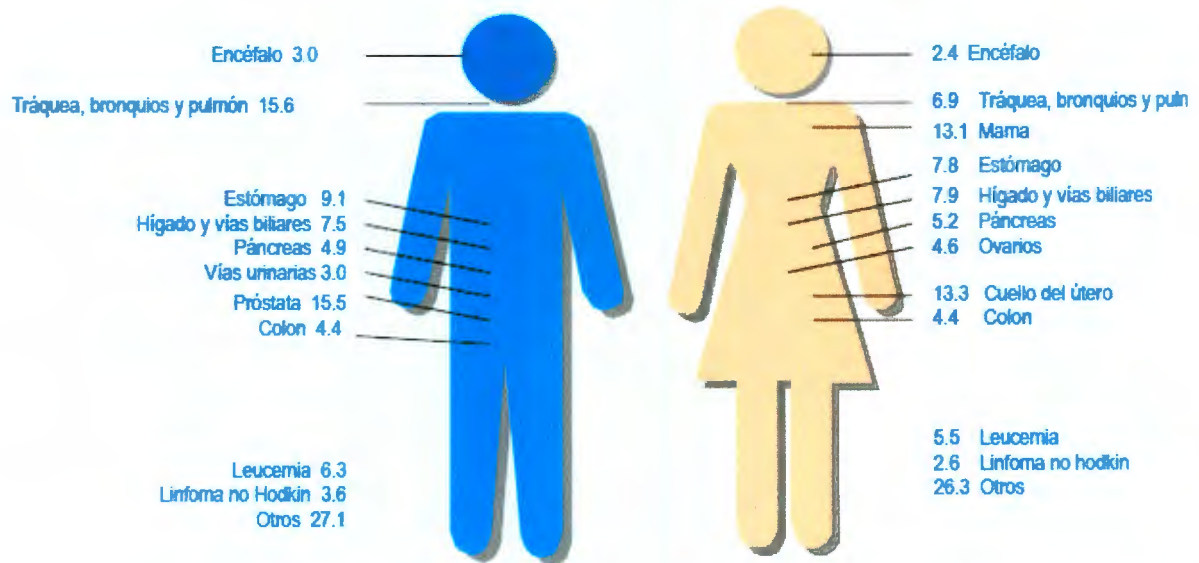


Figura 2. Distribución porcentual de las principales causas de defunción por tumores malignos según sexo, 2005 (INEGI, 2007).

II.4. Genotoxicidad.

La genotoxicidad es un daño en el material genético provocado por agentes ambientales físicos, químicos o biológicos y puede entenderse como el resultado nocivo de la interacción de agentes químicos o físicos con el aparato hereditario de la célula y se manifiesta en alteraciones genéticas y/o cambios en el número o estructura de los cromosomas, que pueden incorporarse en generaciones celulares subsiguientes llamadas mutaciones (Clayson y Grant, 1992).

II.4.1. Medio Ambiente y Efectos Genotóxicos.

Todos los seres vivos están expuestos a los contaminantes del ambiente originados de las actividades antropogénicas. El aire contaminado puede contener compuestos genotóxicos y carcinógenos, es por eso que es muy importante conocer los efectos que pueden tener estos contaminantes sobre la salud humana.

Knudsen y colaboradores (1999) realizaron estudios con poblaciones expuestas a los contaminantes atmosféricos tales como los choferes de autobuses así como con poblaciones menos expuestas a los tóxicos ambientales, como los carteros. Sus resultados mostraron que la población expuesta tienen mayor frecuencia de aberraciones cromosomales, siendo esto un biomarcador de daño genotóxico, por lo tanto, este estudio demostró que la contaminación del aire provoca efectos genotóxicos.

Somers y colaboradores (2002) realizaron un estudio con ratones expuestos a aire contaminado con HAP's entre otros contaminantes, y encontraron una estrecha relación entre los niveles de contaminación ambiental y la inducción de mutaciones pues los HAP's están entre los contaminantes genotóxicos del aire y causan efectos dañinos. Si bien es cierto que los contaminantes del aire dañan los genomas en ratones, no son conocidos con exactitud los posibles impactos sobre la salud del ser humano. Los autores señalan que las mutaciones son inducidas a través de mecanismos que alteran la replicación y reparación del ADN, afectando esto a todos los genomas, también llegan a la conclusión de que algunos compuestos químicos relacionados con la contaminación del aire causan con frecuencia mutaciones hereditables.

Por otro lado, Bonner y colaboradores (2005) llegaron a la conclusión, gracias a sus estudios realizados con pobladores expuestos a PAH's, que la exposición a estos hidrocarburos incrementan el riesgo de desarrollar cáncer de pecho.

La contaminación del aire ha sido identificada como una fuente de bifenilos policlorados (PBC's), compuestos químicos que pueden provocar efectos neuropsicológicos. El efecto neurotóxico de los PBC's aparentemente incluyen efectos dañinos a células del cerebro así como en la modulación de la tiroides. Peper y colaboradores (2005) realizaron estudios con maestros de una escuela donde se detectaron niveles bajos de PCB's, Entre sus resultados encontraron los

problemas cardiovasculares así como la reducción en los procesos mentales de los pacientes y pérdida de orientación.

Kim y Yang (2005) estudiaron un contaminante ambiental conocido como 2,3,7,8- tetraclorodibenceno-p-dioxina (TCDD). Los autores trataron con este contaminante las células del cerebro de ratones. Sus resultados mostraron que el TCDD esta directamente relacionado con la alteración de una proteína encargada de la función neuronal llamada Kinasa C (PKC), lo que contribuye a entender el efecto neurotóxico que tiene el TCDD, el cual se acumula en el cerebro y en otros órganos. Steenland y colaboradores (2004) realizaron investigaciones acerca de este mismo contaminante encontrando que es una de las dioxinas más potentes pudiendo causar cáncer.

Otro estudio realizado en Noruega (Nafstad y col., 2003) con pobladores varones entre 40 y 49 años de edad expuestos a contaminantes atmosféricos tales como el SO₂, NO_x y partículas suspendidas totales sugieren que la contaminación ambiental aumenta el riesgo de desarrollar un cáncer de pulmón.

Un trabajo más actual (Vaclavik y col., 2007) señala que la exposición a partículas ultrafinas provenientes del aire pueden inducir al estrés oxidativo y dañar al ADN. Este mismo trabajo indica que las PM del aire están entre los factores de riesgo que están relacionados con enfermedades cardiovasculares y cáncer de pulmón. Los resultados de este trabajo mostraron que las partículas ultrafinas pueden oxidar la guanina, dicha oxidación es mutagénica.

II.4.2. Importancia de Evaluar la Genotoxicidad.

La contaminación atmosférica es un problema mundial y no hay ser vivo que no resulte afectado. Efectivamente, existe una relación directa entre los daños genotóxicos en genomas y la contaminación del aire. Si bien es cierto que no todos los contaminantes que están en la atmósfera causan genotoxicidad, si existen

compuestos químicos que dañan la replicación y reparación del ADN, como los HAP'S.

Estudios realizados por Awara y colaboradores (1998) mencionan que el hecho de presentar daños en el ADN puede ser considerado como un evento importante en la iniciación de un proceso carcinógeno.

Es por eso que es muy importante evaluar los daños que pueden causar los contaminantes sobre la salud humana, ya que como se mencionó anteriormente, pueden causar cáncer y mutaciones hereditables (Somers y col., 2002; Villar, 2004).

El estudio de la genotoxicidad y su evaluación han ido cobrando importancia con el paso del tiempo, esto se debe a que ha aumentado el riesgo de sufrir daños en el ADN por todos los contaminantes a los que la población esta expuesta.

Actualmente existen pruebas bioquímicas, epidemiológicas, espectrofotométricas, citogenéticas y bioensayos que permiten conocer el daño al ADN; sin embargo, todas tienen sus ventajas y desventajas, como el costo, el cual, es mayor a medida que aumenta la sensibilidad del ensayo (Prieto y Liópez, 1999).

Vizoso y colaboradores (1999) evaluaron la genotoxicidad de un extracto fluido y del aceite esencial del *Plectranthus amboinicus* (Lour) Spreng (orégano francés) mediante dos ensayos de genotoxicidad: la prueba somática en el hongo diploide *Aspergillus nidulas* D-30 y la prueba de micronúcleos en medula ósea de ratón. Sus resultados mostraron que tanto el extracto como el aceite esencial presentaron una acción citotóxica y genotóxica significativa en el ensayo de segregación somática en el hongo *Aspergillus nidulans* D-30, así mismo, ni el extracto, ni el aceite esencial indujeron de forma significativa la formación de micronúcleos en medula ósea de ratón, concluyendo que el extracto fluido no era genotóxico en este sistema de ensayo.

Lóriga y colaboradores (2001) usaron la prueba de inducción de micronúcleos para evaluar la genotoxicidad de la vacuna VA-MENGOC-BC, que es usada contra enfermedades causadas por la *Neisseria meningitidis*, sus resultados obtenidos a través de este ensayo mostraron que la vacuna no causa daños genotóxicos, los autores recomiendan que se realicen otros estudios para la evaluación detallada de otros daños genéticos.

Ahora bien, Arboleda- Moreno y colaboradores (2004) también evaluaron el daño genotóxico causado por la exposición a cigarrillos en fumadores de una población joven (19-29 años de edad) mediante la prueba de aberraciones cromosómicas (AC) causadas por agentes ambientales físicos, químicos o biológicos. Esta prueba permite identificar los cambios estructurales en los cromosomas o su número así como sustancias químicas mutagénicas y cancerígenas a través de la evaluación del genoma celular, sus resultados mostraron que, efectivamente, existe una relación entre las aberraciones cromosómicas de los fumadores jóvenes y el riesgo de tener cáncer.

Otra forma de evaluar la genotoxicidad es mediante el ensayo de electroforesis unicelular en gel, también conocido como “ensayo cometa”. Esta prueba sirve para evaluar el daño genotóxico que sufre el ADN como consecuencia de exposición a agentes genotóxicos.

Debido a que el ensayo cometa es un método sencillo, eficaz, rápido, sensible y barato para evaluar la genotoxicidad es muy usado para varias investigaciones. Otras ventajas que ofrece el ensayo cometa son: que puede ser utilizado en cualquier célula eucariota, permite evaluar la reparación del ADN y establecer niveles de daño celular (Prieto y Llópez, 1999).

Gontijo y Colaboradores (2001) utilizaron la orina de pacientes fumadores y ex-fumadores obtenida mediante lavados de vejiga urinaria para detectar el posible daño al ADN en células epiteliales no neoplásicas con el ensayo cometa. Sus

resultados mostraron que las personas con el hábito de fumar tienen altos niveles de daño en el ADN en sus células, mientras que el daño en ADN en personas ex-fumadoras es menor, también observaron que la edad esta asociada con el incremento en el daño al ADN en no fumadores.

Otro ejemplo práctico es el trabajo realizado por Rigonato y colaboradores (2005) quienes usaron el ensayo cometa para evaluar si los contaminantes acuáticos inducen daño al ADN, al mismo tiempo, utilizaron este ensayo para determinar si los tejidos del molusco *Corbicula Fluminea* (Mollusca) podrian ser un buen bioindicador de genotoxicidad obteniendo resultados satisfactorios.

II.4.3. Ensayo de Electroforesis Unicelular en Gel. Fundamentos.

La metodología del ensayo cometa fue desarrollada primeramente en 1984 cuando se usó la electroforesis en microgel para evaluar el daño al ADN a nivel celular, la técnica se basaba en colocar las células en portaobjetos con agarosa para después someterlas a lisis por medio de detergentes con un grado alto de salinidad, se metían a electroforesis bajo condiciones neutrales y entonces las células dañadas migraban hacia el ánodo (Östling y Johanson, 1984; Tice y col., 2000).

Singh y colaboradores (1988) modificaron la técnica al cambiar el pH de la solución de electroforesis, ya que pasó a ser altamente alcalina, y así poder detectar a nivel celular el daño genotóxico provocado por tratamientos con rayos X o peróxido de hidrógeno.

El fundamento de este ensayo se basa en la fragilidad que poseen los sitios dañados, al ser sometidos a un pH superior a trece y su comportamiento en una electroforesis. Los fragmentos de ADN, producto de la acción del genotóxico, son afectados por el pH alcalino, migran en un campo electroforético a una velocidad diferente del resto del material nuclear formando la cola del cometa, entre más larga sea esta porción mayor será el daño ocasionado al ADN (Klaude y col., 1995).

En la Figura 3 se muestra representativamente un nucleóide de una célula sometida al ensayo cometa en la cual se puede observar la “cabeza” y la “cola”. La cabeza es la región que contiene el núcleo, mientras que la cola es la que contiene el ADN dañado que ha sido liberado de los nucleóides por medio de la electroforesis (Schabath y col., 2003).

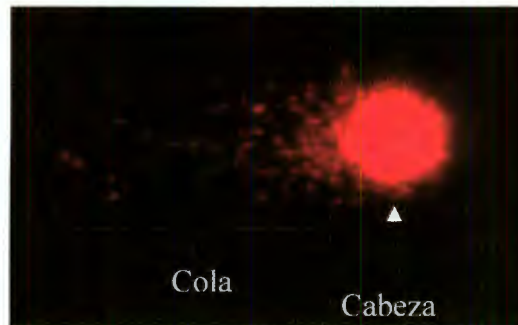


Figura 3. Nucleóide obtenido mediante el ensayo cometa.

Efectivamente, es posible medir el daño de ADN, de acuerdo a investigaciones realizadas por Collins (2004), el ojo humano puede distinguir diferentes grados de daños de acuerdo a la apariencia del cometa. El autor encontró 5 clasificaciones posibles, que van desde 0 hasta 4. El valor de 0 indica la ausencia de la cola del cometa mientras que el valor de 4 indica que hay una gran cantidad de ADN en la cola del cometa (Figura 4).

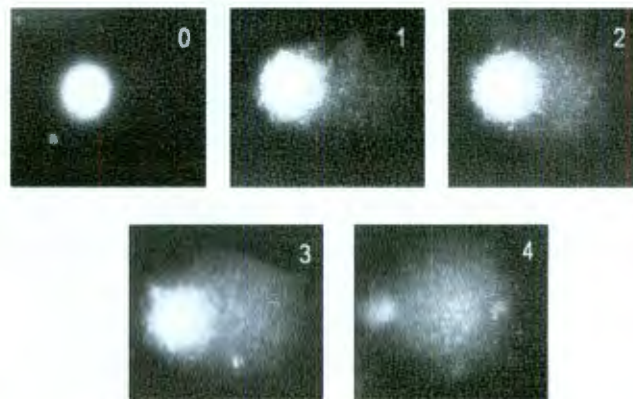


Figura 4. Imágenes de cometas que representan las 5 diferentes clasificaciones posibles de acuerdo al daño del ADN (Collins, 2004).

El ensayo cometa ha sido usado en diversos estudios *in vitro* e *in vivo* para evaluar daño y reparación al ADN inducido por varios agentes en diversas células de mamíferos (Olive y col., 1994), además, se han evaluado diferentes tipos de sustancias como el metilmetanosulfonato y la dietilnitrosamina donde se encontró que la producción de células apoptóticas dependen del tiempo de exposición al mutágeno y el órgano estudiado (Miyamae y col., 1998), el daño y reparación del ADN comparando linfocitos de individuos sanos y pacientes con cáncer se estudió, observándose que en los pacientes el daño y la reparación del ADN están disminuidas (Palyvoda y col., 2003), y en todos ellos se ha observado que el ensayo cometa es un buen indicador de daño al ADN.

II.4.4. Electroforesis Unicelular en Gel, Bioindicador de Genotoxicidad.

El ensayo de electroforesis unicelular en gel (ensayo cometa) tiene aplicaciones como bioindicador de genotoxicidad en pobladores expuestos a contaminantes atmosféricos, prueba de esto son los múltiples estudios que se han realizado sobre este tema.

Algunos ejemplos del uso del ensayo cometa como bioindicador en la evaluación de la genotoxicidad son los siguientes: Vaghef y colaboradores (1997) aplicaron el ensayo cometa para evaluar el daño al ADN de pacientes con cáncer de pecho tratados con quimioterapia y ciclofosfamida, sus resultados mostraron que esta técnica es factible para determinar la disminución de ADN afectado debido al tratamiento.

Estudios realizados por Valverde y colaboradores (1999) aplicaron el ensayo de electroforesis unicelular en gel en poblaciones humanas expuestas a contaminantes atmosféricos, como el ozono, para evaluar los efectos genotóxicos sobre el ADN. Sus resultados señalan que esta técnica puede ser usada para estudios de monitoreo ambiental debido a su gran sensibilidad.

Como ya se ha mencionado, entre los contaminantes emitidos a la atmósfera por las ladrilleras se encuentran los HAP's, estos compuestos orgánicos usan como bioindicador al benceno(a) pireno para cuantificar su presencia en el aire (Böstrom y col., 2002), y ahora, con el ensayo cometa se puede evaluar la genotoxicidad que causa al estar expuesto a estos contaminantes (Garry y col., 2002); sin embargo, hay que considerar que el grado de daño al ADN depende de varios factores tales como la edad, el tiempo de exposición al contaminante, la dieta, el ejercicio que se realice, el género, los hábitos de fumar, beber o si hay exposición a contaminantes en el área de trabajo (Moller y col., 2000).

También se ha utilizado el ensayo cometa como una técnica altamente sensible para detectar en forma oportuna el daño al ADN en células endocervicales así como para valorar los factores de alto riesgo involucrados en el cáncer cérvico uterino. Sosa (2007) realizó una investigación que señaló que el ensayo cometa puede detectar el daño al ADN antes de que las células del tejido cervical presenten cambios morfológicos, detectándolo desde una etapa de iniciación hasta un estado de cancer invasor siendo así una técnica complementaria a la detección oportuna del cancer cérvico uterino.

Otro estudio concluyó que el ensayo cometa puede detectar un mayor número de factores de exposición como factores de riesgo que la prueba conocida como papanicolao, además de presentar mayor sensibilidad que este último (Jiménez, 2005).

Hernández (2006) utilizó el ensayo cometa como bioindicador para evaluar la actividad antigenotóxica del extracto acuoso de *Amphipterygium adstrigens* (cuachalalate), sus resultados muestran que el extracto acuoso es inocuo para los linfocitos humanos y ejerce un efecto antigenotóxico el cual puede ser atribuido a sus componentes, mostrando que el ensayo cometa es un buen bioindicador genotóxico y antigenotóxico.

Las ventajas que presenta el ensayo cometa tales como la sensibilidad de detectar el daño al ADN, la rapidez y el costo, entre otros, ha hecho de esta técnica una eficiente prueba para exposiciones que podría provocar daños genotóxicos.

II.5. Información General de San Nicolás, Tequisquiapan, Querétaro.

II.5.1. Ubicación.

San Nicolás es una localidad del municipio de Tequisquiapan, Querétaro, de acuerdo a datos de la carta topográfica del Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI,2000), San Nicolás esta ubicado geográficamente a 20° 29' en Latitud Norte, a 99° 56' en Latitud Oeste, y a una altitud de 1920 metros. Esta localidad se encuentra a 7 Km del municipio de Tequisquiapan y a 2 Km de la comunidad de Bordo Blanco (Figura 5.). El poblado esta dividido longitudinalmente en tres partes por la vía del tren y por la carretera San Juan del Río-Tequisquiapan.



Figura 5. Ubicación de San Nicolás, Tequisquiapan, Querétaro, Qro (INEGI,2000).

Según el XII Censo General de Población y Vivienda realizado por el Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática (INEGI, 2000_a), en la localidad de San Nicolás hay un total de 797 viviendas habitadas y cuenta con una población total de 4147 personas (2126 hombres, 2021 mujeres). San Nicolás tiene un 36.7% de población económicamente activa y el 47.67% de las personas mayores de 15 años son analfabetas.

En San Nicolás, la principal fuente de ingresos es la elaboración artesanal de ladrillo. Existen más de 300 ladrilleras en la zona habitacional, con familias enteras viviendo en su periferia (Costilla y col., 2006), esto hace que San Nicolás sea una de las localidades más importantes de Tequisquiapan en este sentido, pues en el estado de Querétaro existen 497 hornos en uso activo y están distribuidos en 12 comunidades ladrilleras pertenecientes a 6 municipios, es decir, tan sólo en San Nicolás están el 60% de las ladrilleras (Anaya, 2006).

II.5.2 Problemática ambiental en San Nicolás.

Uno de los problemas de contaminación que han requerido de atención en nuestro país y en el estado de Querétaro por el impacto social, ambiental y económico que originan son las emisiones de las ladrilleras.

La producción del ladrillo en la localidad de San Nicolás es una actividad informal, pues los ladrilleros no pagan impuestos ni cumplen con normas regulatorias de emisiones a la atmósfera. De la misma manera, las ladrilleras son consideradas como una microindustria, lo que dificulta que esa actividad tenga una vigilancia en materia ambiental, convirtiéndose continuamente en sitios potenciales de contaminación.

Estudios realizados en San Luis Potosí revelan que el sector de la microindustria ha sido uno de los principales causantes de contaminación, teniendo una participación del 8.6% (Carrizales y col., 1999).

