



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BÁSICAS



**EFFECTO SUBTÓXICO DE MATERIAL PARTICULADO PM_{2.5} DE LA CIUDAD DE
MÉXICO EN CÉLULAS A549 DE ADENOCARCINOMA HUMANO**

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

VÍCTOR MANUEL BAÑOS TAPIA

BAJO LA DIRECCIÓN DE:

DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL

DRA. MARIA ANTONIA LUNAGOMEZ ROCHA

EN CODIRECCIÓN DE:

DR. JESÚS VALENCIA CERVANTES

Cunduacán, Tabasco, a noviembre 2024



UJAT
UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



División
Académica
de Ciencias
Básicas



DIRECCIÓN

Cunduacán, Tabasco; a 31 de octubre de 2024.

**C. VÍCTOR MANUEL BAÑOS TAPIA
PASANTE DE LA LIC. EN QUÍMICO
FARMACÉUTICO BIÓLOGO
PRESENTE**

Por medio del presente, me dirijo a usted para hacer de su conocimiento que proceda a la impresión del trabajo titulado **“EFECTO SUBTÓXICO DE MATERIAL PARTICULADO PM_{2.5} DE LA CIUDAD DE MÉXICO EN CÉLULAS A549 DE ADENOCARCINOMA HUMANO”**, dirigido por la Dra. María Antonia Lunagómez Rocha y una servidora con la colaboración del Dr. Jesús Valencia Cervantes, bajo la modalidad de titulación por **TESIS**. La comisión de revisión conformada por el Mtro. Daniel Alejandro Vázquez Cahuich, Dr. Carlos Javier López Victorio, Dr. Adib Abiu Silahua Pavón, Dra. Hermicenda Pérez Vidal y Dra. Patricia Mendoza Lorenzo, liberó el documento en virtud de que reúne los requisitos para el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente.

Sin otro particular, reciba usted un cordial saludo.

ATENTAMENTE

**DRA. HERMICENDA PÉREZ VIDAL
DIRECTORA**



C.c.p. Archivo.

DIR'DRA.HPV/kfvg

Km.1 Carretera Cunduacán-Jalpa de Méndez, A.P. 24, C.P. 86690, Cunduacán, Tab., México.
Tel/Fax: (993) 3581500 Ext. 6702,6701 E-Mail: direccion.dacb@ujat.mx

www.ujat.mx

Declaración de Autoría y Originalidad

En la Ciudad de Cunduacán, Tabasco, el día 02 del mes de noviembre del año 2024, el que suscribe Víctor Manuel Baños Tapia alumno del Programa de Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo, con número de matrícula 182A20031, adscrito a la División Académica de Ciencias Básicas, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autor de la Tesis presentada para la obtención del grado de licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo y titulada "Efecto subtóxico de material particulado PM_{2.5} de la ciudad de México en células A549 de adenocarcinoma humano" dirigida por Dra. Hermicenda Pérez Vidal (UJAT), Dra. María Antonia Lunagomez (UJAT) y Dr. Jesús Valencia Cervantes (INER).

DECLARO QUE:

La Tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (Decreto por el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio de 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 02 de noviembre de 2024.



Victor Manuel Baños Tapia

182A20031

Carta de Cesión de Derechos

Cunduacan, Tabasco a 02 del mes de noviembre del 2024.

Por medio de la presente manifestamos haber colaborado como AUTOR(A) y/o AUTORES(RAS) en la producción, creación y/o realización de la obra denominada "EFECTO SUBTÓXICO DE MATERIAL PARTICULADO PM_{2.5} DE LA CIUDAD DE MÉXICO EN CÉLULAS A549 DE ADENOCARCINOMA HUMANO". Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entendemos y aceptamos el alcance del artículo en mención, de que tenemos el derecho al reconocimiento como autores de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un período de 20 años sobre la obra en la que colaboramos, por lo anterior, cedemos el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

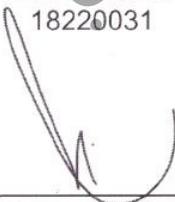
Colaboradores



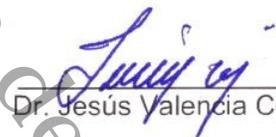
Victor Manuel Baños Tapia
18220031



Dra. Hemicenda Pérez Vidal



Dra. Maria Antonia Lunagomez
Rocha



Dr. Jesús Valencia Cervantes

Testigos



Dra. Yazmin Debray Garcia



Dra. Maria de los Angeles Andrade Oliva

LICENCIATURA - EFECTO SUBTÓXICO DE MATERIAL PARTICULADO PM2.5 DE LA CIUDAD DE MÉXICO EN CÉLULAS A549 DE ADENOCARCINOMA HUMANO

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	gacetajuchiman.ujat.mx Internet	327 palabras — 2%
2	hdl.handle.net Internet	241 palabras — 1%
3	www.studocu.com Internet	127 palabras — 1%
4	dx.doi.org Internet	110 palabras — 1%
5	repositorioubasibbi.uba.ar Internet	93 palabras — 1%
6	repositorio.cinvestav.mx Internet	91 palabras — 1%
7	ouci.dntb.gov.ua Internet	88 palabras — 1%
8	1library.co Internet	81 palabras — < 1%
9	www.gob.mx Internet	76 palabras — < 1%



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS BÁSICAS
ESTUDIOS
TERMINALES

Dedicatoria

Dedico mi tesis principalmente a Dios, por darme la fuerza necesaria para culminar esta meta.

A mi padre Víctor Manuel Baños Espinosa y a mi madre Beatriz Tapia Zurita por todo su amor y por motivarme a seguir hacia adelante apoyándome en las decisiones tomadas a lo largo de mi vida, así como en los momentos difíciles.

A mi compañera en esta travesía Laura Becerra Aréchiga, con quien pasé los 5 meses de experimentación y quien fue de gran apoyo tanto moral como en el desarrollo de los experimentos y además por haber sido una persona con la que pude contar en todo momento, la cual hasta la fecha sigue siendo una persona especial para mí.

A las personas que me apoyaron en la parte experimental de esta tesis, el Dr. Jesús Valencia Cervantes por ser mi asesor de tesis y quien estuvo conmigo en los experimentos y fue una guía en cada paso de esta experiencia a quien estaré siempre agradecido por su apoyo, a la Dra. Yazmín Debray García y a la Dra. María de los Ángeles Andrade Oliva quienes hicieron de mi estancia más agradable y estuvieron al pendiente en todo momento brindando su conocimiento para apoyarme en varios de los experimentos, de igual manera agradezco a la M. en C. Ana Larisa Barbosa Sánchez quien de igual manera estuvo al pendiente de la estancia haciendo que fuera más comfortable.

Al compañero Javier Delgado quien ocasionalmente me apoyaba en los experimentos y de igual manera hizo la estancia más amena a lo largo del proyecto.

Al Q.F.B. Francisco Díaz Rosas quien me abrió las puertas y brindo su apoyo durante varios años dándome la oportunidad de adquirir experiencia laboral y brindándome sus conocimientos en el área clínica.

Agradecimientos

La realización del desarrollo experimental se realizó en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) "Ismael Cosío Villegas", en la Ciudad de México.

- **Agradezco a la beca otorgada durante mi estancia derivada del Proyecto Ciencia de Frontera 2019 (CF-MG-20191024195736984-840342), CONAHCYT.**
- **Agradezco al Departamento de Toxicología y Medicina Ambiental (INER) por el recibimiento, en especial a las investigadoras:**
 - Dra. Martha Patricia Sierra Vargas
 - Dra. Margarita Isabel Palacios Arreola
 - Dra. Yazmín Debray García
 - Dra. María de los Ángeles Andrade Oliva
 - Dr. Jesús Valencia Cervantes
 - Dra. Elizabeth Santiago Del Angel
- **Por la atención recibida de la Universidad Nacional Autónoma de México en particular al Dr. Ciro Márquez Herrera (UNAM - Facultad de Química).**
- **Agradezco al Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), por las facilidades y el apoyo, en particular a las investigadoras:**
 - Dra. Leticia Hernández Cadena
 - Dra. María de Lourdes Flores
 - M. en C. Ana Larisa Barbosa Sánchez
 - Dra. Consuelo Escamilla Núñez
- **Finalmente agradezco a la División Académica de Ciencias Básicas (DACB) y a la comisión revisora conformada por**
 - Dra. Patricia Mendoza Lorenzo
 - M.C. Daniel Alejandro Vazquez Cahuich
 - Dr. Adib Abiu Silahua Pavon
 - Dr. Carlos Javier Lopez Victorio
 - Dra. Hermicenda Perez Vidal

Índice de contenido

	Página
Resumen	1
Abstract	2
Palabras clave	3
I. Introducción	4
II. Marco Teórico	7
2.1. Incidencia de cáncer de pulmón	8
2.2. Epidemiología de cáncer de pulmón en México	9
2.3. La contaminación del aire y la incidencia de cáncer pulmonar	10
2.4. Composición elemental de material particulado PM _{2.5}	10
2.5. Contaminación del aire en la AMCM	13
2.6. Características distintivas del cáncer	14
2.7. Mantenimiento de la señalización proliferativa	15
2.8. Evasión de la muerte celular programada (apoptosis)	16
2.9. Estrés oxidativo asociado a PM _{2.5}	19
III. Justificación	21
IV. Pregunta de investigación	22
V. Hipótesis	22
VI. Objetivos	23
6.1. Objetivo general	23
6.2. Objetivos específicos	23
VII. Metodología	24

7.1. Recolección de material particulado PM _{2.5}	24
7.2. Mantenimiento de células A549 de adenocarcinoma pulmonar	26
7.3. Ensayo de exclusión de azul tripán	26
7.4. Ensayo de MTT	26
7.5. Exposición de células A549 a material particulado PM _{2.5}	27
7.6. Extracción y cuantificación de proteínas totales	27
7.7. Inmunotransferencia y Western Blot	27
7.8. Determinación de los niveles de malondialdehído	28
7.8. Análisis estadístico	28
VIII. Resultados	29
IX. Discusión	47
X. Conclusiones y Recomendaciones	54
XI. Referencias	56
XII. Anexos	69

Índice de Tablas

	Página
Tabla 1. Efectos adversos asociados a los contaminantes atmosféricos	7

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

Índice de Figuras

	Página
Figura 1. Distribución de la incidencia y mortalidad de cáncer	9
Figura 2. Fuentes de emisión e identificación de compuestos en PM _{2.5}	12
Figura 3. Densidad de población y emisión de contaminantes en el Valle de México	14
Figura 4. Clasificación de las seis características distintivas del cáncer	15
Figura 5. Regulación de la apoptosis intrínseca	19
Figura 6. Temporalidades y zonas de recolección de PM _{2.5}	25
Figura 7. Viabilidad celular de A549 por la exposición con FPS	31
Figura 8. Viabilidad celular de A549 por la exposición con AIF	33
Figura 9. Viabilidad celular de A549 por la exposición con SELF	34
Figura 10. Viabilidad celular de A549 por la exposición con ALF	35
Figura 11. Viabilidad celular de A549 por la exposición con GAMBLE	36
Figura 12. Viabilidad celular de A549 por la exposición con H ₂ O	37
Figura 13. Modulación del pH en células A549 por la exposición de FPS	38
Figura 14. Concentración inhibitoria (IC ₅₀) de la exposición a PM _{2.5}	41
Figura 15. Expresión de PCNA en células A549 expuestas a PM _{2.5}	42
Figura 16. Expresión de BCL-2 en células A549 expuestas a PM _{2.5}	43
Figura 17. Expresión de BAK en células A549 expuestas a PM _{2.5}	44
Figura 18. Expresión de BAX en células A549 expuestas a PM _{2.5}	45
Figura 19. Niveles de MDA en células A549 expuestas a PM _{2.5}	46

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

EFFECTO SUBTÓXICO DE MATERIAL PARTICULADO PM_{2.5} DE LA CIUDAD DE MÉXICO EN CÉLULAS A549 DE ADENOCARCINOMA HUMANO

Resumen.

La contaminación del aire es un factor de riesgo para la salud y se estima que causa 7 millones de muertes en todo el mundo. Entre los contaminantes emitidos se encuentra las PM_{2.5} cuya composición química y propiedades físicas es diferente en cada zona geográfica de emisión. Se han identificado efectos adversos para la salud por la exposición a PM_{2.5} en personas con padecimientos preexistentes como enfermedades cardiopulmonares, cerebrovasculares, neurodegenerativas, además favorecen la incidencia de cáncer de pulmón. Sin embargo, los mecanismos y las vías de señalización asociados con el desarrollo de estas enfermedades, siguen siendo en gran medida desconocidos. Las PM_{2.5} fueron colectadas en la Ciudad de México (noviembre de 2021 a abril de 2022) utilizando equipos de alto volumen (high-vol), en tres zonas geográficas representativas. Se determinó el efecto subtóxico de la fracción bioaccesible de PM_{2.5} (10 µg/ml), utilizando fluidos pulmonares simulados en células de adenocarcinoma pulmonar A549, evaluando la proliferación celular, la apoptosis y la peroxidación lipídica. Los resultados mostraron que no se modificó la expresión de la proteína relacionada con la proliferación celular PCNA, la proteína anti-apoptótica BCL-2 incrementó en la región de PED-SF ($P < 0.05$), la expresión de las proteínas pro-apoptóticas BAK y BAX no se modificaron y los niveles de malondialdehído incrementó en LAA-SF, UIZ-SC y PED-SC ($P < 0.05$). La información obtenida sugiere que las PM_{2.5} inducen el arresto del ciclo celular, favoreciendo la evasión de la apoptosis e incrementando la lipoperoxidación, indicando daños tempranos a bajas concentraciones de PM_{2.5} a una exposición aguda.

Abstract.

Air pollution represents a significant health risk factor, with an estimated 7 million deaths attributed to it worldwide. Among the pollutants emitted is PM_{2.5}, the chemical composition and physical properties of which vary depending on the geographical area of emission. It has been demonstrated that individuals with pre-existing conditions, such as cardiopulmonary, cerebrovascular, and neurodegenerative diseases, are particularly susceptible to adverse health effects resulting from exposure to PM_{2.5}. Furthermore, epidemiological studies have indicated that PM_{2.5} may contribute to the incidence of lung cancer. Nevertheless, the mechanisms and signaling pathways associated with developing these diseases remain largely unknown. PM_{2.5} was collected in Mexico City between November 2021 and April 2022 using high-volume (high-vol) equipment in three representative geographical areas. The subtoxic effect of the bioaccessibility fraction of PM_{2.5} (10 µg/ml) was determined using simulated lung fluids in A549 lung adenocarcinoma cells, with evaluations of cell proliferation, apoptosis, and lipid peroxidation. The results demonstrated that the expression of the cell proliferation-related protein PCNA remained unaltered, while the anti-apoptotic protein BCL-2 exhibited an increase in the PED-SF region ($P < 0.05$). Additionally, the expression of the proapoptotic proteins BAK and BAX did not undergo any modifications, and the levels of malondialdehyde increased in LAA-SF, UIZ-SC, and PED-SC ($P < 0.05$). The data indicates that PM_{2.5} induces cell cycle arrest, which facilitates the avoidance of apoptosis and increases lipoperoxidation, suggesting that early damage occurs at low PM_{2.5} concentrations following acute exposure.

Palabras claves

- Cáncer de pulmón
- Células de adenocarcinoma pulmonar A549
- Fluidos pulmonares simulados
- Material particulado PM_{2.5}
- Bioaccesibilidad
- Proliferación celular
- Apoptosis
- Lipoperoxidación

I. Introducción.

LA WHO (*por las siglas en inglés World Health Organization*) reconoce que la contaminación del aire es un factor de riesgo para la salud, que genera 7 millones de muertes prematuras. Se han considerado seis contaminantes criterio que son aquellos a los que se ha establecido un límite máximo permisible en el aire, con el objetivo de proteger la salud y asegurar el bienestar de la población. Actualmente en México se miden de manera continua los principales contaminantes (anexo 1): ozono (O_3), dióxido de azufre (SO_2), monóxido de carbono (CO), dióxido de nitrógeno (NO_2), las partículas en suspensión (PM_{10} , $PM_{2.5}$) y el plomo (Pb), debido a que suponen un riesgo para la salud (WHO, 2016). Otros compuestos químicos representan una alta toxicidad como son hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), los compuestos orgánicos volátiles (COV), las dioxinas y los metales pesados (Manisalidis et al., 2020).

La contaminación del aire por material particulado o PM (*por sus siglas en inglés Particulate Matter*) es heterogénea en cuanto a su composición química y propiedades físicas, dependiendo de cada zona geográfica de donde se emiten. Las PM se forman en la atmósfera como resultado de reacciones químicas entre los diferentes contaminantes y se clasifican en función de su tamaño aerodinámico, que se define como el diámetro de una partícula esférica con una densidad de 1 g/cm^3 , como gruesas o PM_{10} ($2.5 - 10 \text{ }\mu\text{m}$), finas o $PM_{2.5}$ ($\leq 2.5 \text{ }\mu\text{m}$) y ultrafinas o $PM_{0.1}$ ($< 0.1 \text{ }\mu\text{m}$) (Mühlfeld et al., 2008). Las PM son emitidas por diversas fuentes, como las tormentas de polvo, los incendios forestales y la actividad volcánica, así como por las actividades humanas como la quema de combustible y los procesos industriales. En los últimos años se ha puesto especial atención a las $PM_{2.5}$ debido a que poseen una gran superficie de contacto, propagarse a largas distancias y permanecer en el aire por más tiempo. Además las $PM_{2.5}$ están compuestas por pequeñas gotas líquidas o sólidas, que se emiten directamente a la atmósfera y partículas secundarias producidas por reacciones químicas entre los gases precursores (Thangavel et al., 2022). Los efectos adversos a la salud derivados de la exposición a la contaminación del aire se observan principalmente en personas mayores con

padecimientos preexistentes como enfermedades cardiopulmonares, cerebrovasculares, neurodegenerativas, bronquitis, enfisema, además que puede incrementar la irritación ocular y del sistema respiratorio, exacerbar los síntomas de asma, las infecciones respiratorias y provocar efectos adversos en el embarazo, como preclamsia (Thangavel et al., 2022).

En los pulmones, el lugar principal de depósito, las PM_{2.5} provocan inflamación de las vías respiratorias, alterando la respuesta inmune y haciéndolos susceptibles a infecciones respiratorias, dañando el sistema mucociliar bronquial, reduciendo la eliminación de bacterias, y alterando la red de citoquinas inflamatorias inducida por PM_{2.5} causando la muerte de las células epiteliales pulmonares y los fibroblastos, así como la inhibición de la comunicación intercelular de unión entre estas células, aumentando la permeabilidad de la barrera epitelial y perjudicando su función como barreras físicas para la inmunidad pulmonar innata. La exposición crónica a PM_{2.5} se ha asociado con el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2, resistencia a la insulina, inflamación adiposa y estrés del retículo endoplásmico hepático, provoca cambios subclínicos en la función cardiovascular y afectando la función del sistema nervioso autónomo y sistema cardiaco, además hay evidencia epidemiológica que indica que las PM_{2.5} son un factor de riesgo de enfermedad renal crónica (Thangavel et al., 2022).

En varios estudios se ha identificado una asociación de la exposición de PM_{2.5} y la incidencia de cáncer de pulmón, además de otros tipos de cáncer como oral, rectal, hígado, piel, mama y riñón (Fu et al., 2015; Cui et al., 2015; Huang et al., 2017; Coleman et al., 2020; Pyo et al., 2022). Aunque existe información disponible que nos permite establecer el riesgo de sufrir cáncer de pulmón, los mecanismos y las vías de señalización implicados en el desarrollo de la enfermedad por exposición a PM_{2.5} siguen siendo en gran medida desconocidos. De acuerdo a la WHO, se presentan 4.2 millones de muertes prematuras provocados por la contaminación del aire en los países de ingresos bajos y medios (WHO, 2016). El interés en distintas localizaciones geográficas es establecer la asociación entre las PM y los efectos sobre la salud. Los estudios se han realizado en países desarrollados, donde se ha

demostrado el efecto negativo de la contaminación del aire en la salud de la población. Sin embargo, se han realizado muy pocas investigaciones en países en vías de desarrollo como México, que incluye una amplia área metropolitana con altos índices de contaminación (Mamkhezri et al., 2020).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

II. Marco Teórico.

Según el informe de la WHO de 2008, se estimó que 1.3 millones de muertes estuvieron relacionadas con la contaminación del aire. En 2012, la cifra llegó a 3.7 millones y en 2016 se produjeron aproximadamente 7 millones de muertes prematuras atribuida a los efectos de la contaminación a nivel mundial (WHO, 2016). La contaminación del aire tiene impacto en la mayoría de los órganos y sistemas del cuerpo humano, exacerbando padecimientos como la enfermedad vascular cardiocerebral y la cardiopatía isquémica, así afectando negativamente los sistemas nervioso, gastrointestinal y urinario (Coleman et al., 2020; Manisalidis et al., 2020; Thangavel et al., 2022). La contaminación del aire es la causa y el factor agravante de muchas enfermedades respiratorias como EPOC, el asma y el cáncer de pulmón, entre otras, como se detalla en la tabla 1.

Tabla 1. Efectos adversos asociados a los contaminantes atmosféricos.

Contaminante	Efecto a exposición aguda	Efecto a exposición crónica	Referencias
PM _{2.5}	Infarto de miocardio e isquemia; insuficiencia cardíaca; arritmia; trombosis venosa profunda; accidentes cerebrovasculares; sibilancias; asma; EPOC; bronquiolitis e infecciones respiratoria.	Infarto de miocardio; aterosclerosis; aumento de marcadores inflamatorios sistémicos; neumonía; cáncer de pulmón; deterioro pulmonar en niños; asma; parto prematuro; bajo peso al nacer; Alzheimer; Parkinson; enfermedades neurodegenerativas.	Thangavel et al., 2022
O ₃	Inflamación bronquial; hiperreactividad; sensibilización alérgica.	Enfisema; asma; EPOC; enfermedades cardiovasculares; cáncer de pulmón.	Kim et al., 2020
NO _x (NO, N ₂ O, NO ₂)	EPOC; neumonía; bronquitis; exacerbación de asma.		César et al., 2015; Kowalska et al., 2020
Sox	Efectos al sistema respiratorio, cardiovascular y nervioso; diabetes tipo 2; disnea; tos y asma.		Khalaf et al., 2022; Chen et al., 2007
CO	Dolores de cabeza y muerte,	Enfermedades cardiovasculares; diabetes mellitus; enfermedades ateroscleróticas; EPOC.	Chen et al., 2007; Hanley et al., 2023

2.1. Incidencia de cáncer de pulmón.

Se estima que en 2020 se produjeron en todo el mundo 19,3 millones de nuevos casos de cáncer y aproximadamente 10 millones de muertes relacionadas con esta enfermedad. El cáncer de mama es el más diagnosticado con 2,3 millones de casos nuevos, seguidos del cáncer de pulmón, el colorrectal, el de próstata y el de estómago. El cáncer de pulmón sigue siendo la principal causa de muerte por cáncer, seguido del colorrectal, el de hígado, el de estómago y el de mama. La carga mundial del cáncer se estima en 28,4 millones de casos en 2040, con un incremento del 47% con respecto a 2020 y con un aumento mayor en los países en vías de desarrollo (64% a 95%). Con aproximadamente 2,2 millones de nuevos casos de cáncer y 1,8 millones de muertes, el cáncer de pulmón es el segundo más comúnmente diagnosticado y la principal causa de muerte por cáncer en 2020, representando uno de cada 10 (11.4%) de los diferentes tipos de cáncer diagnosticados y una de cada 5 (18%) muertes. El cáncer de pulmón es la principal causa de morbilidad y mortalidad relacionada con el cáncer en los hombres, mientras que ocupa el tercer lugar en incidencia en las mujeres, después del cáncer de mama y colorrectal, y el segundo en mortalidad, después del cáncer de mama. Las tasas de incidencia y mortalidad son aproximadamente 2 veces mayores en hombres que en mujeres (Sung et al., 2021). La distribución de nuevos casos de cáncer a nivel mundial y las muertes asociadas por tipo de cáncer se representan en la figura 1.

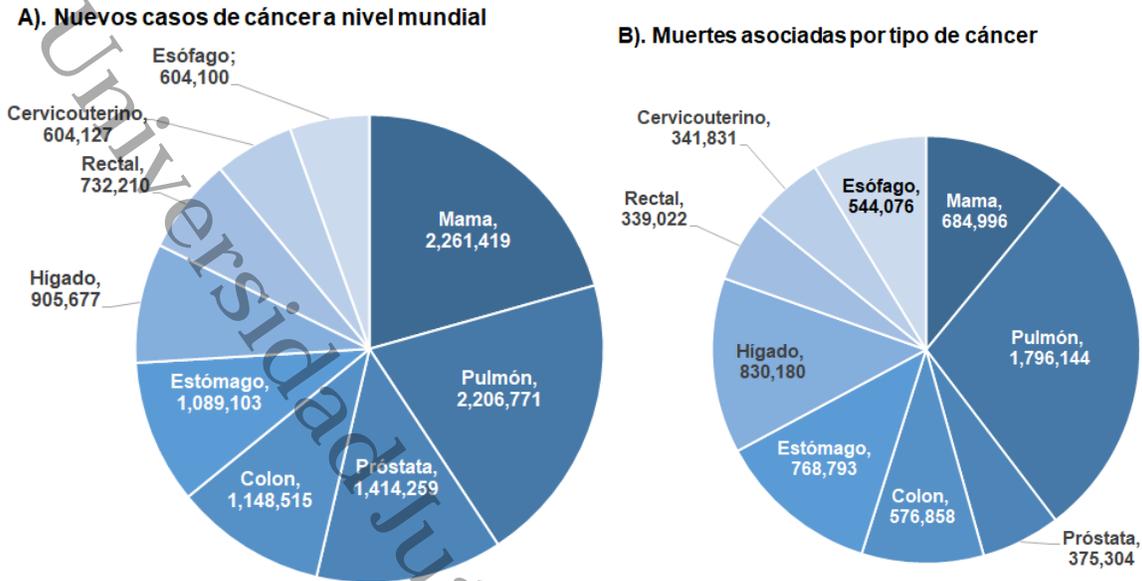


Figura 1. Distribución de la incidencia y mortalidad de cáncer. Nuevos casos de cáncer (A) y la mortalidad asociada a los diferentes tipos de cáncer (B) a nivel mundial de acuerdo a los datos de GLOBOCAN-2020. Adaptado de Sung et al., 2021.

