

Instituto Nacional de Salud Pública
Escuela de Salud Pública de México

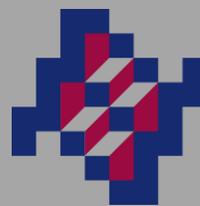
Artículo científico

INFLAMACIÓN DE VÍAS AÉREAS Y ESTRÉS OXIDATIVO COMO RESPUESTA A LA EXPOSICIÓN A PM_{2.5} EN ADOLESCENTES DEL ÁREA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.

**Maestría en Ciencias en Epidemiología con área de
concentración en Salud Ambiental**

Patricia Ibinarriaga Montiel

Generación 2013 – 2015



Instituto Nacional
de Salud Pública

Comité de tesis:

Dra. Leticia Hernández Cadena

Dr. Albino Barraza Villarreal

Cuernavaca, Morelos. Agosto, 2015

“INFLAMACIÓN DE VÍAS AÉREAS Y ESTRÉS OXIDATIVO COMO RESPUESTA A LA EXPOSICIÓN A PM_{2.5} EN ADOLESCENTES DEL ÁREA METROPOLITANA DEL VALLE DE MÉXICO.”

¹Patricia Ibinarriaga Montiel, ¹Leticia Hernández Cadena, ¹Albino Barraza Villarreal
1.-Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), Cuernavaca, Morelos, México.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la asociación entre las concentraciones de PM_{2.5} y las concentraciones de biomarcadores de estrés oxidativo e inflamación de vías aéreas en población adolescente susceptible del área Metropolitana del Valle de México. **Material y métodos:** Como parte de un estudio longitudinal titulado “Determinación y comparación de marcadores inflamatorios sistémicos y locales en adolescentes obesos con y sin asma antes y después de reducir de peso” realizado en el Hospital Infantil de México, se seleccionó a un grupo de adolescentes de 9 a 19 años de edad para su inclusión en el estudio. Se obtuvo información sobre concentraciones de PM_{2.5} del sistema de monitoreo atmosférico de la RAMA y se asignó esta exposición por georreferencia. De manera adicional se hicieron mediciones de biomarcadores de estrés oxidativo en vapor exhalado condensado (8-isoprostano, glutatión y Nitratos-Nitritos) y mediciones de óxido nítrico exhalado como marcador de inflamación de vías aéreas. En cuanto al análisis estadístico se corrieron modelos mixtos para datos longitudinales así como modelos de regresión múltiple. Asimismo, se probó la interacción entre contaminantes y la posible modificación del efecto por las características de obesidad y asma. **Resultados:** Por cada 10 µg/m³ de incremento en los niveles del promedio máximo móvil de 8 hrs de PM_{2.5} hubo un incremento de 1.02 ppb en los niveles de FeNO para los adolescentes sin asma (p=0.025) y de 1.002 para los asmáticos (p=0.069). La condición de asma incrementó el promedio de FeNO basal en la población de estudio un 66% (p=0.000). Los efectos de la interacción asma–contaminante y de peso no resultaron estadísticamente significativos (p=0.204, p=0.570). En los adolescentes sin asma observamos un incremento de 0.184 pg/ml de Nitratos y Nitritos (p=0.000) y de 3.63 nM de GSH (p=0.000) por cada 10 µg/m³ de incremento en las PM_{2.5} respectivamente. Se observó un incremento de 2.28 pg/ml de 8–isoprostano por cada 10 µg/m³ de incremento en las PM_{2.5}, (p=0.003) sin embargo, no hubo diferencia entre grupos. Para la razón GSH/GSSG se observó una tendencia cuadrática y observamos un efecto negativo significativo a medida que las concentraciones de PM_{2.5} incrementan

($p=0.004$) en los adolescente con asma. **Conclusiones:** Este estudio demuestra que la exposición a $PM_{2.5}$ incrementa la inflamación y el estrés oxidativo en población adolescente con y sin asma.

Palabras clave: $PM_{2.5}$, inflamación de vías aéreas, estrés oxidativo, asma, obesidad.

INTRODUCCIÓN

El Impacto del medio ambiente en la salud es de suma importancia. De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) la carga de enfermedad mundial representada por los años de vida saludables perdidos (AVISA) es del 24%; destacando que de todas las muertes en el mundo (mortalidad prematura) el 23% son atribuidas a factores ambientales. Los factores de riesgo ambientales influyen en 85 de los 102 tipos de enfermedades reportadas en el Informe Mundial de la Salud 2004 ⁽¹⁾. Del total de enfermedades por riesgo ambiental, las respiratorias bajas son la segunda causa de enfermedad atribuidas al medio ambiente. Entre ellas, el asma ocupa la causa número 15 ⁽²⁾.

Por otra parte, se ha señalado que la contaminación del aire es una de las amenazas ambientales modernas con mayor impacto en salud ⁽²⁾. Las estimaciones del Estudio de Carga Global de Enfermedad 2010 (GBD2010) señalan que la contaminación por partículas atmosféricas, es el segundo riesgo ambiental más importante (noveno general) dentro de la contaminación del aire, lo que representa aproximadamente el 4% de los AVISA y el 6% de las muertes prematuras a nivel global ⁽³⁾.