Los hornos artesanales donde se producen estos ladrillos tienen un gran impacto ambiental y un impacto negativo sobre la salud humana. Estos impactos se han ido incrementando y agudizándose en los últimos años.

La problemática ambiental en la localidad de San Nicolás está relacionada con las emisiones al aire liberadas por las ladrilleras que son consideradas como un riesgo por no disponer de hornos y quemadores adecuados, principalmente por quemar combustibles de mala calidad como el combustible estacionario que puede incluir combustóleo, aceites usados con altas concentraciones de PCBs, basura, madera, aserrín y llantas, entre otros. (Anaya, 2006; Costilla y col., 2006).

La actividad de elaborar ladrillos de manera artesanal en esta localidad es alarmante, ya que en la localidad hay un jardín de niños, una escuela primaria y una unidad deportiva al lado de algunas ladrilleras, con un gran número de personas circulando por la carretera y otras poblaciones cercanas que están respirando las emisiones.

Estudios realizados por Zuñiga (2004) muestran que 306 hornos ladrilleros del estado de Nayarit pueden producir 20 895 591 180 kg de contaminantes por año. San Nicolás tiene aproximadamente 300 hornos, por lo que se puede concluir que los hornos de esta localidad emiten aproximadamente la misma cantidad de contaminantes que los hornos de Nayarit, aunque como se ha mencionado anteriormente, se debe considerar el tipo de combustible que se este usando y la eficiencia de los hornos artesanales.

Costilla y colaboradores (2006), realizaron estudios sobre el contenido químico del suelo donde están localizados los hornos de las ladrilleras de la localidad de San Nicolás y han encontrado que los pobladores están expuestos a concentraciones elevadas de bifenilos policlorados (PCBs), hidrocarburos aromáticos policíclicos, aldehídos, dioxinas, y partículas suspendidas, entre otros, lo que significa un riesgo eminente para la población, tanto para los trabajadores de

las ladrilleras que operan sin ninguna protección (población ocupacionalmente expuesta) como para los miembros de la familia pues muchos hornos se encuentran en los patios de las casas habitación. De la misma manera, también corren riesgo las poblaciones cercanas a los hornos pues la contaminación se encuentra dispersa dentro y fuera de la comunidad, es decir, es una población ambientalmente expuesta.

III. HIPÓTESIS

Las emisiones originadas durante la elaboración artesanal de ladrillos en San Nicolás, Tequisquiapan Qro., inducen genotoxicidad en leucocitos humanos de una población ocupacionalmente expuesta y en una población ambientalmente expuesta.

IV. OBJETIVOS

IV.1. General

Evaluar el daño genotóxico de poblaciones humanas de San Nicolás Tequisquiapan, Qro., mediante el ensayo de electroforesis unicelular (ensayo cometa) en leucocitos humanos.

IV.2. Específicos.

- Seleccionar una población ocupacionalmente expuesta, una población ambientalmente expuesta a los contaminantes y una población libre de los contaminantes emitidos por las ladrilleras artesanales.
- Evaluar el daño genotóxico de las poblaciones seleccionadas mediante la técnica de electroforesis unicelular en leucocitos humanos.
- Comparar el daño genotóxico de los pobladores expuestos con respecto a los pobladores no expuestos a las emisiones de las ladrilleras.
- Conocer los posibles factores de riesgo a los cuales están expuestas la población testigo negativo, la población ocupacionalmente expuesta y la población ambientalmente expuesta.
- Asociar los posibles factores de riesgo para cada población con los resultados obtenidos mediante la técnica de electroforesis unicelular.

V. METODOLOGÍA

V.1. Materiales.

1. Material de vidrio de laboratorio.

- Probetas
- Vaso de precipitados
- Matraz Erlenmeyer
- Pipetas
- Micropipetas
- Porta objetos
- Cubre objetos
- Tubos de ensayo
- Caja de Kopplin

2. Reactivos

- Buffer de fosfatos (PBS)
- Agarosa de bajo punto de fusión
- Agarosa normal
- Buffer de calibración pH 7 y 10
- Colorante bromuro de etidio
- NaOH en escamas
- Trizma base
- Agua destilada
- Agua desionizada
- Na₂EDTA
- Tritón X-100

3. Equipo

- Baño María (Lab-line Instruments, INC)
- Cámara horizontal de electroforesis
- Fuente de poder (100/120volts)
- Centrifuga para tubos eppendorff
- Microscopio de fluorescencia (filtro de excitación 515 nm, filtro de barrera 590 nm y micrómetro ocular).
- Refrigerador
- Potenciómetro
- Balanza analítica

V.2. Métodos.

V. 2.1. Selección de la población de estudio.

Se realizaron 4 muestreos correspondientes a los meses de marzo, mayo, septiembre y diciembre del 2006. Para la población expuesta se seleccionaron 20 adultos que estuvieran expuestos a los contaminantes de las ladrilleras de la localidad de San Nicolás Tequisquiapan, Qro., mayores de edad (25 - 40 años), de ambos géneros y que tuvieran más de 5 años de vivir en la zona. Para la población testigo se seleccionaron 20 adultos con características similares a las de la población de San Nicolás. Estos adultos eran pacientes de la clínica Santa Bárbara del municipio de Corregidora del estado de Querétaro, zona libre de los contaminantes emitidos por las ladrilleras. A cada uno de los participantes se les pidió su consentimiento para participar en el estudio y posteriormente se les aplicó un cuestionario (Anexo 1).

De la población se consideraron únicamente a las personas de los 4 muestreos que cumplieron con los criterios de selección ya mencionados para este estudio dando como resultado dos grupos: la población ocupacionalmente expuesta (POE) y la población ambientalmente expuesta (PAE). La POE esta compuesta por los individuos que están expuestos a una mayor contaminación debido a que son personas que tienen el oficio de ladrillero en la localidad de San Nicolás y por lo tanto, están en contacto directo con las emisiones de las ladrilleras. La PAE son aquellas personas que no ejercen el oficio de ladrillero y sin embargo están expuestas a los contaminantes emitidos por los hornos ladrilleros debido a que han radicado en esta localidad por más de 5 años.

V.2.2. Toma de muestra

La toma de muestra se realizó por punción venosa y se recolectó 3mL de sangre completa en tubos de ensayo que contenían heparina como anticoagulante. La muestra se transportó al laboratorio en una caja de unicel con hielo. De la muestra de sangre completa, se tomaron 20 μ L y se depositaron en un tubo

ependorff con 1 mL de buffer de fosfatos (PBS) a un pH de 7.4 y se mezclaron. Se realizaron tres lavados por centrifugación con 1mL del mismo buffer.

V.2.2.2. Ensayo Cometa

La técnica que se empleó es la descrita por Singh y colaboradores (1988). Después de los tres lavados con el buffer de fosfatos (pH 7.4) se centrifugó la mezcla para obtener el botón celular, este se resuspendió en 75 μ L de agarosa de bajo punto de fusión (LMPA) al 0.5 % y 37 °C. Inmediatamente el botón celular se colocó sobre la laminilla donde previamente se había dejado solidificar una capa de agarosa de punto normal de fusión (NMP) al 1% y se cubrió con un cubreobjetos para distribuir las células en toda la laminilla colocándola en una cama de hielo para su solidificación (3-5 min.). Cuidadosamente se retiró el cubreobjetos y se añadió una tercera capa de 75 μ L de LMPA, el cubreobjetos se colocó nuevamente sobre la laminilla y se puso a solidificar sobre hielo. Después de la solidificación, el cubreobjetos se removió y cada laminilla se depositó lentamente en la caja Kopplin que contenía la solución de lisis fría (NaCl 2.5 M, Trizma 10 mM, EDTA 100 mM, Tritón X-100 1%, DMSO 10%). Las laminillas se refrigeraron durante 23 horas a 4°C y protegidas de la luz. La colocación de células en la capa de agarosa se realizó bajo luz oscura para evitar el daño al ADN.

La electroforesis se realizó en condiciones alcalinas (pH 13). Las laminillas se sacaron de la solución de lisis y se colocaron en la cámara de electroforesis, donde previamente se depositó el buffer de electroforesis (EDTA 200 nM, NaOH 10 N, pH 13) hasta un nivel que cubría completamente las laminillas evitando la formación de burbujas. Antes de realizar la electroforesis, las laminillas se dejaron reposar en el buffer alcalino por 20 minutos para permitir la desnaturalización del ADN y la expresión del daño álcali-lábil. Se encendió la fuente de poder a 25 volts y se ajustó la corriente a 300 mA, la electroforesis se realizó durante 20 min. Una vez transcurrido este tiempo se apagó la fuente de poder, las laminillas se retiraron cuidadosamente de la cámara para neutralizarlas con el buffer de neutralización

(Trizma 0.4 M, pH 7.5) durante 5 minutos, se dejaron escurrir y se repitió este paso dos veces más. las laminillas se expusieron durante 5 minutos a metanol frío al 100% para fijarlas, estos pasos se realizaron también bajo luz oscura.

V.2.2.3. Evaluación del daño al ADN

Las preparaciones se tiñeron con 60 μ L del colorante bromuro de etidio (0.002%), el cual se depositó sobre la laminilla y se protegió con un cubreobjetos, asegurándose que se cubriera la muestra. Se limpió el exceso del líquido en los lados y por la parte posterior. Para visualizar el daño al ADN, las preparaciones se observaron usando un microscopio de fluorescencia equipado con un filtro de excitación de 515-560 nm y un filtro de barrera de 590 nm, usando un micrómetro ocular y el objetivo de 40X, las evaluaciones se realizaron observando 100 nucleoides por cada preparación y midiendo la longitud de la cauda (X) y el diámetro celular (Y). Después de leer, se retiró el cubreobjetos y se cubrió con etanol al 100% para remover el colorante, se secaron y se guardaron.

V.2.3. Análisis estadístico

Para el análisis estadístico de los tres grupos formados de acuerdo a los criterios de selección establecidos para este estudio, se realizó una comparación múltiple con las medidas de la relación longitud/diámetro obtenidas para cada uno de los nucleoides correspondientes a los individuos de cada grupo. Se utilizó la prueba Tuckey- Kramer ($\alpha=0.05$) entre los promedios de la población ocupacionalmente expuesta, la población ambientalmente expuesta y el testigo negativo.

V.2.4. Selección de posibles Factores de Riesgo Relativo.

Se revisaron los cuestionarios (anexo 1) de todas las personas de cada grupo (Testigo negativo, POE y PAE). De cada cuestionario se seleccionaron los factores a los que cada individuo se encontraba expuesto que pudiera influir en el desarrollo de un posible cáncer de acuerdo a su relación longitud/diámetro (L/D), a saber, género, edad, lugar de residencia, hábito de fumar y beber, ocupación,

factores hereditarios de neoplasias y tipo de exposición a los contaminantes. Para la organización y evaluación de los datos para la determinación de los posibles factores de riesgo se realizó utilizando el programa estadístico SPSS versión 10.0, en el cual se registraron los datos obtenidos de los cuestionarios.

Los resultados obtenidos de la relación L/D para cada grupo se asoció con cada uno de los posibles factores de riesgo que fueron seleccionados. Esta asociación se realizó mediante la metodología propuesta por Fernández y colaboradores (2002) que consiste en la elaboración de tablas tetracóricas (Cuadro 1), después se calcularon los factores de riesgo relativo (RR) utilizando la siguiente ecuación:

$$RR = [a/(a+b)] / [c/(c+d)]$$

Cuadro 1. Tabla Tetracórica.

Variable Independiente (Causa)	Variable Dependiente		
	Daño Celular	Sin Daño celular	Total
Exposición a un factor	a	b	a+b
Sin Exposición al factor	c	d	c+d
Total	a+c	b+d	a+b+c+d

(Fernández y col., 2002)

Donde:

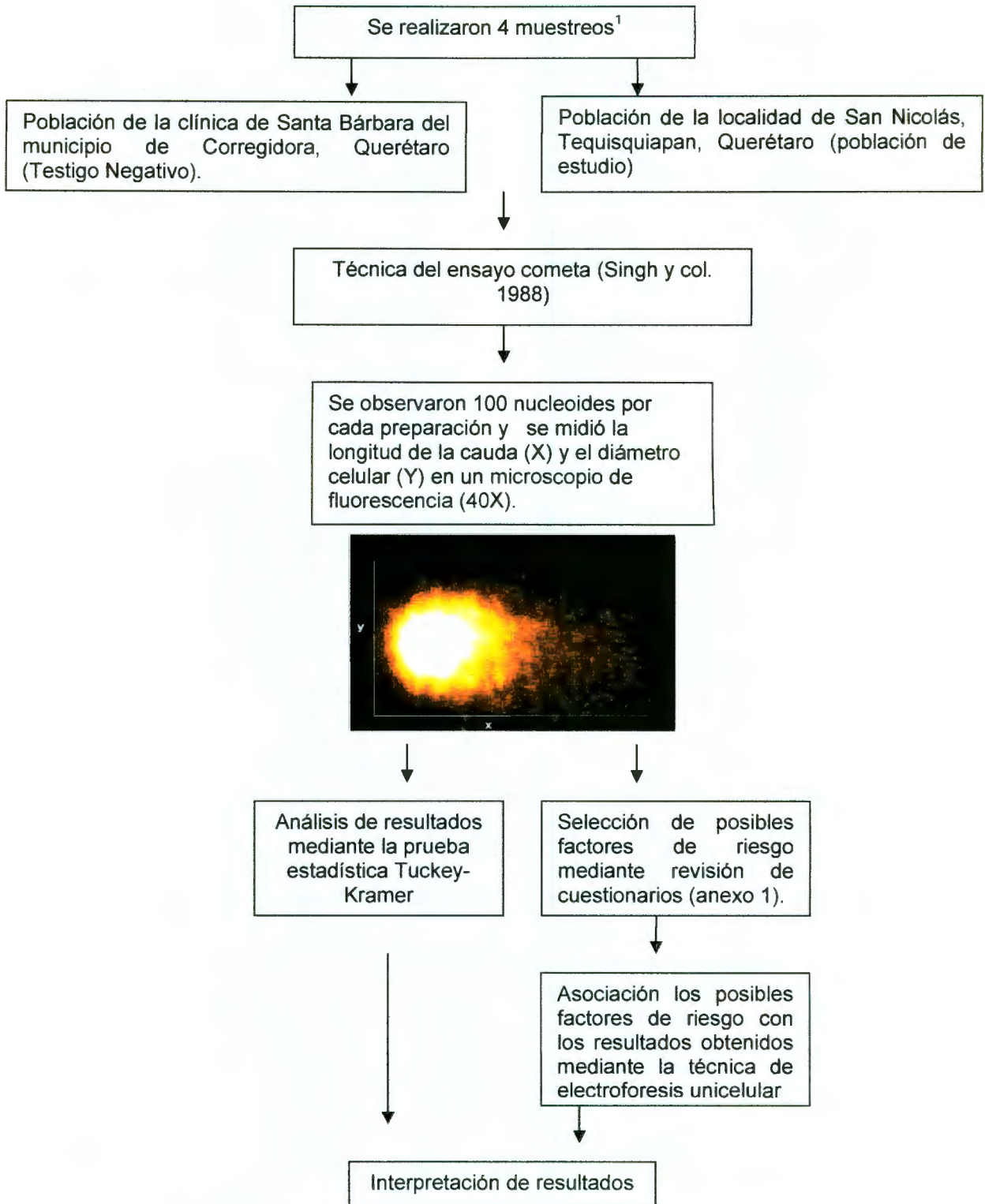
a= Muestras expuestas a un factor, que presente daño celular.

b= Muestras expuestas a mismo factor que “a”, que no presenta daño celular.

c= Muestras que no se expusieron a un factor y que presentan un daño celular.

d= Muestras que no se expusieron a un factor y que no presentan un daño celular.

En la Figura 6 se muestra el diseño experimental de la metodología de este estudio.



¹. Muestreos realizados en marzo, mayo, septiembre, diciembre 2006.

Figura 6. Diseño experimental del ensayo genotóxico.

VI. RESULTADOS.

El Cuadro 2 muestra la población testigo y población de estudio con respecto a las fechas correspondientes al experimento 1, 2, 3 y 4.

En el diseño experimental se planeó que el número de personas fuera de 20 para cada experimento y para cada población; sin embargo, en el caso de las personas de Santa Bárbara no se logró reunir esta cantidad ya que la disponibilidad de las personas en esta clínica no fue favorable hacia este estudio. En este cuadro se consideran las personas que ejercen el oficio de ladrillero artesanal así como a las personas que solamente están expuestas ambientalmente.

Cuadro 2. Personas estudiadas de acuerdo a la fecha de muestreo.

No. Experimento	Fecha muestreo	Población expuesta San Nicolás	Testigo Negativo Santa Bárbara
1	Marzo 2006	20	13
2	Mayo 2006	20	14
3	Septiembre 2006	20	20
4	Diciembre 2006	20	15
Total		80	63

El Cuadro 3 muestra la media de la relación longitud/diámetro (L/D) de los nucleoides de cada individuo, tanto de San Nicolás como de Santa Bárbara, se puede observar claramente como es que la relación L/D para el testigo negativo es menor que la correspondiente a la de la población de estudio. También se puede notar como es que esta relación es mayor para los meses de septiembre diciembre, tanto para el caso del testigo negativo como para los pobladores de San Nicolás.

Cuadro 3. Media de la relación L/D de cada uno de los individuos de la población de San Nicolás y Santa Bárbara (Testigo negativo).

Fechas	Testigo Negativo (Santa Bárbara)				San Nicolás			
	Muestras	Media L/D	Muestras	Media L/D	Muestras	Media L/D	Muestras	Media L/D
Marzo 2006	BU1	1.036	BU11	1.014	NU1	1.359	NU11	1.134
	BU2	1.002	BU12	1.031	NU2	1.502	NU12	1.266
	BU3	1.02	BU16	1.01	NU3	1.104	NU13	1.01
	BU4	1.011			NU4	1.29	NU14	1.0431
	BU5	1			NU5	1.18	NU15	1
	BU6	1.041			NU6	1.341	NU16	1.002
	BU7	1.008			NU7	1.387	NU17	1.118
	BU8	1.029			NU8	1.586	NU18	1
	BU9	1.014			NU9	1.292	NU19	1.0945
	BU10	1.029			NU10	1.441	NU20	1.03
Mayo 2006	BU17	1.01	BU27	1.01	NU21	1.245	NU31	1.0528
	BU18	1	BU28	1.015	NU22	1.042	NU32	1.079
	BU19	1.003	BU29	1.023	NU23	1.072	NU33	1.661
	BU20	1.001	BU30	1.005	NU24	1.021	NU34	1.5152
	BU21	1.004			NU25	1.004	NU35	1.1769
	BU22	1.006			NU26	1.01	NU36	1.1736
	BU23	1.016			NU27	1.01	NU37	1.253
	BU24	1.014			NU28	1.01	NU38	1.2091
	BU25	1.02			NU29	1.01	NU39	1.261
	BU26	1			NU30	1.063	NU40	1.2146
Septiembre 2006	BU32	1.14	BU42	1.021	NU42	1.1	NU52	1.6767
	BU33	2	BU43	1.016	NU43	1.066	NU53	1.7214
	BU34	1.258	BU44	1	NU44	1.292	NU54	1.5522
	BU35	1.346	BU45	1	NU45	1.362	NU56	1.7681
	BU36	1.053	BU46	1	NU46	1.356	NU57	1.8347
	BU37	1.104	BU47	1.028	NU47	1.324	NU58	1.7754
	BU38	1.005	BU48	1	NU48	1.356	NU59	1.2864
	BU39	1.002	BU49	1	NU49	1.31	NU60	1.3425
	BU40	1.016	BU50	1.041	NU50	1.718	NU61	1.6873
	BU41	1.032	BU51	1.001	NU51	1.81		
Diciembre 2006	BU52	1.06	BU62	1.09	NU62	1.29	NU72	1.55
	BU53	1.28	BU63	1.1	NU63	1.33	NU73	1.32
	BU54	1.33	BU64	1.07	NU64	1.3	NU74	1.32
	BU55	1.08	BU65	1.1	NU65	1.3	NU75	1.3
	BU56	1.2	BU66	1.06	NU66	1.26	NU76	1.32
	BU57	1.06			NU67	1.33	NU77	1.28
	BU58	1.13			NU68	1.26	NU78	1.34
	BU59	1.03			NU69	1.41	NU79	1.28
	BU60	1.05			NU70	1.3	NU80	1.37
	BU61	1.15			NU71	1.34	NU81	1.35

En la Figura 7 se puede observar que el promedio de la L/D de la población de San Nicolás es mayor que la relación de la población de Santa Bárbara durante los 4 meses de estudio. También se puede notar que durante los meses con temperaturas más bajas son los que presentan un mayor daño en su ADN.