2.2. Epidemiología de cáncer de pulmón en México.

De acuerdo a los datos de GLOBOCAN, cada año en México se presentan 190,667 casos de cáncer al año, de los cuales 7,811 corresponden a casos de cáncer de pulmón. En términos de mortalidad, en México se produjeron un total de 3,378 por cáncer de pulmón desde 2012 a 2016, que lo convierte en la enfermedad neoplásica de mayor mortalidad, sin embargo, esta enfermedad podría estar subdiagnosticada, por lo que esta cifra podría ser mayor. Las muertes por cáncer de pulmón son más frecuentes en hombres, presentándose el 53% del total de muertes en pacientes mayores de 70 años, y afectando con mayor frecuencia a la región norte del país y con el 80% de todas las muertes son pacientes que residían en regiones urbanas. Aunque tabaquismo es el principal riesgo de cáncer de pulmón, existen otros factores como la contaminación ambiental o la exposición a tóxicos que podrían estar asociados a este cáncer. La información disponible, indica que el cáncer de pulmón representa un importante problema de salud pública en México (Ruíz-Godoy et al., 2007; Arrieta et al., 2019).

2.3. La contaminación del aire y la incidencia de cáncer pulmonar.

Se estima que el 14% de todos los casos de cáncer de pulmón en 2017 fueron atribuibles a la exposición al aire con niveles elevados de PM, con la mayor proporción de casos ocurridos en China (Fu et al., 2015; Cao et al., 2018; Wang et al., 2022; Yang et al., 2023). El aire contaminado está formado por una mezcla heterogénea de metales pesados (Cr, Ni, V, Fe, Pb), compuestos químicos (CO, NOx, SOx), PM, entre otros. Las PM se refiere a partículas microscópicas, suspendidas y transportadas por el aire, poseen de diferentes tamaños; las partículas con un diámetro $\leq 2.5 \mu\text{m}$ (PM_{2.5}) se consideran especialmente dañinas ya que penetran profundamente en los bronquiolos respiratorios. Los límites de emisión de PM_{2.5} están establecidos por una norma oficial (NOM-025-SSA1-2014, anexo 1) para establecer la calidad del aire y se han asociado con un mayor riesgo de desarrollar cáncer de pulmón, considerando que un aumento de $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de PM_{2.5} en el aire puede causar un incremento del 15% al 27% de casos de este tipo de cáncer (Ciabattini et al., 2021; Ghazipura et al., 2019).

El riesgo de cáncer de pulmón provocado por la contaminación del aire es menor que el provocado por el tabaquismo, sin embargo, la necesidad fisiológica que tenemos de respirar, estimado unos 10,000 litros de aire durante un día para un adulto, sosteniendo el flujo continuo de aire inhalado y exhalado de manera constante favorece que incluso los carcinógenos en bajas concentraciones pueden tener un efecto adverso a la salud. La comprensión del cáncer de pulmón relacionado con la contaminación del aire debe conducir a nuevos protocolos, normas o programas para prevenir la enfermedad. Por tanto, mejorar la calidad del aire en zonas densamente pobladas es una prioridad sanitaria urgente que se debe atender de manera global y local (Li et al., 2020; Stephens et al., 2023).

2.4. Composición elemental de material particulado PM_{2.5}.

El desafío de dilucidar los efectos sobre la salud de la exposición a las PM_{2.5} puede variar mucho entre áreas geográficas, ya que existen varios contribuyentes antropogénicos y biogénicos que emiten diferentes especies químicas. Dado la

heterogeneidad de la composición de las PM, plantean dificultades para comprender su influencia a nivel celular (Sharma et al., 2023).

Se ha demostrado que los componentes inorgánicos de las PM, especialmente los metales pesados que contribuyen principalmente a su toxicidad y entre los que se encuentran Ba, Cu, Mo, Sb, Zr, Pd y Zn (Oroumihyeh et al., 2022; Celo et al., 2021). En la figura 2 se muestra una aproximación de la distribución de las fuentes identificadas de la emisión, componentes químicos principales y elementos traza (metales pesados y metaloides) identificadas en PM_{2.5}.

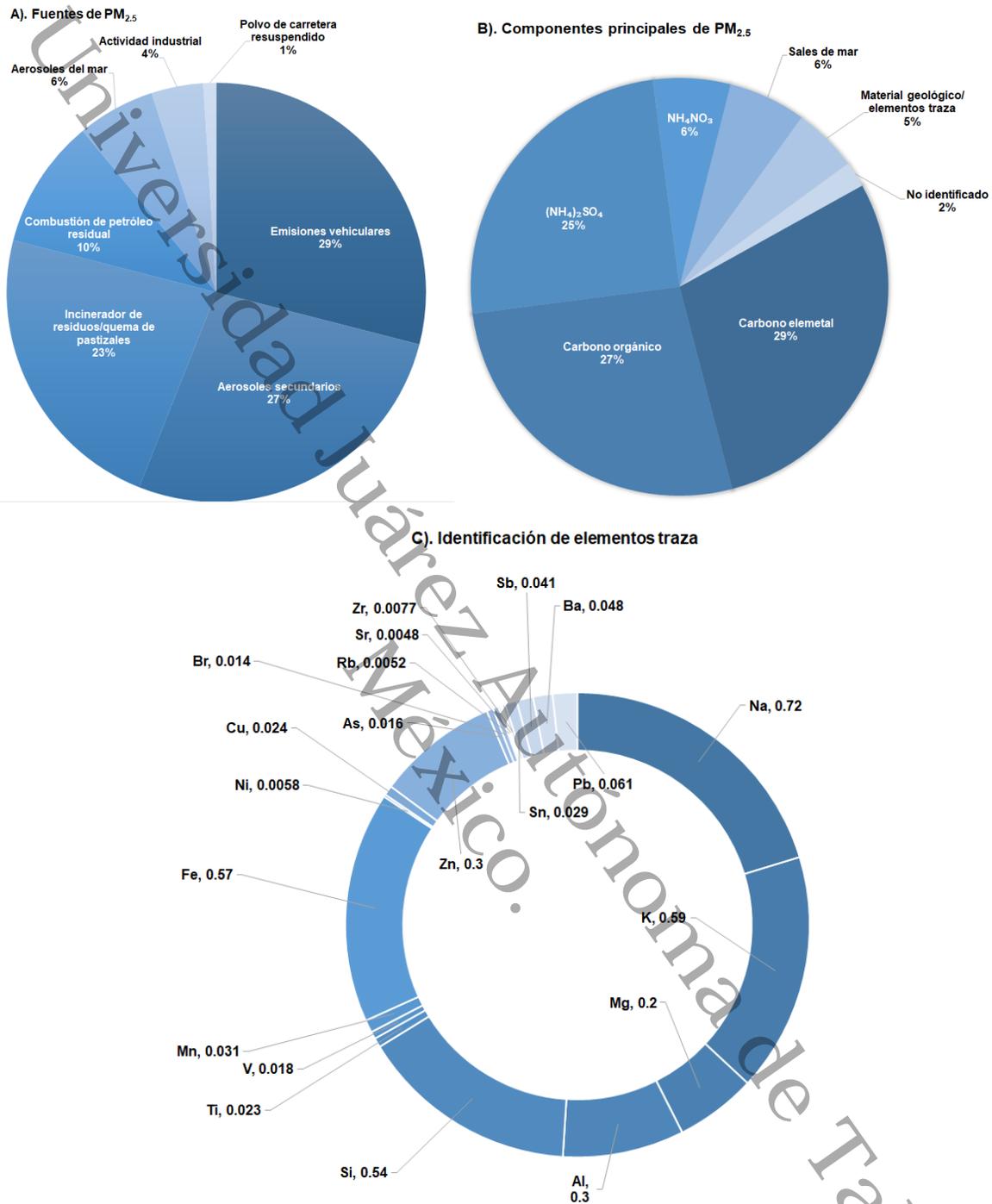


Figura 2. Fuentes de emisión e identificación de compuestos en PM_{2.5}. Fuentes principales de la emisión de contaminantes (A), componentes principales (B) y elementos traza (C). Concentraciones en µg/m³ identificadas de la masa gravimétrica de membranas de teflón y de fibras de cuarzo. Adaptado de Cheng et al., 2013.

2.5. Contaminación del aire en el AMCM (Área Metropolitana de la Ciudad de México).

La AMCM la Ciudad de México está ubicada en la Zona del valle de México (ZVM). La superficie de la región ZVM posee un área geográfica unos 1500 km² y con una altitud promedio de 2240 msnm. La AMCM está rodeada de montañas en tres de sus cuatro bordes, con una elevación de promedio de 1000 m sobre el suelo del valle. La AMCM tiene una población de más de 21 millones de personas y 6 millones de automóviles en circulación. Durante la mayor parte del año el smog de la ciudad persiste durante largos periodos y en el invierno se producen inversiones térmicas, lo que mantiene el aire contaminado cerca del suelo. En cualquier estación del año, los límites de emisión establecidos para O₃, PM₁₀, SO₂, NO, CO suelen superarse. Los factores demográficos y económicos combinados con las características topográficas y meteorológicas hace de la ZVM sea una de las áreas urbanas más contaminadas del mundo afectando a 24 millones de personas que viven en el AMCM (Mamkhezri et al., 2020; Calderón-Garcidueñas et al., 2015; Tellez-Rojo et al., 2000).

Los datos disponibles sobre los efectos cardiovasculares agudos de la contaminación del aire en América Latina son limitados porque más del 80% de sus mil millones de personas viven en asentamientos urbanos con mala calidad del aire; sin embargo, se ha establecido que la contaminación del aire aumenta significativamente la incidencia de enfermedades cardiovasculares (Ugalde-Resano et al., 2022). La información disponible sugiere que existe una relación entre de la contaminación ambiental en particular de PM_{2.5} y la incidencia de cáncer de pulmón, no obstante, se desconocen los mecanismos detallados y las vías de señalización que se regulan y contribuyen al desarrollo de la enfermedad. En la figura 3, se detalla la densidad poblacional en el Valle de México (INEGI 2010) y las emisiones nacionales de contaminantes antropogénicos en México de acuerdo a la Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire.

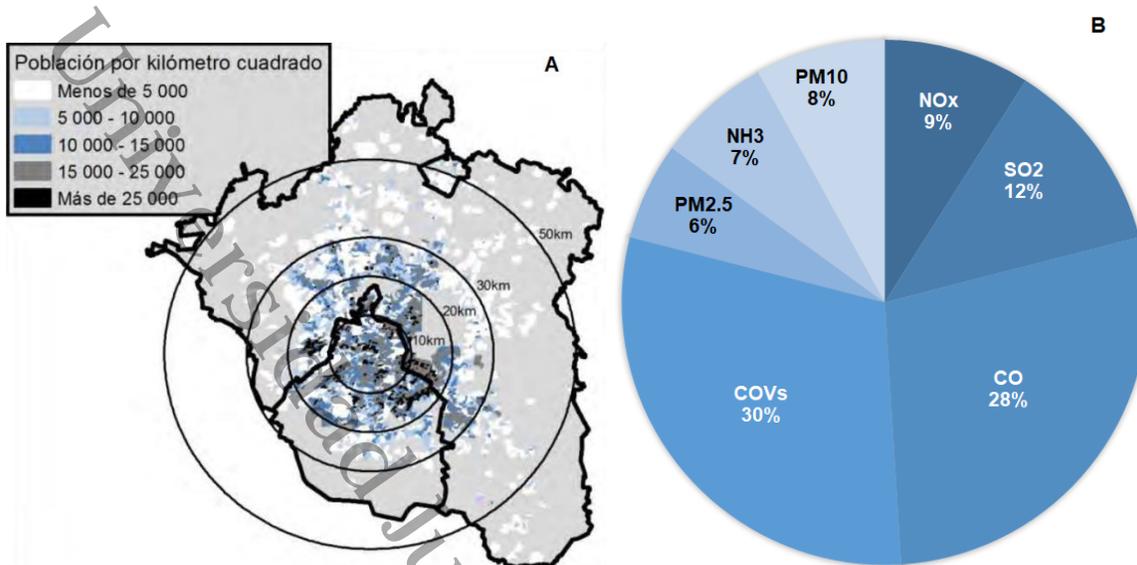


Figura 3. Densidad de población y emisión de contaminantes en el Valle de México. Densidad de población calculado de la OCDE basados en INEGI (2010), Censo de Población y Vivienda 2010 (A). Emisión nacional de contaminantes de origen antropogénico por contaminante en México. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire y RETC, Semarnat (B).

2.6. Características distintivas del cáncer.

Las características distintivas del cáncer incluyen seis capacidades biológicas adquiridas durante el desarrollo de la neoplasia en múltiples etapas. Estas características, constituyen un principio organizador que justifica la complejidad del cáncer, que incluyen la proliferación sostenida, evasión los supresores del crecimiento, resistencia a la muerte celular, permitir la inmortalidad replicativa, inducir la angiogénesis y activar la invasión y la metástasis (Hanahan et al., 2011; Hanahan et al., 2022). En la figura 4 se indican las 6 características distintivas del cáncer propuestas originalmente Hanahan y Weinberg, 2000.

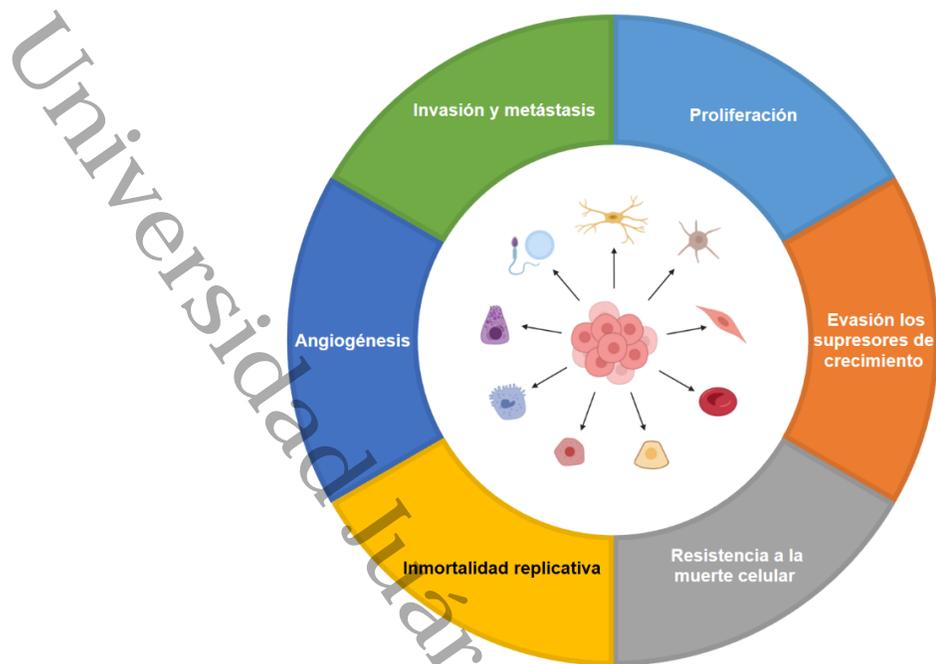


Figura 4. Clasificación de las seis características distintivas del cáncer. Cada una de estas características fueron propuestas originalmente por Hanahan y Weinberg (2000). Se ha sugerido que la mayoría de las neoplasias adquieren estas capacidades funcionales durante su progresión.

2.7. Mantenimiento de la señalización proliferativa.

La proliferación sostenida es una parte importante del desarrollo y la progresión del cáncer. Esto se manifiesta por una expresión y/o actividad alterada de proteínas relacionadas con el ciclo celular, así como de la activación constitutiva de muchas vías de transducción de señales. Los primeros pasos en el desarrollo del cáncer están asociados con una respuesta fibrogénica y el desarrollo de un ambiente hipóxico (diminución en la concentración de O_2) que favorece la supervivencia y proliferación de las células madre cancerosas (cancer stem cells, CSC). Parte de la estrategia de supervivencia de las CSC puede manifestarse mediante alteraciones en el metabolismo celular. Una vez que aparecen las neoplasias, su crecimiento y la metástasis pueden verse respaldados por la sobreproducción de hormonas apropiadas (tipo de cáncer hormonalmente dependientes), promoviendo la angiogénesis, experimentando una transición epitelial a mesenquimatosa o desencadenando la autofagia (Feitelson et al., 2015).

Uno de los criterios que define al cáncer como enfermedad es la proliferación celular crónica e inadecuada, que resulta de la inhibición de la red reguladora celular que normalmente coordina la proliferación (transitoria) de las células durante el desarrollo embrionario, el crecimiento fisiológico y el mantenimiento de la homeostasis tisular en el cuerpo. Las señales positivas (inductivas) como las negativas (represivas) gobiernan la división y proliferación celular. Esta capacidad distintiva implica un conjunto complejo de señales inductivas que indican la entrada y la progresión a través del ciclo de crecimiento y división celular para producir células hijas. En el cáncer, estas señales estimulantes se activan y, a diferencia de las condiciones normales en que las señales proliferativas son transitorias, estas señales son persistentes. El mecanismo más común y extendido para mantener la señalización proliferativa implica mutaciones genéticas en células malignas que convierten estos genes en factores de proliferación celular activos. Estos genes activados, llamados oncogenes, producen señales transitorias que promueven la proliferación crónica. Estos oncogenes normalmente codifican proteínas cuya estructura, función o abundancia están alteradas en comparación con sus contrapartes en las células normales (Fouad et al., 2017).

En algunos tipos de neoplasias la proliferación celular está completamente desregulada y se ha considerado como una herramienta para el diagnóstico, el procedimiento clínico y el tratamiento de los pacientes. Una proteína importante que regula la proliferación celular es el antígeno nuclear de células proliferantes (PCNA), una proteína nuclear esencial para la síntesis de ADN y es una proteína accesoria para el ADN polimerasa α , que se eleva durante la fase G1/S del ciclo celular. Las células en quiescencia y senescencia contienen niveles muy bajos de ARN mensajero (ARNm) de PCNA. Los cambios en la expresión de PCNA podría deberse a factores de crecimiento o daño al ADN en ausencia del ciclo celular (Bologna-Molina et al., 2013).

2.8. Evasión de la muerte celular programada (apoptosis).

La muerte celular programada mediante apoptosis, la fragmentación genéticamente programada de una célula destinada a morir, actúa como una

barrera natural para el desarrollo del cáncer. Las condiciones en las que las células normales activan su programa apoptótico, se incluyen aquellas en las que las células se dañan de diversas maneras, están mal localizadas, migran o proliferan de manera inapropiada. La apoptosis puede activarse mediante señales celulares intrínsecas y no autónomas que detectan diversas formas de actividad celular aberrante. La apoptosis implica la degradación dirigida de los cromosomas y otros orgánulos celulares importantes mediante enzimas especializadas (caspasas), completándose el proceso en menos de una hora en el tejido de los mamíferos (Fouad et al., 2017).

El control deficiente de la apoptosis desempeña un papel importante en el desarrollo del cáncer y también reduce la eficacia de la quimioterapia convencional. La maquinaria de la apoptosis involucra tanto reguladores ascendentes como efectores descendentes. Los reguladores, a su vez, se dividen en dos circuitos principales, uno que recibe y procesa señales extracelulares que causan la muerte (programa apoptótico extrínseco) y el otro circuito que detecta e integra una cascada de señales intracelular (programa intrínseco) (Qian et al., 2022).

Cada uno culmina con la activación de proteasas (caspasas 8 y 9), que inician una cascada de proteólisis que involucra a las caspasas efectoras responsables de la fase de ejecución de la apoptosis, durante la cual la célula se desensambla progresivamente y luego es fagocitada. Actualmente, el programa apoptótico intrínseco se considera un obstáculo para la patogénesis del cáncer. La señalización de la apoptosis está controlada por miembros pro y anti-apoptóticos de la familia de proteínas linfoides 2 de células B (BCL-2), inhibidores de la apoptosis, que actúan en gran parte uniéndose y suprimiendo dos proteínas desencadenantes pro-apoptóticas (BAX y BAK); estos últimos están incrustados en la membrana externa mitocondrial. Cuando BAX/BAK son liberados de la inhibición por sus parientes anti-apoptóticos, alteran la integridad de la membrana mitocondrial externa, provocando la liberación de proteínas de señalización pro-apoptóticas, la más importante es el citocromo C (Hanahan et al., 2011).

El citocromo C liberado activa una cascada de caspasas que actúan a través de sus actividades proteolíticas para inducir varios cambios celulares asociados con

el programa apoptótico. BAX/BAK comparten dominios de interacción proteína-proteína, conocidos como motivos BH3, con proteínas anti-apoptóticas similares a BCL-2. La actividad de una subfamilia de proteínas relacionadas, cada una de las cuales contiene un único motivo BH3. La proteína BH3 actúa interfiriendo con las proteínas anti-apoptóticas BCL-2 o estimulando directamente a los miembros pro-apoptóticos de esta familia. Además, las células malignas pueden lograr fines similares aumentando la expresión de reguladores anti-apoptóticos (BCL-2, BCL-xL) o de señales de supervivencia (Igf1/2) y regulando negativamente factores pro-apoptóticos (BAX, BIM, PUMA) (Hanahan et al., 2011).

En cuanto a BAX y BAK, se activan y oligomerizan en la membrana externa mitocondrial regular su permeabilidad que es un paso clave en la apoptosis. Sin embargo, el mecanismo molecular subyacente a la función de BAX y BAK sigue siendo una interrogante (Peña-Blanco et al., 2018). Se han observado altos niveles de BAK endógeno tanto en líneas celulares de cáncer de pulmón de células pequeñas (SCLC) como en líneas celulares de cáncer de pulmón de células no pequeñas (NSCLC). El aumento de la expresión de BAK se correlacionó con un mal pronóstico de los pacientes con NSCLC, lo que sugiere que es un objetivo adecuado para el tratamiento de este tipo de cáncer (Park et al., 2021).

El NSCLC comprende entre el 80% y el 85% de los casos. El factor de crecimiento epidérmico (EGFR) participa en varios desarrollos de cáncer, incluido el NSCLC. La vía EGFR regula la cascada BAX/BCL-2 en el NSCLC. Además, el potencial terapéutico de los BAX/BCL-2/EGFR, principalmente aquellos con más potencia y selectividad, incluidos gefitinib, EGCG, ABT-737, timoquinona, quercetina y venetoclax. El descubrimiento de dichos inhibidores facilita el tratamiento y manejo del NSCLC (Alam et al., 2022). En la figura 5 se detalla la participación de las proteínas pro-apoptóticas (BAX/BAK) y anti-apoptóticas (BCL-2) que promueven la vía apoptótica intrínseca a través de la cascada de caspasas y la participación de la regulación del ciclo celular controlada por PCNA.

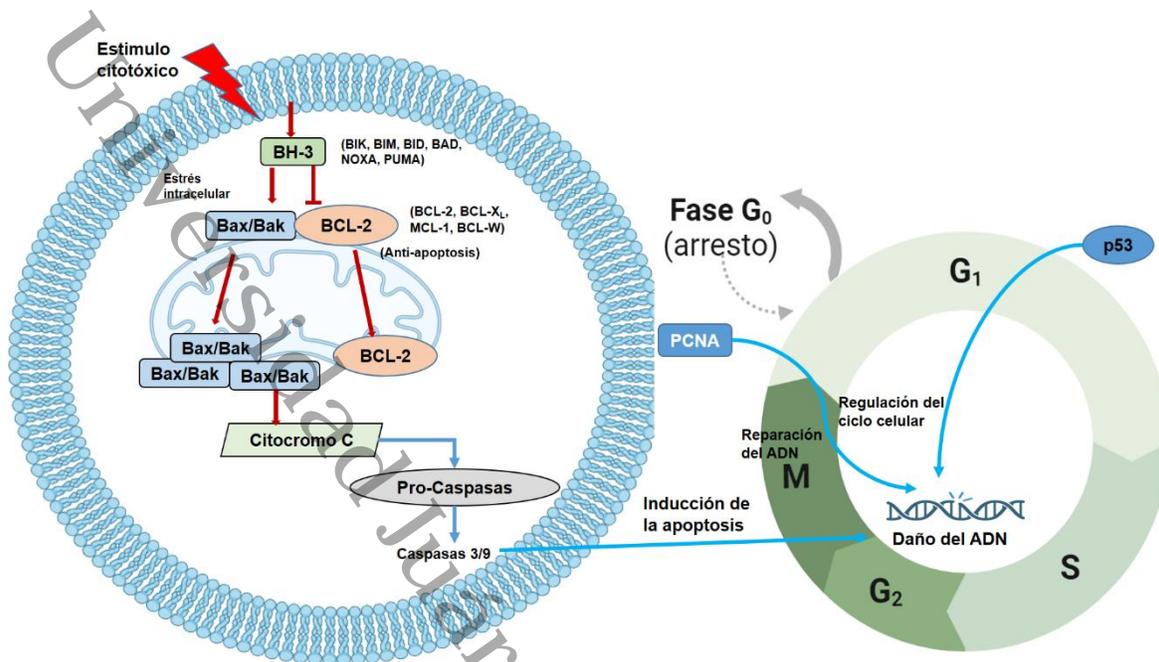


Figura 5. Regulación de la apoptosis intrínseca. Proteínas anti-apoptóticas (BCL-2, BCL-XL, MCL-1, BCL-W, BFL-1), proteínas pro-apoptóticas (BAX, BOK, BAK, BCL-XS), proteínas dominio BH3 (BAD, BIM, PUMA, BID), antígeno nuclear de células en proliferación (PCNA). Adaptado de Qian et al., 2022.

