



Metaplasia de vías aéreas asociada a tabaquismo y contaminación ambiental mediante esputo

Floribel Ferman-Cano,^a Fernando Padilla-Santamaría,^b Luis Ángel Moreno-Venegas,^b Carlos Alejandro Torner-Aguilar,^c Miguel Ángel Molina-Molina^b

Airway metaplasia related to smoking and environmental pollution through sputum

Background: Both environmental pollution and smoking affect the respiratory epithelium, causing cellular adaptation changes. Therefore, this work explores the presence of metaplasia in smokers compared with non-smokers from Mexico City.

Methods: A prospective cohort study was performed. The sample was performed through a home interview covering the five Mexico City zones delimited to the study and monitoring of air quality. We searched metaplastic cells and inflammation in sputum cytology stained with Papanicolaou technique, and we assessed the air quality in Mexico City. We calculated relative risk (RR) and attributable risk (AR) in relation to the presence of metaplasia and smoking.

Results: We performed 1897 home interviews obtaining a final sample of 30 participants. There were no significant differences between smokers and non-smokers with the presence of metaplastic cells ($p = 0.269$), although the association of metaplastic cells and inflammation showed a significant difference in the non-smokers group ($p = 0.010$). The RR in association with the presence of metaplasia in sputum cytology and smoking was 1.6, and the RA was 0.2.

Conclusions: The air quality in this city has led the population to undergo changes of cellular adaptation in the respiratory epithelium by the simple fact of being exposed to environmental pollution. Metaplastic changes in non-smokers suggest strongly that pollution causes the same effect as smoking.

Keywords Palabras clave

Metaplasia	Metaplasia
Sputum	Esputo
Smoking	Hábito de fumar
Environmental pollution	Contaminación ambiental
Mexico	México

El tabaquismo es un problema mundial. Cada año, la epidemia de tabaquismo provoca la muerte de 5 400 000 personas en el mundo; con esta tendencia se prevé que para el año 2030 la cifra aumentará a más de 8 000 000 anuales,¹ esto sin contar las estimaciones epidemiológicas de adaptación celular en las vías aéreas, debido al daño que produce la contaminación ambiental. En México, se ha observado que la prevalencia de tabaquismo va en aumento en la población mayor de 18 años.² La tendencia del total de personas de entre 12 y 65 años de edad para consumir cualquier tipo de droga (entre ellas el cigarrillo) ha aumentado en un 0.5% tan solo del 2001 al 2011 en México, donde los hombres abarcan la mayor parte de este porcentaje.³

Tanto la contaminación ambiental como el tabaquismo afectan el funcionamiento normal del epitelio respiratorio, debido al desequilibrio entre la producción de radicales libres y enzimas antioxidantes, lo cual provoca estrés oxidativo que conlleva al desarrollo de inflamación crónica que desencadena un proceso de adaptación celular (figura 1) inicialmente reversible (metaplasia) y, en etapas más avanzadas, irreversible (displasia).⁴⁻⁷

La metaplasia es generalmente un cambio reversible si se eliminan las condiciones estresantes que la inducen.⁴⁻⁶ Cuando está asociada a tabaquismo, la prevención primaria (ayudar al paciente a dejar ese hábito) es la estrategia más efectiva para reducir el riesgo de desarrollo de trastornos pulmonares, como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), enfermedades cardiovasculares, neurológicas y, en casos más graves, cáncer pulmonar (el tabaquismo se asocia al 90% de estos casos).⁸

La citología de esputo (o expectoración) ha sido empleada en la detección y seguimiento de carcinoma pulmonar, EPOC, asma, fibrosis quística, entre otras,⁹⁻¹³ ya que por su sensibilidad y especificidad es de utilidad diagnóstica, además de ser un método de bajo costo, no invasivo y de rápido análisis cuando

^aServicio de Anatomía Patológica, Hospital de Pediatría "Silvestre Frenk Freund", Centro Médico Nacional Siglo XXI, Instituto Mexicano del Seguro Social

^bDivisión de Ciencias Biológicas y de la Salud

^cLaboratorio de Neurociencias, Departamento de Atención a la Salud

^{b,c}Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco

Ciudad de México, México

Comunicación con: Floribel Ferman-Cano
Correo electrónico: f_fermancano@outlook.com
Teléfono: (55) 1365 6653

Introducción: la contaminación ambiental y el tabaquismo afectan el epitelio respiratorio y provocan cambios de adaptación celular. Se buscó explorar la presencia de metaplasias en sujetos fumadores y no fumadores, residentes de la Ciudad de México (CDMX) y expuestos desde su nacimiento a la contaminación ambiental de esta ciudad.