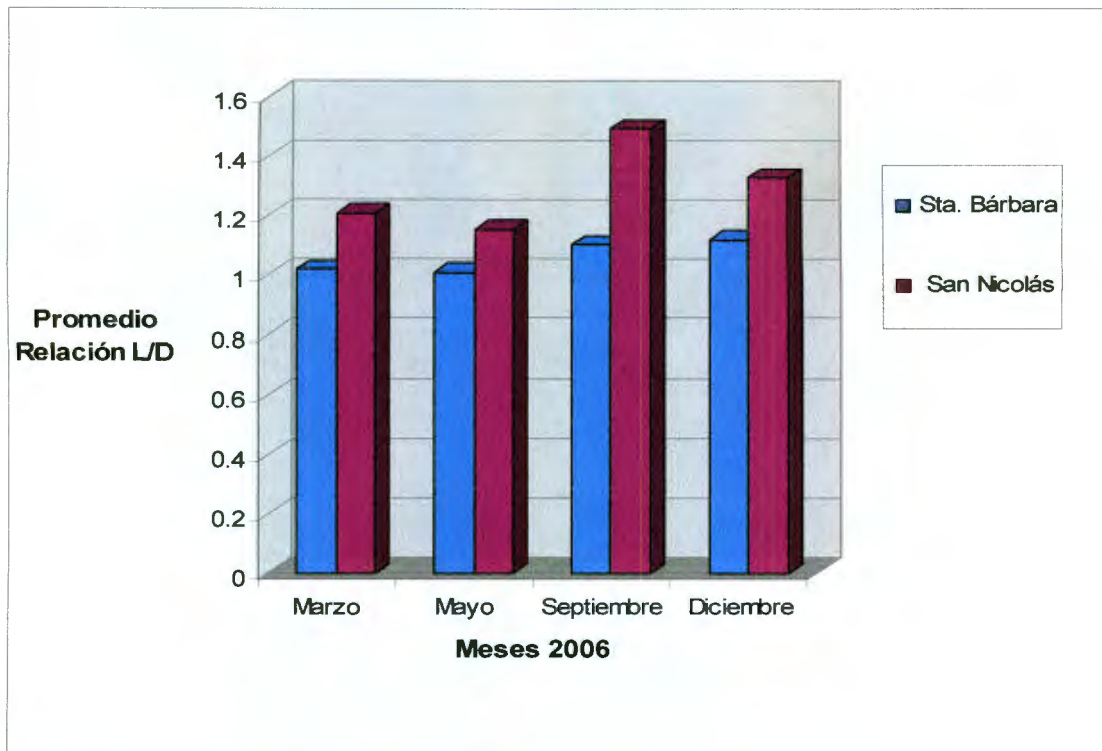


Figura 7. Relación L/D de los cuatro periodos de muestreo de las poblaciones de San Nicolás y Sta. Bárbara.

Se puede observar como es que la población de la localidad de San Nicolás presenta un daño en su ADN; sin embargo, es de importancia notar que los pobladores de Santa Bárbara presentan también en algunos individuos su relación L/D mayor a 1 en los meses de septiembre y diciembre, lo que podría indicar un posible daño genotóxico.

Como se mencionó en el diseño experimental, al analizar los criterios de selección de la población establecidos para este estudio se formaron tres grupos: el testigo negativo (o blanco), la población ocupacionalmente expuesta (POE) y la población ambientalmente expuesta (PAE). En el Cuadro 4 se señala que muestras corresponden a cada grupo.

Cuadro 4. Poblaciones de estudio de acuerdo a su criterio de selección.

Testigo Negativo		Población Ocupacionalmente Expuesta				Población Ambientalmente Expuesta			
Muestras	L/D	Muestras	L/D	Muestras	L/D	Muestras	L/D	Muestras	L/D
BU2	1	NU10	1.41	NU77	1.28	NU1	1.36	NU29	1.01
BU5	1	NU23	1.07	NU78	1.34	NU2	1.5	NU30	1.06
BU9	1	NU43	1.07	NU80	1.37	NU3	1.1	NU31	1.05
BU10	1.03	NU44	1.29			NU4	1.29	NU32	1.08
BU12	1.03	NU45	1.36			NU5	1.18	NU33	1.66
BU16	1.01	NU46	1.36			NU6	1.34	NU34	1.52
BU19	1	NU47	1.32			NU7	1.39	NU36	1.17
BU20	1	NU48	1.36			NU8	1.58	NU37	1.25
BU28	1.02	NU49	1.31			NU9	1.29	NU38	1.21
BU29	1.02	NU51	1.81			NU11	1.13	NU39	1.26
BU30	1.01	NU52	1.68			NU12	1.27	NU42	1.1
BU38	1.05	NU53	1.72			NU13	1.01	NU64	1.3
BU39	1	NU56	1.77			NU14	1.04	NU66	1.26
BU44	1	NU59	1.29			NU15	1	NU74	1.32
BU45	1	NU60	1.34			NU16	1	NU75	1.3
BU46	1	NU61	1.69			NU17	1.11	NU76	1.32
BU47	1.03	NU62	1.29			NU18	1	NU81	1.35
BU48	1	NU65	1.3			NU19	1.09		
BU51	1	NU67	1.33			NU21	1.24		
BU52	1.04	NU68	1.26			NU22	1.04		
BU54	1.33	NU69	1.41			NU24	1.02		
BU55	1.08	NU70	1.3			NU25	1		
BU57	1.06	NU71	1.34			NU26	1.01		
BU58	1.13	NU72	1.55			NU27	1.01		
BU66	1.06	NU73	1.32			NU28	1.01		

En la Figura 8 se puede comparar la relación L/D para el testigo negativo y para cada uno de los dos grupos formados de acuerdo al criterio de selección, se observa que esta relación es mayor para la población ocupacionalmente expuesta.

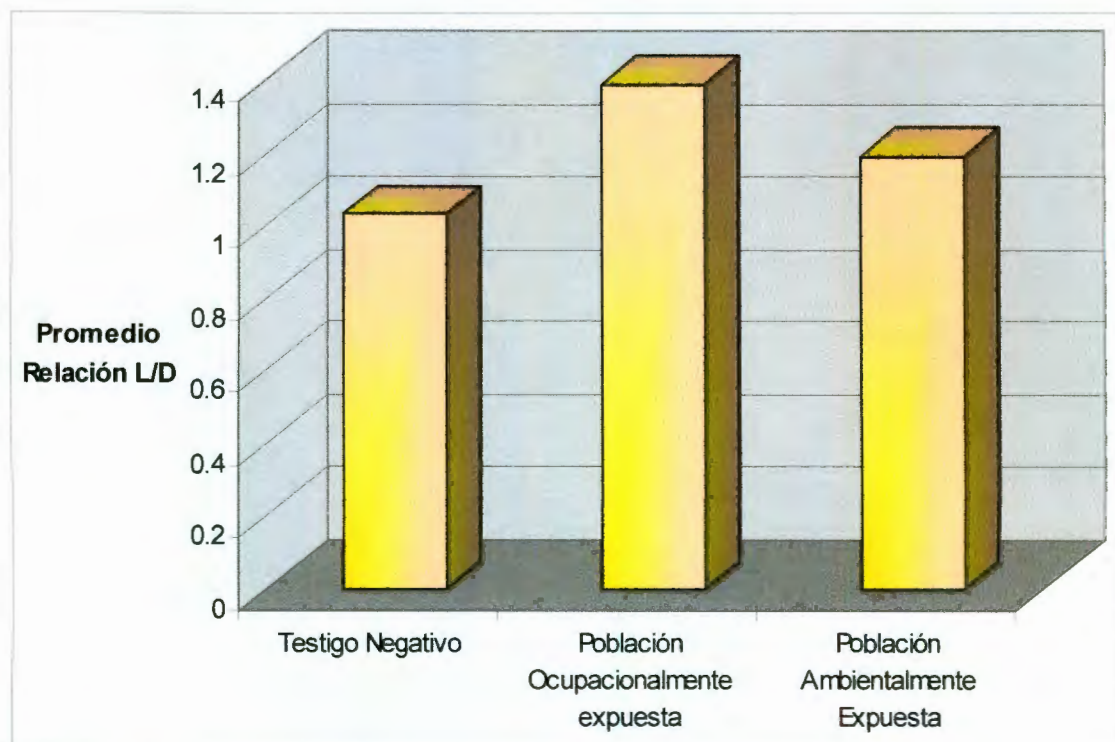


Figura 8. Relación L/D para cada uno de los grupos formados de acuerdo a sus criterios de selección.

En las Figuras 9 a la 33 se puede comparar la relación L/D de cada individuo de la población POE y la población PAE con respecto a los individuos del testigo negativo de la clínica de Sta. Bárbara. En estas figuras se puede observar que en la mayoría de las personas que están expuestas a las emisiones de las ladrilleras presentan un daño genotóxico al tener una relación longitud/diámetro mayor a 1.

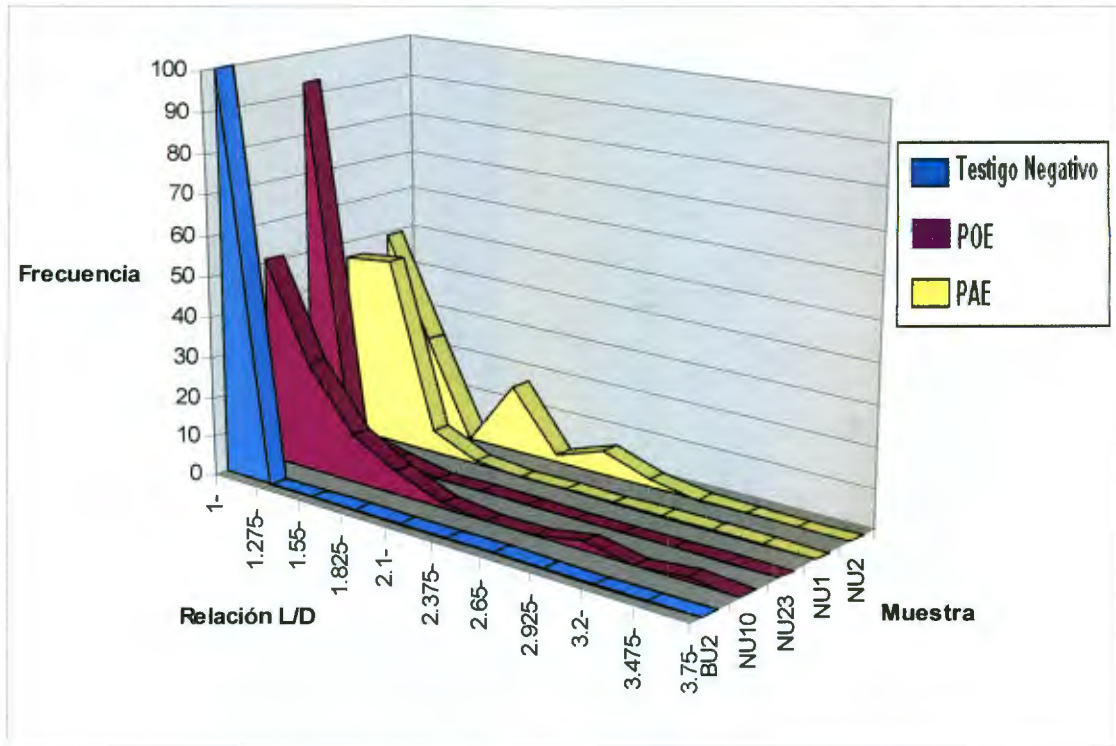


Figura 9. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE. (BU2, NU10, NU23, NU1, NU2).

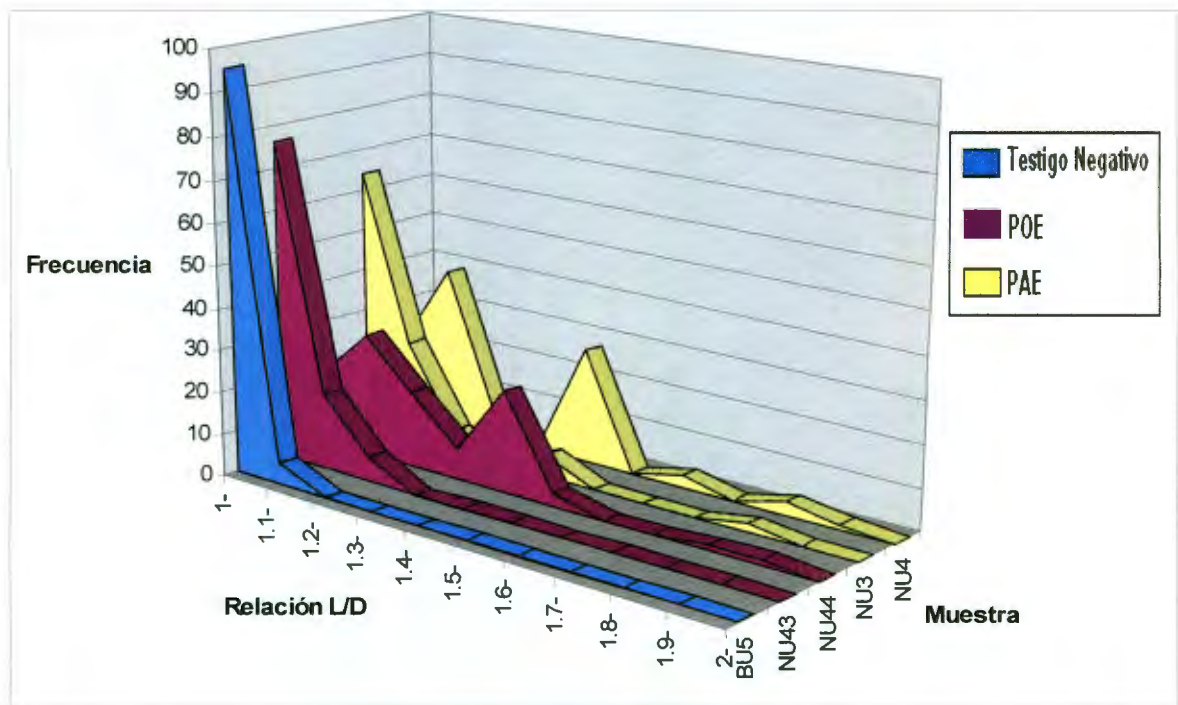


Figura 10. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU5, NU43, NU44, NU3, NU4).

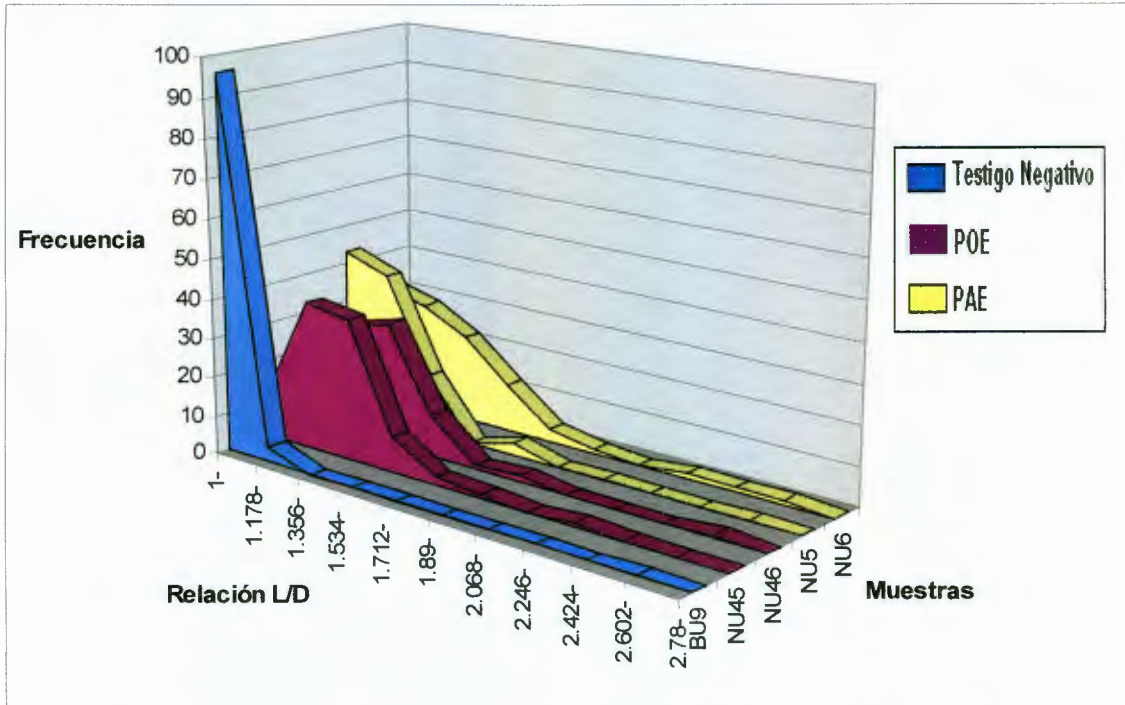


Figura 11. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU9, NU45, NU46, NU5, NU6).

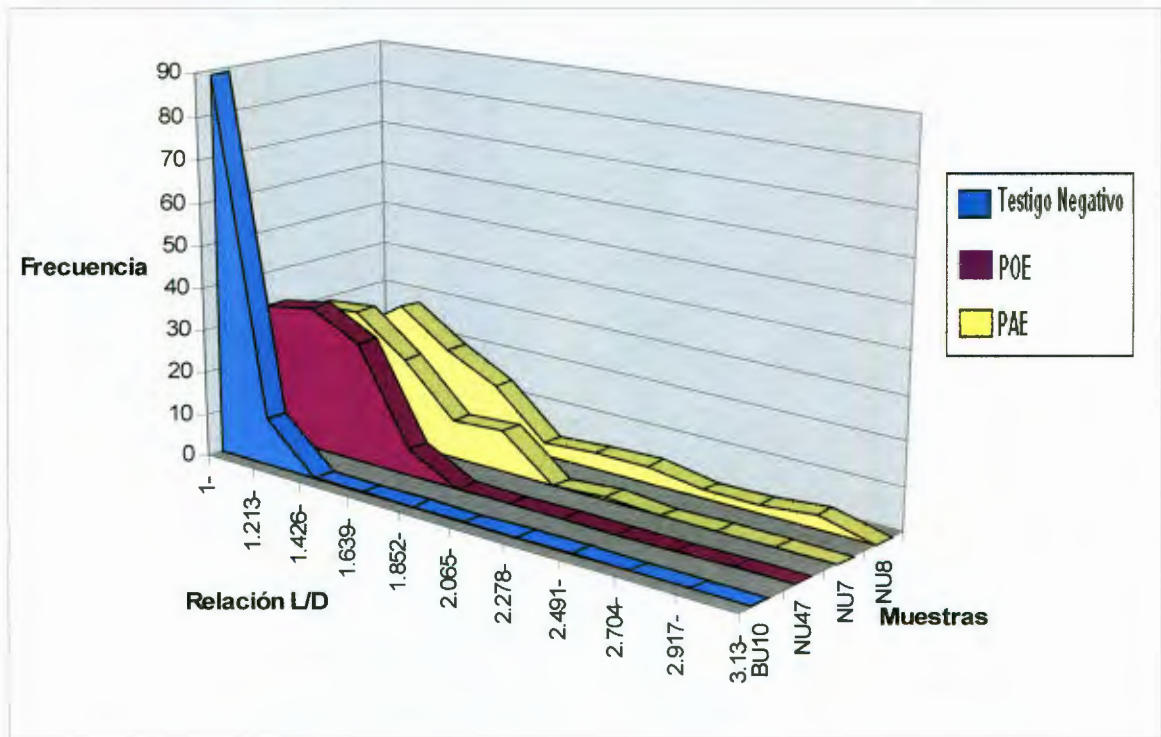


Figura 12. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU10, NU47, NU7, NU8).

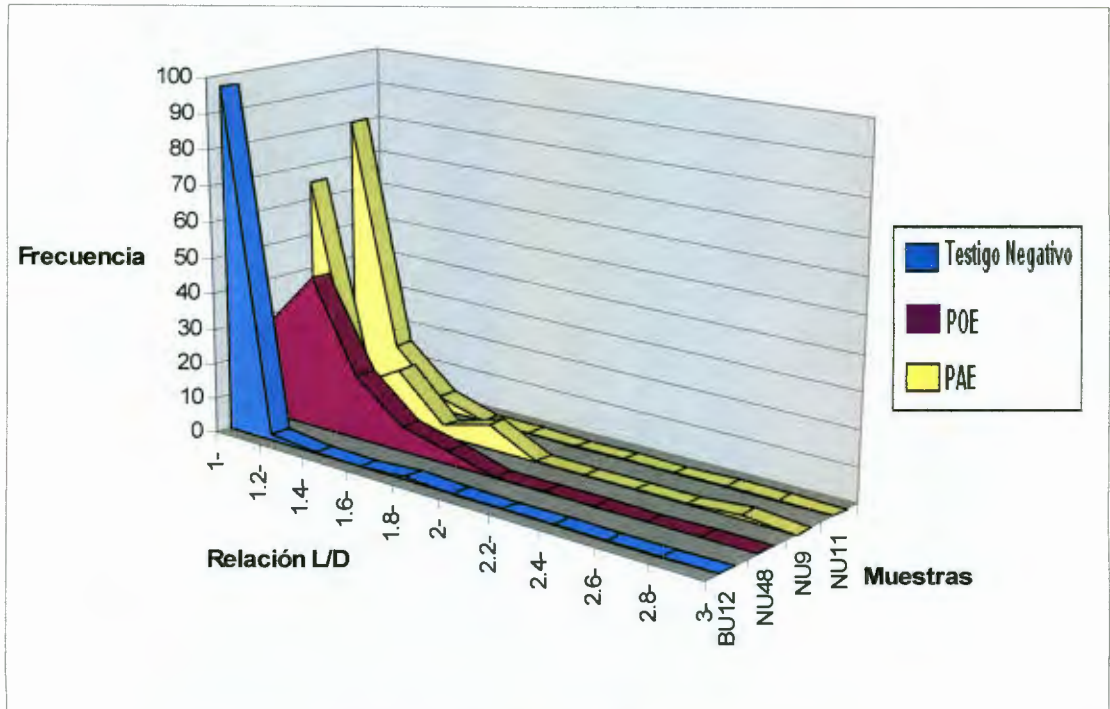


Figura 13. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU12, NU48, NU9, NU11).