2.9. Estrés oxidativo asociado a PM_{2.5}.

La composición elemental de PM_{2.5} incluye a distintos componentes químicos como los metales pesados y metaloides. Los metales pesados inducen citotoxicidad mediante mecanismos moleculares, incluido el estrés oxidativo asociado con la disfunción mitocondrial, la apoptosis, la necrosis y el estrés del retículo endoplasmático, provocando cambios significativos en la expresión de proteínas durante la disfunción mitocondrial, el estrés oxidativo, la disfunción del proteoma de ubiquitinación y de corte/empalme alternativo (alternative splicing) de ARNm (Jan et al., 2015; Koyama et al., 2024). La formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas por metales provoca diversas modificaciones en las bases del ADN, aumenta la peroxidación lipídica y altera la homeostasis del calcio. Los peróxidos lipídicos, formados por el ataque de ROS sobre residuos de ácidos grasos poliinsaturados de fosfolípidos, pueden reaccionar con metales produciendo finalmente malondialdehído (MDA) con características de ser mutagénico y

cancerígeno (Valko et al., 2005). La estimación de los subproductos de la peroxidación lipídica podría evaluar el grado de lesión tisular relacionada con el estrés oxidativo. Por lo tanto, el análisis del nivel de MDA en el cáncer puede ser útil para evaluar la progresión de la enfermedad tanto para la intervención preventiva y su tratamiento.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

III. Justificación.

La información actual muestra una relación entre la contaminación del aire, especialmente por las emisiones de $PM_{2.5}$ y la incidencia de enfermedades respiratorias, cardiovasculares, neurológicas, reproductivas y cáncer, entre otras. Sin embargo, los mecanismos y vías de señalización que están regulados e implicados en el desarrollo de estas enfermedades siguen siendo en gran medida desconocidos. La composición elemental de $PM_{2.5}$ puede variar según la región geográfica de donde son emitidas, debido a que existen varios contribuyentes antropogénicos y biogénicos que emiten diferentes especies químicas. Los componentes inorgánicos de las $PM_{2.5}$, incluidos los metales pesados, son conocidos por su toxicidad, persistencia ambiental y bioacumulación, y se ha demostrado que son la principal causa de muchas enfermedades respiratorias incluido el cáncer de pulmón. La gravedad de la toxicidad de los metales pesados en relación con los efectos moleculares y el cáncer continúa estudiándose debido a la complejidad que representa. Los metales pesados interfieren con diversas funciones biológicas, incluida la proliferación, la diferenciación, la reparación de daños y la apoptosis. Al comparar sus modos de acción, se ha encontrado que estos metales comparten mecanismos toxicológicos similares para inducir toxicidad, como la producción de ROS, la disminución de las defensas antioxidantes, la inactivación de enzimas y el estrés oxidativo. Los estudios de los efectos sobre la salud por la exposición a $PM_{2.5}$ es limitada, sobre todo en ciudades con altos índices de contaminación antropogénica como la Ciudad de México.

IV. Pregunta de Investigación.

¿Cuál es el efecto en la proliferación celular, la apoptosis y la peroxidación lipídica en células A549 provocado por la exposición de la fracción bioaccesible de PM_{2.5}?

V. Hipótesis.

La exposición subcrónica a la fracción bioaccesible de PM_{2.5} inhibe la proliferación celular y la apoptosis e induce la peroxidación lipídica en células A549.

VI. Objetivos.

6.1. Objetivo general

Analizar la proliferación celular, la apoptosis y la peroxidación lipídica en células A549 de adenocarcinoma pulmonar después de la exposición subcrónica a la fracción bioaccesible de PM_{2.5}.

6.2. Objetivos Específicos.

- Obtener la viabilidad de células A549 expuesta a fluidos pulmonares simulados por los ensayos de Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5- difeniltetrazol (MTT) y azul de tripán.
- Determinar la expresión del biomarcador de proliferación celular PCNA en células A549 expuestas a material particulado PM_{2.5} por inmunodetección por Western Blot.
- Determinar la expresión de los marcadores de apoptosis BCL-2, BAX y BAK en células A549 expuestas a material particulado PM_{2.5} por inmunodetección por Western Blot.
- Analizar los niveles del marcador de peroxidación lipídica malondialdehído en células A549 expuestas a material particulado PM_{2.5} por un ensayo colorimétrico.

VII. Metodología.

7.1. Recolección de material particulado PM_{2.5}.

Las muestras de PM_{2.5} fueron recolectadas en la Ciudad de México en dos temporalidades; una referida como seca fría entre los meses de noviembre de 2021 a febrero de 2022 y otra seca caliente entre los meses de marzo a abril de 2022, considerando tres zonas geográficas representativas de la ciudad, la primera corresponde a la ubicada al norte en el Laboratorio de Análisis Ambiental en la alcaldía de Gustavo A. Madero, la segunda localizada al este en la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM-Iztapalapa) en la alcaldía Iztapalapa y la tercera localizada al sur en la zona de Pedregal en la alcaldía de Álvaro Obregón.

En la figura 6 se detallan las localizaciones geográficas (latitud y longitud) de los sitios de muestreo y las temporalidades de colección de partículas. Las PM_{2.5} se recolectaron utilizando equipos de alto volumen (high-vol) con un flujo de aire de 1.13 m³/min. Las partículas fueron capturadas sobre filtro de nitrocelulosa por 24 h/día/semana. Cada uno de los filtros obtenido fue pesado y almacenado a 4°C en condiciones de oscuridad. Los filtros fueron cortados en secciones de 3 cm x 2.5 cm y colocadas en cajas petri, fue adicionado 3 ml de una mezcla 70:30 (V/V) de alcohol isopropílico (grado HPLC) y agua Milli-Q (18.2 MΩ cm⁻¹) a 25°C. La separación de del material particulado y las membranas se realizaron con un procesamiento ultrasónico (Ultrasonic Processor, College of Maritime Studies and Management) con una sonda de 19 mm de diámetro, con una frecuencia constante de 20 kHz y una amplitud de 20 μm para evitar la ruptura de la membrana y obtener una mejor separación de las partículas.

La suspensión de partículas fue colocada en un frasco de vidrio estéril y libre de pirógenos hasta completar la extracción de PM_{2.5} de un filtro completo. Este proceso fue repetido de manera individual para cada filtro manteniéndolo en condiciones frías y en aislamiento dentro de una campana de flujo laminar y en una habitación aislada. La suspensión de PM_{2.5} fue colocada en tubo estéril de 15 ml y después sometida a varias centrifugaciones (13,000 rpm, 20 min, 25°C) para concentrar las

partículas. Para después, ser situadas en tubos estériles de 1.5 ml y colocadas en desecación hasta la evaporación total del solvente. Las $PM_{2.5}$ fueron mantenidas a $4^{\circ}C$ en oscuridad hasta ser utilizadas. La extracción del material particulado fue realizado por Dra. María de los Ángeles Andrade Oliva y el Dr. Jesús Valencia Cervantes.

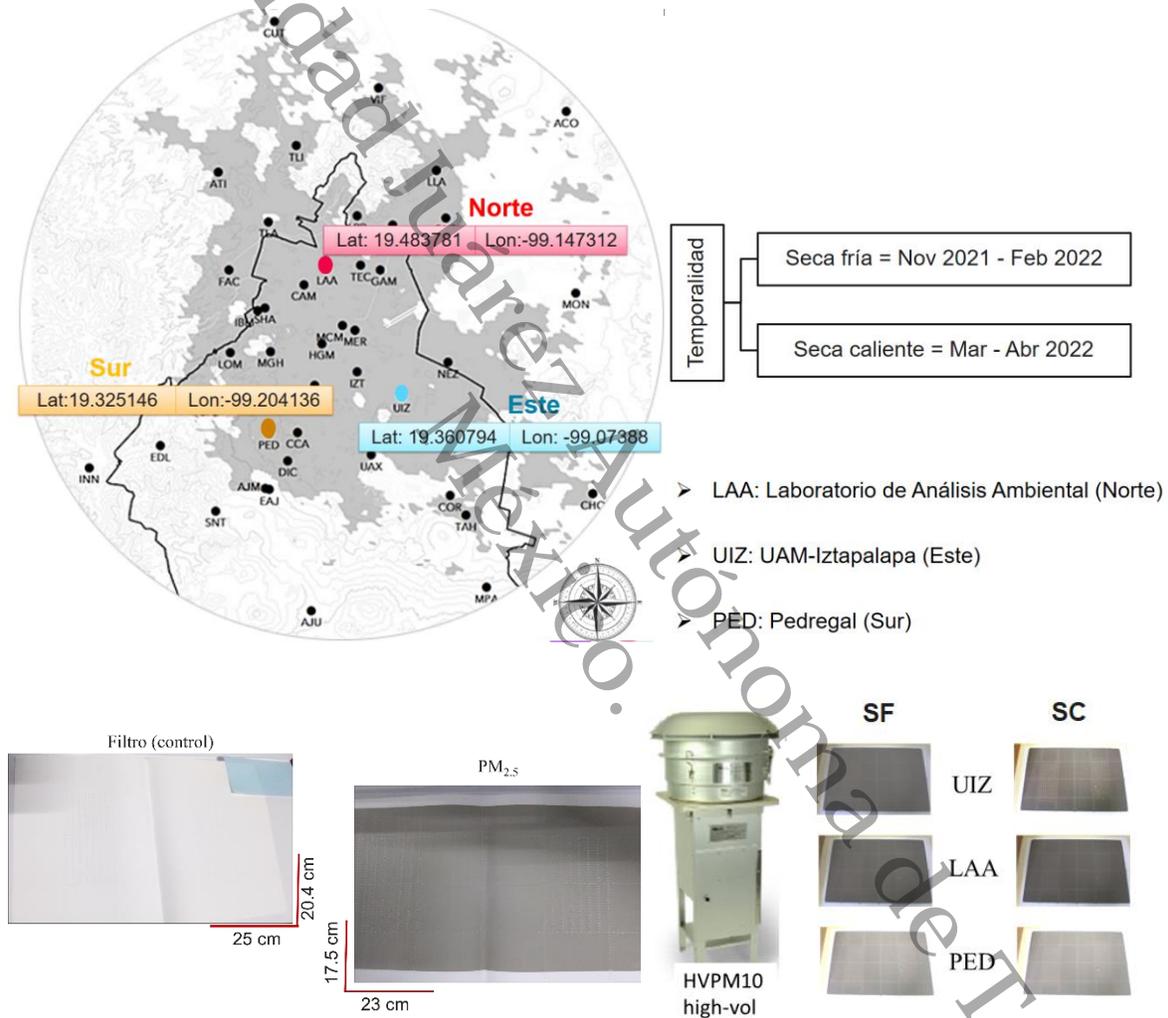


Figura 6. Temporalidades y zonas de recolección de $PM_{2.5}$. Imágenes cortesía Dr. Jesús Valencia Cervantes. SF; seca fría, SC: seca caliente.

7.2. Mantenimiento de células A549 de adenocarcinoma pulmonar.

Las células A549 fueron mantenidas en medio DMEM (Sigma-Aldrich), suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB, Biowest) previamente descomplementado y 1 mg/ml de antibiótico penicilina-estreptomicina (Gibco), en condiciones de 37°C y 5 % de CO₂.

7.3. Ensayo de exclusión de azul tripán.

Las células A549 se sembraron en medio DMEM suplementado con 10% de SFB y antibióticos, en placas de 24 pozos con 40,000 células/pozo, se incubaron por 24 h a 37°C y 5% de CO₂. Después el medio de cultivo fue retirado y se adicionó las soluciones experimentales en presencia de medio DMEN con 0.5% de SFB (medio de exposición) y se dejó incubar por 24 h con el tratamiento indicado. Posteriormente de finalizado el tiempo, fue recuperado el medio de exposición, después se realizó 2 lavados con buffer de fosfatos (PBS 1X) y fue adicionado 300 µl de tripsina 1X e incubado por 5 min, al concluir se agregó 700 µl de medio DMEM suplementado al 10% con SFB. El sobrenadante de la exposición, de los lavados y de la suspensión de células se colocó en tubos de 15 ml y se centrifugó a 1500 rpm por 5 min a 25°C, se descartó el sobrenadante y el botón de células fue resuspendido con 1 ml de PBS 1X. El conteo de células vivas (Cv) y células muertas (Cm) se realizó en microscopio invertido de campo claro (VELAB, VE-403) con cámara de Neubauer, utilizando la tinción con azul de tripán al 0.4% (1:1, V/V). El porcentaje de viabilidad (%V)= $Cv/(Cv+Cm)*100$.

7.4. Ensayo de MTT (Bromuro de 3-(4,5- dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazol).

Las células A549 se sembraron en medio DMEM suplementado con SFB al 10% y antibióticos en placas de 96 pozos con 14,400 células/ pozo, se incubaron por 24 h a 37°C y 5% de CO₂. Después de retiro el medio de cultivo y se adicionó las soluciones experimentales, dejando incubar por 24 h. Antes de concluir el tiempo

de exposición (21 h) se agregó 10 μ l de reactivo de MTT (5 mg/ml en PBS 1X), y se dejó incubar por el tiempo restante de la exposición, para permitir la formación de cristales de formazán. Una vez concluida la exposición, el sobrenadante se retiró y se adicionó 100 μ l de DMSO (Sigma-Aldrich) a cada pozo, y la placa se colocó en agitación por 10 min a 350 rpm en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente. Finalmente se determinó la absorbancia a $\lambda = 540$ nm con un espectrofotómetro (LabSystems, Multiskan MS) y se determinó el porcentaje de viabilidad celular.

7.5. Exposición de células A549 a material particulado PM_{2.5}.

Las células A549 se sembraron en medio DMEM suplementado con 10 % de SFB y antibióticos, en placas de 60 mm de diámetro con 45,000 células/cm², se incubaron por 24 h a 37°C y 5 % de CO₂. El material particulado PM_{2.5} previamente pesado y resuspendido en fluido pulmonar epitelial simulado (SELF), en una proporción de medio DMEM con SFB (0.5 %) y SELF (5% concentración final). El tratamiento de las células fue con 10 μ g/ml de PM_{2.5} obtenidas de las distintas regiones y temporalidades por 24 h.

7.6. Extracción y cuantificación de proteínas totales.

Al finalizar la exposición con PM_{2.5} el sobrenadante fue recuperado y se realizaron 3 lavados con PBS 1X, después se agregó 500 μ l de buffer de lisis (10 mM Tris-HCl pH 8.0, 1 mM EDTA, 150 mM NaCl), con 1 mM de inhibidor de proteasas y 1 mM PMSF (Sigma-Aldrich). La suspensión celular fue sometida a sonicación por 3 minutos, en condiciones frías, y después se centrifugó a 13,000 rpm a 4°C por 10 min. Finalmente se recuperó el sobrenadante y se almacenaron a -70°C. La cuantificación de proteínas totales se realizó por el método de Lowry, utilizando albumina sérica bovina (BSA) como estándar de referencia y se determinó la absorbancia a $\lambda = 620$ nm (LabSystems, Multiskan MS).

7.7. Inmunotransferencia y Western Blot.

Los extractos de proteínas totales fueron separados mediante electroforesis empleando geles de acrilamida SDS-PAGE (8-12 %) para después ser transferidas a membranas de fluoruro de polivinilideno (Immobilon-P, Millipore) con un diámetro de poro de 0.22 μm utilizando el método de transferencia húmeda. Posterior a la transferencia se realizó el bloqueo de la membrana con 5% de leche semidescremada en buffer de PBS 1X con 0.1% de Tween-20 (Sigma-Aldrich) a temperatura ambiente por 1 h en agitación constante.

Los anticuerpos primarios se incubaron después del bloqueo de la membrana durante una noche, con las siguientes diluciones: BCL-2 (1:500), BAX (1:500), BAK (1:500), PCNA (1:1000), GAPDH (1:1000). Después las membranas fueron lavadas con PBS 1X/Tween 20 (0.1%) por 10 min. Las membranas fueron incubadas con el correspondiente anticuerpo secundario conjugado con horseradish peroxidase: goat anti-rabbit IgG (1:5000) y goat anti-mouse IgG (1:5000). La señal de las proteínas se detectó mediante quimioluminiscencia usando Immobilon™ Western HRP substrate (Millipore) obteniendo imágenes con el equipo ChemiDoc MP (BioRad) y analizadas con ImageLab 5.1 Software (BioRad).

7.8. Determinación de los niveles de malondialdehído (MDA).

En tubos ámbar de 1.5 ml se añadió una alícuota de 25 μl de extractos totales de proteínas, 25 μl agua ddH₂O y 185 μl de una solución de 1-metil-2-fenilindol en una mezcla de acetonitrilo/metanol (3:1). La concentración final del reactivo fue de 10 mM. Luego se inició la reacción añadiendo 40 μl de ácido clorhídrico al 37%. La mezcla se incubó a 45 °C durante 40 minutos y se midió la absorbancia a 540 nm.

7.9. Análisis estadístico.

De acuerdo a la distribución de los datos de los distintos procedimientos experimentales, se determinó la normalidad de los datos (prueba de Shapiro-Wilks. Después se aplicó estadística paramétrica con el promedio \pm desviación estándar (DE). Las diferencias entre los grupos fueron comparadas mediante el análisis de varianza (ANOVA) de una vía y prueba de *post hoc* de Tukey o de Dunnett, según

se indica. El análisis estadístico se realizará con GraphPad Prism 8.0 (La Jolla, CA). Las diferencias de $P < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

VIII. Resultados.

Efecto en la viabilidad celular por la presencia de fluidos pulmonares simulados (FPS).

El uso de fluidos simulados, es una técnica *in vitro* que nos permite comprender mejor los mecanismos de liberación y el posible comportamiento *in vivo* de materiales, incluidas fibras, contaminantes ambientales, material particulado, metales pesados, fármacos antineoplásicos y otros compuestos químicos. Las aplicaciones de fluidos pulmonares simulados (FPS) en pruebas de disolución permiten una medida de la bio-persistencia del material o la bioaccesibilidad que a su vez puede proporcionar una inferencia útil de la biodistribución de un material, su toxicidad aguda y crónica, así como su patogenicidad. Los estudios utilizando FPS han demostrado que replican adecuadamente las condiciones fisiológicas que prevalecen en los pulmones (Innes et al., 2021).

La evaluación del riesgo para la salud de las PM exige una evaluación precisa de la bioaccesibilidad de los componentes químicos que debe incluir los metales pesados, que exhiben los mayores riesgos cancerígenos (Liu et al., 2019). Las pruebas de bioaccesibilidad *in vitro* nos permiten predecir la biodisponibilidad de los componentes químicos de PM_{2.5} en el pulmón, sin embargo, las investigaciones son limitadas (Guney et al., 2016). La solubilidad de los elementos puede proporcionar estimaciones útiles de la fracción que es accesible para su absorción en las células y ejercer toxicidad, por lo tanto, la extracción utilizando FPS constituyen un método fisiológicamente relevante para evaluar la bioaccesibilidad de PM (Brock et al., 2003; Boisa et al., 2014; Sun et al., 2022). En este trabajo se utilizaron 4 FPS; fluido intersticial artificial (AIF), fluido pulmonar epitelial simulado (SELF), fluido lisosomal artificial (ALF), solución comercial GAMBLE (Biochemazone) y como disolvente principal se utilizó H₂O. Primero se determinó el efecto citotóxico, evaluando la

viabilidad celular, de cada una de estos fluidos simulados a distintas proporciones en las células A549 por el ensayo de tinción con azul de tripán y el ensayo de MTT.

Los resultados indicaron que la viabilidad celular disminuyó cuando se utiliza la solución artificial AIF como medio de cultivo únicamente. De igual manera la viabilidad se comprometió cuando se utiliza medio DMEM (suplementado al 5% con SFB) en presencia de AIF en una proporción 50:50 (V/V). En las otras proporciones utilizadas de (80:20, 90:10, 95:5) de medio DMEM:AIF no comprometen la viabilidad celular. Para el fluido SELF (100%) la viabilidad celular disminuyó únicamente cuando se utiliza como medio de cultivo. En las otras proporciones DMEM:SELF (V/V), no comprometieron la viabilidad celular.

El fluido ALF disminuyó la viabilidad celular cuando se utiliza como medio de cultivo (100%), así como en las proporciones DMEM:ALF (50:50, 80:20, V/V). En las otras proporciones no se afectó la viabilidad celular. La solución comercial GAMBLE no compromete la viabilidad celular cuando es utilizada a las diferentes proporciones. Finalmente, el H₂O, utilizada como solución de referencia, comprometió la viabilidad celular cuando se utilizada únicamente como medio de cultivo (100%), sin embargo, en las otras proporciones DMEM:H₂O (V/V) no modificó la viabilidad celular. Los resultados indican que los fluidos pulmonares SELF y GAMBLE pueden ser utilizadas en proporciones bajas en el medio de cultivo, sin comprometer la viabilidad celular (Figura 7).

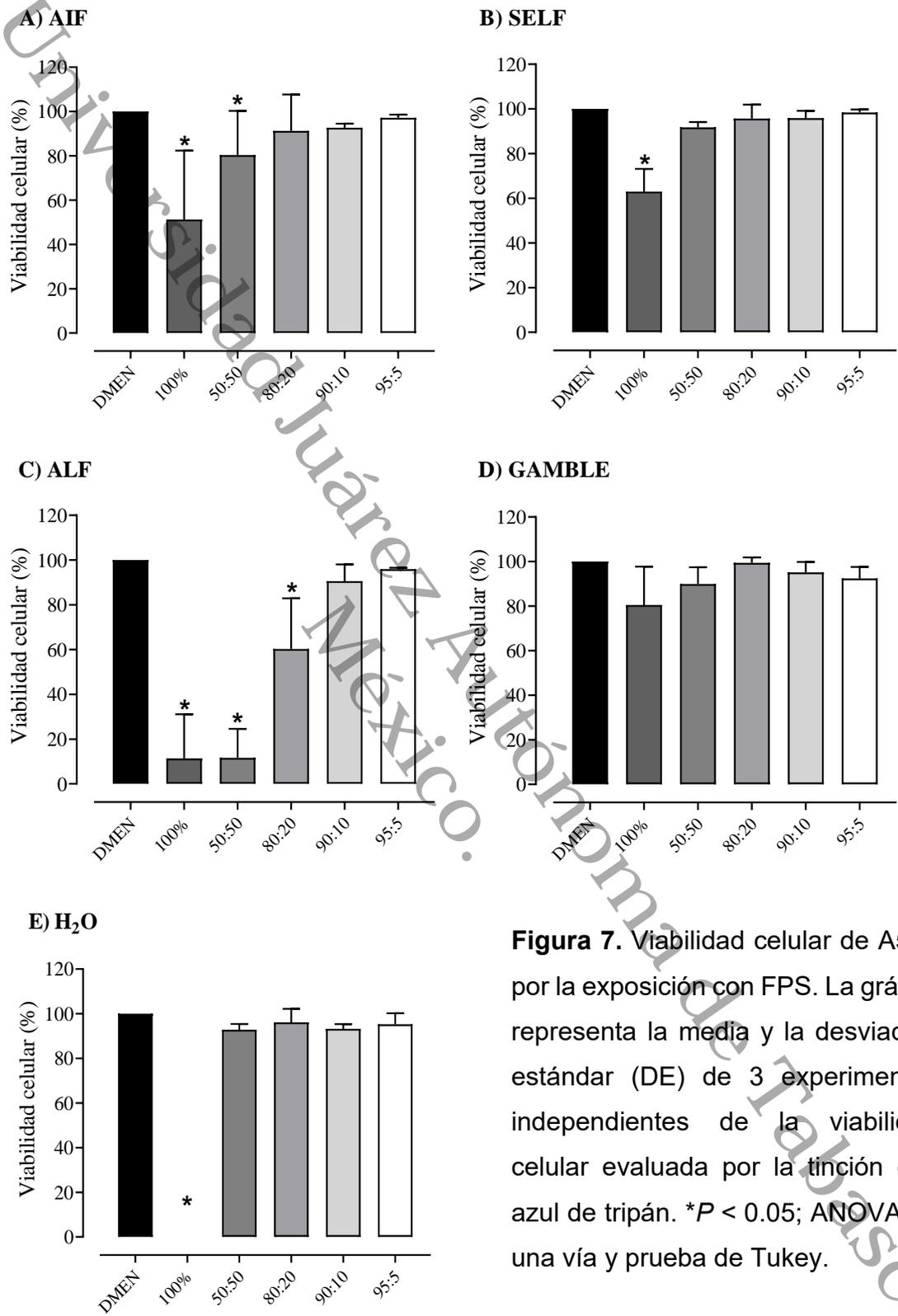


Figura 7. Viabilidad celular de A549 por la exposición con FPS. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes de la viabilidad celular evaluada por la tinción con azul de tripán. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba de Tukey.

Para complementar, los resultados del ensayo de azul de tripán, fue utilizado el ensayo de MTT, que mide la actividad metabólica celular como indicador de la viabilidad, se basa en la reducción por enzimas oxidorreductasas dependientes del NAD(P)H de la sal de tetrazolio amarilla (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio o MTT) a cristales de formazán de color morado por las células metabólicamente activas (Riss et al., 2016). Para el fluido AIF, cuando es utilizado únicamente como medio de cultivo (100%), comprometió de manera significativa la viabilidad celular. En tanto, en las otras proporciones de DMEM:AIF (V/V) no alteró la viabilidad celular. En las imágenes adjuntas se observa la incubación de MTT después de 2.5 h, donde se puede observar la formación de los cristales de formazán (color morado o púrpura) en las distintas proporciones de DMEM:AIF (Figura 8).