Métodos: estudio de cohorte prospectivo cuya muestra se seleccionó con base en entrevistas a domicilio que cubrieron las cinco zonas de la CDMX en las que se monitorea la calidad del aire. Se buscaron células con cambios metaplásicos e inflamatorios en citologías de esputo teñidas con la técnica Papanicolaou, además de valorar la calidad del aire de la CDMX. Se calculó riesgo relativo (RR) y riesgo atribuible (RA) en relación con la presencia de metaplasias y tabaquismo.

Resultados: se realizaron 1897 entrevistas; se obtuvo una muestra final de 30 personas en las que no hubo diferencias significativas entre sujetos con hábito tabáquico y no fumadores en cuanto a presencia de células metaplásicas ($p = 0.269$); la relación de células metaplásicas e inflamación tuvo una diferencia significativa en el grupo de no fumadores ($p = 0.010$). El RR en relación con la presencia de metaplasias en las citologías de esputo y tabaquismo fue de 1.6, y el RA fue de 0.2.

Conclusiones: la calidad del aire en la CDMX ha llevado a la población a sufrir cambios de adaptación celular en el epitelio respiratorio solo por estar expuestos a la contaminación ambiental. Los cambios metaplásicos en los no fumadores indican que la contaminación causa el mismo efecto que fumar.

Resumen

la muestra es adecuada para su estudio, se considera una muestra adecuada cuando cuenta con macrófagos alveolares o células cilíndricas ciliadas.^{10,14} Por lo anterior, en el presente estudio se utilizó esta técnica para evaluar la presencia de metaplasias e inflamación en sujetos fumadores que viven en la Ciudad de México y se comparó con la de los no fumadores, ambos grupos expuestos a la contaminación ambiental, con el fin de estudiar la presencia de estos cambios de adaptación celular con respecto a estos factores de riesgo en la actualidad.

con exposición a micropartículas, contaminantes o sustancias nocivas, tales como la carpintería, elaboración de ladrillos, panadería, minería, alta exposición al esmog (por ejemplo: empleados de autolavados, estacionamientos, gasolineras, etcétera), trabajar en fábricas, tener la albañilería como oficio, trabajar en oficinas con papeles antiguos (polvo y moho), tener otras toxicomanías además del tabaquismo, haber residido en alguna etapa de su vida en una casa hecha con materiales de asbesto, o tener algún proceso infeccioso.

Métodos

Se realizó un estudio de cohorte prospectivo de mayo de 2014 a agosto de 2016 para el cual se consideraron un grupo de personas fumadoras y otro de no fumadoras, ambos expuestos a la contaminación ambiental de la Ciudad de México. Los criterios de inclusión para el grupo de fumadores fueron: tener una edad de 20 años o más, un índice tabáquico (IT) de 6 o más ($IT = [\text{número de cigarrillos que fuma al día} \times \text{número de años como fumador activo}] / 20$), residir desde su nacimiento en la Ciudad de México, tener cinco años o más de ser fumador activo y estar expuesto durante un promedio mínimo de cinco horas diarias a espacios exteriores. Los criterios de inclusión para el grupo de no fumadores fueron: no haber fumado en algún momento de su vida, tener 20 años de edad o más, residir desde su nacimiento en la Ciudad de México, tener nula convivencia (familiar y laboral) con fumadores activos y estar expuesto durante un promedio mínimo de cinco horas diarias a espacios exteriores. Los criterios de exclusión para ambos grupos fueron: tener diagnosticada cualquier enfermedad de vías respiratorias (tanto enfermedades agudas como crónicas), estar bajo tratamiento médico de cualquier tipo, cocinar con leña de forma habitual, dedicarse a profesiones u oficios