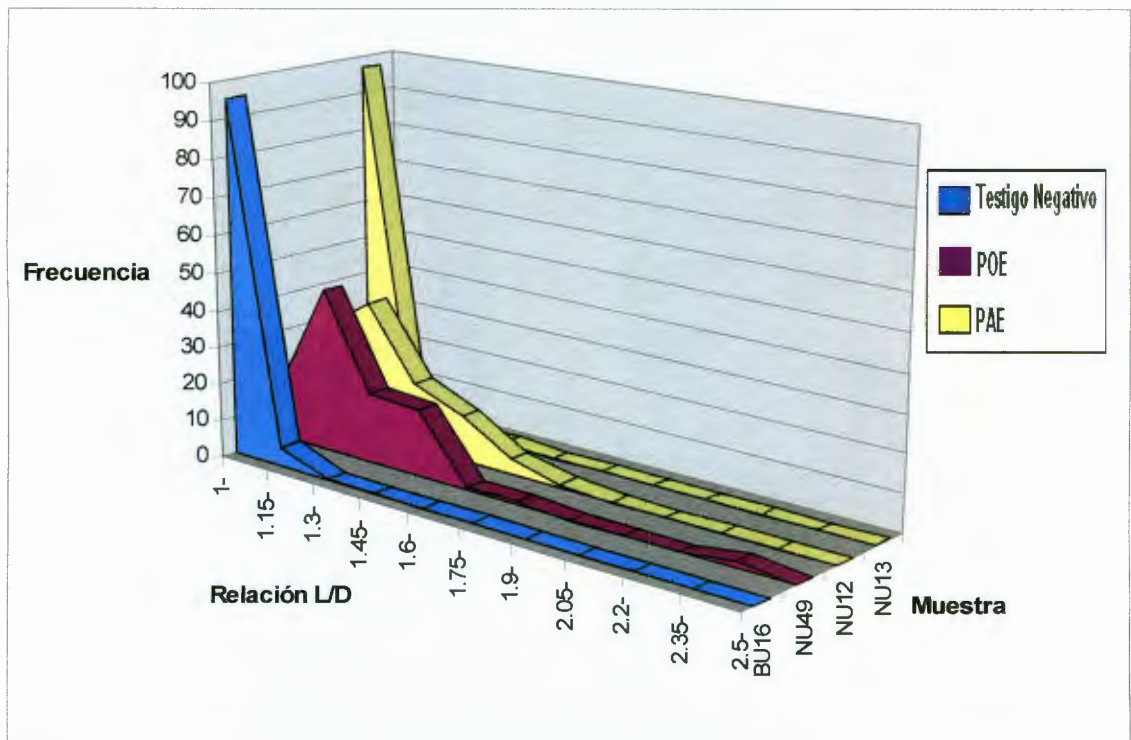


Figura 14. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU16, NU49, NU12, NU13).

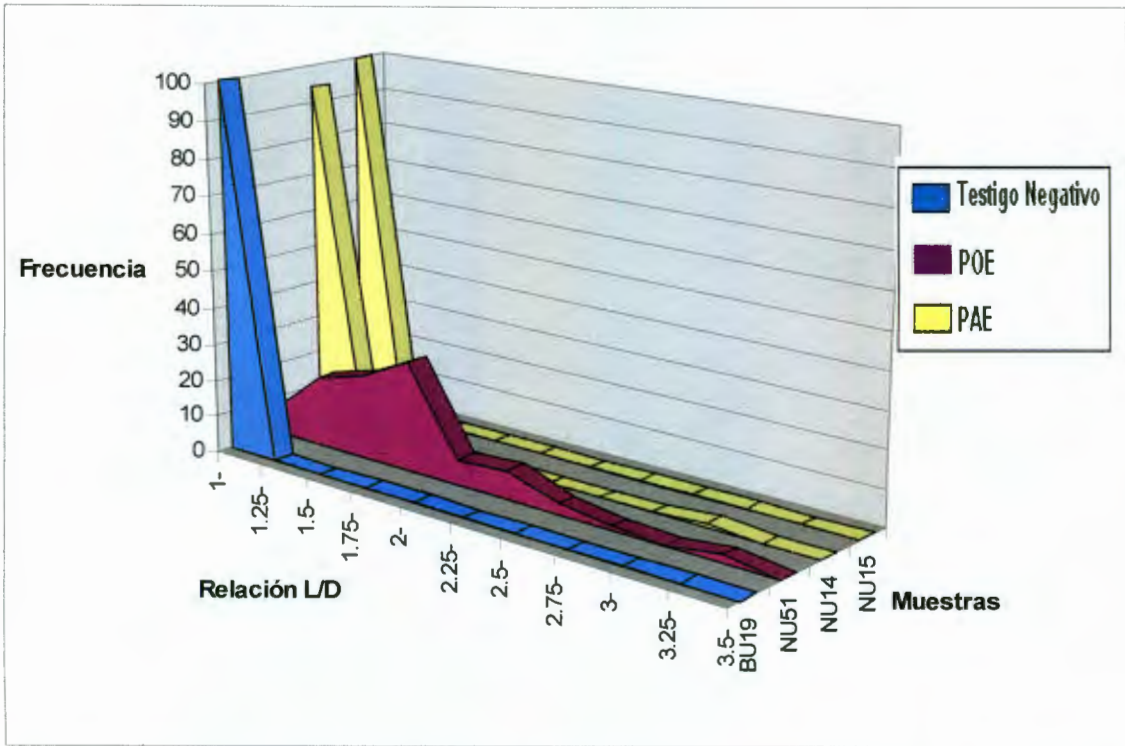


Figura 15. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU19, NU51, NU14, NU15).

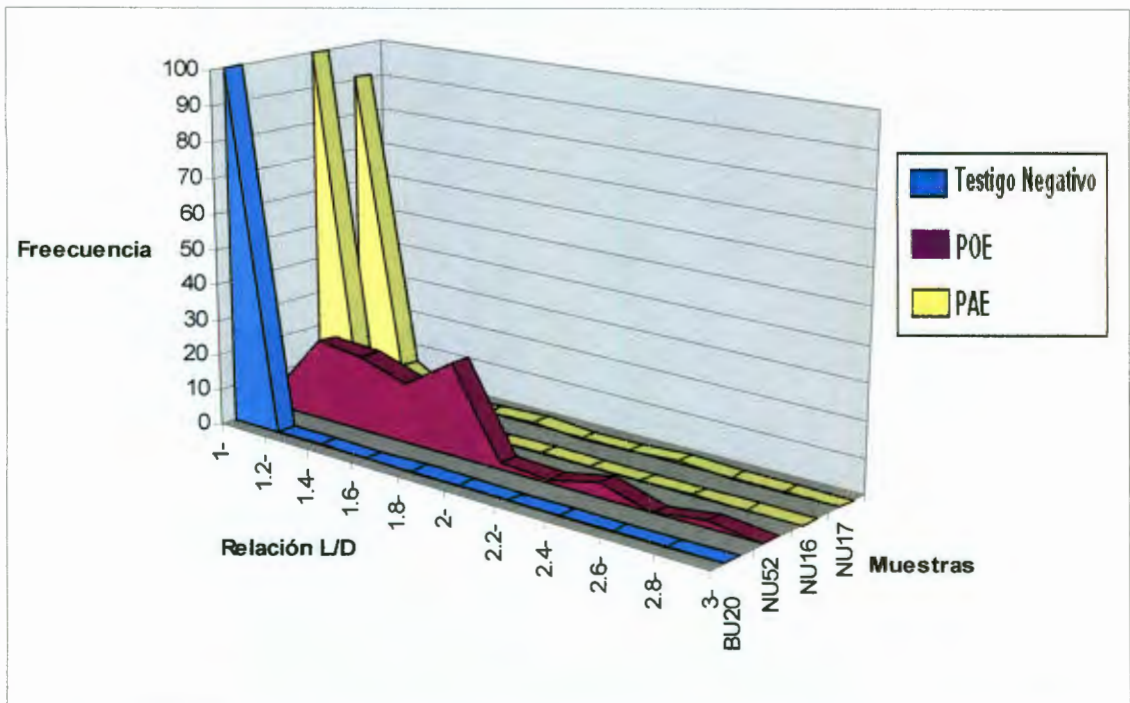


Figura 16. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU20, NU52, NU16, NU17).

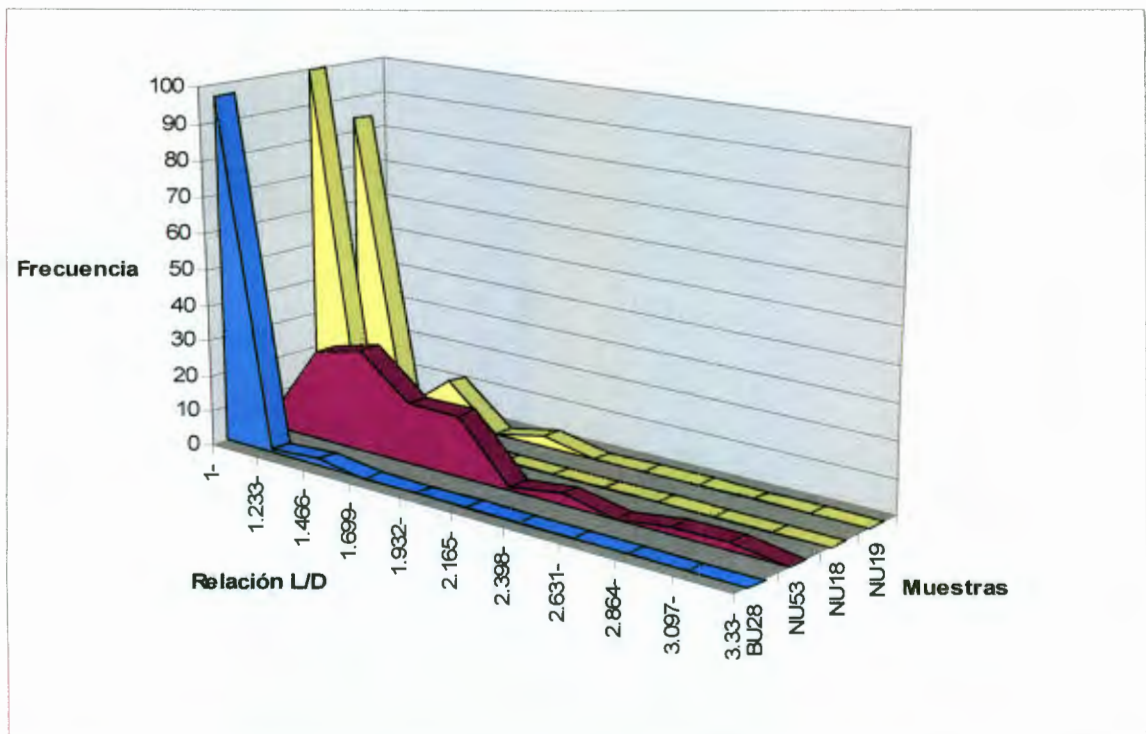


Figura 17. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU28, NU53M NU18, NU19).

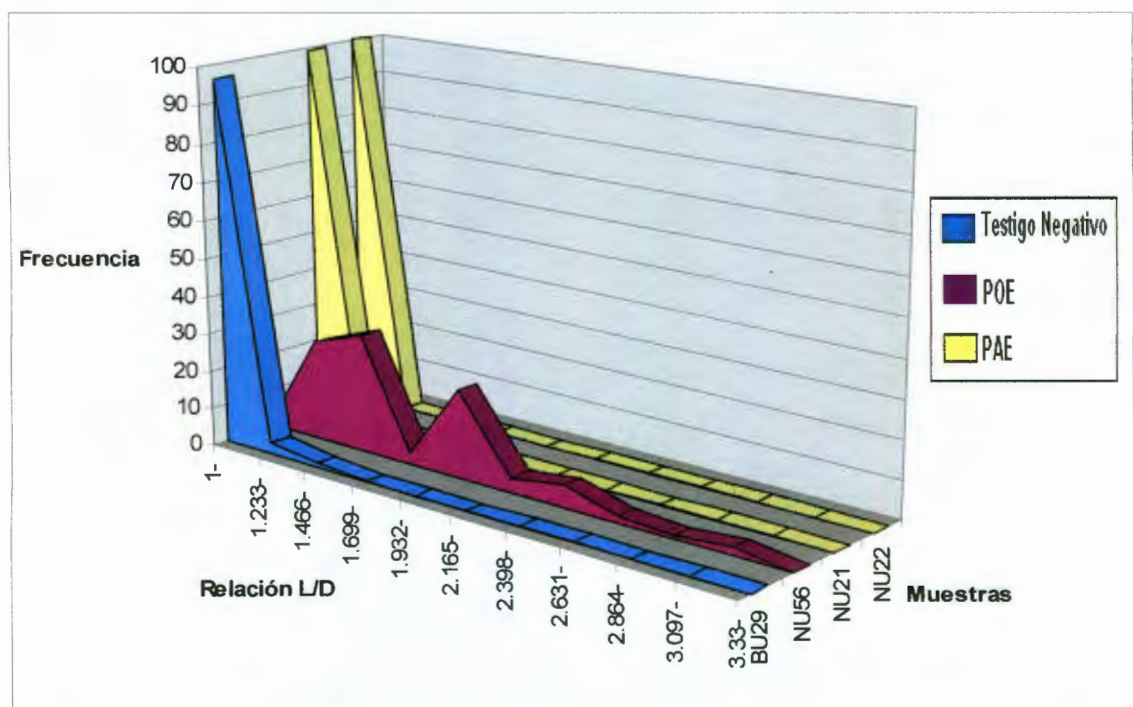


Figura 18. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU29, NU56, NU21, NU22).

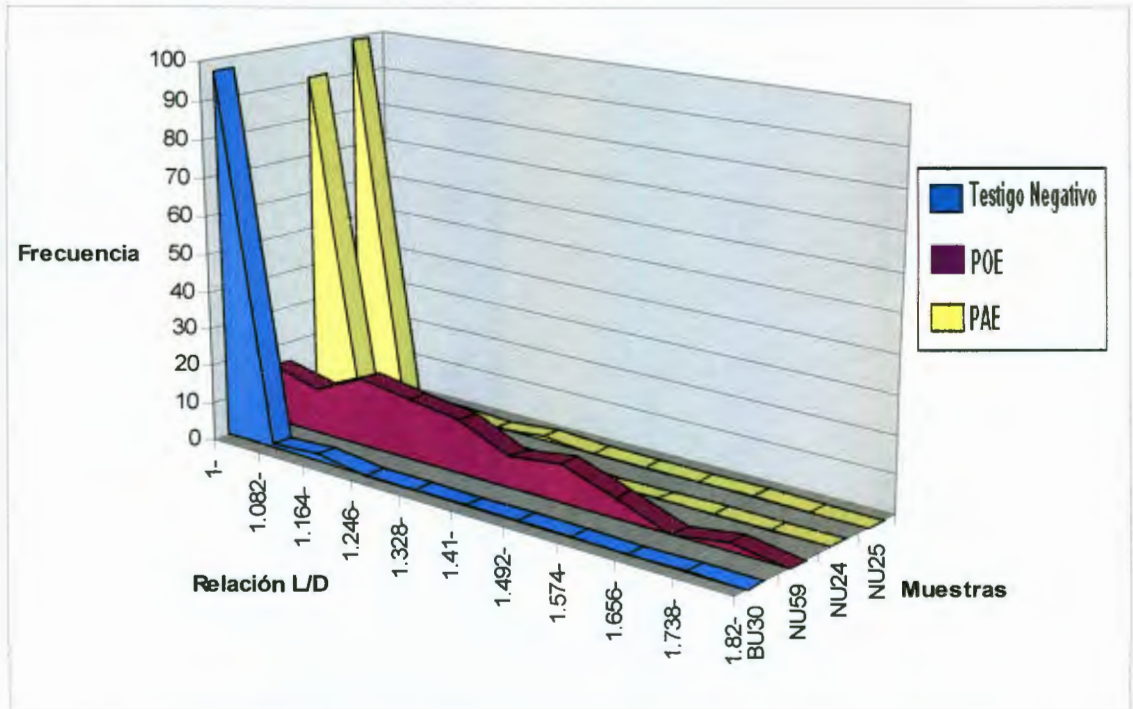


Figura 19. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU30, NU59, NU24, NU25).

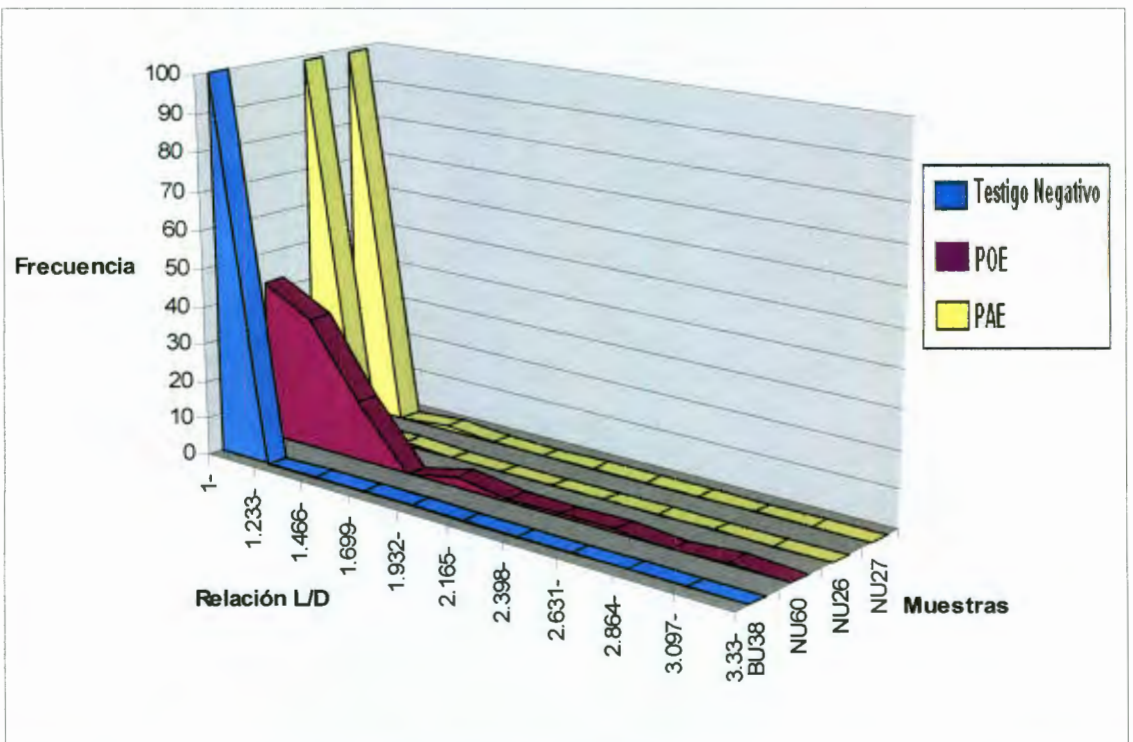


Figura 20. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU38, NU60, NU26, NU27).