En el fluido pulmonar SELF disminuyó significativamente cuando se utilizó 100% como medio de cultivo, además también en la proporción DMEM:SELF (50:50, V/V). En las otras proporciones de DMEM:SELF (V/V) no se comprometió la viabilidad (Figura 9). El fluido pulmonar ALF resulta más citotóxica en todas las proporciones, siendo estadísticamente significativas la disminución de la viabilidad celular (Figura 10). La solución comercial GAMBLE no compromete la viabilidad celular en cualquiera de las proporciones utilizadas (Figura 11). Finalmente, el H₂O disminuyó la viabilidad cuando es utilizada únicamente como medio de cultivo (100%) y en la proporción de DMEM:H₂O (50:50, V/V) (Figura 12). Estos resultados también indican que los fluidos pulmonares SELF y GAMBLE pueden ser utilizadas en proporciones bajas en el medio de cultivo, sin comprometer la viabilidad celular. La integración de los resultados obtenidos con azul de tripán y MTT nos permitieron seleccionar el fluido pulmonar SELF a una concentración final del 5% en presencia de medio de cultivo DMEM para la realización de los experimentos siguientes.

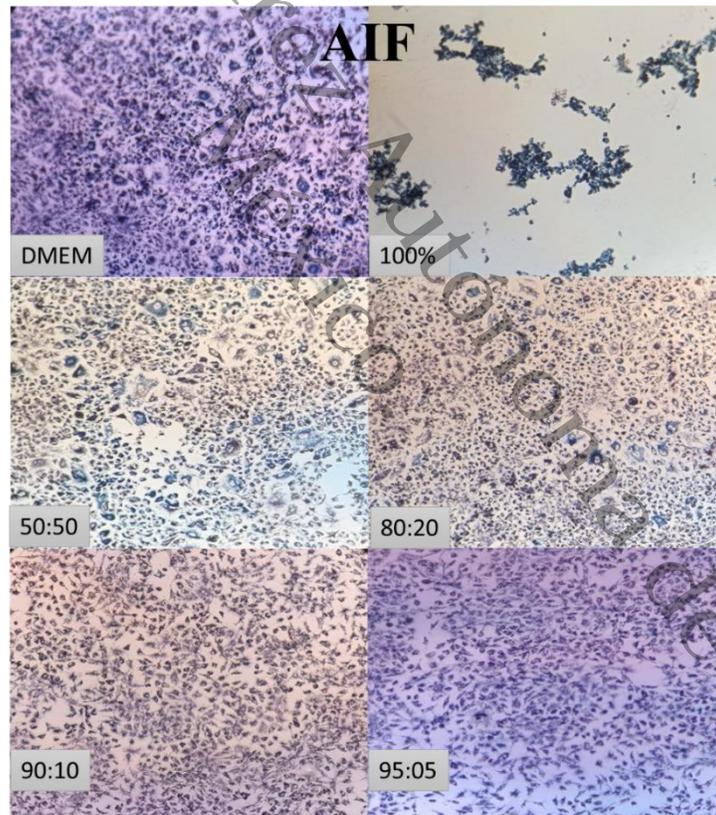
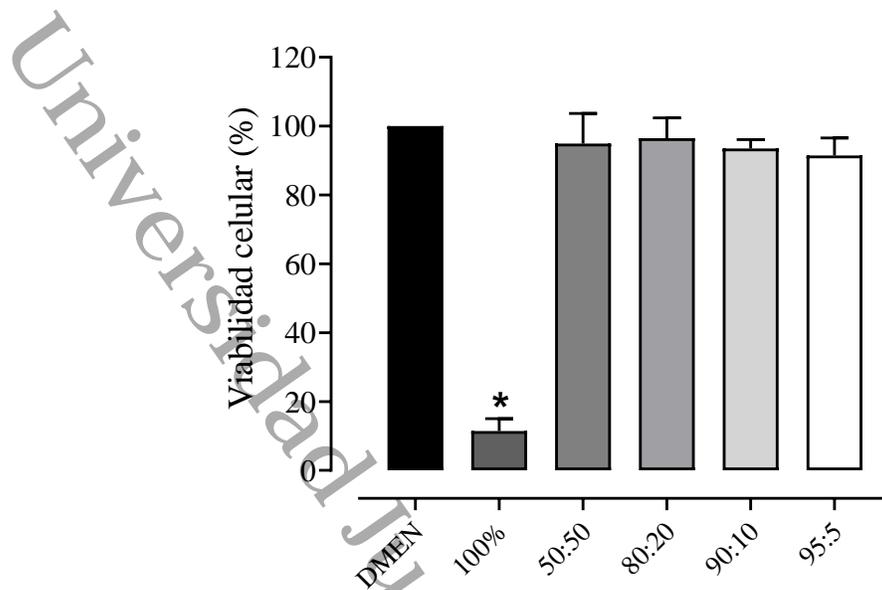


Figura 8. Viabilidad celular de A549 por la exposición con AIF. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes de la viabilidad celular evaluada por el ensayo de MTT. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba de Tukey.

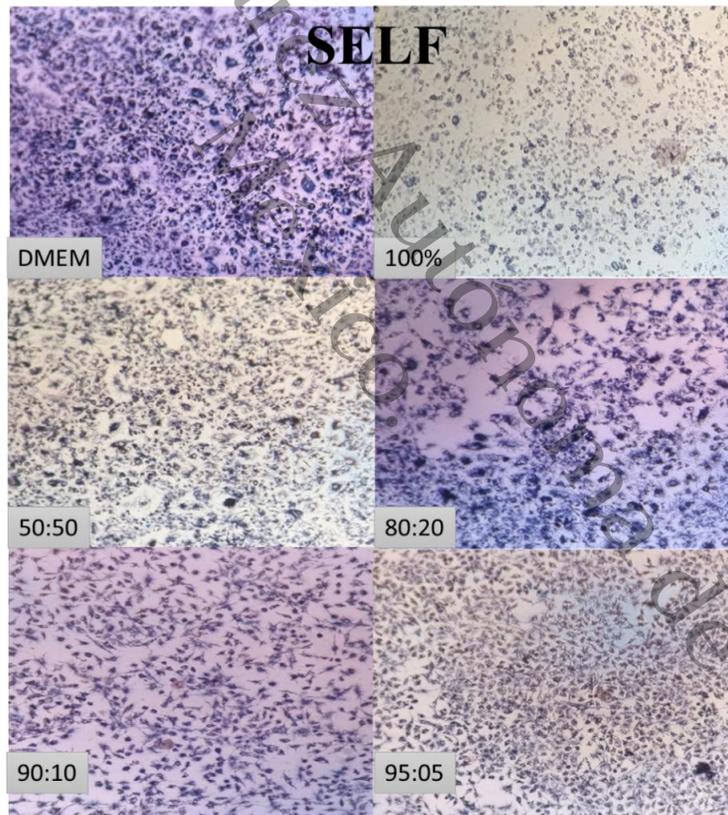
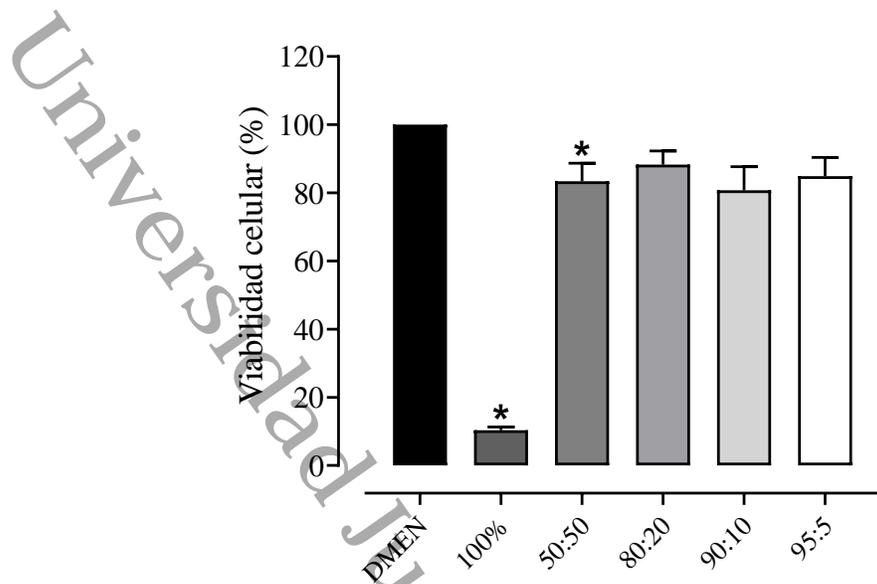


Figura 9. Viabilidad celular de A549 por la exposición con SELF. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes de la viabilidad celular evaluada por el ensayo de MTT. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba de Tukey.

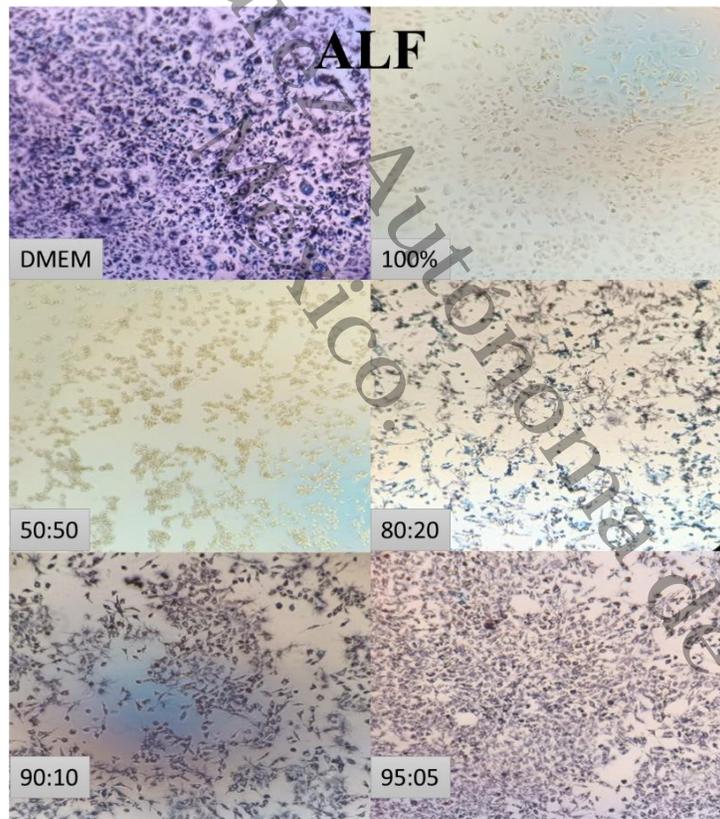
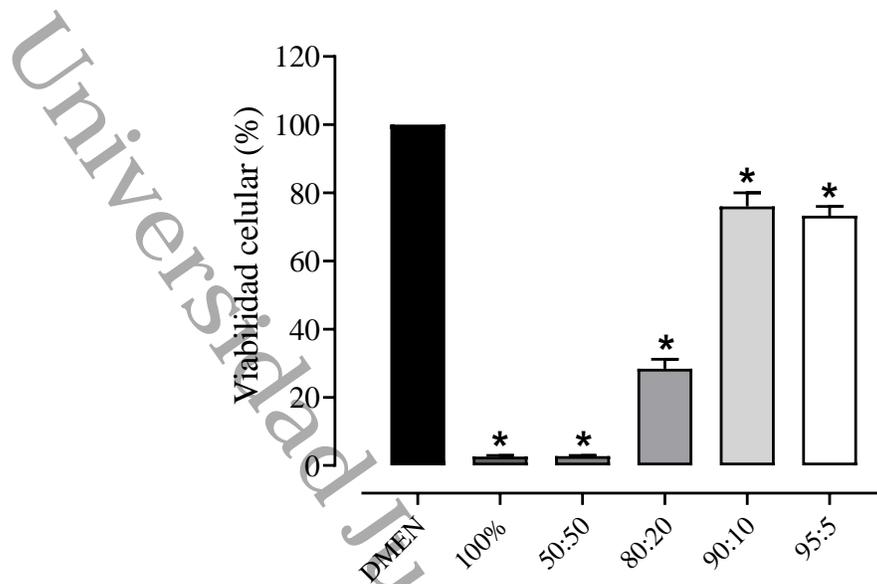


Figura 10. Viabilidad celular de A549 por la exposición con ALF. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes de la viabilidad celular evaluada por el ensayo de MTT. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba de Tukey.

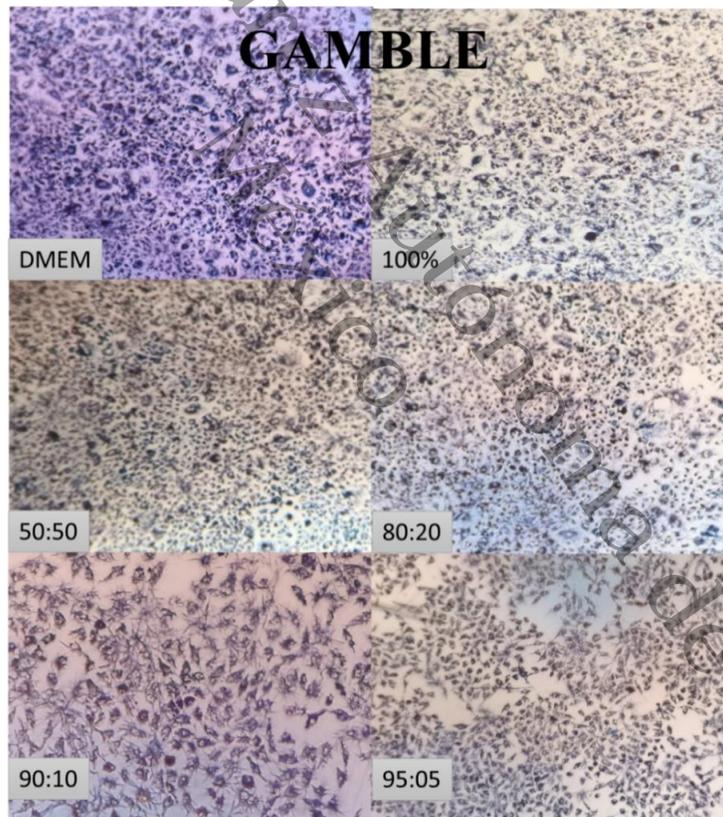
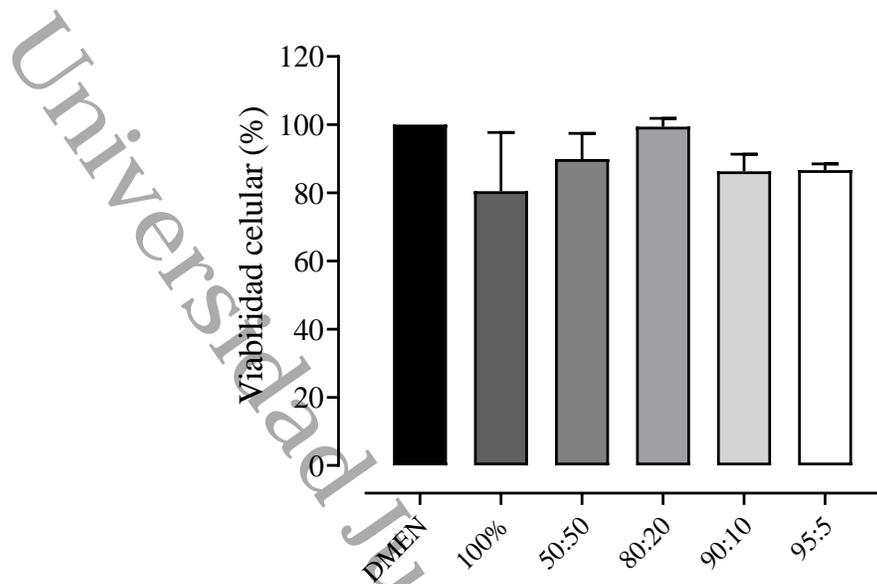


Figura 11. Viabilidad celular de A549 por la exposición con GAMBLE. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes de la viabilidad celular evaluada por el ensayo de MTT. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba de Tukey.

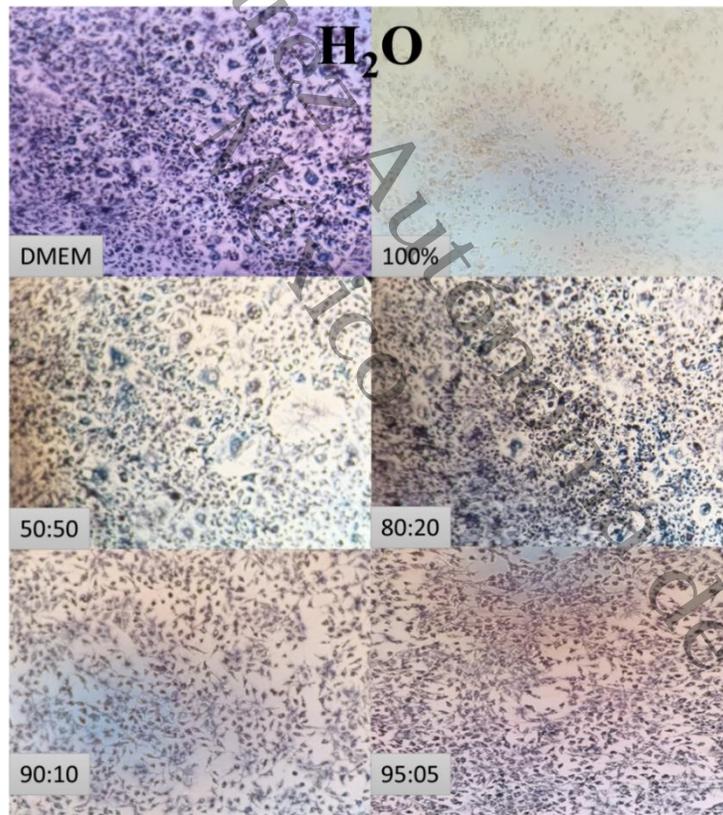
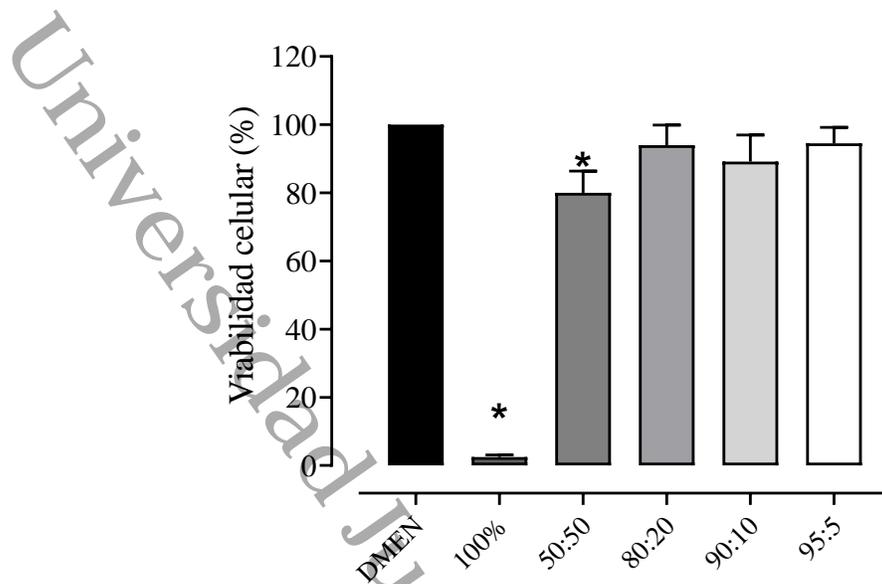


Figura 12. Viabilidad celular de A549 por la exposición con H₂O. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes de la viabilidad celular evaluada por el ensayo de MTT. **P* < 0.05; ANOVA de una vía y prueba de Tukey.

Modulación del pH en células A549 por la exposición de FPS.

Las condiciones fisiológicas a las que las células A549 deben ser mantenidas incluyen una temperatura de 37°C, 5% de CO₂ y un balance de pH 7.2-7.4, para conservar un tiempo de duplicación celular de 22-24 h. Estas condiciones son importantes para evitar que las células sufran estrés y que el efecto que se observa sea a causado por la exposición a PM_{2.5} y no por las condiciones del mantenimiento del cultivo celular. Por lo tanto, la incorporación de los FPS en las distintas proporciones en presencia del medio de cultivo DMEM debe conservar el pH. La composición química (anexo 5) de cada uno de los fluidos pulmonares y su pH, pueden ser un factor relevante que puede modificar la respuesta a la exposición. Por lo tanto, después de la incubación de las células A549 en presencia de las distintas proporciones de FPS por 24 h, se realizó la medición del pH del medio de cultivo con Orion Star A211.

Para la solución AIF (pH 7.4 reportado) presenta cambios modestos en el pH en las distintas proporciones en un intervalo de pH: 7.6-7.8, la solución SELF (pH 7.4 reportado) presentó un intervalo de pH: 7.2-7.9, la solución ALF (pH 4.0 reportado) un intervalo de pH: 4.0-7.6, la solución GAMBLE (pH 7.3 - 7.4 reportado) presento un intervalo de pH:7.3-8.0 y finalmente para H₂O un intervalo de pH: 6.9-7.8 (Figura 13). Estos resultados permitieron excluir a ALF para los experimentos futuros debido a que posee características ácidas que no reflejan las condiciones fisiológicas que prevalecen en el pulmón y además puede ser un factor relevante en cuanto a los efectos observados sea debido a los cambios provocados por el pH y no por la exposición de PM_{2.5}.

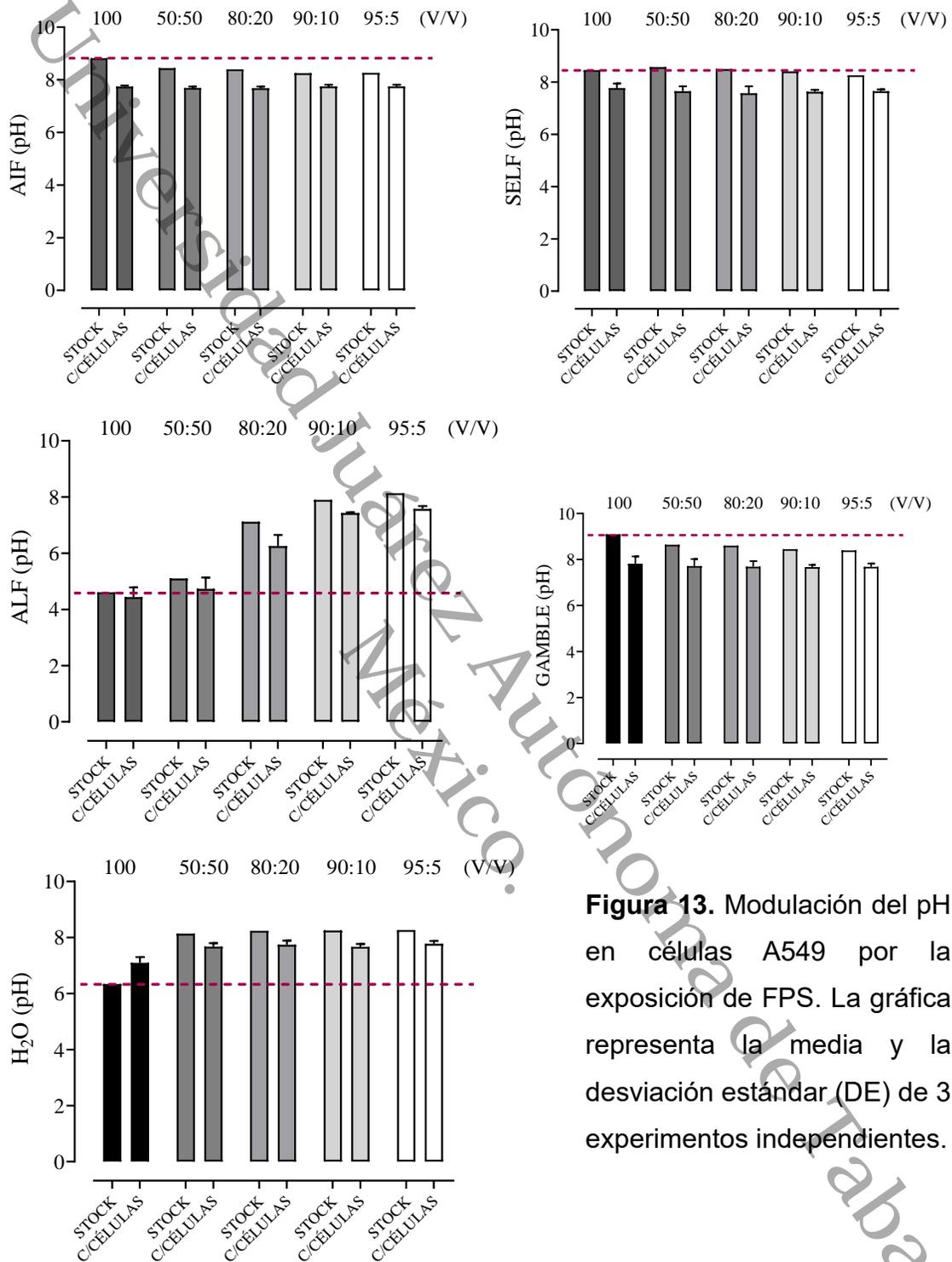


Figura 13. Modulación del pH en células A549 por la exposición de FPS. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes.

Evaluación del daño citotóxico inducido por la exposición subtóxica de PM_{2.5}.

Las células A549 fueron expuestas a las PM_{2.5}, obtenidas como se describió en métodos, a una concentración de 10 µg/ml utilizando medio DMEM:SELF (95:5, V/V). En primera instancia, previamente la concentración de PM_{2.5} utilizada fue establecida por los resultados obtenidos de la dosis-respuesta de la concentración inhibitoria al 50% (IC₅₀) como se indica en la figura 14 (cortesía Dr. Jesús Valencia Cervantes).