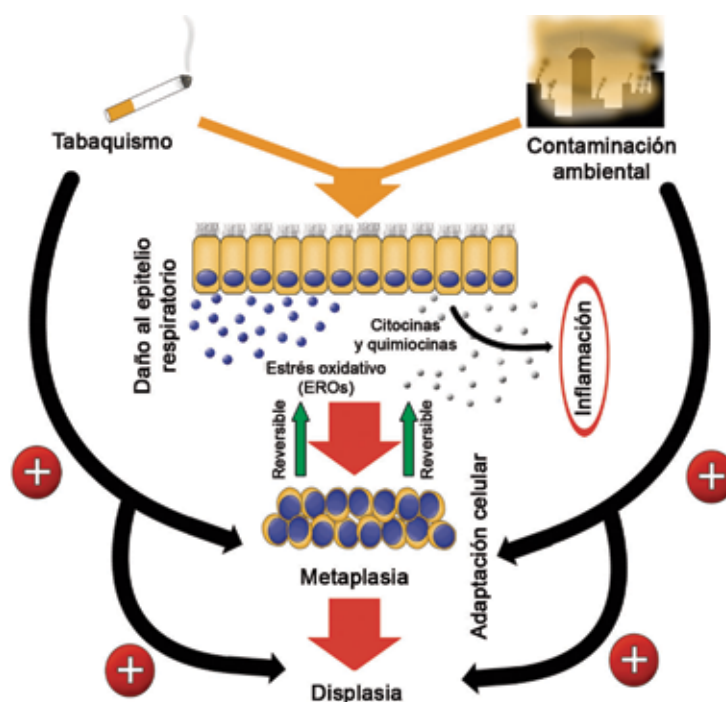


Figura 1 Daño al epitelio respiratorio debido al tabaquismo y la contaminación ambiental; estos causan procesos inflamatorios, los cuales a su vez generan cambios de adaptación celular que pueden ser reversibles (metaplasia) o irreversibles (displasia)

Todos los participantes aceptaron voluntariamente formar parte de los grupos de estudio y firmaron una carta de consentimiento informado, en la cual se les explicaron de forma general y con un lenguaje sencillo los objetivos, riesgos y la metodología de este estudio.

Muestreo

Todos los participantes fueron seleccionados a partir de un muestreo aleatorizado en la Ciudad de México. En este se tomaron en cuenta la división de zonas que emplea la Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México (SEDEMA) para el estudio y monitoreo de la contaminación ambiental (noreste, noroeste, sureste, suroeste y centro);¹⁴ posteriormente, de cada delegación sorteada se eligieron de la misma forma algunas colonias y calles, para después buscar personas que cumplieran con nuestros criterios de inclusión y exclusión a través de una entrevista y un cuestionario (figura 2).

Recolección de las muestras de esputo

Se recolectaron tres muestras de esputo satisfactorias de cada participante al inicio y al final de este estudio, compuestas de la primera expectoración del día (con un intervalo de siete días entre una muestra

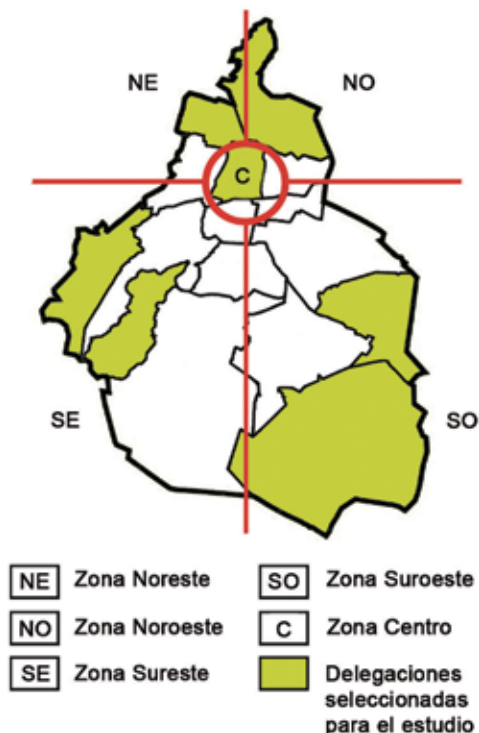


Figura 2 Delegaciones seleccionadas para nuestro estudio mediante muestreo aleatorizado. Las zonas están delimitadas por la Secretaría del Medio Ambiente (SEDEMA) para el estudio de la calidad del aire en la Ciudad de México

y la siguiente). Los participantes fueron preparados una noche antes de la toma de cada muestra con las indicaciones de beber por lo menos un litro de agua simple, y en la mañana siguiente no lavarse los dientes, no usar enjuague bucal y no ingerir alimentos ni bebidas antes de proporcionar su expectoración. Cada muestra se obtuvo en forma directa, recolectada en un vaso estéril nuevo; posteriormente, se realizó un frotis del esputo sobre un portaobjetos utilizando un hisopo (para evitar la contaminación de la muestra, los recolectores utilizaron cubrebocas de alta eficiencia, así como guantes de látex estériles). La muestra fue fijada con Cito-Spray, solución aerosol. Adicionalmente, se aplicó un cuestionario que permitió obtener más datos acerca del estilo de vida de los sujetos que conformaron la muestra. Los resultados del análisis de las citologías fueron comunicados a cada participante, de acuerdo con lo estipulado en la declaración de Helsinki y la Ley General de Salud.