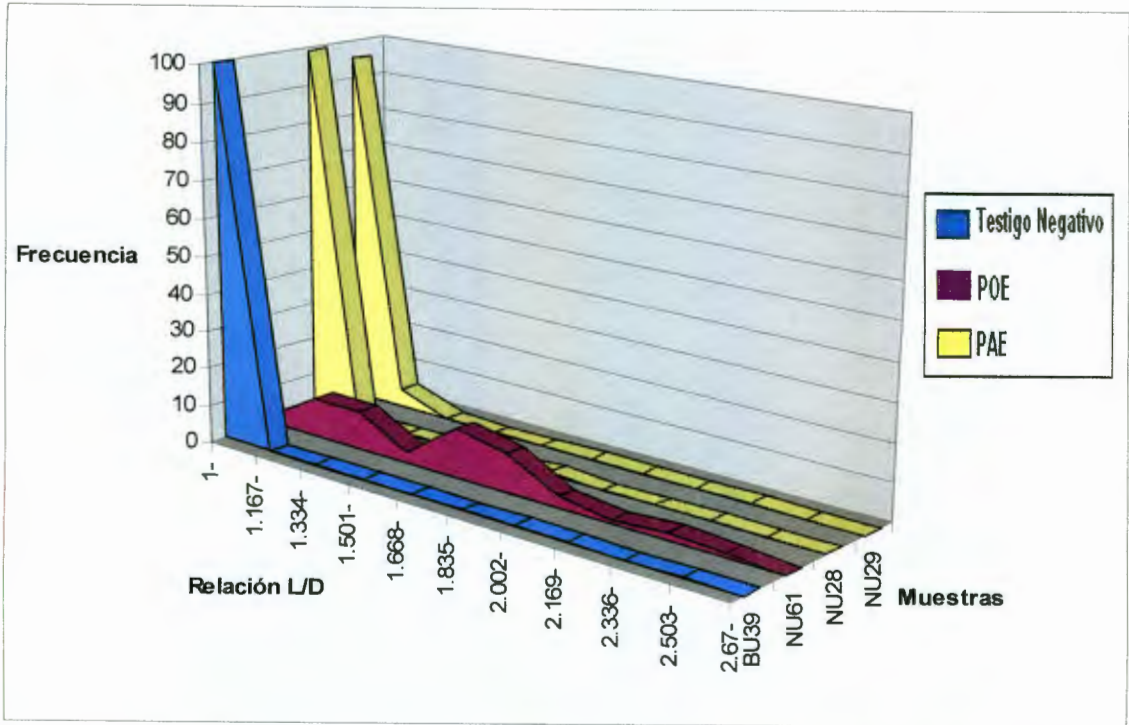


Figura 21. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU39, NU61, NU28, NU29).

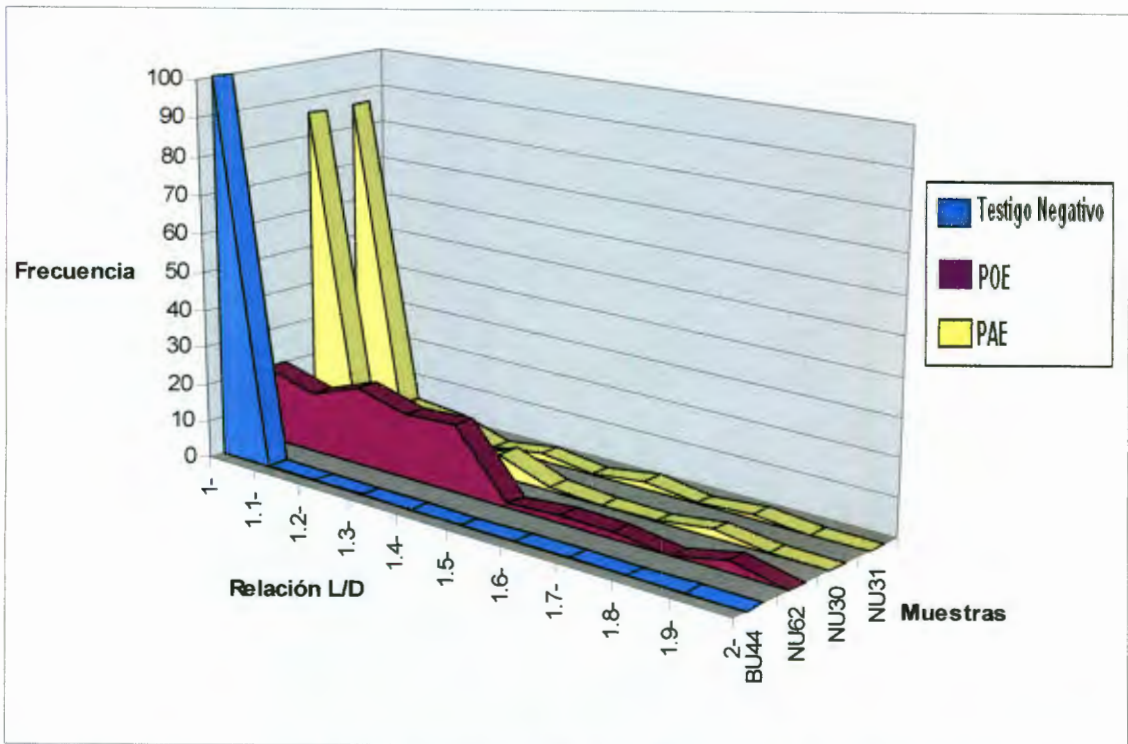


Figura 22. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU44, NU62, NU30, NU31).

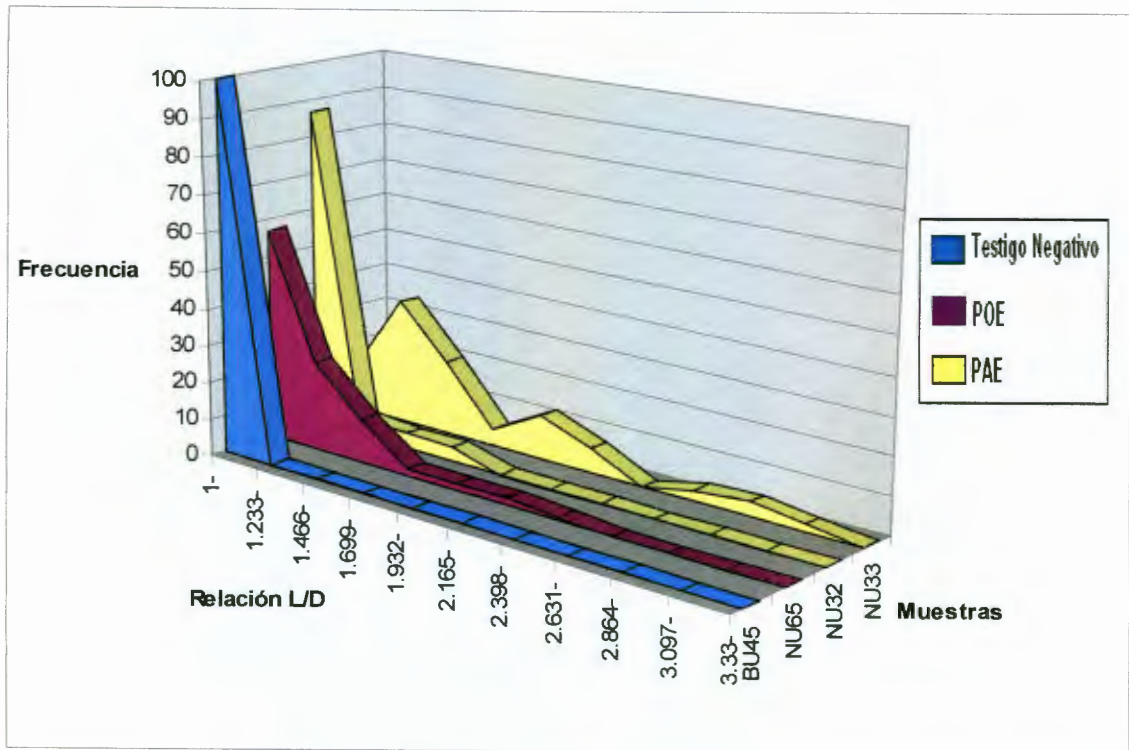


Figura 23. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU45, NU65, NU32, NU33).

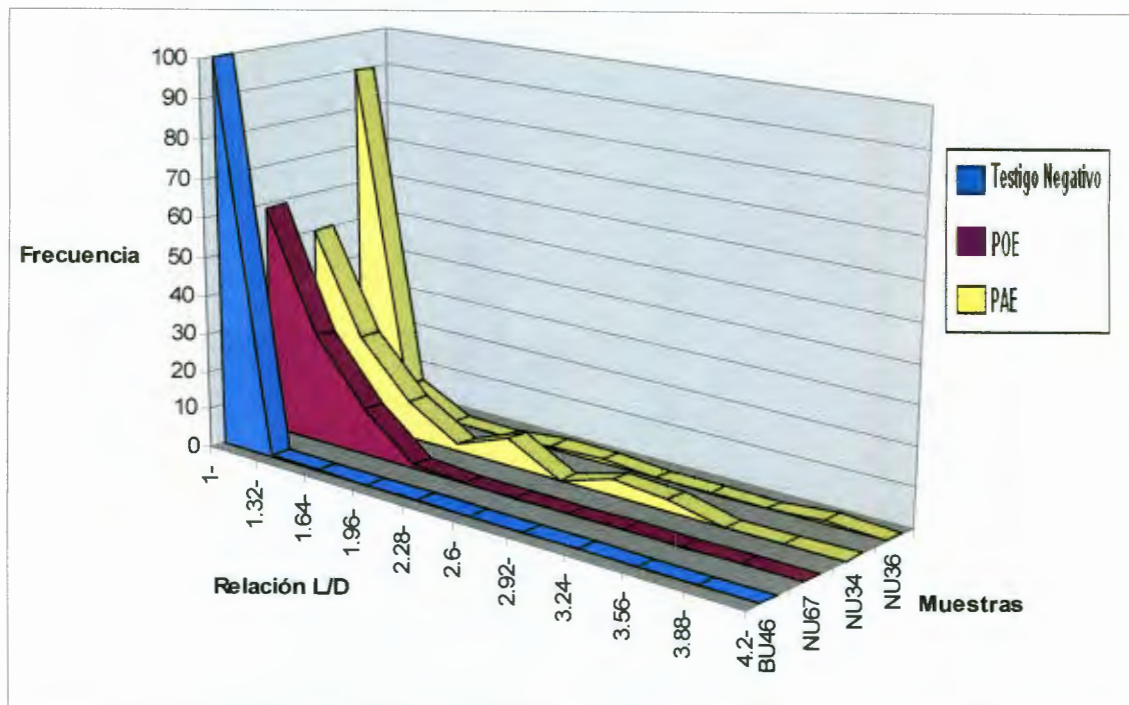


Figura 24. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU46, NU67, NU34, NU36).

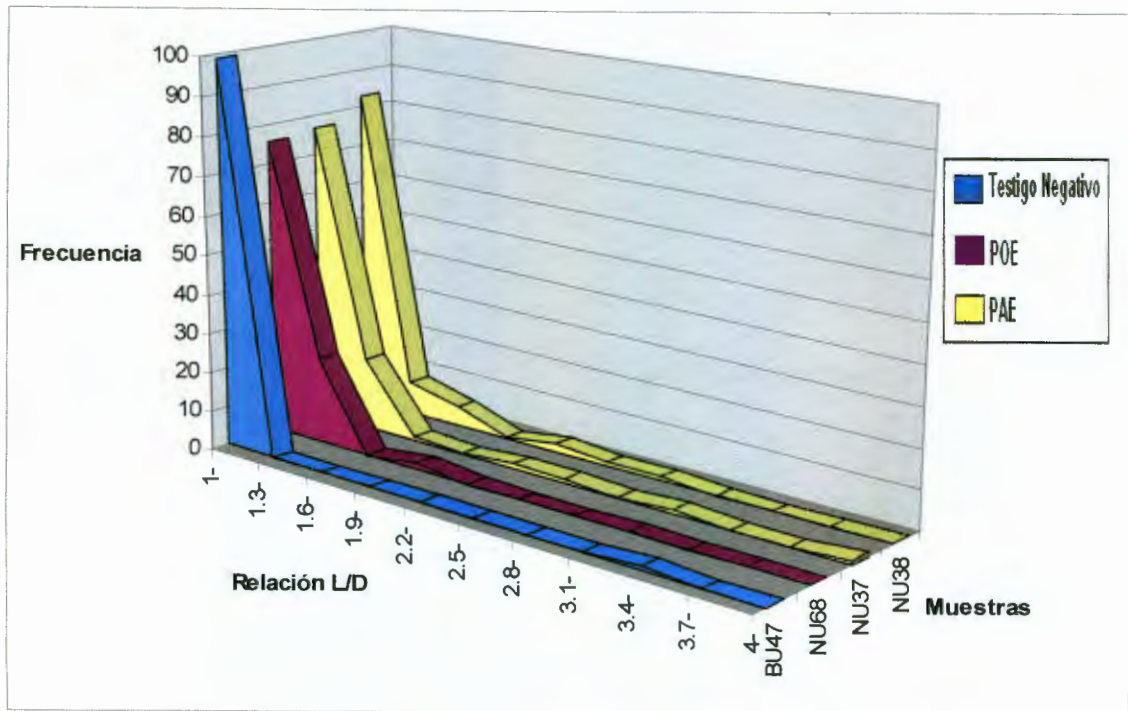


Figura 25. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU47, NU68, NU37, NU38).

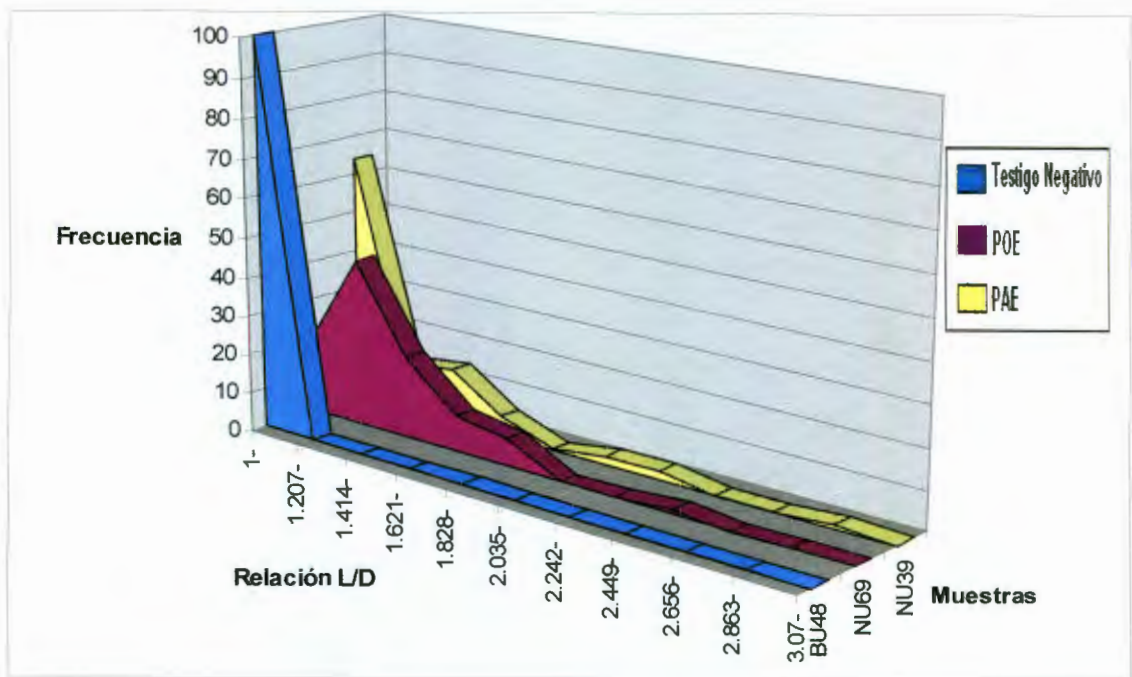


Figura 26. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU48, NU69, NU39).

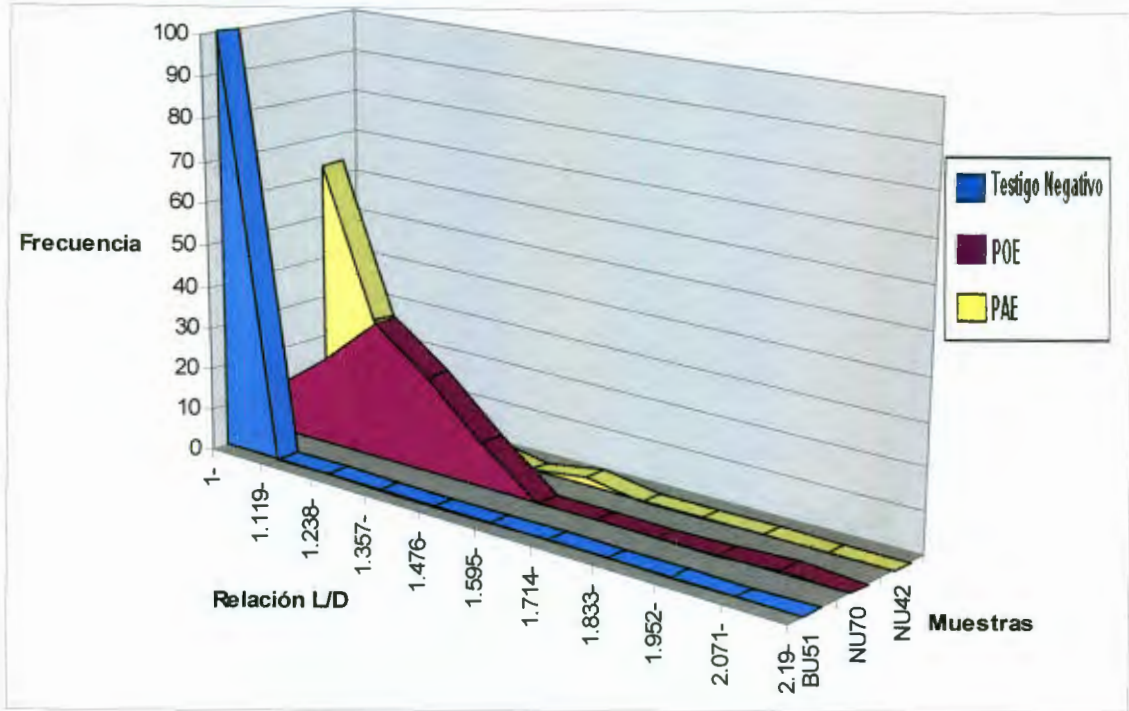


Figura 27. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU51, NU70, NU42).

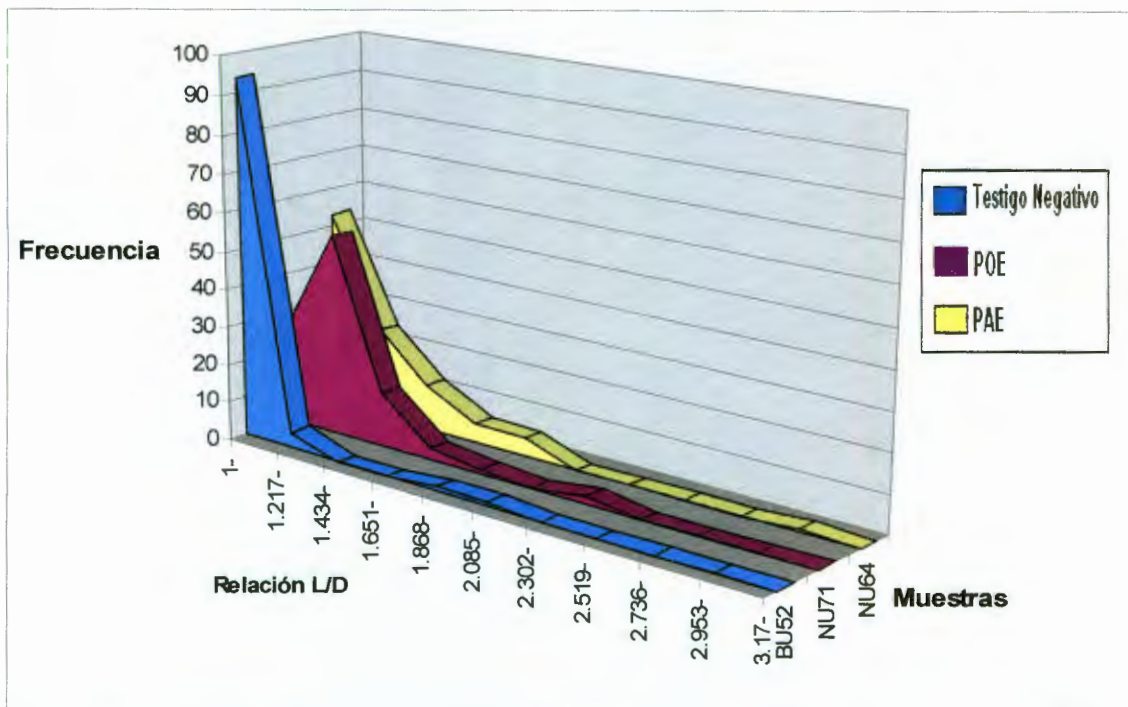


Figura 28. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU52, NU71, NU64).