La concentración sugerida no compromete la viabilidad celular y es importante debido a que representa una dosis-respuesta biológica de acuerdo a la evaluación disimétrica de la deposición de PM en los pulmones (Li et al., 2003).

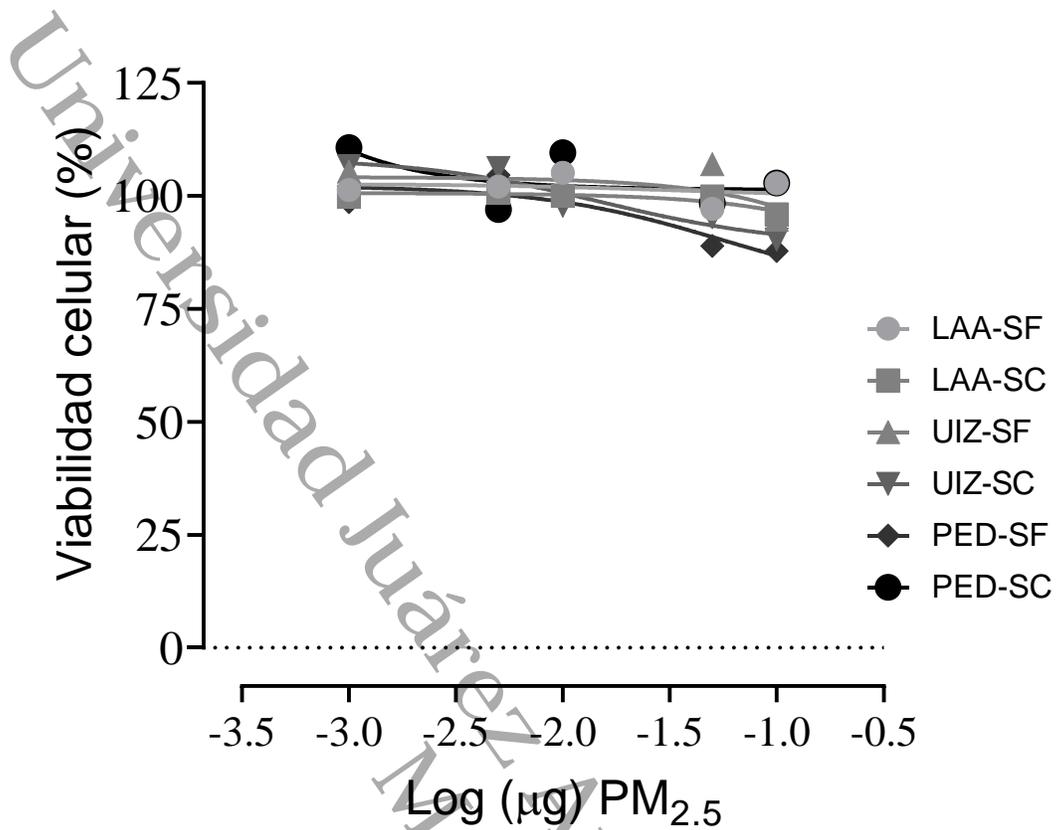


Figura 14. Concentración inhibitoria (IC_{50}) de la exposición a $PM_{2.5}$. Células A549 incubadas con medio de cultivo DMEM y SELF (con una concentración final del 5%) por 24 h. Cada punto representa 3 réplicas de la concentración indicada. Cortesía Dr. Jesús Valencia Cervantes.

Regulación de la proliferación celular y apoptosis.

En lo referente a la proliferación celular uno de los principales marcadores lo representa PCNA, una proteína de 36 kDa. Se ha identificado que esta proteína puede interaccionar con más de 1250 proteínas entre las que se encuentran las

asociadas con angiogénesis, la migración o la quimiorresistencia, por mencionar algunas, así como algunos fármacos antineoplásicos como paclitaxel. PCNA no es afectada su expresión por la exposición a PM_{2.5} en las distintas regiones y temporalidades. Aunque para algunos casos se observa una modesta tendencia de disminución como es el caso de UIZ-SC, PEX-SC y PED-SF, pero los cambios no son estadísticamente significativos (Figura 15).

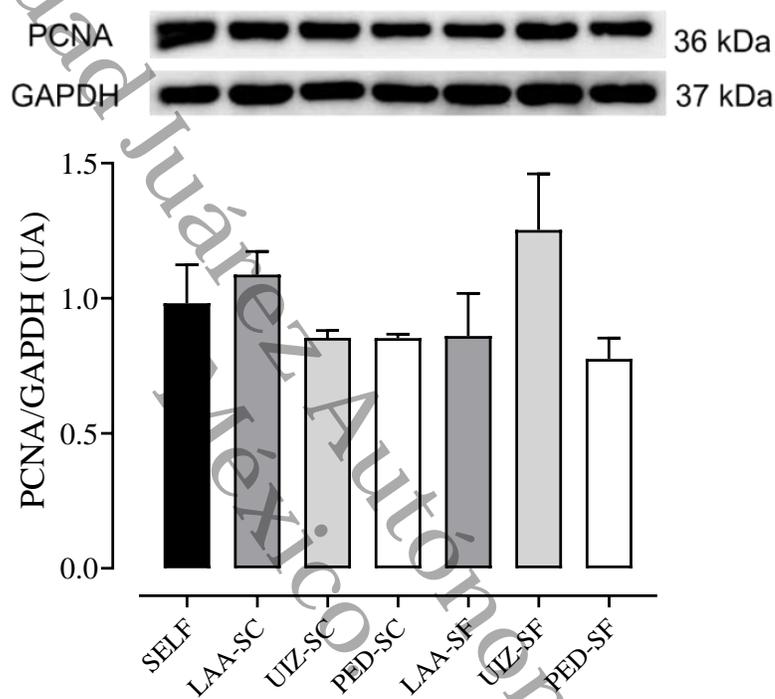


Figura 15. Expresión de PCNA en células A549 expuestas a PM_{2.5}. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba Dunnett.

El resultado anterior sugiere que la proliferación no incrementa por la presencia de PM_{2.5}. Lo siguiente es evaluar si hay presencia de apoptosis, por lo que se consideraron algunos efectores, como es el caso de BCL-2, una proteínas anti-apoptótica, que es clave en la vía intrínseca de apoptosis. Se ha identificado que BCL-2 podría estar relacionada con cerca de 400 proteínas como las asociadas con autofagia, en la vía de caspasas, el factor inducible por hipoxia, entre otras. La

expresión de BCL-2, una proteína de 26 kDa, se incrementa de manera significativa en la región de PED-SF, pero no en las otras regiones, aunque se observa un modesto cambio en su expresión no resulta ser significativo para las otras regiones y temporalidades (Figura 16).

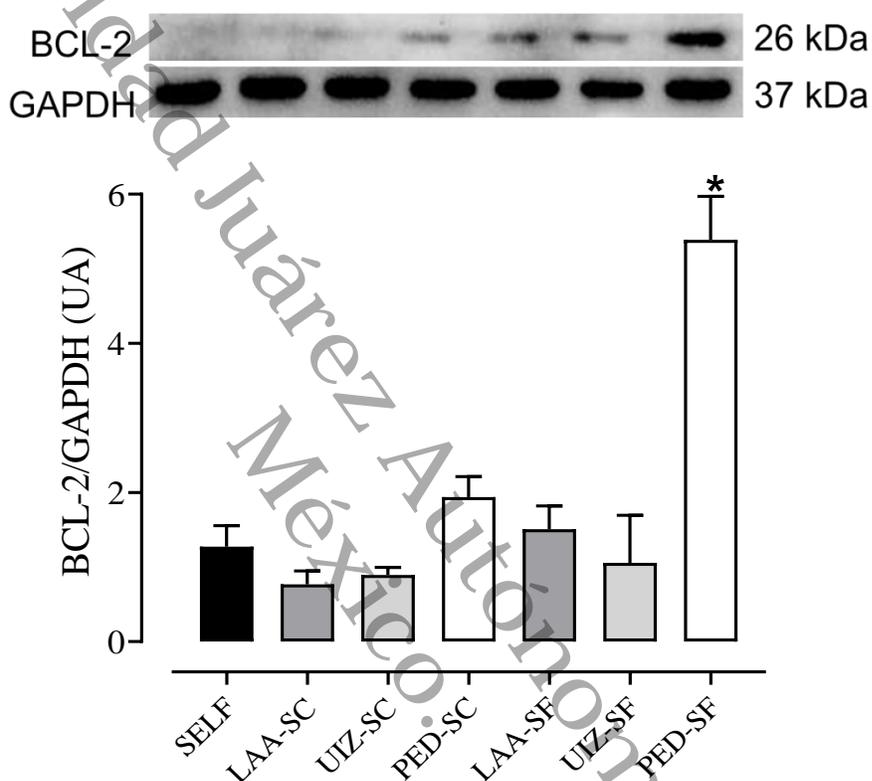


Figura 16. Expresión de BCL-2 en células A549 expuestas a PM_{2.5}. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba Dunnett.

Los resultados sugieren que la expresión de proteína anti-apoptótica BCL-2 no se modifica a excepción de una región PED-SF. Entonces lo siguiente por responder como están los niveles de proteínas pro-apoptóticas. Por tal motivo al determinar las expresiones de BAK y BAX, consideradas dos proteínas claves pro-apoptóticas, que después de oligomerizarse en la membrana externa mitocondrial regulan la

permeabilización y desencadenan la vía de las caspasas. Para BAK, una proteína de 26 kDa, no se observó cambios en su expresión, aunque se observa modesta disminución en algunas regiones como PED-SC y LAA-SF y un modesto aumento en UIZ-SF no resultan ser estadísticamente significativos (Figura 17).

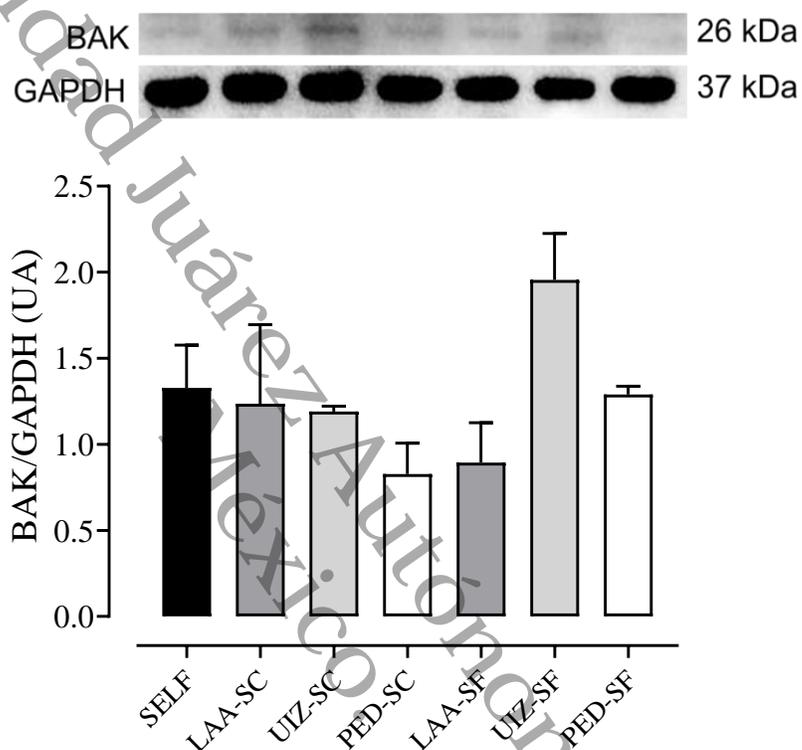


Figura 17. Expresión de BAK en células A549 expuestas a PM_{2.5}. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba Dunnett.

Para la segunda proteína homologa pro-apoptótica BAX, una proteína de 21 kDa, no presentó cambios en su expresión para las diferentes regiones y temporalidades, aunque se observa una modesta disminución en la expresión no resulta estadísticamente significativo (Figura 18).

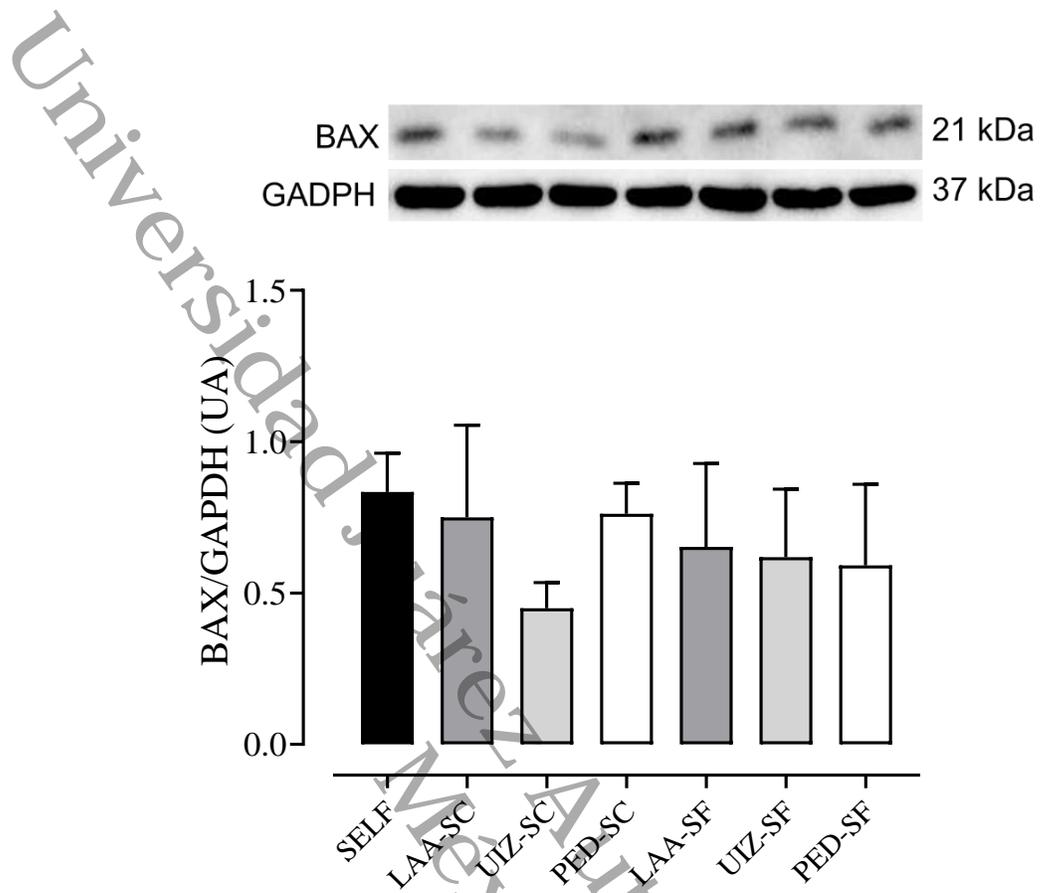


Figura 18. Expresión de BAX en células A549 expuestas a PM_{2.5}. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba Dunnett.

La medición de la expresión de proteínas es necesaria para comprender la biología y generación de enfermedades, por lo tanto, en cada tejido, órgano o sistema requiere que las proteínas no presenten daño que modifique su expresión o función. Hasta ahora hemos abordado algunos marcadores relacionados con la proliferación y la apoptosis en las que observamos cambios modestos, sin embargo, vale la pena cuestionarse si existen otros daños por la exposición de PM_{2.5}. Finalmente, otro marcador de daño lo representa, el MDA, generado por la peroxidación de ácidos grasos polinsaturados. El MDA que es altamente tóxico y de acuerdo a su vida media y su reactividad le permite actuar intra- y extra-celular

interactuando con proteínas y ADN. Los resultados indican un incremento de los niveles de MDA en LAA-SF, UIZ-SC y PED-SC resultando estadísticamente significativo. Para las otras regiones también muestran un patrón de incremento sin resultar estadísticamente significativos.

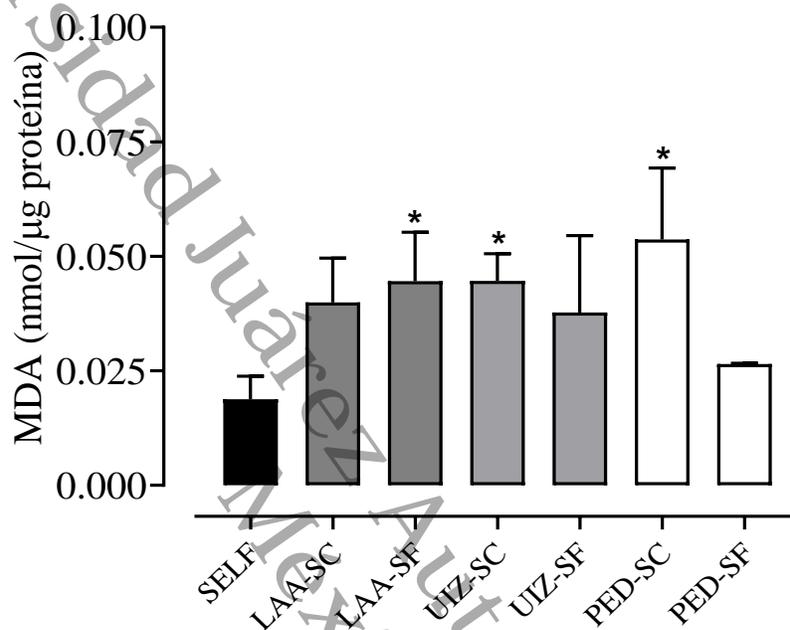


Figura 19. Niveles de MDA en células A549 expuestas a PM_{2.5}. La gráfica representa la media y la desviación estándar (DE) de 3 experimentos independientes. * $P < 0.05$; ANOVA de una vía y prueba Dunnett.

IX. Discusión.

La relevancia del presente trabajo es la utilización de fluidos pulmonares simulados (AIF, SELF, ALF, GAMBLE) que asemejan las condiciones fisiológicas que prevalecen en el pulmón y que permiten identificar la fracción bioaccesible de metales pesados/metaloides, que en distintos estudios no ha considerado. Lo primero fue establecer los efectos citotóxicos que estos fluidos pueden ejercer en las células de adenocarcinoma A549, que no ha sido evaluado para este modelo celular. Posteriormente determinar el efecto en la proliferación, la apoptosis y el daño oxidativo provocado por la fracción bioaccesible de PM_{2.5} obtenida con el fluido pulmonar artificial SELF.

Los resultados de viabilidad celular de la exposición a los FPS, pueden afectar la sobrevivencia a concentraciones elevadas. Para identificar que los efectos se deban a la exposición de PM_{2.5} en nuestro modelo celular, se utilizó el fluido SELF al 5% el cual no representó ser citotóxico a esta concentración y de acuerdo a los resultados de bioaccesibilidad es uno de los mejores en la referente a la identificación de la composición elemental de las PM_{2.5}. Se han diseñado formulaciones de líquido pulmonar para aproximarse a la composición del líquido extracelular como SELF, cuya composición química incluye surfactantes pulmonares, proteínas de alto peso molecular y antioxidantes, además de los componentes inorgánicos que se encuentran en las formulaciones tradicionales (Boisa et al. 2014). Por tal motivo distintas formulaciones de FPS se han utilizado para determinar el riesgo de los contaminantes para los seres humano. El contenido de metales/metaloides en el material particulado es motivo de especial interés debido a su contribución a la toxicidad general, por tal motivo la bioaccesibilidad utilizando FPS para identificar Fe, Mn, Zn, Ni, Cu, Sb, Mo, Cd y Pb, ha permitido establecer el riesgo carcinogénico por la inhalación a Mn y Cd (Hernández-Pellón et al., 2018).

Nuestros resultados indicaron que la exposición de células A549 a PM_{2.5} no favorece la proliferación, sin embargo, sugiere que posiblemente las células entren en arresto celular. Estudios *in vitro* han demostrado que la PM puede inhibir el

crecimiento celular, reduciendo la proliferación y/o provocando la muerte celular. La reducción de la proliferación se ha relacionado con una detención en diversas etapas del ciclo celular. La progresión del ciclo celular puede bloquearse y/o retrasarse en respuesta a tensiones genotóxicas o a disfunciones estructurales de diversas proteínas. Los puntos de control de integridad del ADN G1/S, G2/M y la transición metafase-anafase determinan el arresto del ciclo celular. Las proteínas quinasas ATM (ataxia telangiectasia mutada) y ATR (relacionadas con ATM y Rad3) contribuyen a la respuesta al daño del ADN y activan las proteínas quinasas del punto de control Chk1/2, lo que puede resultar en la detención del ciclo celular por una vía dependiente o independiente de p53. Ambas vías regulan la actividad de los promotores de transición G1/S o G2/M quinasa dependiente de ciclina (Cdk)/ciclina, como Cdk1/ciclina B1, que impulsa la progresión de G2 a la fase mitótica. En la vía dependiente de p53, Chk1/2 fosforila p53 (Ser 15) que inhibe Cdk1/ciclina B1. En la vía independiente de p53, Chk1/2 fosforila Cdc25 y Wee-1, que cooperativamente reducen la actividad de Cdk1/ciclina B1, lo que lleva a la detención de G2 y previene la entrada en la mitosis (Longhin et al., 2013). Se ha identificado que en macrófagos (RAW 264.7) expuestos a PM finas (1, 3 y 10 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$) indujeron la formación de micronúcleos de forma dosis-dependiente y disminuye la proliferación celular (Poma et al., 2006).

Otro estudio, identificó que las $\text{PM}_{2.5}$ inhibió la proliferación en células epiteliales bronquiales humanas (BEAS-2B) al inducir la detención mitótica. Posterior al arresto del ciclo celular le siguió un aumento de las células mitóticas-apoptóticas. Las $\text{PM}_{2.5}$ se internalizaron en las células y se localizaron en orgánulos laminares e incrementaron roturas de cadenas de ADN, daños a mitocondrias y los lisosomas, y en las células mitóticas presentaban cromosomas fragmentados (Gualtieri et al., 2011). Por lo tanto, el arresto del ciclo celular inducida por $\text{PM}_{2.5}$ podría deberse a la regulación negativa de la vía de señalización mTOR/P70S6K1 (Zhang et al., 2019).

Nuestros resultados indican que la expresión de la proteína anti-apoptótica BCL-2 no se modifica en células A549 por la exposición de $\text{PM}_{2.5}$ a excepción en la

región de Pedregal de la temporalidad seca caliente (PED-SC), donde se observó un incremento significativo. En el caso de las proteínas pro-apoptóticas BAK presenta patrones de un modesto incremento y disminución para las diferentes regiones y temporalidades, sin resultar significativos y para el caso de BAX en patrón general fue un decremento en su expresión.

En un estudio, las PM_{2.5} disminuyen notablemente la función pulmonar, incluida la capacidad pulmonar total, el volumen residual, la capacidad vital y la resistencia de las vías respiratorias en ratones experimentales, induciendo notablemente respuestas inflamatorias, lesión oxidativa y apoptosis, así como las PM_{2.5} aumentó la expresión de interleucina (IL) -1 β e IL-6 y la producción de ROS, identificando que la interrupción de la señalización de PI3K/AKT/mTOR inhibe eficazmente la apoptosis (Han et al., 2021).

Es importante recordar que los experimentos del presente trabajo fueron realizados en células A549 utilizando una concentración de 10 μ g/ml de PM_{2.5}, una concentración sub-tóxica, que nos permitiera evaluar los daños iniciales provocados por el material particulado. En distintos trabajos *in vitro* se han utilizado concentraciones altas de PM_{2.5} (25-1600 μ g/ml) donde incrementó la apoptosis de manera dosis-respuesta en células CHO de ovario de hámster, además induciendo la activación de NF- κ B (Peng et al., 2017).

En otro estudio, los macrófagos alveolares de ratas Wistar expuestas a PM_{2.5} (33, 100 o 300 μ g/ml, 4 h) se incrementa la citotoxicidad al disminuir la viabilidad celular y aumentar los niveles de lactato deshidrogenasa (LDH) y las proteínas relacionadas con la apoptosis X (BAX), caspasa-3 y caspasa-9, mientras que los niveles de BCL-2 se regularon negativamente después de la exposición a PM_{2.5} (Wei et al., 2021). La exposición a PM_{2.5} induce la autofagia en células BEAS-2B y la inhibición de REDD1/autofagia mejora el daño a la viabilidad, la inflamación y la apoptosis (Li et al., 2021).

Nuestros resultados mostraron un incremento de los niveles de MDA, un biomarcador de daño por estrés oxidativo en LAA-SF, UIZ-SC y PED-SC. En general en todas regiones y temporalidades del estudio se mostró un patrón de incremento de este biomarcador, lo que sugiere daños tempranos provocados por una baja concentración de PM_{2.5}.

La exposición a PM_{2.5} (0-200 µg/ml) durante 24 h resultó en un aumento de los niveles de ROS y de MDA, así como una disminución de la actividad de superóxido dismutasa (SOD) y mayor daño al ADN y apoptosis. Además, la expresión de citocromo C, caspasa-3 y caspasa-9 también aumentó proporcionalmente con la dosis de PM_{2.5} (Hu et al., 2017). En otro estudio, la exposición a PM_{2.5} incrementa los niveles de MDA y de mediadores pro-inflamatorios, incluidos la interleucina 6 (IL-6), IL-8 y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), acompañados por disminuciones en las actividades de SOD, Na⁺K⁺-ATPasa y Ca²⁺-ATPasa en la mucosa nasal de rata (Guo et al., 2017).