Tinción y análisis de las muestras

La presencia de metaplasias fue evaluada mediante citología de esputo, para lo cual las muestras fueron teñidas usando la técnica Papanicolaou.¹⁵ Las laminillas ya teñidas fueron analizadas en el microscopio óptico por un patólogo cegado a los datos clínicos de cada paciente y al grupo que pertenecía cada muestra (estudio en ciego), con lo cual se buscó disminuir el posible sesgo por interpretación subjetiva. La evaluación de la citología se hizo de forma cualitativa nominal para las metaplasias (positivo o negativo) y la presencia de inflamación se consideró de forma cualitativa ordinal: leve (+), moderada (++) e intensa (+++).

Análisis de la calidad del aire

Calculamos el promedio anual de los niveles de contaminantes a partir de los datos del Sistema de Monitoreo Atmosférico de la Ciudad de México (SIMAT): dióxido de azufre (SO₂), dióxido de nitrógeno (NO₂), monóxido de carbono (CO), partículas menores de 10 µm de diámetro (PM10) y ozono (O₃), desde enero de 2003 hasta diciembre de 2015. Los valores obtenidos fueron clasificados de acuerdo con lo estipulado por el SIMAT como buenos (0-50), regulares (51-100), malos (101-150), muy malos (151-200) y extremadamente malos (> 200).¹⁶

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron concentrados en una hoja de cálculo de Excel y en el paquete estadístico SPSS 15.0. Se consideró el diagnóstico de metaplasia solo en aquellos sujetos con resultados positivos en las

tres muestras. Para definir el riesgo de desarrollo de metaplasias en vías aéreas que provoca actualmente la exposición al tabaco, se calculó el riesgo relativo (RR) y el riesgo atribuible (RA). Se utilizó chi cuadrada para evaluar la relación entre las variables a partir de considerar una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

Resultados

Se realizaron un total de 1897 entrevistas domiciliarias en la Ciudad de México (21.35% zona noreste, 21.51% zona noroeste, 20.51% zona sureste, 21.19% zona suroeste y 15.45% zona centro). De estas se obtuvo una muestra total inicial de 35 personas que cumplieron con los criterios de inclusión y exclusión para este estudio; 16 participantes integraron el grupo de fumadores y 18 el grupo de no fumadores. Sin embargo, un participante del grupo de fumadores abandonó el estudio debido a una hospitalización y procedimientos quirúrgicos en vías aéreas, mientras que tres personas del grupo de no fumadores también abandonaron el estudio (dos debido a cambio de domicilio y una por iniciar tabaquismo pasivo en su hogar). En los 30 participantes finales de este estudio, 59% fueron hombres y 41% mujeres.

La media de edad para el grupo de fumadores fue de 43.27 años con una desviación estándar de 13.14 años, mientras que para el grupo no fumador fue de 32.87 ± 12.46 años; la edad máxima para el grupo de fumadores fue de 60 años y en el grupo no fumador fue de 55 años.

El conjunto de sujetos fumadores tuvo una media de índice tabáquico de 12.75 ± 1.62 y el promedio de años fumando fue de 26.16 ± 3.46 , mientras que en el grupo de no fumadores dicho índice fue de 0.

Las células encontradas en la citología se muestran en la figura 3, donde es clara la diferencia entre las

células cilíndricas ciliadas (características del epitelio respiratorio sano, figura 3A) y las células metaplásicas (figura 3B), las cuales en este ejemplo se pueden observar en agregados.

Con respecto a la evaluación de presencia de metaplasias entre fumadores y no fumadores, se obtuvo un $RR = 1.6001$, un $RA = 0.2$ y un $RA\% = 37.50$. Ocho sujetos con hábito tabáquico tuvieron células metaplásicas en el esputo, mientras que en los no fumadores cinco presentaron células metaplásicas. Esta asociación de tabaquismo y presencia de metaplasias en esputo no tuvo diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.269$). Por otro lado, con respecto a los infiltrados inflamatorios, en el grupo de fumadores hubo cinco participantes que tuvieron inflamación, mientras que en el grupo no fumador ocho participantes tuvieron infiltrado inflamatorio en el esputo, aunque esta diferencia tampoco fue significativa ($p = 0.3$). Analizando la presencia conjunta de inflamación y metaplasia, solo tres fumadores con metaplasia positiva tuvieron también células inflamatorias en el esputo, y hubo dos fumadores que tuvieron células inflamatorias sin la compañía de células metaplásicas. En el grupo no fumador, todos los sujetos con células metaplásicas ($n = 5$) presentaron también células inflamatorias y hubo solo tres casos con células inflamatorias sin metaplasia. La diferencia estadística entre grupos considerando la presencia de células inflamatorias y metaplasias fue significativa únicamente en el grupo no fumador ($p = 0.010$).