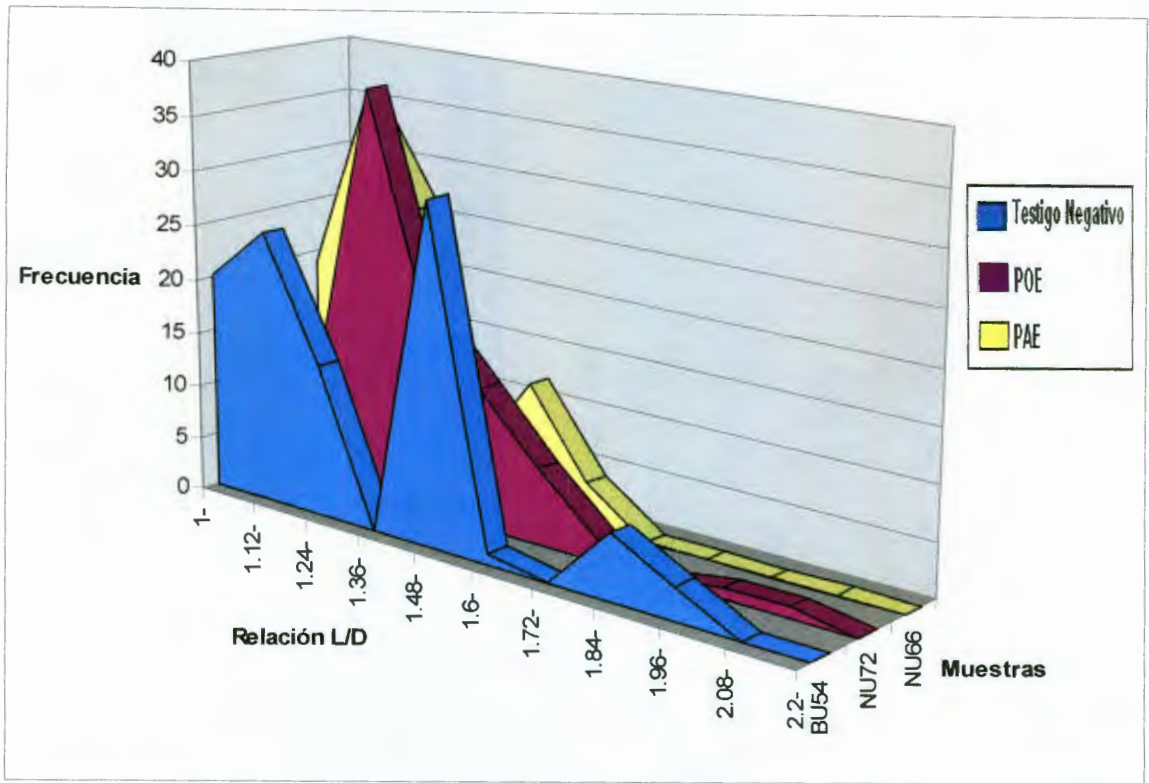


Figura 29. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU54, NU72, NU66).

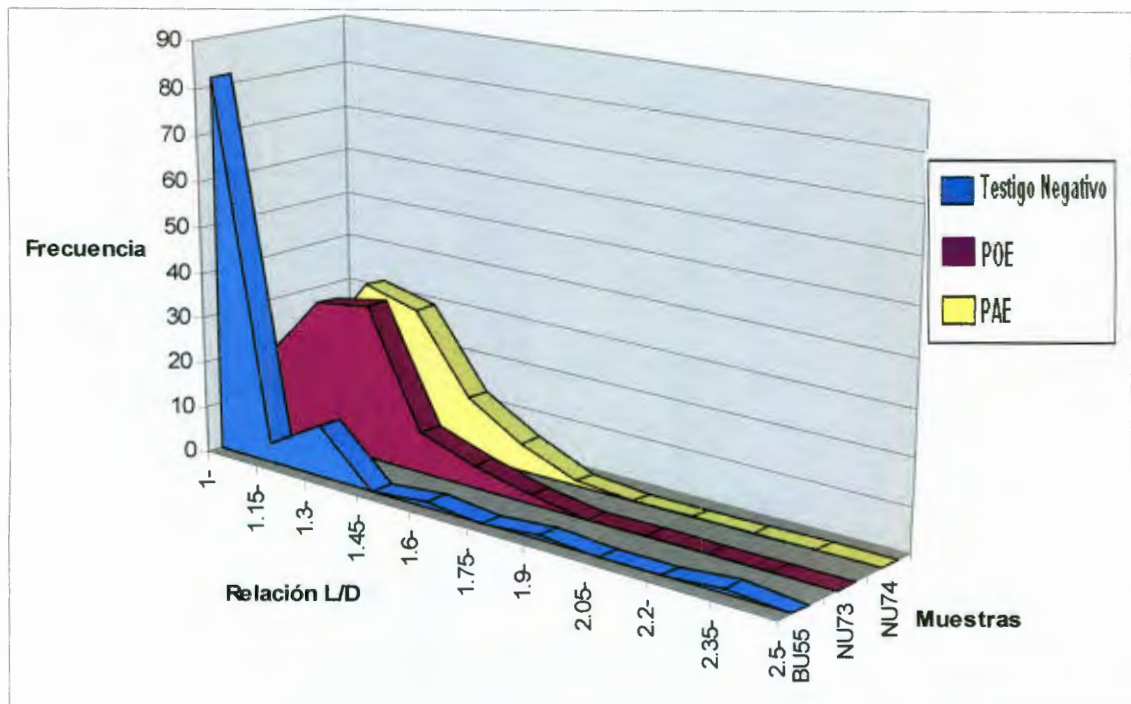


Figura 30. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU55, NU73, NU74).

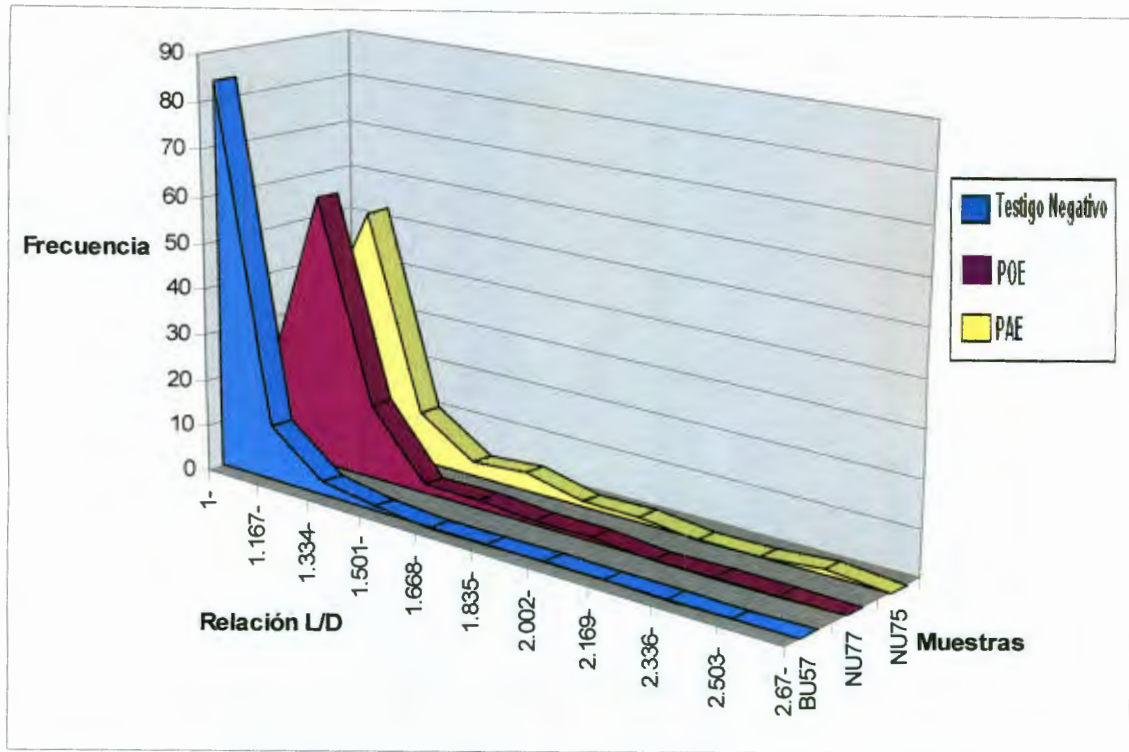


Figura 31. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU57, NU77, NU75).

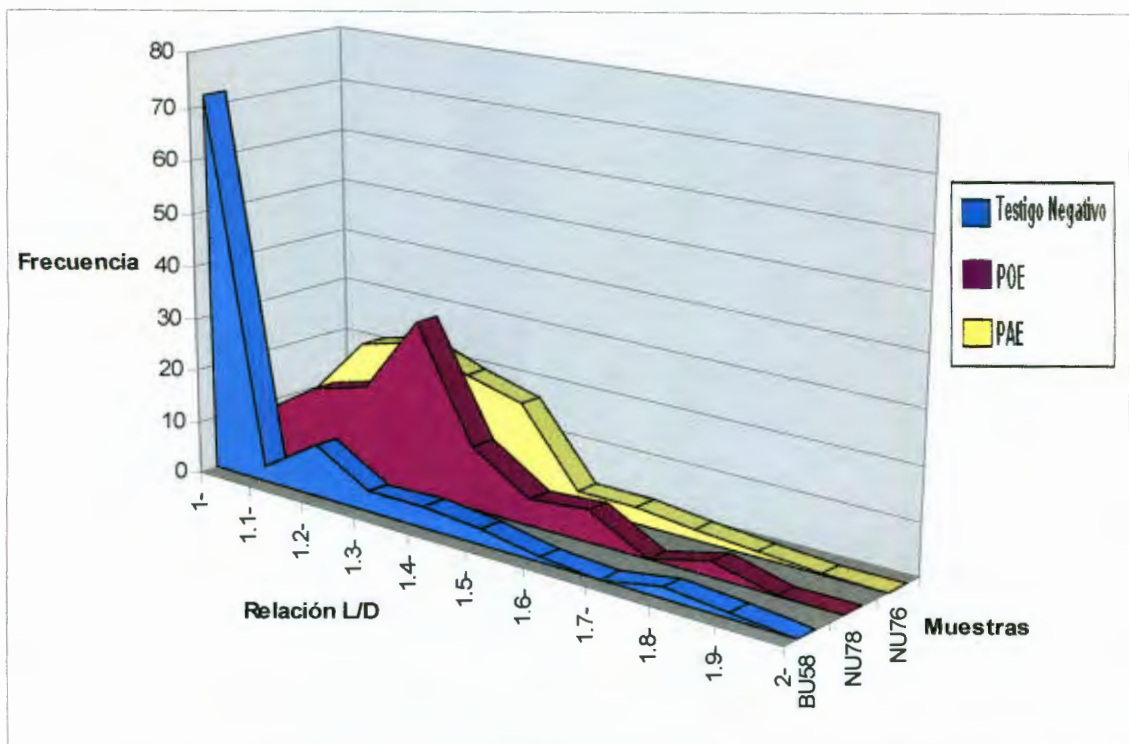


Figura 32. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU58, NU78, NU76).

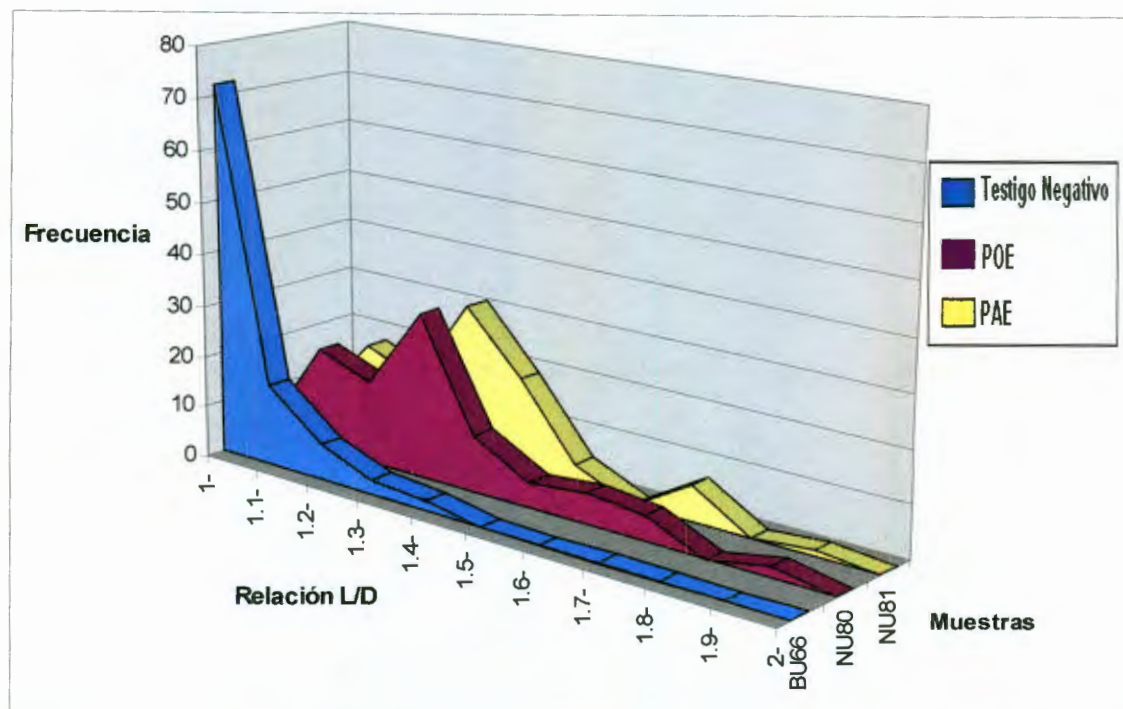


Figura 33. Relación L/D del Testigo Negativo, POE y PAE (BU66, NU80, NU81).

En la mayoría de las figuras anteriores se observa que la POE presenta un mayor daño en su ADN que la PAE; sin embargo, en las Figuras 9 y 10 muestran que hay individuos de la PAE que también tienen una relación L/D mayor 1, lo que podría indicar algún daño en el ADN, ahora bien, en las figuras 15 y 16 se puede apreciar que la relación L/D de la POE es mayor que la de la PAE indicando que pueden presentar un daño genotóxico mayor que este último grupo. Es interesante notar que en la Figura 29 se observó que el testigo negativo presenta una relación L/D similar a la POE y PAE, por lo que se debe considerar los posibles factores de exposición.

En el Cuadro 5 se muestra los resultados de la estadística descriptiva de los resultados de la media de L/D obtenida de la lectura de 100 nucleoides del testigo negativo (Sta. Bárbara), de la POE y la PAE. Los resultados indican que el 57.14% de la POE presentan un daño genotóxico, mientras que la PAE presenta solo un 19%.

Cuadro 5. Estadística descriptiva de la relación Longitud/Diámetro obtenida para el testigo negativo, la población ocupacional y ambientalmente expuesta.

	N	Media	Mediana	Desv. Estándar	Valor Mínimo	Valor Máximo	% de población en riesgo
Testigo negativo	25	1.036	1.010	.06906	1	1.330	0
POE	28	1.391	1.340	.1865	1.070	1.810	57.14
PAE	42	1.197	1.177	.1746	1	1.661	19

Testigo negativo: experimentos: marzo, mayo, septiembre y diciembre 2006

POE: Población ocupacionalmente expuesta

PAE: Población ambientalmente expuesta

En el Cuadro 6, se muestra los resultados obtenidos de la comparación múltiple entre los tres grupos (testigo negativo, POE y PAE) mediante la prueba estadística Tukey- Kramer ($\alpha = 0.05$). Los resultados señalan que existe una diferencia extremadamente significativa entre los tres grupos estudiados en este trabajo.

Cuadro 6. Resultados del análisis estadístico de Tukey- Kramer ($\alpha < .05$) comparando la relación L/D de las poblaciones correspondientes al testigo negativo, al POE y PAE.

	Diferencia Medias	Valor p
Testigo negativo vs. POE	-.1724	*** P< .001
Testigo negativo vs. PAE	-.3667	*** P< .001
POE vs. PAE	-.1943	*** P< .001

Testigo negativo: experimentos: marzo, mayo, septiembre y diciembre 2006

POE: Población ocupacionalmente expuesta

PAE: Población ambientalmente expuesta

***Diferencia extremadamente significativa/ **Diferencia altamente significativa/ *Diferencia significativa

El análisis de la información registrada en los cuestionarios permitió obtener los posibles factores de riesgo relativo a los que el testigo negativo, la POE y PAE están expuestos, los cuales se asociaron con los resultados obtenidos de la relación L/D de cada individuo. La asociación se realizó mediante la elaboración de tablas tetracóricas utilizando la presencia de cada factor de exposición tales como el

género, edad, lugar de residencia, hábito de fumar y beber, practica de deporte al aire libre, ocupación, factores hereditarios de neoplasias y tipo de exposición al contaminante. Los valores para el RR se determinaron a partir de los valores de la relación que se obtuvieron del Cuadro 4, de donde se seleccionó que el máximo valor para la relación L/D donde aun no existe un daño al ADN es 1.13, no se considero el valor de 1.33 obtenido en el Cuadro 5 por que de acuerdo a la Figura 29 el individuo BU54 presenta cierto nivel de daño al ADN.

Los Cuadros 7,8, 9 y 10 muestran los valores RR a partir de la asociación de los posibles factores de exposición seleccionados con el ensayo cometa para la población en general, destacando la presencia de posibles factores de riesgo. Un valor mayor a 1 indica un factor de alto riesgo, un valor de 1 indica nulidad y un valor de 0 indica protección (Jiménez, 2005). En el Cuadro 7 se identifica que los principales factores de riesgo son el género, la edad, el hábito de fumar, realizar deporte al aire libre, la ocupación, el lugar y años de residencia y el tipo de exposición. En el caso del género, se observa que los varones tienen más probabilidades de tener un daño en su ADN, y por lo tanto, un riesgo de desarrollar un cáncer, que las mujeres. También se muestra que a partir de los 36 años de edad, la población presenta mayores probabilidades de riesgo de daño genotóxico. Así mismo, se señala que la actividad de elaborar ladrillos de manera artesanal tiene 1.75 más probabilidades de tener un riesgo de cáncer que alguna otra actividad. También se puede observar que el fumar es un posible factor de riesgo para la población. En efecto, los resultados indican que el residir en San Nicolás aumenta las probabilidades de tener un daño genotóxico con valores RR 1.80 para la población ocupacionalmente expuesta y 1.015 para la ambientalmente expuesta.

Cuadro 7. Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población en General.

Factor de exposición	Valor RR
Género	
Masculino	1.56 *
Edad	
18-24 años	0.69
25-29 años	0.49
30-35 años	0.98
36-40 años	1.41*
41-46 años	0.98
47-51 años	1.45*
52-57 años	1.036*
58-62 años	0.98
Ocupación	
Ama de casa	0.69
Fabrica	0.47
Ladrilleras	1.75 *
Otra ocupación	0.66
No trabaja	0.62
Fumar	1.8 *
Beber	0.98
Deporte al aire libre	1.32*
Factores hereditarios de neoplasias	0.71
Enfermedad	0.68
Ingiriendo Medicamentos	0.79
Tipo de exposición	
Testigo Negativo (Blanco)	0.78
POE	1.8 *
PAE	1.015*
Años de residencia	
1 mes- 4 años	0.31
5- 8 años	0
9-11 años	0.98
12-15 años	1.29*
16-19 años	1.5*
20-23años	1.4
24-26 años	1.8*
27-30 años	1*
Siempre	1.29*

*Valor mayor a 1: Factores de riesgo
 Valor de 1: Nulidad.
 Valor de 0: Factor de protección.

Cuadro 8. Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población Testigo Negativo.

Factor de exposición	Valor RR
Género	
Femenino	1.25*
Edad	
18-24 años	0
25-29 años	0
30-35 años	0
36-40 años	10.6*
41-46 años	0
47-51 años	0
52-57 años	0
58-62 años	0
Ocupación	
Ama de casa	2.7*
Fabrica	0
Ladrilleras	0
Otra ocupación	0
No trabaja	0
Fumar	0
Beber	0
Deporte al aire libre	3.17*
Factores hereditarios de neoplasias	1.25*
Enfermedad	2.5*
Ingiriendo Medicamentos	2*
Tipo de exposición	
Testigo negativo (Blanco)	0.78
Años de residencia	
1 mes- 4 años	0
5- 8 años	2.9*
9-11 años	0
12-15 años	0
16-19 años	0
20-23años	0
24-26 años	0
27-30 años	0
Siempre	0

*Valor mayor a 1: Factores de riesgo
 Valor de 1: Nulidad.
 Valor de 0: Factor de protección.

Cuadro 9. Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población Ambientalmente Expuesta.

Factor de exposición	Valor RR
Género	
Masculino	1.44*
Edad	
18-24 años	0
25-29 años	0
30-35 años	1.03*
36-40 años	1.41*
41-46 años	1.03*
47-51 años	1.13*
52-57 años	0.98
58-62 años	1.88*
Ocupación	
Ama de casa	0.83
Fabrica	1.88*
Otra ocupación	1.32*
No trabaja	0.94
Fumar	0.96
Beber	0.88
Deporte al aire libre	1.14*
Factores hereditarios de neoplasias	0.70
Enfermedad	1.036*
Ingiriendo Medicamentos	1.59*
Tipo de exposición	
PAE	1.015*
Años de residencia	
1 mes- 4 años	0
5- 8 años	0
9-11 años	0
12-15 años	1.45*
16-19 años	1.81*
20-23años	1.45*
24-26 años	1.36*
27-30 años	1.36*
Siempre	1.018*

*Valor mayor a 1: Factores de riesgo
 Valor de 1: Nulidad.
 Valor de 0: Factor de protección.