Se estima que más de 100 millones de habitantes en América latina y el Caribe están expuestos a concentraciones de contaminantes atmosféricos que exceden el nivel recomendado en las guías de calidad del aire de la OMS ⁽⁴⁾. Por lo que en la actualidad los problemas relacionados con la contaminación atmosférica y el deterioro de la calidad del aire se han convertido en una prioridad para las grandes ciudades.

Algunos estudios sugieren que el material particulado, entre otros contaminantes, afecta la salud respiratoria de los niños, pues aumenta el número de consultas a urgencias por crisis agudas de asma bronquial e infecciones respiratorias agudas entre otras ^(5, 6, 7, 8). En una revisión de estudios epidemiológicos se encontró evidencia acerca del posible efecto de la

combustión de productos fósiles sobre el sistema inmunológico, provocando un incremento en la reacción alérgica ⁽⁹⁾. Diversos reportes indican que el estrés oxidativo aunado a los procesos de inflamación de vías aéreas son los mecanismos centrales de acción ocasionados por la exposición a contaminantes atmosféricos, sobre todo para la exposición a material particulado ^(10,11).

Asimismo, algunos autores señalan que existen ciertas condiciones de susceptibilidad que pueden exacerbar los efectos de la exposición a los contaminantes atmosféricos, tales como el asma y la obesidad. Destacando que la condición de obesidad durante la infancia aumenta el riesgo de desarrollar asma y que las personas obesas asmáticas tienen mayor riesgo de padecer síntomas respiratorios severos dado el estado inflamatorio crónico per se ^(12, 13) aunado a los efectos derivados de la exposición a este tipo de contaminantes.

En una revisión sistemática que incluyó un meta análisis de estudios de cohorte realizados entre 1966 y 2004, sobre el efecto del aumento de peso durante la infancia, se encontró un aumento en el riesgo relativo a futuro (RR 1.5, 95% IC 1.2-1.8) ⁽¹⁴⁾ para desarrollar asma del 50% en aquellos que aumentaron de peso corporal durante la infancia con respecto a los que no, dicho efecto fue el resultado de la combinación de 4 estudios distintos que examinaron dichos resultados en común.

Además se ha documentado que el estrés oxidativo participa por un lado en procesos relacionados con la obesidad mediante la afectación mitocondrial, derivado de la excesiva cantidad de lípidos ⁽¹⁵⁾ y por otro, en los pacientes asmáticos se incrementa la producción de especies reactivas de oxígeno debido al proceso inflamatorio por el que atraviesan.

Por tal motivo, y derivado de la importancia que merece la atención especial e inmediata de esta causa evitable de daño, realizamos la presente investigación con el objetivo de evaluar el impacto que tiene la contaminación del aire, específicamente por material particulado de 2.5 µm de diámetro (PM_{2.5}), sobre el incremento en la respuesta inflamatoria de vías aéreas y los procesos de estrés oxidativo en un grupo de adolescentes con problemas de obesidad y asma, residentes de la zona Metropolitana del Valle de México.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO Y POBLACIÓN DE ESTUDIO

Como parte de un estudio de Cohorte que se está realizando en el Instituto Nacional de Salud Pública en colaboración con el Hospital Infantil de México, Federico Gómez (HIMFG), donde los participantes fueron sometidos a orientación alimentaria, manejo con psicoterapia y actividad física programada para disminuir de peso; se realizó el presente estudio longitudinal tipo panel durante el periodo de 2008 a 2011. Se incluyeron 220 individuos de un total de 417 adolescentes obesos con y sin asma de la cohorte original, los cuales fueron seleccionados de la consulta del servicio de obesidad y alergia del HIMFG.

Esta clínica atiende a población de nivel socioeconómico medio y medio bajo, todos residentes del área Metropolitana del Valle de México. Una vez que se comprobó que el adolescente cumplía con el criterio de obesidad de acuerdo a Cole, se evaluó su estado asmático utilizando el criterio GINA para su clasificación.

Se incluyeron pacientes de 9 a 19 años de edad de ambos sexos, que cumplieran la condición de obesidad, y que aceptaran someterse a las recomendaciones dietéticas, actividad física y psicoterapia. Una vez que los adolescentes fueron seleccionados para participar en el estudio, fueron valorados cada mes durante 6 meses y después cada tres meses hasta terminar el estudio (30 meses o visita numero 15).

Dentro del presente estudio no se cuenta con un grupo control de pacientes no obesos debido a que el objetivo del estudio de donde proviene la cohorte de adolescentes original era evaluar el efecto de las intervenciones ya mencionadas en la salud respiratoria de la población asmática y no asmática.