De acuerdo con nuestro cálculo del promedio de contaminantes, la suma de los niveles de SO_2 , NO_2 , CO y PM10 fue calificada como “buena” en todos los años analizados (2003 a 2015). Por otra parte, el ozono se calificó como “regular” en todos los años evaluados, siendo la zona noreste la más afectada. Por su parte, el SIMAT calificó la calidad general del aire como “buena” para estos años.¹⁶

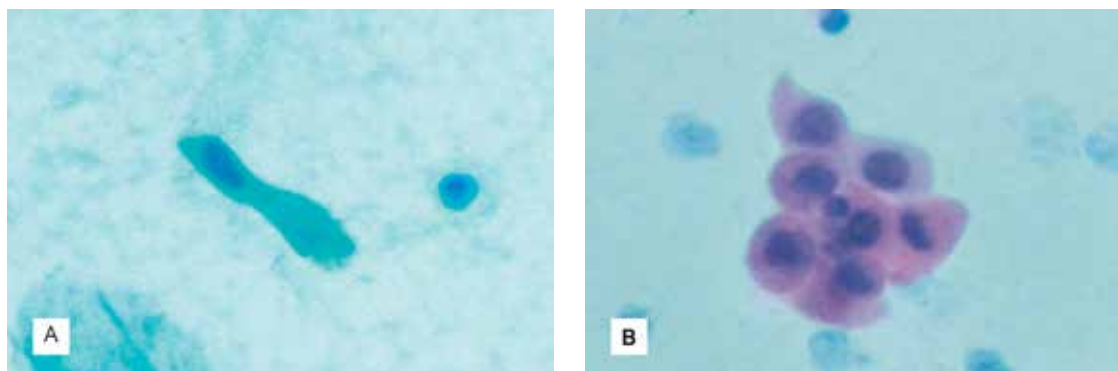


Figura 3 Microfotografías de dos citologías de esputo teñidas con la técnica de Papanicolaou en donde se observa: A) célula cilíndrica ciliada (célula sana, característica del epitelio respiratorio), en la que se puede apreciar el detalle de sus cilios y, B) agregado de células metaplásicas

Conclusiones

La técnica de tinción de Papanicolaou es considerada confiable para la identificación de células metaplásicas y displásicas en la citología de esputo gracias a su alta sensibilidad y especificidad, además de que el procedimiento de expectoración tiene bajo costo, es poco invasivo y proporciona una buena opción para diagnóstico rápido.¹⁷⁻¹⁹

En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre los fumadores y los no fumadores respecto a la presencia de células metaplásicas en los esputos recolectados. Este resultado va en contra de lo esperado, por lo que inferimos que podría deberse a que todos los sujetos estudiados vivían en la Ciudad de México, lo cual implica una alta exposición a factores contaminantes. De este modo, aunque se esperaría encontrar pocas células metaplásicas en los sujetos no fumadores, aparentemente la contaminación alcanza a afectar el epitelio respiratorio, lo que se hace evidente mediante la elevada presencia de células metaplásicas en estos sujetos. Además, la cantidad de citologías con células inflamatorias acompañadas de metaplasias en los sujetos estudiados (principalmente en el grupo de no fumadores) corrobora la hipótesis ya conocida de que la inflamación precede a los cambios de adaptación celular.

Sin embargo, los resultados obtenidos también pueden atribuirse a que nuestra muestra no fue representativa, debido a la alta dificultad para encontrar personas que cumplieran con nuestros criterios de

inclusión y exclusión en esta ciudad. Por otra parte, descartamos que las técnicas empleadas para la recolección y el procesamiento de muestras fueran un factor de confusión para no encontrar diferencias entre fumadores y no fumadores, debido a que todos los procedimientos, desde la recolección hasta la interpretación al microscopio de las muestras, fueron cuidadosamente controlados, además de que se repitieron las tomas en aquellas muestras cuya evaluación indicaba que no procedían del tracto respiratorio bajo (tráquea-bronquios), sino de la orofaringe; se procuró que cada muestra tuviera macrófagos alveolares o células cilíndricas ciliadas.^{10,14}

El tabaquismo continúa siendo un problema de salud de gran importancia y un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades respiratorias, neoplásicas y cardiovasculares. El estrés de las células epiteliales de las vías aéreas se ve manifestado mediante una adaptación celular, la cual representa una señal de alarma que puede servir para detectar estos procesos patológicos. Sin embargo, se ha observado que tanto el tabaquismo como la contaminación ambiental dañan de forma similar las células epiteliales de las vías respiratorias,^{4,20} lo cual es apoyado fuertemente por nuestros resultados.