Cuadro 10. Factores de exposición asociados con Ensayo Cometa para la Población Ocupacionalmente Expuesta.

Factor de exposición	Valor RR
Género	
Masculino	1.044*
Edad	
18-24 años	1.041*
25-29 años	1.041*
30-35 años	1.041*
36-40 años	1.041*
41-46 años	0.98
47-51 años	1.041*
52-57 años	1.041*
58-62 años	1.041*
Ocupación	
Ladrilleras	1.08*
Fumar	1.13*
Beber	1.086*
Deporte al aire libre	1.39**
Factores hereditarios de neoplasias	1.098*
Enfermedad	1.11**
Ingiriendo Medicamentos	1.17*
Tipo de exposición	
POE	1.8*
Años de residencia	
1 mes- 4 años	1.09*
5- 8 años	1.09*
9-11 años	1.09*
12-15 años	1.09*
16-19 años	1.09*
20-23años	1.09*
24-26 años	1.02*
27-30 años	1.09*
Siempre	1.02*

*Valor mayor a 1: Factores de riesgo
 Valor de 1: Nulidad.
 Valor de 0: Factor de protección.

VII. DISCUSION.

En el Cuadro 2 se señalan las fechas para cada uno de los muestreos, las cuales se seleccionaron de acuerdo a la disponibilidad que la clínica de Santa Bárbara estableció para cada uno de los cuatros muestreos. La población de Santa Bárbara fue elegida para tener una población de comparación debido a que es una población libre de los contaminantes emitidos por las ladrilleras de San Nicolás. El número de personas dependió de la disponibilidad de estas para participar; logrando una cantidad aceptable (Cuadro 2). La población de estudio seleccionada fue la perteneciente a la localidad de San Nicolás por la problemática ambiental que presenta y el interés por conocer los posibles efectos sobre la salud que podrían existir como consecuencia de lo contaminación producida por la combustión de elaborar ladrillos en forma artesanal utilizando materiales de mala calidad, principal fuente de trabajo. Para la selección de las personas para ambas poblaciones se consideraron los siguientes criterios: mayores de edad, ambos géneros y que tuvieran más de 5 años de vivir en la zona, todos los que participaron dieron su consentimiento y contestaron un cuestionario (Anexo 1) que contenían información personal y algunos factores de exposición.

El ensayo de electroforesis unicelular en gel (ensayo cometa) ha sido utilizado para evaluar el daño genotóxico como un bioindicador de el proceso de iniciación de enfermedades crónico degenerativas, como el cáncer. Considerando que algunos contaminantes emitidos por el uso de combustibles de mala calidad durante la elaboración artesanal del ladrillo (Anaya, 2006; EIG, 1996; EETM, 1998; Houston y col., 2002; EPA, 2003_a) y los detectados en el suelo de la localidad tales como PBC's y HAP's (Costilla y Col., 2006) se les ha relacionado con el desarrollo de un cáncer por lo que se utilizó este ensayo, el cual es una técnica capaz de detectar niveles de daño genotóxico y que ha sido empleada en algunos estudios de genotoxicidad y antigenotoxicidad (Hernández, 2006; Lee y Steinert, 2003; Garry y col., 2002). La relación L/D obtenida en este estudio con el ensayo cometa mostraron que esta metodología puede ser usada para monitoreo ambiental debido a su gran sensibilidad, es así que el ensayo resulta ser una técnica eficiente para la

evaluación de daño al ADN causada por contaminantes en poblaciones humanas. Las ventajas que presenta el ensayo son buena sensibilidad de detectar el daño al ADN, el costo y la eficiencia, ha hecho de esta técnica una herramienta para evaluar los daños genotóxicos causados por exposiciones ambientales.

En el Cuadro 3 se muestra la población testigo negativo y la población de San Nicolás. Se obtuvo la relación longitud/diámetro de los nucleoides para cada una de las personas que participaron en el estudio de la población de San Nicolás y Santa Bárbara observándose que dicha relación es mayor que la correspondiente a los pobladores de Santa Bárbara, esto se debe a que los habitantes de la población de estudio se encuentran en contacto directo con los contaminantes emitidos por las ladrilleras artesanales a la atmósfera, mientras que los pobladores correspondientes a la población testigo negativo están libres de estos contaminantes. En el caso de las ladrilleras artesanales de San Nicolás es probable la presencia de PM10, Hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP's), compuestos aromáticos clorados incluyendo los bifenilos policlorados y las dioxinas (Anaya, 2006). Costilla y colaboradores (2006) encontraron que el suelo de la localidad de San Nicolás está contaminado con concentraciones elevadas de bifenilos policlorados (PCBs), HAP's, aldehídos, dioxinas, y partículas suspendidas, entre otros, lo que significa un riesgo eminente para la población. Debido a que los compartimentos ambientales son continuos, no importa cuál es el compartimento ambiental al que inicialmente ingresan los contaminantes. Al final, los contaminantes se distribuyen en todos los compartimentos ambientales incluso en la biota. Se ha visto que estos contaminantes producen daños genotóxicos, en particular los HAP's. Vaclavick y colaboradores (2007) observaron que las partículas ultrafinas presentes en aire contaminado pueden causar efectos en la salud a través de la generación de estrés oxidativo resultando en un daño en el ADN, el cual puede ser considerado como un importante iniciador en el desarrollo de un cáncer. Los resultados apoyan el hecho de que los hidrocarburos son iniciadores de carcinogenesis o bien participa en la etapa de progresión. Se ha demostrado que los tejidos epiteliales de pecho en humanos metabolizan estos

contaminantes convirtiéndolos en compuestos mutagénicos/ carcinogénicos capaces de formar ductos PAH-DNA (Rundle y col., 2000).

En la Figura 7 se observa que los participantes de San Nicolás presentan un mayor daño genotóxico que los correspondientes a Santa Bárbara. Existen varios estudios que indican que la exposición a contaminantes atmosféricos aumenta el riesgo de desarrollar cáncer de mama y de pulmón (Georgiadis y col., 2001; Vineis y Husgafvel-Pursiainen, 2005). Se ha reportado que la exposición a HAP's ha mostrado ser un factor importante en el inicio de un daño al ADN, así como las partículas totales suspendidas aumentan el riesgo de contraer un cáncer (Bonner y col., 2005). También se muestra que la media de la relación L/D para las dos poblaciones de este estudio se encuentra elevada en los meses de septiembre y diciembre, y esto podría deberse a dos razones: la primera tiene que ver con que durante estos meses, y de acuerdo a la información proporcionada por los cuestionarios aplicados, la mayoría de las personas estudiadas de San Nicolás fueron varones que se dedican a la elaboración de ladrillos, estando en contacto directo con los contaminantes. La segunda razón es que septiembre y diciembre son meses con temperaturas un poco más bajas que los otros meses de estudio. Esto se relaciona con el hecho de que los contaminantes se encuentran más concentrados en el aire durante los meses más fríos, es decir, durante meses invernales, ya que estos no logran dispersarse como normalmente lo harían, a este efecto se le conoce como "inversión térmica". Se ha visto que en meses con temperaturas bajas, la capa de aire frío se introduce entre el suelo y las capas de aire caliente, por lo que los contaminantes no pueden elevarse al aire y diluirse (Osorio, 2004). Como consecuencia, los contaminantes que se encuentran en la atmósfera con concentraciones elevadas son inhalados por los pobladores, por lo que es posible esperar que haya mayor daño genotóxico.

Al analizar los criterios de selección de la población establecidos para este estudio se formaron tres grupos: Población de Santa Bárbara (testigo negativo), la población ocupacionalmente expuesta (POE) y la población ambientalmente

expuesta (PAE), por lo que ya no se consideraron las personas que no cumplían con esos criterios. La POE esta compuesta por los individuos que tienen el oficio de ladrilleros en la localidad de San Nicolás y por lo tanto, están en contacto directo con las emisiones de las ladrilleras. La PAE son aquellas personas que no ejercen el oficio de ladrilleros y que radican en esta localidad (Cuadro 4).

En la Figura 8 se muestra que la población ocupacionalmente expuesta presenta una relación L/D mayor que la población ambientalmente expuesta y que la población testigo negativo. Esto se debe a que la POE esta expuesta directamente a los contaminantes atmosféricos que incluyen compuestos orgánicos e inorgánicos, como: las partículas PM10, compuestos orgánicos volátiles (COVs), e hidrocarburos policíclicos aromáticos (HAP's) incluyendo HI, HF y HAP's metálicos (Houston y col., 2002; EPA, 2003_a; Anaya, 2006; Costilla y col., 2006) muchos de los cuales son genotóxicos y potencialmente carcinógenos. Se ha visto que algunos grupos ocupacionalmente expuestos a contaminantes, como los chóferes de áreas urbanas, están expuestos a altos niveles de contaminación atmosférica, aumentando el riesgo de desarrollar varios tipos de cáncer (Knudsen y col., 1999).

En las Figuras (9 a la 33) se muestra de manera individual la media de la relación L/D de la POE y la PAE con respecto a la población del testigo negativo de Santa. Bárbara. En estas figuras se observa que los resultados obtenidos indican que la población de San Nicolás presentan un daño genotóxico en su ADN, siendo este mayor para la población ocupacionalmente expuesta. El cáncer puede comenzar con la exposición a genotóxicos, un estudio señala que los trabajadores ocupacionalmente expuestos a HAP's emitidos por hornos de coque presentaban una correlación directa entre el ADN dañado y el genotóxico inhalado en la atmósfera. Los autores encontraron que los trabajadores de las gasolineras, expuestos al benceno, presentaban valores de la cola del cometa mayores que en las que no estaban expuestas indicando una mayor genotoxicidad en la primera población. Por otro lado, las personas que están ambientalmente expuestas a contaminantes, tales como los carteros, los chóferes, y las familias de los ladrilleros

también pueden presentar daños en su ADN (Srám y Binková, 2000). Los datos de la literatura científica mencionados permiten explicar que gran parte de la población de San Nicolás presentan un daño genotóxico. En la Figura 29 se observa que una persona de Santa Bárbara (testigo negativo) presenta una relación L/D mayores a las detectadas para POE y PAE, por lo que es importante revisar los factores de exposición que reportan cada uno de los participantes.

Los resultados obtenidos de la estadística descriptiva (Cuadro 5) señalan que el 57.14% de la POE presentan un daño genotóxico, mientras que la PAE presenta solo un 19%, es así que un poco más de la mitad de la POE tiene un riesgo mayor de desarrollar un cáncer por presentar mayor daño genotóxico ya que es la población con más exposición a contaminantes como PM10, HAP's, PCB's, aldehídos y dioxinas (Anaya, 2006; Costilla y Col., 2006). En el Cuadro 6 se muestran los resultados obtenidos de la comparación múltiple entre los tres grupos (población testigo negativo, POE y PAE) mediante la prueba estadística Tukey-Kramer ($\alpha= 0.05$) señalando que la POE presenta más daño genotóxico que la PAE, es así que estos resultados corroboran los obtenidos en la estadística descriptiva. Los resultados son apoyados por un estudio realizado por Vineis y Husgafvel-Pursiainen, (2005), quien encontró que poblaciones humanas ocupacionalmente expuestas a contaminantes en áreas altamente industrializadas presentaban niveles consideradamente mayores en su sangre que personas ambientalmente expuestas como oficiales, vendedores de periódicos y estudiantes; sin embargo, existe otro estudio que indica que las poblaciones ambientalmente expuestas también presentan daño en el ADN (Georgiadis y col., 2001).

Fue importante conocer los factores de exposición a través de las encuestas (Anexo 1) para así obtener los factores de riesgo a los cuales están sujetos los pobladores de Santa Bárbara y San Nicolás de contraer enfermedades crónicas degenerativas como el cáncer. En este estudio se obtuvieron los valores de RR (riesgo relativo), que es el encargado de medir la probabilidad de que se desarrolle un cáncer en los expuestos a un factor de riesgo con relación al grupo de los no

expuestos (Fernández y col., 2002). El Cuadro 7 muestra los valores RR a partir de la asociación de los posibles factores de exposición seleccionados con el ensayo cometa para la población en general, destacando que los principales factores de riesgo son el género masculino, la edad, el hábito de fumar, la ocupación de elaborar ladrillos de forma artesanal, el tiempo de residencia en San Nicolás y el tipo de exposición (ocupacional o ambiental).

En el caso del género, se observa que los varones tienen más probabilidades de tener un daño genotóxico en su ADN que las mujeres, esto se debe a que la mayoría de las personas estudiadas fueron varones que se dedican a la elaboración artesanal de ladrillos, es por lo que el 57.14% de la POE presento daño genotóxico, se sabe que de 495 240 defunciones por cáncer en el 2005, el 55.2% correspondieron a hombres y el 44.8% a mujeres (INEGI, 2007) además, Moller y colaboradores (2000) también señalan que los varones pueden presentar más daño en el ADN que las mujeres, esto se podría deber a que son los varones quienes se encuentran mayormente expuestos a más contaminantes, por elaborar ladrillos de manera artesanal utilizando materiales de mala calidad.

También se muestra que la PAE mayor a 30 años de edad y la POE mayor a 18 años de edad presentan mayores probabilidades de riesgo de tener un daño genotóxico. La edad resultó ser un factor de riesgo para la POE y la PAE. Hamilton y colaboradores (2001) trabajaron con ADN aislado de tejidos de roedores de varias edades usando yodato de sodio para prevenir daño oxidativo al ADN durante el aislamiento. Se midió el 8-oxo-2-deoxiguanosina (oxo8dG), indicador de estrés oxidativo, en ADN nuclear aislado de corazón, cerebro, músculo esquelético, vesícula, riñón y ADN mitocondrial. Los autores observaron que los niveles de oxo8dG aumentaban con la edad en todos los tejidos de los roedores estudiados, demostrando así que existe una relación entre la edad y el daño al ADN. También se ha visto que hay una incidencia incrementada de mujeres que presentan cáncer cérvico uterino, esto debido a que con el aumento de los años viene consigo una disminución en los mecanismos de defensa del organismo (Rojas, 2001), es decir

que efectivamente, el riesgo de tener un daño en el ADN aumenta con la edad (Moller y col.,2000).

Otro posible factor de riesgo, de acuerdo a los resultados obtenidos, es la exposición a contaminantes emitidos por las ladrilleras artesanales, por lo tanto, se tienen más probabilidades de tener un riesgo de cáncer practicando esta actividad que alguna otra (Georgiadis y col., 2001; Vineis y Husgafvel-Pursiainen, 2005). El residir en San Nicolás aumenta las probabilidades de tener un daño genotóxico con valores para la población ocupacionalmente expuesta y para la ambientalmente expuesta, es así que los resultados indican que, para la población ocupacionalmente expuesta, el solo hecho de residir en San Nicolás y elaborar ladrillos de forma artesanal representa un riesgo, mientras que para la población ambientalmente expuesta, a partir de los 12 años de residencia en esta localidad representa un riesgo.

Los resultados de este estudio apoyan que la contaminación atmosférica, la dieta, el ejercicio, el hábito de fumar y beber así como la ocupación son factores de riesgo que pueden causar daños genotóxicos (Moller y col.,2000). Es importante mencionar que los factores de riesgo mencionados en este estudio son dependientes entre sí, por ejemplo, entre los varones estudiados hay quienes fuman y se dedican a elaborar ladrillos, de la misma manera, el factor de riesgo de la edad está relacionado con los años de residencia en San Nicolás y con la actividad que realizan los pobladores.

Al revisar el cuestionario de las personas pertenecientes al testigo negativo, se vio que la paciente BU54 es la que muestra una relación L/D mayor a 1.13, tiene una edad entre 36 y 40 años, es ama de casa, realiza deportes, no fuma, no bebe, ni tienen familiares que hayan presentado algún tipo de cáncer; sin embargo, si asistió a la clínica de Santa Bárbara para algún estudio clínico posiblemente tiene alguna patología y esté ingiriendo algún medicamento. Rodríguez y colaboradores (2001) estudiaron el efecto genotóxico de algunos medicamentos con el ensayo

cometa encontrando que pueden inducir rupturas de cromosomas de leucocitos de ratones. Esta paciente es muy importante, ya que es la que eleva los valores de RR para la población testigo en factores que no podrían representar un riesgo de exposición como el ser ama de casa.

Los resultados obtenidos en este estudio mostraron que de la población de San Nicolás, Tequisquiapan Qro., el 57.14% de la POE presenta un daño en su ADN y de la PAE el 19%, estas cantidades representan un riesgo para la población de estudio, además si se considera que existen factores de riesgo importantes, como el laborar en las ladrilleras y los años de residencia, hacen que los habitantes de San Nicolás requieran del apoyo por parte de instituciones que puedan tomar medidas para reducir el riesgo al que están expuestos.

VIII. CONCLUSIONES.

- La población de San Nicolás, Tequisquiapan, Querétaro, presenta mayor daño en su ADN evaluado por el ensayo electroforesis unicelular en gel que la población de Santa Bárbara (Testigo Negativo).
- El ensayo electroforesis unicelular en gel mostró ser buen bioindicador para detectar daño al ADN en poblaciones humanas.
- Existe mayor daño en la población estudiada durante los meses de septiembre y diciembre.
- El pertenecer al grupo de la población ocupacionalmente expuesta aumenta el riesgo de desarrollar un cáncer con respecto a la población ambientalmente expuesta.
- El género masculino, la edad a partir de los 30 años, realizar deportes al aire libre, residir en San Nicolás por más de 12 años, estar en contacto directo o indirecto con los contaminantes emitidos por las ladrilleras, estar enfermos e ingerir medicamentos representan factores de riesgo importantes para la población ambientalmente expuesta (PAE).
- Los principales factores de riesgo para la población ocupacionalmente expuesta (POE) son el género masculino, la edad desde de los 18 años de edad, residir en San Nicolás a partir de un mes, el hábito de fumar y beber, los factores hereditarios de neoplasia, el realizar deportes al aire libre, el estar enfermo, ingerir medicamentos y la ocupación de elaborar ladrillos de manera artesanal.

- Los resultados obtenidos en este estudio indican que la población de San Nicolás, Tequisquiapan Qro., presenta daño en su ADN evaluado con el ensayo cometa, siendo este mayor para su población ocupacionalmente expuesta (57.14%) que para la ambientalmente expuesta (19%).

- Las perspectivas que se pueden desprender de este trabajo son las siguientes:
 1. Realizar estudios que especifiquen que contaminantes están siendo emitidos por las ladrilleras artesanales de San Nicolás, Tequisquiapan, Querétaro., para conocer cuales son los que están causando daño genotóxico en esta población.

 2. Proponer a los ladrilleros la sustitución de las ladrilleras artesanales por hornos ecológicos que utilicen menos combustibles, emitan menos contaminantes y mantengan la eficiencia de la producción del ladrillo. Esto se puede lograr proporcionándoles información para que comprendan el daño ecológico que ocasionan al medio ambiente, así como los daños a la salud que pueden desarrollar ellos y sus familias.

 3. Continuar con el seguimiento de estudio mediante la evaluación continua de los pobladores de San Nicolás por diferentes periodos de tiempo, proponiéndoles factores de protección que les ayude a reducir los riesgos de desarrollar enfermedades crónico degenerativas.