El nivel sérico de MDA es un biomarcador potencial en el carcinoma ocular primario (CCR) (Maurya et al., 2021) donde se encontraron niveles significativamente más altos de MDA en pacientes con CCR en comparación con pacientes sanos, así como en pacientes con enfermedad metastásica en comparación con aquellos sin metástasis, asociándose que la progresión del CCR es debido a los niveles séricos de MDA (Rasic et al., 2018). En pacientes con cáncer de mama, los niveles plasmáticos de MDA fueron significativamente más altos que en los pacientes sanos (Gonenc et al., 2001). En pacientes con cáncer de pulmón los niveles de 8-oxodG y MDA fueron significativamente mayores y las actividades de SOD y glutatión peroxidasa de glóbulos rojos fueron significativamente menores en pacientes sanos, sugiriendo que un mayor estrés oxidativo podría desempeñar un papel en la patogénesis del cáncer de pulmón, como lo demuestra un desequilibrio oxidante/antioxidante a favor de la peroxidación lipídica y el daño del ADN (Peddireddy et al., 2012).

Se encontró una correlación positiva estadísticamente significativa entre el tamaño de la neoplasia y el nivel sérico de MDA en pacientes con cáncer de vejiga,

sugiriendo que el nivel sérico de MDA podría desempeñar un papel importante como biomarcador en el diagnóstico del cáncer de vejiga (Lepara et al., 2020). Los niveles séricos de MDA y GSSG fueron significativamente más altos en pacientes con cáncer de mama. Los niveles séricos de GSH, TAC y la relación GSH/GSSG fueron significativamente más bajos en pacientes con cáncer de mama que en los controles, indicando que los niveles elevados de MDA y GSSG y los niveles reducidos de GSH, TAC y la relación GSH/GSSG aumentan significativamente el riesgo de cáncer de mama (Hewala et al., 2019). Se ha indicado que el estrés oxidativo se considera un componente importante de varias enfermedades, sin embargo, es complicado obtener conclusiones generales sobre la importancia de los biomarcadores de estrés oxidativo, ya que para algunas enfermedades se han logrado identificar y ser utilizados para el diagnóstico clínico (Frijhoff et al., 2015).

Los resultados del presente trabajo muestran patrones diferentes de la respuesta de la viabilidad celular, la expresión de proteínas y el daño oxidativo, para cada una de las regiones y temporalidades. En primera instancia podría deberse a la composición química de las partículas $PM_{2.5}$ como sugieren los resultados de ICP-MS y ICP-OES, siendo heterogénea dependiendo de la zona geográfica de donde se emiten, así como de las reacciones fotoquímicas que se producen y la dispersión a otras zonas. De acuerdo a la información oficial de la emisión de $PM_{2.5}$ durante las temporalidades de noviembre de 2021 a abril de 2022 de la Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA), se presentó una mayor emisión de $PM_{2.5}$ en la temporalidad seca fría, caracterizada por lluvias escasas y bajo flujo de viento, en las tres zonas geográficas del estudio (anexo 3).

En cuanto a la temporalidad, se ha identificado que hay meses del año donde las condiciones climáticas que prevalecen afectan la dispersión y deposición de los contaminantes atmosféricos incluyendo las $PM_{2.5}$. La AMCM cuyos límites están delimitados por cuatro masas montañosas que forman una cuenca con hondonadas y llanuras. Además, la Ciudad de México es el principal centro industrial del País con más de 46.000 industria que ha registrado un aumento de la emisión de contaminantes, posiblemente debido al aumento del parque vehicular. Se ha

determinado que en el noroeste de la ZMCM existe una mayor concentración de $PM_{2.5}$ durante la temporada de lluvias que en la temporada seca (Falcon et al., 2014).

De acuerdo al modelado de rosas de vientos de las temporalidades de noviembre de 2021 a abril de 2022 en las regiones geográficas de colección de $PM_{2.5}$, de los registros oficiales de la Red de Meteorología y Radiación Solar (REDMET). La presencia de flujo del viento proviene de la dirección noroeste desde el Estado de México y el estado de Hidalgo hacia la zona norte de la ciudad de México, y se distribuyen hacia la región sur y sureste. Es importante mencionar que la zona norte de la ciudad que colinda con el estado de México presenta una actividad industrial importante (anexo 4).

La Ciudad de México es posee microambientes con distintas características geomorfológicas en las que las condiciones pueden cambiar de un lugar a otro. Se ha identificado que la distribución espacial de $PM_{2.5}$ resulta ser baja en la zona de Xochimilco, ubicada en la parte sur de la cuenca. Esta zona es una de las regiones menos contaminadas de la ciudad. Esto podría estar relacionado con los altos niveles de humedad debido a la cantidad de lagos, canales y árboles. La distribución espacial de $PM_{2.5}$ estuvo entre las más altas en la delegación de Iztapalapa, ubicada en la parte sureste, con una alta densidad poblacional y su particular topografía consistente en una pequeña formación montañosa. La distribución espacial de $PM_{2.5}$ en las partes occidental y noroeste de la cuenca fue la más alta. Esta región tuvo niveles de humedad relativamente altos, la densidad poblacional es baja y hay una densidad de árboles relativamente grande. La alta distribución espacial de $PM_{2.5}$ encontrada en Tlalpan, ubicado en la parte suroeste. El flujo del viento tiende a ir de norte a sur, por lo que los contaminantes son transportados hacia el sur, sugiriendo que en la región sur/suroeste de la cuenca, la distribución espacial de $PM_{2.5}$ es mayor durante la tarde (Balino et al., 2019).

Es importante considerar que durante el transcurso del tiempo la emisión de los contaminantes puede variar, por lo que es necesario la cuantificación periódica de la composición elemental. Por ejemplo, los cambios demográficos en la zona

suroeste de la ciudad, y la presencia de Pb, que podría atribuirse a una fuente local. (Hernández-López et al., 2021). Otra variable importante que se debe considerar son las condiciones climáticas que prevalecen durante el día, donde se ha observado en las mañanas una mayor masa de $PM_{2.5}$ y PM_{10} , aerosoles inorgánicos secundarios y concentraciones de carbono, probablemente debido a una inversión superficial poco profunda y al tráfico en las horas pico (Chow et al., 2002). Como se ha mencionado, es importante determinar la composición elemental de $PM_{2.5}$ de manera periódica, ya que pueden variar de una zona a otra. En un estudio donde se colectaron dos conjuntos de muestras de $PM_{2.5}$ en el sitio de la Merced ubicado en el centro de la Ciudad de México se identificaron la presencia de S, Cl, K, Ca, Ti, Mn, Fe, Cu, Zn y Pb en la mayoría de las muestras, sin embargo, la presencia de estos componentes puede ser diferente durante el transcurso del tiempo debido a los cambios en las fuentes de emisión (Aldape et al., 2005). En 2019 se registraron más de 7 mil incendios forestales en México, afectando a casi 640 mil hectáreas. Las columnas de quema de biomasa afectaron a la Ciudad de México incrementando aproximadamente el doble de los niveles de $PM_{2.5}$, superando los estándares de calidad del aire del país. Las concentraciones promedio de $PM_{2.5}$ ($29.4 \pm 7.2 \mu\text{g m}^{-3}$) aumentaron súbitamente a $65.1 \pm 13.6 \mu\text{g m}^{-3}$, debido a estas severas condiciones de contaminación la visibilidad se redujo cerca del 80% (Carabali et al., 2021).

X. Conclusiones y Recomendaciones.

- Se utilizaron los fluidos pulmonares simulados (AIF, SELF, ALF, GAMBLE) que replican las condiciones fisiológicas que prevalecen en los pulmones para evaluar actividad biológica de PM_{2.5}.
- Los fluidos pulmonares simulados (AIF, SELF, ALF, GAMBLE) modifican modestamente los cambios en el pH en los cultivos de células A549. El uso del fluido ALF decremento el pH (condiciones ácidas), comprometiendo la viabilidad celular.
- Los ensayos de viabilidad celular permitieron seleccionar al fluido SELF, para los ensayos de bioaccesibilidad y para la exposición de células A549 a PM_{2.5}.
- Los ensayos de inmunodetección indican que la exposición a PM_{2.5} no modificó la expresión del marcador de proliferación PCNA, la proteína anti-apoptótica BCL-2 incrementó significativamente en la región de PED-SF, la expresión de las proteínas pro-apoptóticas BAK y BAX no se modificaron.
- Los niveles del marcador de lipoperoxidación, MDA incrementó en LAA-SF, UIZ-SC y PED-SC por la exposición a PM_{2.5}.
- Los resultados a la exposición sugieren el arresto del ciclo celular y favorecen la evasión de la apoptosis e incrementan la lipoperoxidación, indicando daños tempranos a bajas concentraciones de PM_{2.5} a una exposición aguda.

Recomendaciones:

- Es necesario evaluar otras vías de señalización reguladas por las PM_{2.5} como es el caso de la respuesta antioxidante, el daño genético, la angiogénesis o la transición epitelio mesenquima, debido a que son importantes en la progresión de cáncer.
- Evaluar el daño provocado por las PM_{2.5} a concentraciones elevadas (dosis-respuesta), debido a que la proyección en los próximos años es un incremento de los contaminantes presentes en el aire.
- Cuantificar la generación de ROS ya que los efectos observados son atribuibles a la fracción soluble de PM_{2.5} que contiene metales pesados que favorecen un incremento del estrés oxidativo.
- Evaluar los efectos de la fracción orgánica contenida en las PM_{2.5} debido a que otros componentes como los HAP y COV, en bajas concentraciones pueden regular varias vías de señalización.
- Determinar los efectos de PM_{2.5} en modelos 3D como los esferoides o el método de la interfaz aire-líquido (ALI) que permiten una mejor aproximación de las características morfológicas e histológicas de las células del epitelio de las vías respiratorias *in vivo*.

XI. Referencias.

1. Air pollution. World Health Organization (WHO). (2016). <https://www.who.int/health-topics/air-pollution>
2. Alam, M., Alam, S., Shamsi, A., Adnan, M., Elsbali, A. M., Al-Soud, W. A., Alreshidi, M., Hawsawi, Y. M., Tippana, A., Pasupuleti, V. R., & Hassan, M. I. (2022). Bax/Bcl-2 Cascade Is Regulated by the EGFR Pathway: Therapeutic Targeting of Non-Small Cell Lung Cancer. *Frontiers in oncology*, 12, 869672. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.869672>
3. Aldape, F., Flores MJ., Flores AJ., Retama-Hernández, A., Rivera-Hernandez, O. (2005). Elemental composition and source identification of PM2.5 particles collected in downtown Mexico City. *International Journal of PIXE*, 15(03n04), 263–270. <https://doi.org/10.1142/S012908350500060X>
4. Arrieta, O., Zatarain-Barrón, Z. L., Aldaco, F., Barrón, F., Báez-Saldaña, R., Campos-Gómez, S., Trejo, R., & De la Garza, J. (2019). Lung Cancer in Mexico. *Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer*, 14(10), 1695-1700. <https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.05.018>
5. Bases de datos- Red de Meteorología y Radiación Solar (REDMET), <http://www.aire.cdmx.gob.mx>
6. Bases de datos- Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA). <http://www.aire.cdmx.gob.mx>
7. Boisa, N., Elom, N., Dean, J. R., Deary, M. E., Bird, G., & Entwistle, J. A. (2014). Development and application of an inhalation bioaccessibility method (IBM) for lead in the PM10 size fraction of soil. *Environment international*, 70, 132-142. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.021>
8. Bologna-Molina, R., Mosqueda-Taylor, A., Molina-Frechero, N., Mori-Estevez, A. D., & Sánchez-Acuña, G. (2013). Comparison of the value of PCNA and Ki-67 as markers of cell proliferation in ameloblastic tumors. *Medicina oral, patología oral y cirugía bucal*, 18(2), e174-e179. <https://doi.org/10.4317/medoral.18573>

9. Brock, T., & Stopford, W. (2003). Bioaccessibility of metals in human health risk assessment: evaluating risk from exposure to cobalt compounds. *Journal of environmental monitoring: JEM*, 5(4), 71N-76N. <https://doi.org/10.1039/b307520f>
10. Calderón-Garcidueñas, L., Kulesza, R. J., Doty, R. L., D'Angiulli, A., Torres-Jardón, R. (2015). Megacities air pollution problems: Mexico City Metropolitan Area critical issues on the central nervous system pediatric impact. *Environmental research*, 137, 157-169. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.12.012>
11. Cao, Q., Rui, G., & Liang, Y. (2018). Study on PM2.5 pollution and the mortality due to lung cancer in China based on geographic weighted regression model. *BMC public health*, 18(1), 925. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5844-4>
12. Carabali, G., Villanueva-Macias, J., Ladino, L.A. et al. Characterization of aerosol particles during a high pollution episode over Mexico City. *Sci Rep* 11, 22533 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01873-4>
13. Celo, V., Yassine, M. M., & Dabek-Zlotorzynska, E. (2021). Insights into Elemental Composition and Sources of Fine and Coarse Particulate Matter in Dense Traffic Areas in Toronto and Vancouver, Canada. *Toxics*, 9(10), 264. <https://doi.org/10.3390/toxics9100264>
14. César, A. C., Carvalho, J. A., Jr, & Nascimento, L. F. (2015). Association between NOx exposure and deaths caused by respiratory diseases in a medium-sized Brazilian city. *Brazilian journal of medical and biological research. Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 48(12), 1130-1135. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20154396>
15. Chen, T. M., Gokhale, J., Shofer, S., & Kuschner, W. G. (2007). Outdoor air pollution: nitrogen dioxide, sulfur dioxide, and carbon monoxide health effects. *The American journal of the medical sciences*, 333(4), 249-256. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31803b900f>
16. Cheng, Y., Lee, S., Gu, Z., Ho, K., Zhang, Y., Huang, Y., Zhang, R. (2015). PM2.5 and PM10-2.5 chemical composition and source apportionment near

- a Hong Kong roadway. *Particuology*, 18, 96-104.
doi:10.1016/j.partic.2013.10.003.
17. Chow, J. C., Watson, J. G., Edgerton, S. A., & Vega, E. (2002). Chemical composition of PM_{2.5} and PM₁₀ in Mexico City during winter 1997. *The Science of the total environment*, 287(3), 177-201.
[https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(01\)00982-2](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(01)00982-2)
 18. Ciabattini, M., Rizzello, E., Lucaroni, F., Palombi, L., & Boffetta, P. (2021). Systematic review and meta-analysis of recent high-quality studies on exposure to particulate matter and risk of lung cancer. *Environmental research*, 196, 110440. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110440>
 19. Coleman, N. C., Burnett, R. T., Ezzati, M., Marshall, J. D., Robinson, A. L., & Pope, C. A., 3rd (2020). Fine Particulate Matter Exposure and Cancer Incidence: Analysis of SEER Cancer Registry Data from 1992-2016. *Environmental health perspectives*, 128(10), 107004.
<https://doi.org/10.1289/EHP7246>
 20. Colombo, C., Monhemius, A. J., & Plant, J. A. (2008). Platinum, palladium and rhodium release from vehicle exhaust catalysts and road dust exposed to simulated lung fluids. *Ecotoxicology and environmental safety*, 71(3), 722-730. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.11.011>
 21. Cui, P., Huang, Y., Han, J., Song, F., & Chen, K. (2015). Ambient particulate matter and lung cancer incidence and mortality: a meta-analysis of prospective studies. *European journal of public health*, 25(2), 324-329.
<https://doi.org/10.1093/eurpub/cku145>
 22. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire y RETC, Semarnat. México. Agosto de 2018.
https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/tema/pdf/Cap5_atmosfera.pdf
 23. Falcon, YI, Cortes L, Martinez E, Hernandez D. (2017). Concentrations of PM_{2.5} in the northwest of Mexico City: 2004-2006 and 2008-2012. *WIT Transactions on Ecology and the Environment*, 183, 157-164.

24. Feitelson, M. A., Arzumanyan, A., Kulathinal, R. J., Blain, S. W., Holcombe, R. F., Mahajna, J., Marino, M., Martinez-Chantar, M. L., Nawroth, R., Sanchez-Garcia, I., Sharma, D., Saxena, N. K., Singh, N., Vlachostergios, P. J., Guo, S., Honoki, K., Fujii, H., Georgakilas, A. G., Bilsland, A., Amedei, A., Nowsheen, S. (2015). Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. *Seminars in cancer biology*, 35 Suppl(Suppl), S25-S54. <https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.02.006>
25. Fouad, Y. A., & Aanei, C. (2017). Revisiting the hallmarks of cancer. *American journal of cancer research*, 7(5), 1016-1036.
26. Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., Knight, A. R., Taylor, E. L., Oettrich, J., Ruskovska, T., Gasparovic, A. C., Cuadrado, A., Weber, D., Poulsen, H. E., Grune, T., Schmidt, H. H., & Ghezzi, P. (2015). Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxidants & redox signaling*, 23(14), 1144-1170. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6317>
27. Fu, J., Jiang, D., Lin, G., Liu, K., & Wang, Q. (2015). An ecological analysis of PM2.5 concentrations and lung cancer mortality rates in China. *BMJ open*, 5(11), e009452. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-009452>
28. Ghazipura, M., Garshick, E., & Cromar, K. (2019). Ambient pm2.5 exposure and risk of lung cancer incidence in North America and Europe. *Environmental Research Communications*, 1(1), Article 015004. <https://doi.org/10.1088/2515-7620/ab06e9>
29. Gönenç, A., Ozkan, Y., Torun, M., & Simşek, B. (2001). Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 26(2), 141-144. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2710.2001.00334.x>
30. Gualtieri, M., Ovrevik, J., Mollerup, S., Asare, N., Longhin, E., Dahlman, H. J., Camatini, M., & Holme, J. A. (2011). Airborne urban particles (Milan winter-PM2.5) cause mitotic arrest and cell death: Effects on DNA, mitochondria, AhR binding and spindle organization. *Mutation research*, 713(1-2), 18-31. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.05.011>

31. Guney, M., Chapuis, R. P., & Zagury, G. J. (2016). Lung bioaccessibility of contaminants in particulate matter of geological origin. *Environmental science and pollution research international*, 23(24), 24422-24434. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6623-3>
32. Guo, Z., Hong, Z., Dong, W., Deng, C., Zhao, R., Xu, J., Zhuang, G., & Zhang, R. (2017). PM_{2.5}-Induced Oxidative Stress and Mitochondrial Damage in the Nasal Mucosa of Rats. *International journal of environmental research and public health*, 14(2), 134. <https://doi.org/10.3390/ijerph14020134>
33. Han, X., & Zhuang, Y. (2021). PM_{2.5} induces autophagy-mediated cell apoptosis via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in mice bronchial epithelium cells. *Experimental and therapeutic medicine*, 21(1), 1. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9433>
34. Hanahan D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31-46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>
35. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9)
36. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
37. Hanley, M.E., Patel, P.H. (2016). Carbon Monoxide Toxicity. [Updated 2023 Jan 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430740/>
38. Hernández-López, A.E., Campo, J.M., Mugica-Álvarez, V., Hernández-Valle, B.L., Mejía-Ponce, L.V., Pineda-Santamaría, J.C., Reynoso-Cruces, S., Mendoza-Flores, J.A., & Rozanes-Valenzuela, D. (2020). A study of PM_{2.5} elemental composition in southwest Mexico City and development of receptor models with positive matrix factorization. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 37, 66-88. <https://doi.org/10.20937/RICA.54066>
39. Hernández-Pellón, A., Nischkauer, W., Limbeck, A., & Fernández-Olmo, I. (2018). Metal(loid) bioaccessibility and inhalation risk assessment: A

- comparison between an urban and an industrial area. *Environmental research*, 165, 140-149. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.04.014>
40. Hewala, T. I., Abo Elsoud, M. A. (2019). The clinical significance of serum oxidative stress biomarkers in breast cancer females. *Medical Research Journal*, 4(1), 1-7. DOI: 10.5603/MRJ.a2018.0039.
41. Hinojosa-Baliño, I., Infante-Vázquez, O., Vallejo, M. (2019). Distribution of PM_{2.5} Air Pollution in Mexico City: Spatial Analysis with Land-Use Regression Model. *Applied Sciences*, 9(14), 2936. <https://doi.org/10.3390/app9142936>
42. Hu, R., Xie, X. Y., Xu, S. K., Wang, Y. N., Jiang, M., Wen, L. R., Lai, W., & Guan, L. (2017). PM_{2.5} Exposure Elicits Oxidative Stress Responses and Mitochondrial Apoptosis Pathway Activation in HaCaT Keratinocytes. *Chinese medical journal*, 130(18), 2205-2214. <https://doi.org/10.4103/0366-6999.212942>
43. Huang, F., Pan, B., Wu, J., Chen, E., & Chen, L. (2017). Relationship between exposure to PM_{2.5} and lung cancer incidence and mortality: A meta-analysis. *Oncotarget*, 8(26), 43322-43331. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17313>
44. INEGI, Censo de Población y Vivienda (2010). Perfil sociodemográfico: Instituto Nacional Estadística y Geografía, México, c2013 (xii), p294. ISBN 978-607-494-531-7.
45. Innes, E., Yiu, H. H. P., McLean, P., Brown, W., & Boyles, M. (2021). Simulated biological fluids - a systematic review of their biological relevance and use in relation to inhalation toxicology of particles and fibres. *Critical reviews in toxicology*, 51(3), 217-248. <https://doi.org/10.1080/10408444.2021.1903386>
46. Jan, A. T., Azam, M., Siddiqui, K., Ali, A., Choi, I., & Haq, Q. M. (2015). Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. *International journal of molecular sciences*, 16(12), 29592-29630. <https://doi.org/10.3390/ijms161226183>

47. Khalaf, E. M., Mohammadi, M. J., Sulistiyani, S., Ramírez-Coronel, A. A., Kiani, F., Jalil, A. T., Almulla, A. F., Asban, P., Farhadi, M., & Derikondi, M. (2022). Effects of sulfur dioxide inhalation on human health: a review. *Reviews on environmental health*, 39(2), 331-337. <https://doi.org/10.1515/reveh-2022-0237>
48. Kim, S. Y., Kim, E., & Kim, W. J. (2020). Health Effects of Ozone on Respiratory Diseases. *Tuberculosis and respiratory diseases*, 83(Supple 1), S6-S11. <https://doi.org/10.4046/trd.2020.0154>
49. Kowalska, M., Skrzypek, M., Kowalski, M., & Cyrus, J. (2020). Effect of NO_x and NO₂ Concentration Increase in Ambient Air to Daily Bronchitis and Asthma Exacerbation, Silesian Voivodeship in Poland. *International journal of environmental research and public health*, 17(3), 754. <https://doi.org/10.3390/ijerph17030754>
50. Koyama, H., Kamogashira, T., & Yamasoba, T. (2024). Heavy Metal Exposure: Molecular Pathways, Clinical Implications, and Protective Strategies. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*, 13(1), 76. <https://doi.org/10.3390/antiox13010076>
51. Lepara, Z., Lepara, O., Fajkić, A., Rebić, D., Alić, J., & Spahović, H. (2020). Serum malondialdehyde (MDA) level as a potential biomarker of cancer progression for patients with bladder cancer. *Romanian journal of internal medicine = Revue roumaine de medecine interne*, 58(3), 146-152. <https://doi.org/10.2478/rjim-2020-0008>
52. Li, J., Lu, X., Liu, F., Liang, F., Huang, K., Yang, X., Xiao, Q., Chen, J., Liu, X., Cao, J., Chen, S., Shen, C., Yu, L., Lu, F., Wu, X., Zhao, L., Wu, X., Li, Y., Hu, D., Huang, J., Gu, D. (2020). Chronic Effects of High Fine Particulate Matter Exposure on Lung Cancer in China. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 202(11), 1551-1559. <https://doi.org/10.1164/rccm.202001-0002OC>
53. Li, N., Hao, M., Phalen, R. F., Hinds, W. C., & Nel, A. E. (2003). Particulate air pollutants and asthma. A paradigm for the role of oxidative stress in PM-

- induced adverse health effects. *Clinical immunology (Orlando, Fla.)*, 109(3), 250-265. <https://doi.org/10.1016/j.clim.2003.08.006>
54. Li, Y., Xu, X., Wang, L., Li, X., Liu, R., Zhang, L., & Xu, Y. (2021). REDD1 (regulated in development and DNA damage-1)/autophagy inhibition ameliorates fine particulate matter (PM2.5) -induced inflammation and apoptosis in BEAS-2B cells. *Bioengineered*, 12(1), 1403-1414. <https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1917227>
55. Liu, X., Ouyang, W., Shu, Y., Tian, Y., Feng, Y., Zhang, T., & Chen, W. (2019). Incorporating bioaccessibility into health risk assessment of heavy metals in particulate matter originated from different sources of atmospheric pollution. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*, 254(Pt B), 1131-113. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113113>
56. Longhin, E., Holme, J.A., Gutzkow, K.B. (2013). Cell cycle alterations induced by urban PM2.5 in bronchial epithelial cells: characterization of the process and possible mechanisms involved. *Part Fibre Toxicol* 10, 63. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-63>
57. Mamkhezri, J., Bohara, A. K., & Islas Camargo, A. (2020). Air pollution and daily mortality in the Mexico City Metropolitan Area. *Atmósfera*, 33(3), 249-267. <https://doi.org/10.20937/atm.52557>
58. Manisalidis, I., Stavropoulou, E., Stavropoulos, A., & Bezirtzoglou, E. (2020). Environmental and Health Impacts of Air Pollution: A Review. *Frontiers in public health*, 8, 14. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00014>
59. Maurya, R. P., Prajapat, M. K., Singh, V. P., Roy, M., Todi, R., Bosak, S., Singh, S. K., Chaudhary, S., Kumar, A., & Morekar, S. R. (2021). Serum Malondialdehyde as a Biomarker of Oxidative Stress in Patients with Primary Ocular Carcinoma: Impact on Response to Chemotherapy. *Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)*, 15, 871-879. <https://doi.org/10.2147/OPHTH.S287747>
60. Moss O. R. (1979). Simulants of lung interstitial fluid. *Health physics*, 36(3), 447-448.