Si bien los efectos adversos fisiológicos y citológicos que provoca la contaminación ambiental sobre el sistema respiratorio humano ya han sido estudiados, los trabajos previos que buscaron cambios celulares en vías aéreas ocasionados por la contaminación en esta misma ciudad hicieron poca evaluación de la calidad del aire tanto en los años anteriores como en el año en el que se llevaron a cabo, ya que no hacen mención de los niveles de los contaminantes más importantes en relación con las manifestaciones que estos provocan en el sistema respiratorio, así como con la toma de biopsias (procedimiento invasivo).²⁰⁻²⁴

La contaminación del aire es un problema mundial que se observa sobre todo en ciudades muy pobladas con tráfico vehicular elevado y que cuentan con diversas industrias; entre estas ciudades está la Ciudad de México. La geografía de esta hace que el ozono sea el componente más abundante en el aire.^{25,26} Nuestro estudio fue realizado en un periodo en el que había pasado más de una década sin alertas de contingencia ambiental. Los estudios de contaminación aparentemente bajos resultan un tanto paradójicos, ya que no esperábamos encontrar cambios crónicos de adaptación celular en los sujetos no fumadores, debido a que la última vez que se activó la fase 1 de la contingencia ambiental en la Ciudad de México, previa al año 2016, fue el 18 de septiembre de 2002. La fase 1 de contingencia ambiental se activa cuando se tienen más de 200 puntos del Índice Metropolitano de la Calidad del Aire (IMECA), que es cuando la calidad

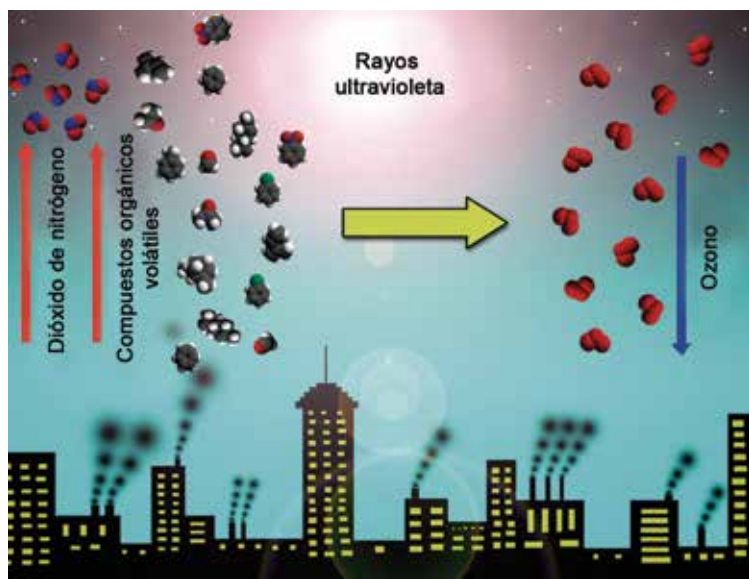


Figura 4 Formación de ozono a partir de una reacción química entre dióxido de nitrógeno y compuestos orgánicos volátiles en presencia de rayos ultravioleta provenientes del sol

del aire es muy dañina para la salud.²⁷ Solo la presencia de niveles elevados de ozono en el aire de la Ciudad de México (que fue el contaminante más elevado en el periodo del estudio) explicaría el daño por estrés oxidativo directamente a las células del epitelio respiratorio en personas no fumadoras que estuvieron expuestas durante aproximadamente cinco horas diarias a la contaminación ambiental de la Ciudad de México.²⁸ El ozono posiblemente estimuló diversos estados de inflamación crónica en ambos grupos de estudio, por lo cual aunque el daño ocasionado por fumar es evidente, alcanza a ser enmascarado clínica y estadísticamente por la elevada presencia de metaplasias en los no fumadores.

Otra hipótesis que proponemos es que el aumento de construcciones no reguladas en esta ciudad conlleva a la tala de árboles en áreas urbanas privadas no protegidas ni contempladas en programas de monitoreo, conservación y reforestación.²⁹ Esto podría ser una causa de los altos niveles de contaminantes del aire, ya que los árboles juegan varios papeles importantes para el ambiente, entre ellos el mantenimiento de la buena calidad del aire.³⁰

Un problema que se ha observado a inicios de 2016 en la Ciudad de México es la presencia de contingencias ambientales de forma habitual. Se ha planteado que el programa para el control del tráfico vehicular llamado “Hoy no circula” no tiene una acción benéfica sobre la calidad del aire cuando se presenta una contingencia ambiental.³¹ Por nuestros resultados, suponemos que el programa “Hoy no circula” no brindará un beneficio para disminuir el daño crónico de las vías respiratorias.

Todo lo anteriormente expuesto más el aumento de compuestos orgánicos volátiles emitidos por fábricas e innumerables artículos de uso cotidiano para el hogar o el trabajo contribuyen al aumento de los niveles de ozono (figura 4).