IX. BIBLIOGRAFÍA.

- ACS. 2006.** American Cancer Society. Cancer Facts and Figures.
- Anaya, AL. 2006.** Inventario Geo- Referenciado de la Industria Ladrillera en el Estado de Querétaro y efecto en Fauna Nativa. Querétaro. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura en Ingeniero Químico Ambiental. Págs. 35-36.
- Arboleda- Moreno, Y., Stella, L., Carvajal, S., Sierra- Torres, C. 2004.** Genotoxicidad por exposición a cigarrillos en fumadores jóvenes en Colombia. Revista Panamericana Salud Publica. Vol.15(6):367-372.
- ATSDR. 2002.** Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Curso de toxicología para comunidades. Módulo IV. Estudio de sustancias tóxicas. Dióxido de Azufre.
- ATSDR. 2002_a.** Agency for Toxic Substances and Disease Registry Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Óxidos de Nitrógeno.
- Awara, W.M., El-Nabi, S. H., El- Gohary, M. 1998.** Assessment of vinyl chloride-induced DNA damage in lymphocytes of plastic industry workers using a single-cell gel electrophoreses technique. Toxicology. Vol. 128:9-16.
- Belmar, R. 1993.**Contaminación Atmosférica de Santiago: Estado Actual y Soluciones. Capítulo 6. Efectos de la Contaminación Atmosférica sobre la Salud de la Personas. Universidad de Chile, CONAMA-RM, Banco Santander.
- Blackman, A. 2000.** Small Is Not Necessarily Beautiful. Coping with Dirty Microenterprises in Developing Countries. Resources for the Future Discusión Paper. Vol. 141: 9- 13.
- Bonner, M., Han, D., Nie, J., Rogerson, P., Vena, J., Muti, P., Trevisan, M., Edge, S., Freudenheim, J. 2005.** Breast Cancer Risk and Exposure in Early Life to Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Total Suspended Particulates as a Proxy Measure. Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention. Vol. 14(!): 53-60.
- Boström, CE., Gerde, P., Handberg, A., Jernström B., Johansson, C., Kyrklund, T., Rannug, A., Törnqvist, M., Victorin, K., Westerholm, R. 2002.** Cancer Risk

- Assessment, Indicators, and Guidelines for Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Ambient Air. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 110: 451- 483.
- Carrizales**, L., Batres, L., Ortiz, M., Mejía, J., Yañez L., García, E., Reyes, H., Díaz-Barriga, F. **1999**. Efectos en Salud Asociados con la Exposición a Residuos Peligrosos. *Scientiae Naturae*. Vol. 2: 5-28.
- Clayson**, D.B., Grant, D.L. **1992**. The Assessment of Mutagenicity. Health Protection Branch Mutagenicity Guidelines. *Environmental and Molecular Mutagenesis*. Vol. 21:15-37.
- Codes**, M. I., Robledo, S., Maffei, A. **2002**. Impacto Ambiental de las Ladrilleras en el Algarrobal, Departamento de las Heras, Mendoza, Argentina. Publicación electrónica Andina de la Secretaría de Gestión, Desarrollo y Difusión para la Ciencia y la Técnica de la Facultad de Filosofía y Letras. Universidad Nacional de Cuyo, Argentina: 1-17.
- Collins**, A. **2004**. The Comet Assay for DNA Damage and Repair. *Molecular Biotechnology*. Vol 26: 249-261.
- CONAMA**. **2006**. Comisión Nacional de Medio Ambiente. Dióxido de Azufre. El ácido que va a nuestra sangre. Gobierno de Chile. Región Metropolitana de Santiago.
- CONAMA**. **2006a**. Comisión Nacional de Medio Ambiente. Material Particulado Respirable (PM10). El enemigo que respiramos. Gobierno de Chile. Región Metropolitana de Santiago.
- Corvalán**, R. **1998**. Contaminación Atmosférica en la Ciudad de Santiago. *Ciencia al Día*. Vol. 1:2-12.
- Costilla**, R., Pérez, I., Trejo, A., Verduzco, B., Gómez, H., Torres, A., Díaz-Barriga, F. **2006**. Segundo Foro de Investigación sobre Contaminantes Orgánicos Persistentes en México. Ciudad de México, México. 16 y 17, mayo. Análisis de Bifenilos Policlorados (PCBs) en suelo superficial y en niños de San Nicolás, Tequisquiapan, Querétaro.
- Crovetto**, N. **2004**. Sistema de Información Ambiental de la IX Región de Chile. Fuentes Emisoras de Contaminación. <http://www.ima.ufro.cl/siamb/p1200.html>

Díaz- Barriga, F. 1999. Metodología de Identificación y Evaluación de riesgos para la salud en sitios contaminados. Red Panamericana de Manejo Ambiental de Residuos. Lima: 22-23.

Donaldson, K., Gilmour, M., MacNee W. 2000. Asthma and PM₁₀. Respiratory Research. Vol.: 1:12-15.

EETM. 1998. Emissions Estimation Technique Manual for Bricks, Ceramics and Clay product Manufacturing. National Pollutant Inventory. Environment Australia: 8-9.

FIG. 1996. Emission Inventory Guidebook. Processes with contact. Bricks and Tiles. B3319-1. Snap Code: 030319

EPA. 2003. Environmental Protection Agency. Air Quality Index. A Guide to Air Quality and Your Health.

EPA. 2003_a. Environmental Protection Agency. Environmental Protection Agency. EPA-452/R-03-006. Economic Impact Analysis for the Brick and Structural Clay Products Manufacturing NESHAP: Final Rule.

EPA. 2006. Environmental Protection Agency. Air Quality Index. Monóxido de Carbono.

EPA. 2006_a. Environmental Protection Agency. Terms of Environment: Glossary, Abbreviations and Acronyms. <http://www.epa.gov/OCEPaterms/pterm.html>

Fernandez, S.P., Villa, A., Carpete, M. J. 2002. Determinación de factores de riesgo. Cad Alen Primaria: Vol. 4:75-78.

Garry, S., Nesslany, F., Aliouat, E., Haguenoer, JM., Marzin, D. 2002. Assessment of genotoxic effect of benzo[a]pyrene in endotracheally treated rat using the comet assay. Mutation Research . Vol. 534: 33–43.

Georgiadis, P., Topinka, J., Stoikidou, M., Kaila, S., Gioka, M., Katsouanni, K., Sram, R., Autrup, H., Kyrtopoulos, S. 2001. Biomarkers of genotoxicity of air pollution (the AULIS project): bulky DNA adducts in subjects with moderate to low exposures to airborne polycyclic aromatic hydrocarbons and their relationship to environmental tobacco smoke and other parameters. Carcinogenesis. Vol. 22(9): 1447-1457.

- Gontijo, A., Salvadori, D., Oliveira, L., Correa, L., Goldberg, J., Trinidad, J.C., Camargo, J. 2001.** Single-Cell Gel (Comet) Assay Detects Primary DNA Damage in Nonneoplastic Urothelial Cell of Smokers and Exmokers. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. Vol. 10:987-993.
- Guenther, A., Geron, C., Pierce, T., Lamb, B., Harley P., Fall, R. 2000.** Natural emissions of non-methane volatile organic compounds, carbon monoxide, and oxides of nitrogen from North America. *Atmospheric Environment*. Vol. 34: 2205-2230.
- Hamilton, M., Remmen, H., Drake, J., Yang, H., Mao Guo, Z., Kewitt, K., Walter, C., Richardson, A. 2001.** Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proceedings of the Nacional Academy of Sciences of the United Status of America*. PNAS. Vol. 98(18):10469-10474.
- Hernández, C. 2006.** Estudio del Efecto Antigenotóxico del Cuachalalate (*Amphiptergium adstringens*) Evaluado con el Ensayo Cometa (Electroforesis Unicelular en Gel). Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el titulo de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo. Págs. 21, 45.
- Houston, R., Marquez, R., Hartnett, M. 2002.** A study of Brick- making Processes along the Texas Portion of the U. S. – México Border: Senate Bill 749. Texas Comission on Environmental Quality.
- INE. 2006.** Instituto Nacional de Ecología. Fuentes de contaminación del aire. Dirección en Investigación sobre Calidad del Aire.
- INEGI. 2000.** Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Carta topográfica, 1:50 000.
- INEGI. 2000_a.** Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. XII Censo General de Población y Vivienda. Principales resultados por localidad. Querétaro de Arteaga.
- INEGI. 2007.** Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática. Estadísticas a propósito del día mundial contra el cáncer. Datos nacionales.
- Jiménez, I. 2005.** Obtención de Factores de Alto Riesgo para contraer Cancer Cérvico Uterino, Asociando el Daño al ADN con Factores de Exposición. Querétaro.

Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo. Págs. 17- 38.

Jurvelin, J. A. 2003. Personal Exposures to Volatile Organic Compounds and Carbonyls: Relationships to Microenvironment Concentrations and Analysis of Sources. National Public Health Institute. Vol 9:16-20.

Kim, S., Yang, J. 2005. Neurotoxic effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in cerebellar granule cells. *Experimental and Molecular Medicine*. Vol. 37(1):58-64.

Klaude, M., Eriksson S., Nygren J., Gunnar A. 1995. The comet assay: mechanism and technical considerations. *Mutation Research*.: Vol. 95:89-91.

Knudsen, L., Norppa, H., Gamborg, M., Nielsen, P., Okkels, H., Soll-Johanning, H., Raffn, E., Järventaus, H., Autrup, H. 1999. Chromosomal Aberrations in Human Induced by Urban Air Pollution: Influence of DNA Repair and Polymorphisms of Glutathione S- Transferase M1 and N- Acetyltransferase 2. *Cancer, Epidemiology, Biomarkers & Prevention*. Vol. 8: 303-310.

Lee, R. F., Steinert, S. 2003. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals. *Mutation Research*. Vol. 544: 43-64.

LGEEPA. 2003. Ley General del Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente. Capítulo 3. 1ª. ed., Ediciones Delma, México: 3.

Li, X.Y., Gilmour, P. S., Donaldson, K., MacNee. W., 1997. In Vivo and in Vitro Proinflammatory Effects of Particulate Air Pollution (PM₁₀). *Environmental Health Perspectives*. Vol. 105:1279- 1283.

Lóriga, E., Alfonso, B., Socorro, M., Ortega, J., Pomares, Y. 2001. Evaluación Genotóxica de la vacuna VA-MENGOB-BC empleando el Ensayo de Micronúcleos en Médula Ósea de Ratón. *Anuario de Toxicología*. Vol. 1(1):25-29.

Mastrangelo, G., Fadda, E., Marzia V. 1996. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Cancer in Man. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 104(11): 1166-1169.

MDH. 2005. Minnesota Department of Health Fact Sheet. Volatile Organic Compounds.

Miyamae, Y., Yamamoto, M., Sasaki, Yu., Kobayashi, H., Miyuki, I.S., Shimouri, K., Hayashi, M. 1998. Evaluation of tissue homogenization technique the isolates nuclei

for the vivo single gel electrophoresis (comet) assay: a collaborative study by five laboratories. *Mutation research.*: Vol. 418:131-140.

Moller, P., Knudsen, L., Loft, S., Wallin, H. 2000. The Comet Assay as a Rapid Test in Biomonitoring Occupational Exposure to DNA- damaging Agents and Effect of Confounding Factors. *Cancer, Epidemiology, Biomarker & Prevention.* Vol. 9: 1005-1015.

Nafstad, P., Haheim, L., Oftedal, B., Gram, F., Holme, I., Hjermann, I., Leren, P. 2003. Lung Cancr and air pollution: a 27 years follow up of 16209 Norwegian men. *Thorax-an international Journal of Respiratory Medicine.* Vol.58: 1071-1076.

Olive, P., Banath, R., McCoy, M. 1994. Duracing, heterogeneity in radiation-induced DNA damage and repair in tumor and normal cell using comet assay. *Radiation . research.*: Vol. 122:86-94.

Osorio, M. A. 2004. En invierno se respira un aire más contaminado. *Biodiversity Reporting Award.Revista "Vida y Futuro".* sin pags.

Östling, O., Johanson, K. 1984. Microelectrphoresis study of radiation induced DNA damage in individual cells. *Res. Commun.* Vol. 123:291-298.

Palyvoda, O., Polanska, J., Wygoda, A., Rzeszowska-Wolny, J. 2003. DNA damage and repair in lymphocytes of normal individuals and cancer patients: studies by the comet assay and micronucleus test. *Acta Biochimica Polonica.*: Vol. 50 (1): 181-190.

Peper, M., Klett, M., Morgenstern, R. 2005. Neuropsychological effects of chronic low-dose exposure to polychlorinated biphenyls (PCB's): A cross-sectional study. *Environmental Health: A global Access Science Source.* Vol.4(22): 1-15.

Prieto, A., Llopiz, N. 1999. Normalización de la Electroforesis de Células Individuales (Ensayo Cometa). *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas.* Vol. 18(1): sin pags.

Raub, J. A., Benignus, A. 2002. Carbon Monoxide and the Nervous System. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews.* Vol. 26(8): 925-940.

Reyna, M. A., Quintero, M., Collins, K., Vildósola, L. 2003. Análisis de la relación del PM10 con las enfermedades respiratorias en la población urbana de Mexicali,

- Baja California: Un Estudio de series de tiempo. *Revista Mexicana de Ingeniería Biomédica*. Vol. XXIV(2):116-125.
- Rigonato, J., Mantovani, M.S., Jordao, B. 2005.** Comet Assay comparison of different Corbicula Fluminea (Mollusca) tissues for the detection of genotoxicity. *Genetic and Molecular Biology*. Vol. 28(3):464-468.
- Rivero, O., Ponciano, G., Fourtoul, T. 1993.** Antecedentes de la contaminación atmosférica. En Pulido M M(Ed.): *Contaminación atmosférica y enfermedades respiratorias*. Fondo de Cultura Económica. México, D. F., pp. 46-57.
- Rodríguez, G., Cancino, L., Prieto, E., Espinosa, J. 2001.** Tinidazol: Una Droga Antimicrobiana con Actividad Genotóxica. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. Vol. 20(1):54-58.
- Rojas, E. O., 2001.** *Inmunología (de memoria)*. 2da ed., Panamericana, México:289-331.
- Romo, M. L., Cordova, G., Cervera, L. 2004.** Estudio urbano- ambiental de las ladrilleras en el municipio de Juárez. *Estudios Fronterizos*. Vol. 5:9-34.
- Rosales- Castillo, J. A., Torres, V.M., Olaiz-Fernández, G., Borja, V. 2001.** Los Efectos Agudos de la Contaminación del Aire en la Salud de la Población: Evidencias de Estudios Epidemiológicos. *Salud Pública de México*. Vol. 43: 544-555.
- Rundle, A., Tang, D., Hibshoosh, H., Estabrook, A., Schnabel, F., Cao, W., Grumet, S., Perera, P. 2000.** The relationship between genetic damage from polycyclic aromatic hydrocarbons in breast tissue and breast cancer. *Carcinogenesis*, Vol. 21(7):1281-1289.
- Schabath, M. B., Spitz, M. R., Grossman, H. B., Zhang, K., Dinney, C. P., Zheng, P., Wu, X. 2003.** Genetic Instability in Bladder Cancer Assessed by the Comet Assay. *Journal of the National Cancer Institute*. Vol. 95(7): 540-547.
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., Schneider, E. L. 1988.** A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental Cell Research*. Vol. 175: 191-194.

- Somers, C., Yauk, C., White, P., Parfett, C., Quinn, J. 2002.** Air pollution induces heritable DNA mutations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*. Vol. 9(25):15904:15907.
- Sosa, S. L. 2007.** Ensayo Electroforesis Unicelular; Una Prueba Complementaria en la Detección Oportuna de Cáncer Cérvico Uterino. Universidad Autónoma de Querétaro. Tesis para obtener el título de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo. Págs. 18,19,47.
- Srám, R., Binková, B. 2000.** Molecular Epidemiology Studies on Occupational and Environmental Exposure to Mutagens and Carcinogens, 1997-1999. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 108(1): 57-70.
- Steenland, K., Bertazzi, P., Baccarelli, A., Kogevinas, M., 2004.** Dioxin Revisited: Developments Since 1997 IARC Classification of Dioxin as a Human Carcinogen. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 112(1):1265-1268.
- Tello, A. 2000.** Tecnología novedosa para ladrilleras. *Gaceta Universitaria*. Universidad de Guadalajara- Vol. 172: 4.
- Tice, R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., Sasaki, Y.F. 2000.** Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing *Environmental and Molecular Mutagenesis*. Vol. 35:206- 221.
- Vaclavik, E., Forchhammer, L., Moller, P., Simonsen, J., Glasius, M., Wahlin, P., Loft, S. 2007.** Exposure to Ultrafine Particles from Ambient Air and Oxidative Stress-Induced DNA Damage. *Environmental Health Perspectives*. Vol. 115(8): 1177-1182.
- Vaghef, H., Nygren, P., Edling, C., Bergh, J., Hellman, B. 1997.** Alkaline Single-cell Electrophoresis and Human Biomonitoring for Genotoxicity: a Pilot Study on Breast Cancer Patients Undergoing Chemotherapy including Cyclophosphamide. *Mutation Research*. Vol. 395:127-128.
- Valverde M., Ostrosky- Wegman, P., Rojas, E., Fortoul, T., Meneses, F., Ramirez, M., Díaz- Barriga, F., Cebrian, M. 1999.** The Application of Single Cell Gel Electrophoresis or Comet Assay to Human Monitoring Studies. *Salud Publica de México*. Vol. 41:109-113.

- Velasco**, E., Bernabé, R. **2004**. Emisiones Biogénicas. Primera Edición. Instituto Nacional de Ecología. México: 15-27.
- Villar**, MP. **2004**. Determinación y Distribución de Hidrocarburos Aromáticos Policíclicos en el tratamiento de Lodos de EDARs. Sevilla, España. Universidad de Sevilla. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias Químicas. Págs. 56-81.
- Vineis**, P., Husgafvel-Pursiainen, K. **2005**. Air pollution and cancer: biomarker studies in human populations. Carcinogenesis. Vol. 26(11):1846-1855
- Vizoso**, A., Ramos, A., Edreira, A., Betancourt, J., Décalo, M. **1999**. Plectranthus Amboinicus (Lour.) Spreng (Orégano Francés). Estudio toxicogenético de un extracto fluido y del aceite esencial. Revista Cubana Plant Med. Vol. 3(2):68-73
- WHO**. **2000**. World Health Organization. Air Quality Guidelines for particulate matter, ozone, nitrogen dioxide and sulfur dioxide.
- Zúñiga**, R. **2004**. Evaluación del Impacto Generado por las Ladrilleras en el estado de Nayarit. Nayarit. Universidad Autónoma de Nayarit. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Ambientales.

Universidad Autónoma de Querétaro

Facultad de Química

Centro de Estudios Académicos sobre Contaminación Ambiental.

Cuestionario.

1. ¿Cuántos años hace que vive en la misma dirección?
2. ¿Cuál es su número telefónico?
3. ¿Alguna vez vivió en otra dirección que no sea la actual?
 No.
 Si.
- 3a. Anote por favor su dirección anterior.
- 3b. ¿Cuántos años vivió en esta dirección?
4. La casa que actualmente habita es:
 Casa sola.
 Vecindad.
 Otra. Por favor, descríbala.
5. ¿Cuántas personas viven en su casa?
6. ¿De que material están hechas la mayor parte de su casa?
 Tabique o ladrillo.
 Adobe.

- Madera.
 - Otros.
7. ¿Cómo es en general su casa?
- Húmeda.
 - Fría.
 - Caliente.
 - Templada.
8. ¿Cuántos cuartos tiene su casa, sin contar cocina, baños y pasillos?
9. ¿Cuántas ventanas tiene su casa?
10. ¿En que horario acostumbra mantener abiertas las ventanas de su casa?
- Mañana.
 - Tarde.
 - Noche.
 - Todo el día.
 - Toda la noche.
11. ¿Tiene mascotas en su casa?
- No.
 - Si.
12. ¿En que trabaja?
- Fabrica.
 - Ladrilleras.
 - Negocio propio. ¿Cuál?
 - Otro.

13. ¿Usted a fumado alguna vez en su vida?

No.

Si.

14. ¿Usted fuma actualmente?

No.

Si.

14a. En promedio en un día ¿Cuántos cigarros fuma?

1-10 (+/- medio paquete)

11-20 (medio paquete o un paquete)

21-30 (un paquete a un paquete y medio)

31-40 (más de dos paquetes)

15. ¿Acostumbra a ingerir bebidas alcohólicas?

No.

Si.

15a. ¿Con que frecuencia lo hace?

1-2 veces a la semana.

3 veces o más a la semana.

Casi todos los días.

Todos los días.

15b. ¿Qué tipo de bebida ingiere?

Cerveza.

Pulque.

Tequila.

Otros.

16. ¿Acostumbra usted a realizar alguna actividad deportiva?

Si

No

16a. ¿De que tipo?

16b. ¿Con que frecuencia la realiza?

Todos los días.

Cada tercer día.

Cada semana.

Otro. Especifique.

16c. ¿Cuánto tiempo le toma del día hacer esta actividad?

16d. ¿En donde lleva a cabo esta actividad?

Al aire libre.

Bajo techo.

Relacionadas con la salud.

17. Dentro de la familia, ¿Se han presentado casos de cáncer?

No.

Si. ¿De que tipo?

18. En las últimas dos semanas, ¿Cuántos días se quedo en casa por haber estado enfermo?

1-2 días.

3-4 días.

5 o más días.

Ninguno.

19. ¿Le han diagnosticado alguna de las siguientes enfermedades?

Bronquitis.

Asma.

Rinitis alérgica.

Eccema (alergia por contacto)

Otra alergia. Descríbala.

20. ¿Actualmente toma algún medicamento?

No.

Si.

20a. ¿Qué medicamento?

20b. ¿Desde hace cuanto tiempo lo toma?

1 semana.

2-3 semanas.

1 mes.

Más de un mes.

21. ¿Usted fue atendido por algún problema respiratorio o gripe muy grave antes de los dos años de edad?

No.

Si.

22. Durante los últimos 3 meses, ¿Qué frecuencia ha presentado cualquiera de los siguientes problemas de la piel?

Diario o casi diario.

Ninguno.

Una o pocas veces por semanas.

Una o pocas veces al mes.

Lesiones por acné.

Erupción cutánea.

Decoloración de la piel.

Excesivo pelo corporal.

23. ¿Ha presentado alguna vez enfermedades hepáticas?

No.

Si.

24. ¿Ha padecido infección de vías urinarias?

No.

Si.

24a. ¿Cuándo?

Hace un mes.

Hace 3 meses.

24b. ¿Qué medicamento ingirió?

25. ¿Presenta alguna disminución de la agudeza visual o ceguera?

No.

Si.

26. ¿Siente que en ocasiones no recuerda o se le olvidan las cosas?

No.

Si.

27. Si usted presenta estados de ansiedad, depresión o irritabilidad, menciones con que frecuencia.

Pocas veces.

Muchas veces.

Siempre.

Nunca.