61. Mühlfeld, C., Rothen-Rutishauser, B., Blank, F., Vanhecke, D., Ochs, M., & Gehr, P. (2008). Interactions of nanoparticles with pulmonary structures and cellular responses. *American journal of physiology. Lung cellular and molecular physiology*, 294(5), L817-L829. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00442.2007>
62. NORMA Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-2021, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al ozono (O3). Valores normados para la concentración de ozono (O3) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5633956&fecha=28/10/2021#gsc.tab=0
63. NORMA Oficial Mexicana NOM-021-SSA1-2021, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al monóxido de carbono (CO). Valores normados para la concentración de monóxido de carbono (CO) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5634084&fecha=29/10/2021#gsc.tab=0
64. NORMA Oficial Mexicana NOM-022-SSA1-2019, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al dióxido de azufre (SO2). Valores normados para la concentración de dióxido de azufre (SO2) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5568395&fecha=20/08/2019#gsc.tab=0
65. NORMA Oficial Mexicana NOM-023-SSA1-2021, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al dióxido de nitrógeno (NO2). Valores normados para la concentración de dióxido de nitrógeno (NO2) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5633854&fecha=27/10/2021#gsc.tab=0

66. NORMA Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Salud ambiental. Valores límite permisibles para la concentración de partículas suspendidas PM10 y PM2.5 en el aire ambiente y criterios para su evaluación. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5357042&fecha=20/08/2014#gsc.tab=0
67. NORMA Oficial Mexicana NOM-026-SSA1-1993, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente con respecto al plomo (Pb). Valor normado para la concentración de plomo (Pb) en el aire ambiente como medida de protección a la salud de la población.
68. Oroumihyeh, F., Jerrett, M., Del Rosario, I., Lipsitt, J., Liu, J., Paulson, S. E., Ritz, B., Schauer, J. J., Shafer, M. M., Shen, J., Weichenthal, S., Banerjee, S., & Zhu, Y. (2022). Elemental composition of fine and coarse particles across the greater Los Angeles area: Spatial variation and contributing sources. *Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)*, 292(Pt A), 118356. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118356>
69. Park, D., Anisuzzaman, A. S. M., Magis, A. T., Chen, G., Xie, M., Zhang, G., Behera, M., Sica, G. L., Ramalingam, S. S., Owonikoko, T. K., & Deng, X. (2021). Discovery of Small Molecule Bak Activator for Lung Cancer Therapy. *Theranostics*, 11(17), 8500-8516. <https://doi.org/10.7150/thno.60349>
70. Peddireddy, V., Siva Prasad, B., Gundimeda, S. D., Penagaluru, P. R., & Mundluru, H. P. (2012). Assessment of 8-oxo-7, 8-dihydro-2'-deoxyguanosine and malondialdehyde levels as oxidative stress markers and antioxidant status in non-small cell lung cancer. *Biomarkers: biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals*, 17(3), 261–268. <https://doi.org/10.3109/1354750X.2012.664169>
71. Peña-Blanco, A., & García-Sáez, A. J. (2018). Bax, Bak and beyond - mitochondrial performance in apoptosis. *The FEBS journal*, 285(3), 416–431. <https://doi.org/10.1111/febs.14186>
72. Peng, H., Zhao, X. H., Bi, T. T., Yuan, X. Y., Guo, J. B., & Peng, S. Q. (2017). PM2.5 obtained from urban areas in Beijing induces apoptosis by activating

- nuclear factor-kappa B. *Military Medical Research*, 4(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s40779-017-0136-3>
73. Poma, A., Limongi, T., Pisani, C., Granato, V., & Picozzi, P. (2006). Genotoxicity induced by fine urban air particulate matter in the macrophages cell line RAW 264.7. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*, 20(6), 1023-1029. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2006.01.014>
74. Pyo, J. S., Kim, N. Y., & Kang, D. W. (2022). Impacts of Outdoor Particulate Matter Exposure on the Incidence of Lung Cancer and Mortality. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 58(9), 1159. <https://doi.org/10.3390/medicina58091159>
75. Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y., & Wang, J. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in oncology*, 12, 985363. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>
76. Rašić, I., Rašić, A., Akšamija, G., & Radović, S. (2018). The relationship between serum level of malondialdehyde and progression of colorectal cancer. *Acta clinica Croatica*, 57(3), 411-416. <https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.03.02>
77. Riss, T.L., Moravec, R.A., Niles, A.L. (2016). Cell Viability Assays. 2013 May 1 [Updated 2016 Jul 1]. In: Markossian S, Grossman A, Arkin M, et al., editors. *Assay Guidance Manual* [Internet]. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>
78. Ruíz-Godoy, L., Rizo Rios, P., Sánchez Cervantes, F., Osornio-Vargas, A., García-Cuellar, C., & Meneses García, A. (2007). Mortality due to lung cancer in Mexico. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 58(2), 184-190. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.06.007>
79. Sharma, S. K., Mandal, T. K. (2023). Elemental Composition and Sources of Fine Particulate Matter (PM_{2.5}) in Delhi, India. *Bull Environ Contam Toxicol*, 110 (60). <https://doi.org/10.1007/s00128-023-03707-7>

80. Stephens, E. K. H., Marshall, H. M., Chin, V., & Fong, K. M. (2023). Air pollution and lung cancer-A new era. *Respirology (Carlton, Vic.)*, 28(4), 313-315. <https://doi.org/10.1111/resp.14464>
81. Stopford, W., Turner, J., Cappellini, D., & Brock, T. (2003). Bioaccessibility testing of cobalt compounds. *Journal of environmental monitoring : JEM*, 5(4), 675-680. <https://doi.org/10.1039/b302257a>
82. Sun, S., Zheng, N., Wang, S., Li, Y., Hou, S., An, Q., Chen, C., Li, X., Ji, Y., & Li, P. (2022). Inhalation Bioaccessibility and Risk Assessment of Metals in PM_{2.5} Based on a Multiple-Path Particle Dosimetry Model in the Smelting District of Northeast China. *International journal of environmental research and public health*, 19(15), 8915. <https://doi.org/10.3390/ijerph19158915>
83. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
84. Téllez-Rojo, M. M., Romieu, I., Ruiz-Velasco, S., Lezana, M. A., & Hernández-Avila, M. M. (2000). Daily respiratory mortality and PM₁₀ pollution in Mexico City: importance of considering place of death. *The European respiratory journal*, 16(3), 391-396. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.2000.016003391.x>
85. Thangavel, P., Park, D., & Lee, Y. C. (2022). Recent Insights into Particulate Matter (PM_{2.5})-Mediated Toxicity in Humans: An Overview. *International journal of environmental research and public health*, 19(12), 7511. <https://doi.org/10.3390/ijerph19127511>
86. Ugalde-Resano, R., Riojas-Rodríguez, H., Texcalac-Sangrador, J. L., Cruz, J. C., & Hurtado-Díaz, M. (2022). Short term exposure to ambient air pollutants and cardiovascular emergency department visits in Mexico city. *Environmental research*, 207, 112600. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112600>

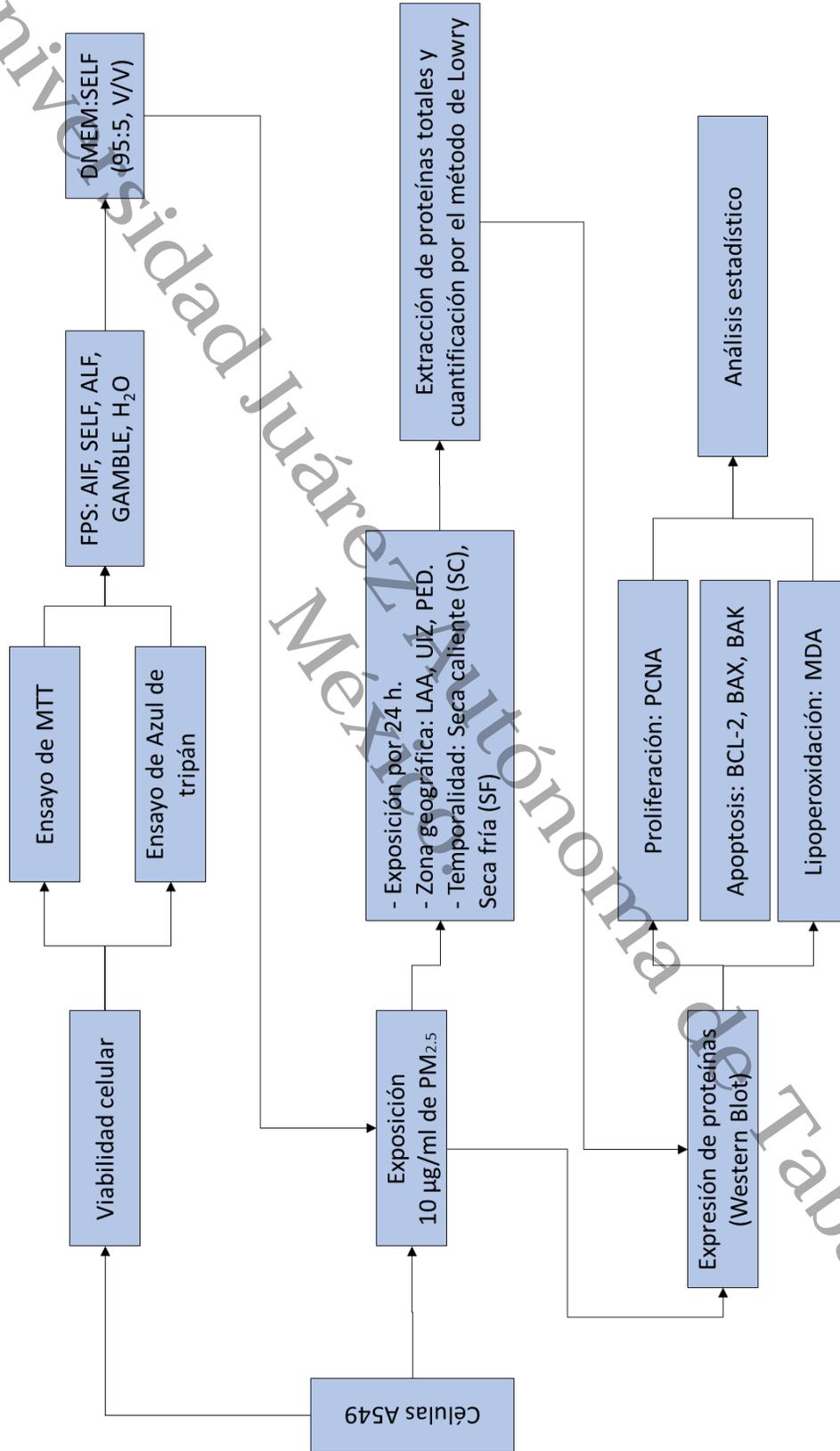
87. Valko, M., Morris, H., & Cronin, M. T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>
88. Wang, W., Meng, L., Hu, Z., Yuan, X., Zeng, W., Li, K., Luo, H., Tang, M., Zhou, X., Tian, X., Luo, C., He, Y., & Yang, S. (2022). The association between outdoor air pollution and lung cancer risk in seven eastern metropolises of China: Trends in 2006-2014 and sex differences. *Frontiers in oncology*, 12, 939564. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.939564>
89. Wei, H., Yuan, W., Yu, H., & Geng, H. (2021). Cytotoxicity induced by fine particulate matter (PM_{2.5}) via mitochondria-mediated apoptosis pathway in rat alveolar macrophages. *Environmental science and pollution research international*, 28(20), 25819-25829. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12431-w>
90. Yang, L., Wang, N., Liu, S., Xiao, Q., Geng, G., Zhang, X., Li, H., Zheng, Y., Guo, F., Li, Q., Li, J., Ren, A., Xue, T., & Ji, J. (2023). The PM_{2.5} concentration reduction improves survival rate of lung cancer in Beijing. *The Science of the total environment*, 858(Pt 2), 159857. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159857>
91. Zhang, Y., Yang, D., Yang, B., Li, B., Guo, J., & Xiao, C. (2019). PM_{2.5} induces cell cycle arrest through regulating mTOR/P70S6K1 signaling pathway. *Experimental and therapeutic medicine*, 17(6), 4371-4378. <https://doi.org/10.3892/etm.2019.7466>

XII. Anexos.

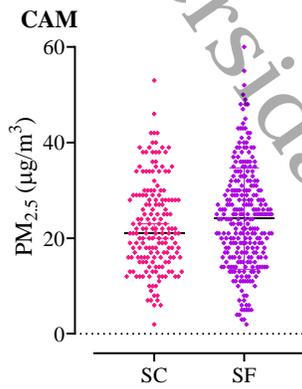
Anexo 1. Normas oficiales mexicanas (NOM) para contaminantes criterio.

Contaminante	Exposición	Valor límite (indicador de evaluación)	NOM
PM₁₀	Aguda	75 µg/m ³ (promedio 24 h)	NOM-025-SSA1-2014
	Crónica	40 µg/m ³ (promedio anual)	
PM_{2.5}	Aguda	45 µg/m ³ (promedio 24 h)	
	Crónica	12 µg/m ³ (promedio anual)	
O₃	Aguda	0.095 ppm (promedio 1 h)	NOM-020-SSA1-2014
		0.070 ppm (promedio 8 h)	
SO₂	Aguda	524 µg/m ³ (promedio 8 h)	NOM-022-SSA1-2010
	Aguda	288 µg/m ³ (promedio 24 h)	
	Crónica	66 µg/m ³ (promedio 1 año)	
NO₂	Aguda	395 µg/m ³ (promedio 1 h)	NOM-023-SSA1-1993
CO	Aguda	12,595 µg/m ³ (promedio 8 h)	NOM-021-SSA1-1993
Pb	Crónica	1.5 µg/m ³ (promedio 3 meses)	NOM-026-SSA1-1993

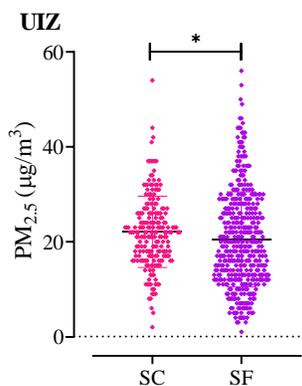
Anexo 2. Descripción general del desarrollo experimental.



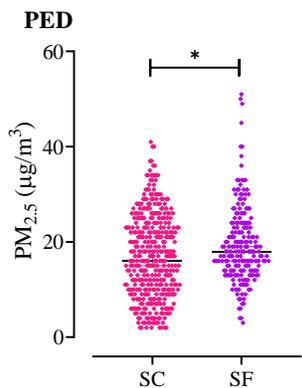
Anexo 3. Concentración de PM_{2.5} del periodo de estudio. Los datos fueron obtenidos de los registros oficiales de Bases de datos-Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA). <http://www.aire.cdmx.gob.mx>. Cortesía Dr. Jesús Valencia Cervantes.



	SC (µg/m ³)	SF (µg/m ³)
Mínimo	2	2
Máximo	53	60
Promedio	22.70	24.11



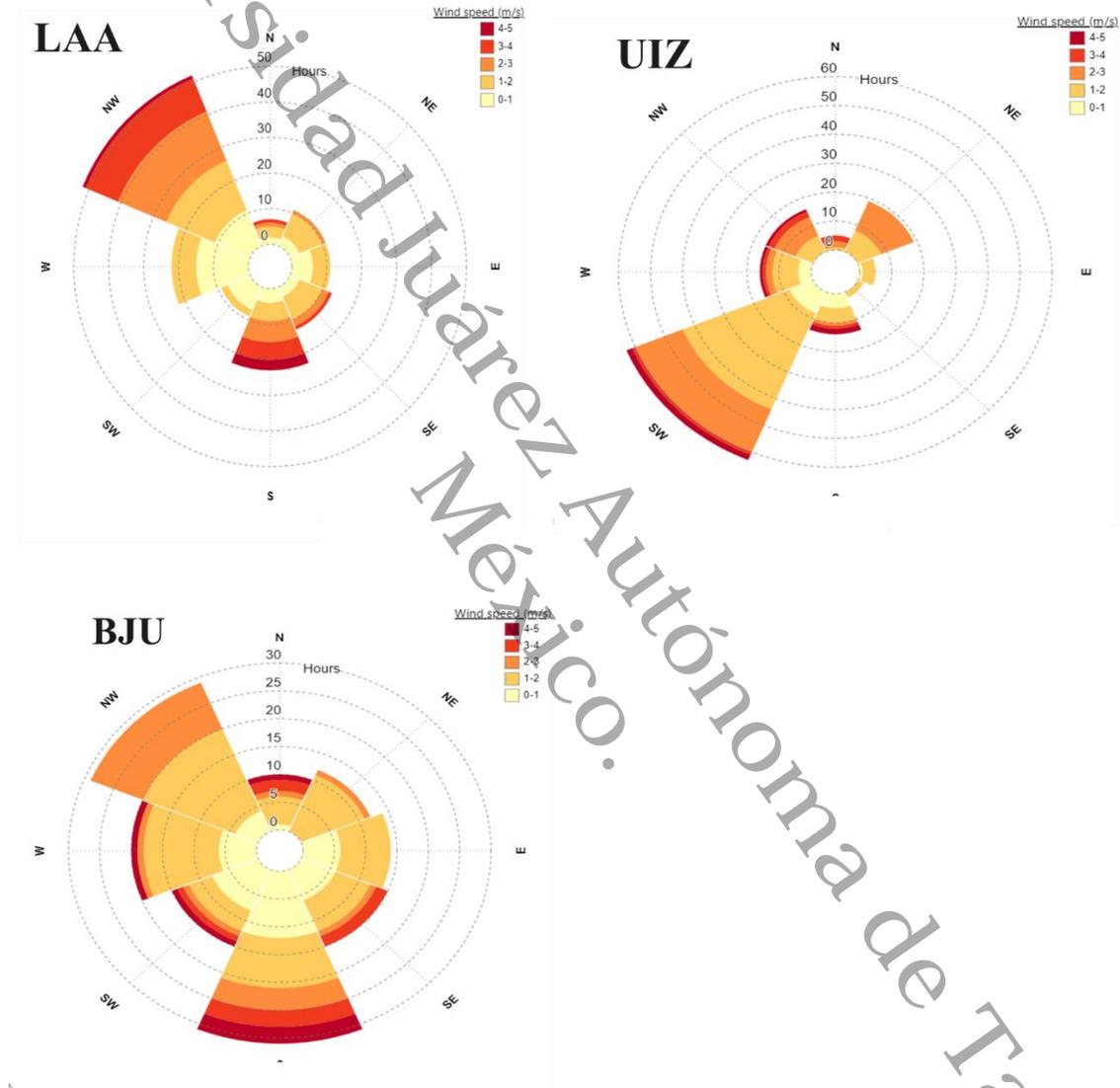
	SC (µg/m ³)	SF (µg/m ³)
Mínimo	2	1
Máximo	54	56
Promedio	22.08	20.48



	SC (µg/m ³)	SF (µg/m ³)
Mínimo	2	3
Máximo	41	51
Promedio	16.94	19.32

NOTA: La estación de LAA no reporta las concentraciones PM_{2.5} las temporalidades del estudio. Por lo tanto, se consideraron los valores oficiales reportados para la estación Camarones de la alcaldía Azcapotzalco, ubicada en la zona geográfica norte de la Ciudad de México.

Anexo 4. Modelado de rosas de vientos. La simulación de los vientos fue realizada de las temporalidades de noviembre de 2021 a abril de 2022 en las regiones geográficas de colección de PM_{2.5}. Adaptado de los registros oficiales de Bases de datos- Red de Meteorología y Radiación Solar (REDMET), <http://www.aire.cdmx.gob.mx>. Cortesía Dr. Jesús Valencia Cervantes.



NOTA: La estación de Pedregal no reportó la dirección y velocidad de vientos durante las temporalidades de la colección de PM_{2.5} del estudio realizado. Por lo tanto, se consideraron los valores oficiales reportados para la estación Benito Juárez, en la delegación del mismo nombre, ubicada en la zona geográfica sur de la Ciudad de México.

Anexo 5. Composición elemental de los FPS.

Compuesto	AIF	SELF	ALF	GAMBLE
MgCl ₂ .6H ₂ O (mg L ⁻¹)	203	200	50	203
NaCl (mg L ⁻¹)	6193	6020	3210	6019
CaCl ₂ .2H ₂ O (mg L ⁻¹)	368	256	128	368
Na ₂ SO ₄ (mg L ⁻¹)	71	72	39	71
Na ₂ HPO ₄ (mg L ⁻¹)	142	150	71	
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O (mg L ⁻¹)				142
NaHCO ₃ (mg L ⁻¹)	2604	2700		2604
H ₂ C ₆ H ₅ O ₇ .Na.2H ₂ O (mg L ⁻¹)			77	97
NH ₂ CH ₂ COOH (glicina) (mg L ⁻¹)		376	59	
L-Cisteina (C ₃ H ₇ NO ₂ S) (mg L ⁻¹)		122		
DPPC (dipalmitoil fosfatidil colina) (mg L ⁻¹)		100	N	
CH ₃ COONa.3H ₂ O (mg L ⁻¹)	952			953
HOC (COONa).2H ₂ O (mg L ⁻¹)	97			
KCl (mg L ⁻¹)	298	298		298
Ácido ascórbico (mg L ⁻¹)		18		
Ácido úrico (mg L ⁻¹)		16		
Glutación (mg L ⁻¹)		30		
Albumina (mg L ⁻¹)		260		
Mucina (mg L ⁻¹)		500		
NaOH (mg L ⁻¹)			6000	
Ácido cítrico			20800	
Lactato de sodio			85	
Piruvato sódico			86	
Ph	7.4	7.4	4.5	7.3 - 7.4

AIF: Fluido Intersticial Artificial (Stopford et al., 2003), SELF: Fluido Pulmonar Epitelial Simulado (Boisa et al., 2014); ALF: Fluido Lisosomal Artificial (Colombo et al., 2008); GAMBLE (Moss 1979).

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis	Efecto Subtóxico De Material Particulado PM _{2.5} De La Ciudad De México En Células A549 De Adenocarcinoma Humano
Autor(a) de la Tesis	Víctor Manuel Baños Tapia
ORCID	0009-0008-2071-1180
Resumen de Tesis	<p>La contaminación del aire es un factor de riesgo para la salud y se estima que causa 7 millones de muertes en todo el mundo. Entre los contaminantes emitidos se encuentra las PM_{2.5} cuya composición química y propiedades físicas es diferente en cada zona geográfica de emisión. Se han identificado efectos adversos para la salud por la exposición a PM_{2.5} en personas con padecimientos preexistentes como enfermedades cardiopulmonares, cerebrovasculares, neurodegenerativas, además favorecen la incidencia de cáncer de pulmón. Sin embargo, los mecanismos y las vías de señalización asociados con el desarrollo de estas enfermedades, siguen siendo en gran medida desconocidos. Las PM_{2.5} fueron colectadas en la Ciudad de México (noviembre de 2021 a abril de 2022) utilizando equipos de alto volumen (high-vol), en tres zonas geográficas representativas. Se determinó el efecto subtóxico de la fracción bioaccesible de PM_{2.5} (10 µg/ml), utilizando fluidos pulmonares simulados en células de adenocarcinoma pulmonar A549, evaluando la proliferación celular, la apoptosis y la peroxidación lipídica. Los resultados mostraron que no se modificó la expresión de la proteína relacionada con la proliferación celular PCNA, la proteína anti-apoptótica BCL-2 incrementó en la región de PED-SF ($P < 0.05$), la expresión de las proteínas pro-apoptóticas BAK y BAX no se modificaron y los niveles de malondialdehído incrementó en LAA-SF, UIZ-SC y PED-SC ($P < 0.05$). La información obtenida sugiere que las PM_{2.5} inducen el</p>

	arresto del ciclo celular, favoreciendo la evasión de la apoptosis e incrementando la lipoperoxidación, indicando daños tempranos a bajas concentraciones de PM _{2.5} a una exposición aguda.
Palabras claves de la Tesis	Cáncer de pulmón, Células de adenocarcinoma pulmonar A549, Fluidos pulmonares simulados, Material particulado PM _{2.5} , Bioaccesibilidad, Proliferación celular, Apoptosis, Lipoperoxidación
Referencias citadas	<ol style="list-style-type: none"> 1. Air pollution. World Health Organization (WHO). (2016). https://www.who.int/health-topics/air-pollution 2. Alam, M., Alam, S., Shamsi, A., Adnan, M., Elsbali, A. M., Al-Soud, W. A., Alfreshidi, M., Hawsawi, Y. M., Tippana, A., Pasupuleti, V. R., & Hassan, M. I. (2022). Bax/Bcl-2 Cascade Is Regulated by the EGFR Pathway: Therapeutic Targeting of Non-Small Cell Lung Cancer. <i>Frontiers in oncology</i>, 12, 869672. https://doi.org/10.3389/fonc.2022.869672 3. Aldape, F., Flores MJ., Flores AJ., Retama-Hernández, A., Rivera-Hernandez, O. (2005). Elemental composition and source identification of PM_{2.5} particles collected in downtown Mexico City. <i>International Journal of PIXE</i>, 15(03n04), 263–270. https://doi.org/10.1142/S012908350500060X 4. Arrieta, O., Zatarain-Barrón, Z. L., Aldaco, F., Barrón, F., Báez-Saldaña, R., Campos-Gómez, S., Trejo, R., & De la Garza, J. (2019). Lung Cancer in Mexico. <i>Journal of thoracic oncology: official publication of the International Association for the Study of Lung Cancer</i>, 14(10), 1695-1700. https://doi.org/10.1016/j.jtho.2019.05.018 5. Bases de datos- Red de Meteorología y Radiación Solar (REDMET), http://www.aire.cdmx.gob.mx 6. Bases de datos- Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA). http://www.aire.cdmx.gob.mx 7. Boisa, N., Elom, N., Dean, J. R., Deary, M. E., Bird, G., & Entwistle, J. A. (2014). Development and application of an inhalation

bioaccessibility method (IBM) for lead in the PM10 size fraction of soil. *Environment international*, 70, 132-142. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.021>

8. Bologna-Molina, R., Mosqueda-Taylor, A., Molina-Frechero, N., Mori-Estevez, A. D., & Sánchez-Acuña, G. (2013). Comparison of the value of PCNA and Ki-67 as markers of cell proliferation in ameloblastic tumors. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, 18(2), e174-e179. <https://doi.org/10.4317/medoral.18573>

9. Brock, T., & Stopford, W. (2003). Bioaccessibility of metals in human health risk assessment: evaluating risk from exposure to cobalt compounds. *Journal of environmental monitoring: JEM*, 5(4), 71N-76N. <https://doi.org/10.1039/b307520f>

10. Calderón-Garcidueñas, L., Kulesza, R. J., Doty, R. L., D'Angiulli, A., Torres-Jardón, R. (2015). Megacities air pollution problems: Mexico City Metropolitan Area critical issues on the central nervous system pediatric impact. *Environmental research*, 137, 157-169. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2014.12.012>

11. Cao, Q., Rui, G., & Liang, Y. (2018). Study on PM2.5 pollution and the mortality due to lung cancer in China based on geographic weighted regression model. *BMC public health*, 18(1), 925. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5844-4>

12. Carabali, G., Villanueva-Macias, J., Ladino, L.A. et al. Characterization of aerosol particles during a high pollution episode over Mexico City. *Sci Rep* 11, 22533 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-01873-4>

13. Celo, V., Yassine, M. M., & Dabek-Zlotorzynska, E. (2021). Insights into Elemental Composition and Sources of Fine and Coarse Particulate Matter in Dense Traffic Areas in Toronto and Vancouver, Canada. *Toxics*, 9(10), 264. <https://doi.org/10.3390/toxics9100264>

14. César, A. C., Carvalho, J. A., Jr, & Nascimento, L. F. (2015). Association between NOx exposure and deaths caused by respiratory

diseases in a medium-sized Brazilian city. Brazilian journal of medical and biological research. *Revista brasileira de pesquisas medicas e biologicas*, 48(12), 1130-1135. <https://doi.org/10.1590/1414-431X20154396>

15. Chen, T. M., Gokhale, J., Shofer, S., & Kuschner, W. G. (2007). Outdoor air pollution: nitrogen dioxide, sulfur dioxide, and carbon monoxide health effects. *The American journal of the medical sciences*, 333(4), 249-256. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e31803b900f>

16. Cheng, Y., Lee, S., Gu, Z., Ho, K., Zhang, Y., Huang, Y., Zhang, R. (2015). PM_{2.5} and PM_{10-2.5} chemical composition and source apportionment near a Hong Kong roadway. *Particuology*, 18, 96-104. doi:10.1016/j.partic.2013.10.003.