Este estudio puede tomarse como referencia para extender una búsqueda aún mayor de personas que cumplan nuestros criterios de inclusión y exclusión en esta u otra región. Por el momento, los resultados de nuestro estudio sugieren que los reportes sobre los niveles de contaminantes del aire en esta ciudad, que por sus valores son considerados como “no dañinos” para la salud humana, han llevado a la población al riesgo de sufrir cambios de adaptación celular en el epitelio respiratorio por el simple hecho de estar expuestos a esta contaminación ambiental. De acuerdo con el cálculo de riesgos, concluimos que en nuestro estudio las personas fumadoras tienen 1.6 veces mayor probabilidad de presentar metaplasias en vías aéreas que las personas no fumadoras y que el 37.50% de las personas expuestas al tabaquismo pueden presentar metaplasias en las vías aéreas. Al parecer, no es necesario que haya niveles de contaminación que produzcan estados de “contingencia ambiental” para que el epitelio respiratorio muestre cambios celulares preocupantes.

Declaración de conflicto de interés: los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno que tuviera relación con este artículo.

Referencias

1. World Health Organization (WHO). Report on the Global Tobacco Epidemic 2008. The MPOWER package. Geneva: World Health Organization; 2008. Disponible en <http://www.who.int/tobacco/mpower/2008/en/>
2. Franco-Marina F. Adult smoking trends in Mexico: an analysis of the Mexican National Addiction Surveys. *Salud Publica Mex.* 2007;49(Supl 2):5137-46.
3. Villatoro-Velázquez JA, Medina-Mora ME, Fleiz-Bautista C, Téllez-Rojo MM, Mendoza-Alvarado LR, Romero-Martínez M et al. Encuesta Nacional de Adicciones 2011: Reporte de Drogas. Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRFM)/Instituto Nacional de Salud Pública/Secretaría de Salud. México DF: INPRFM; 2012. Disponible en http://www.conadic.salud.gob.mx/pdfs/ENA_2011_DROGAS_ILICITAS_.pdf
4. Gao W, Li L, Wang Y, Zhang S, M Adcock I, Barnes PJ, et al. Bronchial epithelial cells: The key effector cells in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease? *Respirology.* 2015;20:722-9.
5. Franco-Marina F, Villalba Caloca J, Corcho-Berdugo A; Grupo Interinstitucional de Cáncer Pulmonar. Role of active and passive smoking on lung cancer etiology in Mexico City. *Salud Publica Mex.* 2016;48 (Supl 1):575-82.
6. Trayer DS, Rubin E. Adaptación celular, lesión celular y muerte celular. En: Rubin E, Rubin R, Strayer DS. *Patología: fundamentos clinicopatológicos en medicina.* 6ª ed. España: Wolters Kluwer Health, Lippincott Williams & Wilkins; 2012. pp. 1-46.
7. Schamberger AC, Staab-Weijnitz CA, Mise-Racek N, Eickelberg O. Cigarette smoke alters primary human bronchial epithelial cell differentiation at the air-liquid interface. *Sci Rep.* 2015;5:8163.
8. Burns DM. Primary prevention, smoking, and smoking cessation: implications for future trends in lung cancer prevention. *Cancer.* 2000;89(11 Suppl): 2506-9.
9. Fontana RS, Carr DT, Woolner LB, Miller FT. Value of induced sputum in cytologic diagnosis of lung cancer. *JAMA.* 1965;192(2):134-6.
10. D'Urso V, Doneddu V, Marchesi I, Collodoro A, Pirina P, Giordano A, et al. Sputum analysis: Non-invasive early lung cancer detection. *J Cell Physiol.* 2013;228(5):945-51.