17. Chow, J. C., Watson, J. G., Edgerton, S. A., & Vega, E. (2002). Chemical composition of PM_{2.5} and PM₁₀ in Mexico City during winter 1997. *The Science of the total environment*, 287(3), 177-201. [https://doi.org/10.1016/s0048-9697\(01\)00982-2](https://doi.org/10.1016/s0048-9697(01)00982-2)

18. Ciabattini, M., Rizzello, E., Lucaroni, F., Palombi, L., & Boffetta, P. (2021). Systematic review and meta-analysis of recent high-quality studies on exposure to particulate matter and risk of lung cancer. *Environmental research*, 196, 110440. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110440>

19. Coleman, N. C., Burnett, R. T., Ezzati, M., Marshall, J. D., Robinson, A. L., & Pope, C. A., 3rd (2020). Fine Particulate Matter Exposure and Cancer Incidence: Analysis of SEER Cancer Registry Data from 1992-2016. *Environmental health perspectives*, 128(10), 107004. <https://doi.org/10.1289/EHP7246>

20. Colombo, C., Monhemius, A. J., & Plant, J. A. (2008). Platinum, palladium and rhodium release from vehicle exhaust catalysts and road dust exposed to simulated lung fluids. *Ecotoxicology and*

	<p>environmental safety, 71(3), 722-730. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2007.11.011</p> <p>21. Cui, P., Huang, Y., Han, J., Song, F., & Chen, K. (2015). Ambient particulate matter and lung cancer incidence and mortality: a meta-analysis of prospective studies. <i>European journal of public health</i>, 25(2), 324-329. https://doi.org/10.1093/eurpub/cku145</p> <p>22. Dirección General de Gestión de la Calidad del Aire y RETC, Semarnat. México. Agosto de 2018. https://apps1.semarnat.gob.mx:8443/dgeia/informe18/tema/pdf/Cap5_atmosfera.pdf</p> <p>23. Falcon, YI, Cortes L, Martinez E, Hernandez D. (2017). Concentrations of PM2.5 in the northwest of Mexico City: 2004-2006 and 2008-2012. <i>WIT Transactions on Ecology and the Environment</i>, 183, 157-164.</p> <p>24. Feitelson, M. A., Arzumanyan, A., Kulathinal, R. J., Blain, S. W., Holcombe, R. F., Mahajna, J., Marino, M., Martinez-Chantar, M. L., Nawroth, R., Sanchez-Garcia, I., Sharma, D., Saxena, N. K., Singh, N., Vlachostergios, P. J., Guo, S., Honoki, K., Fujii, H., Georgakilas, A. G., Bilstrand, A., Amedei, A., Nowsheen, S. (2015). Sustained proliferation in cancer: Mechanisms and novel therapeutic targets. <i>Seminars in cancer biology</i>, 35 Suppl(Suppl), S25-S54. https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2015.02.006</p> <p>25. Fouad, Y. A., & Aanei, C. (2017). Revisiting the hallmarks of cancer. <i>American journal of cancer research</i>, 7(5), 1016-1036.</p> <p>26. Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., Knight, A. R., Taylor, E. L., Oettrich, J., Ruskovska, T., Gasparovic, A. C., Cuadrado, A., Weber, D., Poulsen, H. E., Grune, T., Schmidt, H. H., & Ghezzi, P. (2015). Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. <i>Antioxidants & redox signaling</i>, 23(14), 1144-1170. https://doi.org/10.1089/ars.2015.6317</p>
--	---

27. Fu, J., Jiang, D., Lin, G., Liu, K., & Wang, Q. (2015). An ecological analysis of PM_{2.5} concentrations and lung cancer mortality rates in China. *BMJ open*, 5(11), e009452. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2015-009452>
28. Ghazipura, M., Garshick, E., & Cromar, K. (2019). Ambient pm_{2.5} exposure and risk of lung cancer incidence in North America and Europe. *Environmental Research Communications*, 1(1), Article 015004. <https://doi.org/10.1088/2515-7620/ab06e9>
29. Gönenc, A., Ozkan, Y., Torun, M., & Simşek, B. (2001). Plasma malondialdehyde (MDA) levels in breast and lung cancer patients. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*, 26(2), 141-144. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2710.2001.00334.x>
30. Gualtieri, M., Ovrevik, J., Mollerup, S., Asare, N., Longhin, E., Dahlman, H. J., Camatini, M., & Holme, J. A. (2011). Airborne urban particles (Milan winter-PM_{2.5}) cause mitotic arrest and cell death: Effects on DNA, mitochondria, AhR binding and spindle organization. *Mutation research*, 713(1-2), 18-31. <https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2011.05.011>
31. Guney, M., Chapuis, R. P., & Zagury, G. J. (2016). Lung bioaccessibility of contaminants in particulate matter of geological origin. *Environmental science and pollution research international*, 23(24), 24422-24434. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6623-3>
32. Guo, Z., Hong, Z., Dong, W., Deng, C., Zhao, R., Xu, J., Zhuang, G., & Zhang, R. (2017). PM_{2.5}-Induced Oxidative Stress and Mitochondrial Damage in the Nasal Mucosa of Rats. *International journal of environmental research and public health*, 14(2), 134. <https://doi.org/10.3390/ijerph14020134>
33. Han, X., & Zhuang, Y. (2021). PM_{2.5} induces autophagy-mediated cell apoptosis via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway in mice bronchial epithelium cells. *Experimental and therapeutic medicine*, 21(1), 1. <https://doi.org/10.3892/etm.2020.9433>

34. Hanahan D. (2022). Hallmarks of Cancer: New Dimensions. *Cancer discovery*, 12(1), 31-46. <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>

35. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2000). The hallmarks of cancer. *Cell*, 100(1), 57-70. [https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9)

36. Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, 144(5), 646-674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>

37. Hanley, M.E., Patel, P.H. (2016). Carbon Monoxide Toxicity. [Updated 2023 Jan 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK430740/>

38. Hernández-López, A.E., Campo, J.M., Mugica-Álvarez, V., Hernández-Valle, B.L., Mejía-Ponce, L.V., Pineda-Santamaría, J.C., Reynoso-Cruces, S., Mendoza-Flores, J.A., & Rozanes-Valenzuela, D. (2020). A study of PM2.5 elemental composition in southwest Mexico City and development of receptor models with positive matrix factorization. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 37, 66-88. <https://doi.org/10.20937/RICA.54066>

39. Hernández-Pellón, A., Nischkauer, W., Limbeck, A., & Fernández-Olmo, I. (2018). Metal(loid) bioaccessibility and inhalation risk assessment: A comparison between an urban and an industrial area. *Environmental research*, 165, 140-149. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.04.014>

40. Hewala, T. I., Abo Elsoud, M. A. (2019). The clinical significance of serum oxidative stress biomarkers in breast cancer females. *Medical Research Journal*, 4(1), 1-7. DOI: 10.5603/MRJ.a2018.0039.

41. Hinojosa-Baliño, I., Infante-Vázquez, O., Vallejo, M. (2019). Distribution of PM2.5 Air Pollution in Mexico City: Spatial Analysis with

	<p>Land-Use Regression Model. <i>Applied Sciences</i>, 9(14), 2936. https://doi.org/10.3390/app9142936</p> <p>42. Hu, R., Xie, X. Y., Xu, S. K., Wang, Y. N., Jiang, M., Wen, L. R., Lai, W., & Guan, L. (2017). PM2.5 Exposure Elicits Oxidative Stress Responses and Mitochondrial Apoptosis Pathway Activation in HaCaT Keratinocytes. <i>Chinese medical journal</i>, 130(18), 2205-2214. https://doi.org/10.4103/0366-6999.212942</p> <p>43. Huang, F., Pan, B., Wu, J., Chen, E., & Chen, L. (2017). Relationship between exposure to PM2.5 and lung cancer incidence and mortality: A meta-analysis. <i>Oncotarget</i>, 8(26), 43322-43331. https://doi.org/10.18632/oncotarget.17313</p> <p>44. INEGI, Censo de Población y Vivienda (2010). Perfil sociodemográfico: Instituto Nacional Estadística y Geografía, México, c2013 (xii), p294. ISBN 978-607-494-531-7.</p> <p>45. Innes, E., Yiu, H. H. P., McLean, P., Brown, W., & Boyles, M. (2021). Simulated biological fluids - a systematic review of their biological relevance and use in relation to inhalation toxicology of particles and fibres. <i>Critical reviews in toxicology</i>, 51(3), 217-248. https://doi.org/10.1080/10408444.2021.1903386</p> <p>46. Jan, A. T., Azam, M., Siddiqui, K., Ali, A., Choi, I., & Haq, Q. M. (2015). Heavy Metals and Human Health: Mechanistic Insight into Toxicity and Counter Defense System of Antioxidants. <i>International journal of molecular sciences</i>, 16(12), 29592-29630. https://doi.org/10.3390/ijms161226183</p> <p>47. Khalaf, E. M., Mohammadi, M. J., Sulistiyani, S., Ramírez-Coronel, A. A., Kiani, F., Jalil, A. T., Almulla, A. F., Asban, P., Farhadi, M., & Derikondi, M. (2022). Effects of sulfur dioxide inhalation on human health: a review. <i>Reviews on environmental health</i>, 39(2), 331-337. https://doi.org/10.1515/reveh-2022-0237</p> <p>48. Kim, S. Y., Kim, E., & Kim, W. J. (2020). Health Effects of Ozone on Respiratory Diseases. <i>Tuberculosis and respiratory</i></p>
--	---

diseases,	83(Supple	1),	S6-S11.
https://doi.org/10.4046/trd.2020.0154			
49. Kowalska, M., Skrzypek, M., Kowalski, M., & Cyrus, J. (2020). Effect of NOx and NO2 Concentration Increase in Ambient Air to Daily Bronchitis and Asthma Exacerbation, Silesian Voivodeship in Poland. <i>International journal of environmental research and public health</i> , 17(3), 754. https://doi.org/10.3390/ijerph17030754			
50. Koyama, H., Kamogashira, T., & Yamasoba, T. (2024). Heavy Metal Exposure: Molecular Pathways, Clinical Implications, and Protective Strategies. <i>Antioxidants (Basel, Switzerland)</i> , 13(1), 76. https://doi.org/10.3390/antiox13010076			
51. Lepara, Z., Lepara, O., Fajkić, A., Rebić, D., Alić, J., & Spahović, H. (2020). Serum malondialdehyde (MDA) level as a potential biomarker of cancer progression for patients with bladder cancer. <i>Romanian journal of internal medicine = Revue roumaine de medecine interne</i> , 58(3), 146-152. https://doi.org/10.2478/rjim-2020-0008			
52. Li, J., Lu, X., Liu, F., Liang, F., Huang, K., Yang, X., Xiao, Q., Chen, J., Liu, X., Cao, J., Chen, S., Shen, C., Yu, L., Lu, F., Wu, X., Zhao, L., Wu, X., Li, Y., Hu, D., Huang, J., Gu, D. (2020). Chronic Effects of High Fine Particulate Matter Exposure on Lung Cancer in China. <i>American journal of respiratory and critical care medicine</i> , 202(11), 1551-1559. https://doi.org/10.1164/rccm.202001-0002OC			
53. Li, N., Hao, M., Phalen, R. F., Hinds, W. C., & Nel, A. E. (2003). Particulate air pollutants and asthma. A paradigm for the role of oxidative stress in PM-induced adverse health effects. <i>Clinical immunology (Orlando, Fla.)</i> , 109(3), 250-265. https://doi.org/10.1016/j.clim.2003.08.006			
54. Li, Y., Xu, X., Wang, L., Li, X., Liu, R., Zhang, L., & Xu, Y. (2021). REDD1 (regulated in development and DNA damage-1)/autophagy inhibition ameliorates fine particulate matter (PM2.5) -			

	<p>induced inflammation and apoptosis in BEAS-2B cells. <i>Bioengineered</i>, 12(1), 1403-1414. https://doi.org/10.1080/21655979.2021.1917227</p> <p>55. Liu, X., Ouyang, W., Shu, Y., Tian, Y., Feng, Y., Zhang, T., & Chen, W. (2019). Incorporating bioaccessibility into health risk assessment of heavy metals in particulate matter originated from different sources of atmospheric pollution. <i>Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)</i>, 254(Pt B), 113113. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113113</p> <p>56. Longhin, E., Holme, J.A., Gutzkow, K.B. (2013). Cell cycle alterations induced by urban PM2.5 in bronchial epithelial cells: characterization of the process and possible mechanisms involved. <i>Part Fibre Toxicol</i> 10, 63. https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-63</p> <p>57. Mamkhezri, J., Bohara, A. K., & Islas Camargo, A. (2020). Air pollution and daily mortality in the Mexico City Metropolitan Area. <i>Atmósfera</i>, 33(3), 249-267. https://doi.org/10.20937/atm.52557</p> <p>58. Manisalidis, I., Stavropoulou, E., Stavropoulos, A., & Bezirtzoglou, E. (2020). Environmental and Health Impacts of Air Pollution: A Review. <i>Frontiers in public health</i>, 8, 14. https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.00014</p> <p>59. Maurya, R. P., Prajapat, M. K., Singh, V. P., Roy, M., Todi, R., Bosak, S., Singh, S. K., Chaudhary, S., Kumar, A., & Morekar, S. R. (2021). Serum Malondialdehyde as a Biomarker of Oxidative Stress in Patients with Primary Ocular Carcinoma: Impact on Response to Chemotherapy. <i>Clinical ophthalmology (Auckland, N.Z.)</i>, 15, 871-879. https://doi.org/10.2147/OPHTH.S287747</p> <p>60. Moss O. R. (1979). Simulants of lung interstitial fluid. <i>Health physics</i>, 36(3), 447-448.</p> <p>61. Mühlfeld, C., Rothen-Rutishauser, B., Blank, F., Vanhecke, D., Ochs, M., & Gehr, P. (2008). Interactions of nanoparticles with pulmonary structures and cellular responses. <i>American journal of</i></p>
--	--

	<p>physiology. Lung cellular and molecular physiology, 294(5), L817-L829. https://doi.org/10.1152/ajplung.00442.2007</p> <p>62. NORMA Oficial Mexicana NOM-020-SSA1-2021, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al ozono (O3). Valores normados para la concentración de ozono (O3) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5633956&fecha=28/10/2021#gsc.tab=0</p> <p>63. NORMA Oficial Mexicana NOM-021-SSA1-2021, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al monóxido de carbono (CO). Valores normados para la concentración de monóxido de carbono (CO) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5634084&fecha=29/10/2021#gsc.tab=0</p> <p>64. NORMA Oficial Mexicana NOM-022-SSA1-2019, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al dióxido de azufre (SO2). Valores normados para la concentración de dióxido de azufre (SO2) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5568395&fecha=20/08/2019#gsc.tab=0</p> <p>65. NORMA Oficial Mexicana NOM-023-SSA1-2021, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente, con respecto al dióxido de nitrógeno (NO2). Valores normados para la concentración de dióxido de nitrógeno (NO2) en el aire ambiente, como medida de protección a la salud de la población. https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5633854&fecha=27/10/2021#gsc.tab=0</p>
--	---

	<p>66. NORMA Oficial Mexicana NOM-025-SSA1-2014, Salud ambiental. Valores límite permisibles para la concentración de partículas suspendidas PM10 y PM2.5 en el aire ambiente y criterios para su evaluación. https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5357042&fecha=20/08/2014#gsc.tab=0</p> <p>67. NORMA Oficial Mexicana NOM-026-SSA1-1993, Salud ambiental. Criterio para evaluar la calidad del aire ambiente con respecto al plomo (Pb). Valor normado para la concentración de plomo (Pb) en el aire ambiente como medida de protección a la salud de la población.</p> <p>68. Oroumihyeh, F., Jerrett, M., Del Rosario, I., Lipsitt, J., Liu, J., Paulson, S. E., Ritz, B., Schauer, J. J., Shafer, M. M., Shen, J., Weichenthal, S., Banerjee, S., & Zhu, Y. (2022). Elemental composition of fine and coarse particles across the greater Los Angeles area: Spatial variation and contributing sources. <i>Environmental pollution (Barking, Essex: 1987)</i>, 292(Pt A), 118356. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118356</p> <p>69. Park, D., Anisuzzaman, A. S. M., Magis, A. T., Chen, G., Xie, M., Zhang, G., Behera, M., Sica, G. L., Ramalingam, S. S., Owonikoko, T. K., & Deng, X. (2021). Discovery of Small Molecule Bak Activator for Lung Cancer Therapy. <i>Theranostics</i>, 11(17), 8500-8516. https://doi.org/10.7150/thno.60349</p> <p>70. Peddireddy, V., Siva Prasad, B., Gundimeda, S. D., Penagaluru, P. R., & Mundluru, H. P. (2012). Assessment of 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine and malondialdehyde levels as oxidative stress markers and antioxidant status in non-small cell lung cancer. <i>Biomarkers: biochemical indicators of exposure, response, and susceptibility to chemicals</i>, 17(3), 261–268. https://doi.org/10.3109/1354750X.2012.664169</p>
--	---

71. Peña-Blanco, A., & García-Sáez, A. J. (2018). Bax, Bak and beyond - mitochondrial performance in apoptosis. *The FEBS journal*, 285(3), 416–431. <https://doi.org/10.1111/febs.14186>

72. Peng, H., Zhao, X. H., Bi, T. T., Yuan, X. Y., Guo, J. B., & Peng, S. Q. (2017). PM2.5 obtained from urban areas in Beijing induces apoptosis by activating nuclear factor-kappa B. *Military Medical Research*, 4(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s40779-017-0136-3>

73. Poma, A., Limongi, T., Pisani, C., Granato, V., & Picozzi, P. (2006). Genotoxicity induced by fine urban air particulate matter in the macrophages cell line RAW 264.7. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA*, 20(6), 1023-1029. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2006.01.014>

74. Pyo, J. S., Kim, N. Y., & Kang, D. W. (2022). Impacts of Outdoor Particulate Matter Exposure on the Incidence of Lung Cancer and Mortality. *Medicina (Kaunas, Lithuania)*, 58(9), 1159. <https://doi.org/10.3390/medicina58091159>

75. Qian, S., Wei, Z., Yang, W., Huang, J., Yang, Y., & Wang, J. (2022). The role of BCL-2 family proteins in regulating apoptosis and cancer therapy. *Frontiers in oncology*, 12, 985363. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.985363>

76. Rašić, I., Rašić, A., Akšamija, G., & Radović, S. (2018). The relationship between serum level of malondialdehyde and progression of colorectal cancer. *Acta clinica Croatica*, 57(3), 411-416. <https://doi.org/10.20471/acc.2018.57.03.02>

77. Riss, T.L., Moravec, R.A., Niles, A.L. (2016). Cell Viability Assays. 2013 May 1 [Updated 2016 Jul 1]. In: Markossian S, Grossman A, Arkin M, et al., editors. Assay Guidance Manual [Internet]. Bethesda (MD): Eli Lilly & Company and the National Center for Advancing Translational Sciences; 2004. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK144065/>

78. Ruíz-Godoy, L., Rizo Rios, P., Sánchez Cervantes, F., Osornio-Vargas, A., García-Cuellar, C., & Meneses García, A. (2007). Mortality due to lung cancer in Mexico. *Lung cancer (Amsterdam, Netherlands)*, 58(2), 184-190. <https://doi.org/10.1016/j.lungcan.2007.06.007>

79. Sharma, S. K., Mandal, T. K. (2023). Elemental Composition and Sources of Fine Particulate Matter (PM2.5) in Delhi, India. *Bull Environ Contam Toxicol*, 110 (60). <https://doi.org/10.1007/s00128-023-03707-7>

80. Stephens, E. K. H., Marshall, H. M., Chin, V., & Fong, K. M. (2023). Air pollution and lung cancer-A new era. *Respirology (Carlton, Vic.)*, 28(4), 313-315. <https://doi.org/10.1111/resp.14464>

81. Stopford, W., Turner, J., Cappellini, D., & Brock, T. (2003). Bioaccessibility testing of cobalt compounds. *Journal of environmental monitoring : JEM*, 5(4), 675-680. <https://doi.org/10.1039/b302257a>

82. Sun, S., Zheng, N., Wang, S., Li, Y., Hou, S., An, Q., Chen, C., Li, X., Ji, Y., & Li, P. (2022). Inhalation Bioaccessibility and Risk Assessment of Metals in PM2.5 Based on a Multiple-Path Particle Dosimetry Model in the Smelting District of Northeast China. *International journal of environmental research and public health*, 19(15), 8915. <https://doi.org/10.3390/ijerph19158915>

83. Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 71(3), 209-249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>

84. Téllez-Rojo, M. M., Romieu, I., Ruiz-Velasco, S., Lezana, M. A., & Hernández-Avila, M. M. (2000). Daily respiratory mortality and PM10 pollution in Mexico City: importance of considering place of death. *The European respiratory journal*, 16(3), 391-396. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3003.2000.016003391.x>

85. Thangavel, P., Park, D., & Lee, Y. C. (2022). Recent Insights into Particulate Matter (PM_{2.5})-Mediated Toxicity in Humans: An Overview. *International journal of environmental research and public health*, 19(12), 7511. <https://doi.org/10.3390/ijerph19127511>

86. Ugalde-Resano, R., Riojas-Rodríguez, H., Texcalac-Sangrador, J. L., Cruz, J. C., & Hurtado-Díaz, M. (2022). Short term exposure to ambient air pollutants and cardiovascular emergency department visits in Mexico city. *Environmental research*, 207, 112600. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112600>

87. Valko, M., Morris, H., & Cronin, M. T. (2005). Metals, toxicity and oxidative stress. *Current medicinal chemistry*, 12(10), 1161-1208. <https://doi.org/10.2174/0929867053764635>

88. Wang, W., Meng, L., Hu, Z., Yuan, X., Zeng, W., Li, K., Luo, H., Tang, M., Zhou, X., Tian, X., Luo, C., He, Y., & Yang, S. (2022). The association between outdoor air pollution and lung cancer risk in seven eastern metropolises of China: Trends in 2006-2014 and sex differences. *Frontiers in oncology*, 12, 939564. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.939564>

89. Wei, H., Yuan, W., Yu, H., & Geng, H. (2021). Cytotoxicity induced by fine particulate matter (PM_{2.5}) via mitochondria-mediated apoptosis pathway in rat alveolar macrophages. *Environmental science and pollution research international*, 28(20), 25819-25829. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12431-w>

90. Yang, L., Wang, N., Liu, S., Xiao, Q., Geng, G., Zhang, X., Li, H., Zheng, Y., Guo, F., Li, Q., Li, J., Ren, A., Xue, T., & Ji, J. (2023). The PM_{2.5} concentration reduction improves survival rate of lung cancer in Beijing. *The Science of the total environment*, 858(Pt 2), 159857. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159857>

91. Zhang, Y., Yang, D., Yang, B., Li, B., Guo, J., & Xiao, C. (2019). PM_{2.5} induces cell cycle arrest through regulating mTOR/P70S6K1

	signaling pathway. <i>Experimental and therapeutic medicine</i> , 17(6), 4371-4378. https://doi.org/10.3892/etm.2019.7466
--	---

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.