11. Hubers AJ, Van der Drift MA, Prinsen CFM, Witte BI, Wang Y, Shivapurkar N, et al. Methylation analysis in spontaneous sputum for lung cancer diagnosis. *Lung Cancer*. 2014;84(2):127-33.
12. Hubers AJ, Prinsen CFM, Sozzi G, Witte BI, Thunnissen E. Molecular sputum analysis for the diagnosis of lung cancer. *Br J Cancer*. 2013;109:530-7.
13. Dragonieri S, Tongoussouva O, Zanini A, Imperatori A, Spanevello A. Markers of airway inflammation in pulmonary diseases assessed by induced sputum. *Monaldi Arch Chest Dis*. 2009;71(3):119-26.
14. Endo C, Nakashima R, Taguchi A, Yahata K, Kawahara E, Shimagaki N, et al. Inter-rater agreement of sputum cytology for lung cancer screening in Japan. *Diagn Cytopathol*. 2015;43(7):545-50.
15. Alwahaibi NY, Alsubhi MS, Aldairi N, Alshukaili A, Bai UR. Comparison of ultrafast Papanicolaou stain with the standard Papanicolaou stain in body fluids and fine needle aspiration specimens. *J Lab Physicians*. 2016;8(1):19-24.
16. Secretaría del Medio Ambiente de la Ciudad de México (SEDEMA). Dirección de Monitoreo Atmosférico: Índice de la Calidad del Aire (horarios). México, DF: SEDEMA. Disponible en <http://www.aire.df.gob.mx/default.php?opc=%27aKBhnm1=%27&opcion=aw==> [Consultado el 24 de marzo de 2016].
17. Kaur H, Haig A, Nell A, Weir MM. Rapid rescreening of Papanicolaou test: Comparison with 10% rescreening. *Canadian Journal of Pathology*. 2013;5(3):103-9.
18. Anjuman N, Li N, Guarnera M, Stass AA, Jiang F. Evaluation of lung flute in sputum samples for molecular analysis of lung cancer. *Clin Transl Med*. 2013;2(1):2-15.
19. Byers T, Wolf HJ, Franklin WA, Braudrick S, Merrick DT, Shroyer KR, et al. Sputum cytologic atypia predicts incident lung cancer: defining latency and histologic specificity. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2008;17(1):158-62.
20. Cho HY, Hotchkiss JA, Harkema JR. Inflammatory and epithelial responses during the development of ozone-induced mucus cell metaplasia in the nasal epithelium of rats. *Toxicol Sci*. 1999;51:135-45.
21. Calderón-Garcidueñas L, Osnaya N, Rodríguez-Alcaraz A, Villarreal-Calderón A. DNA damage in nasal respiratory epithelium from children exposed to urban pollution. *Environ Mol Mutagen*. 1997;30(1):11-20.
22. Calderón-Garcidueñas L, Osorno-Velázquez A, Bravo-Álvarez H, Delgado-Chávez R, Barrios-Márquez R. Histopathologic changes of the nasal mucosa in southwest metropolitan Mexico City inhabitants. *Am J Pathol*. 1992;140(1):225-32.
23. Calderón-Garcidueñas L, Roy-Ocotla G. Nasal cytology in southwest metropolitan Mexico City inhabitants: a pilot intervention study. *Environ Health Persp*. 1993;101(2):138-44.
24. Viveros-Añorbe LM, Rivera-Cruz JM. Cambios histopatológicos en mucosa nasal de individuos expuestos a la contaminación ambiental en el Distrito Federal. Informe de 33 casos. *An Med Asoc Med Hosp ABC*. 1999;44(3):127-31.
25. Marlier ME, Jina AS, Kinney PL, DeFries RS. Extreme air pollution in global megacities. *Curr Clim Change Rep*. 2016;2(1):15-27.
26. Rodríguez S, Huerta G, Reyes H. A study of trends for Mexico City ozone extremes: 2001-2014. *Atmósfera*. 2016;29(2):107-20.
27. Por contingencia restringen circulación. *El Universal* [Internet]. 15 03 2016. Disponible en <http://www.eluniversal.com.mx/articulo/metropoli/df/2016/03/15/por-contingencia-restringen-circulacion> [Consultado el 20 de marzo de 2016].
28. Arbex MA, Santos UP, Martins LC, Saldiva PHN, Pereira LAA, Braga ALF. A poluição do ar e o sistema respiratório. *J Bras Pneumol*. 2012;38(5):643-55.
29. Secretaría del Medio Ambiente, Gobierno del Distrito Federal. Programa estratégico forestal del Distrito Federal (PEF-DF) 2006-2025. México, DF: Secretaría del Medio Ambiente; 2006. Disponible en <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/12/858Programa%20Estrategico%20Forestal%20del%20Distrito%20Federal.pdf> [Consultado el 22 de abril de 2016].
30. Nowak DJ, Dwyer JF, Childs G. Los beneficios y costos del enverdecimiento urbano. En: Krishnamurthy L, Rente Nascimento J (eds.), *Áreas Verdes Urbanas en Latinoamérica y el Caribe*. Chapingo, México: Universidad Autónoma de Chapingo; 1997. pp. 17-38.
31. Pérez-S. I. "Hoy no circula" sabatino, no soluciona el problema de la contaminación: Héctor Riveros. *Ciencia UNAM*. 27 de agosto de 2014. Ambiente y naturaleza. Disponible en [http://ciencia.unam.mx/leer/380/"Hoy_no_circula"_sabatino_no_soluciona_el_problema_de_la_contaminacion_Hector_Riveros](http://ciencia.unam.mx/leer/380/) [Consultado el 2 de mayo de 2016].