Se excluyeron a todos los adolescentes que presentaran alguna patología diferente a las mencionadas, crónicas o agudas y pacientes con síndromes somatodismórficos (Síndrome de Prader Willi, Lawrence, Moon-Biedl, Carpenter, Summit, Cohen). Y se eliminaron a aquellos individuos que no contaron con datos basales de edad, sexo, nivel escolar, FeNO, así como aquellos con mediciones de FeNO con equipo de medición no calibrado para

población adolescente que truncara mediciones mayores a 100 ppb de FeNO (criterio de control de calidad), ver Figura 1.

Todos los padres de los participantes firmaron un consentimiento informado y los adolescentes firmaron un asentimiento. El protocolo del estudio fue revisado y aprobado por los Comités de Ética del Instituto Nacional de Salud Pública y del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

Información de salud:

Durante la primera visita (basal) se realizó una exploración clínica completa, se aplicaron diferentes cuestionarios de antecedentes clínicos, calidad de vida, actividad física y salud general. Los participantes fueron clasificados como asmáticos en base a su expediente, es decir si ya contaban con diagnóstico médico previo, o bien que en su expediente médico se reportaran síntomas como tos, disnea y sibilancias de 3 meses de evolución o por lo menos 2 episodios de broncoespasmo en los últimos 12 meses. Los pacientes sin diagnóstico de asma fueron aquellos que no presentaron síntomas de enfermedad respiratoria en los últimos 12 meses.

Medidas antropométricas

Se tomaron medidas antropométricas de: peso y talla.

La medición del peso se realizó en una báscula de pie y palanca, marca Health o Meter modelo 402 KL, calibrada, que permitiera una lectura mínima de 100 gr; con ropa ligera, sin zapatos, de pie, los mismos días de la semana y con una diferencia de +/- 1 hora ⁽¹⁶⁾. La medición de la talla se realizó con un estadímetro Holtain Limited Crymych, Dyfec (Gran Bretaña), anotando en centímetros (cm) el resultado, encontrándose el sujeto descalzo sobre una superficie plana, haciendo ángulo recto con la barra vertical del estadímetro, la cabeza posicionada en el plano Frankfurt horizontal (viendo directamente hacia el frente con el borde orbitario inferior en el mismo plano que el conducto auditivo externo), los brazos colgando libremente, las manos colocadas sobre la parte lateral externa del muslo,

talones juntos con los bordes internos medios de los pies formando un ángulo de 60° y se pidió al sujeto que inhalara antes de deslizar la cabecera sobre el máximo punto superior de la cabeza del paciente.

El IMC se calculó al dividir el peso entre la talla al cuadrado (Peso/Talla²). Además se creó la variable del Z score del IMC para la edad y sexo de cada individuo, acorde al Macro package para STATA de la OMS, definiendo sobrepeso por arriba de 1 desviación estándar y obesidad por arriba de 2 desviaciones estándar ⁽¹⁷⁾.

Marcadores biológicos de inflamación y de estrés oxidativo

Se realizaron mediciones de óxido nítrico en el aire exhalado (FeNO) utilizando un aparato ECO medics modelo CLD88, determinado por quimioluminiscencia, en base a las recomendaciones estandarizadas de la Sociedad Americana del Tórax. El sujeto inhala el óxido nítrico (NO) libre liberado por una cámara de NO Scruber Denox 88, Suiza. Después de inhalar se realizan las exhalaciones a una presión de 5-20 cm H₂O, evitando la contaminación de NO por las fosas nasales. La exhalación se mantiene con una tasa de flujo de 50 L/segundo hasta tener una meseta de 2 segundos y un total espirado de 4 segundos. La maniobra de exhalación se repite hasta 3 veces por intento por 2 segundos y hasta obtener un nivel de concordancia del 5% ⁽¹⁸⁾. Estas mediciones fueron realizadas en el área de Protocolos de Alergias perteneciente al Departamento de Control de Asma en el HIMFG, durante el turno matutino (de 9:00 am a 12:00 pm). Pidiendo al paciente se encontrara en ayuno, sin haberse expuesto a humo de tabaco 24 horas previas a la toma de muestra y sin haber realizado esfuerzo físico por lo que se solicitó la utilización del elevador.

Asimismo, se tomaron muestras de vapor exhalado condensado (EBC), para lo cual se le solicitó al paciente de abstenerse al menos una hora antes de ingerir cualquier bebida o alimento. Una vez cumplido este criterio, se le pidió al participante que enjuagara su boca con agua desionizada y usando un clip en la nariz se le pidió que respirará dentro del tubo por 7 o 10 minutos, debiendo escuchar la respiración del niño claramente, a través de la boquilla de un tubo de aluminio (RTube; Respiratory Research, Inc., Charlooesville, VA) con la finalidad de recolectar el vapor en el RTube. Una vez terminado el ciclo de respiraciones,

la muestra del EBC se trató con ácido iodoacético (13.4mM final) y se almaceno en alícuotas a menos 70 grados hasta su utilización.

Las determinaciones de Glutati3n (GSH) y Glutati3n oxidado (GSSG), se analizaron por separado por Cromatografía l3quida de alta eficacia (HPCL) adicionando G-Glutamyl glutamato (10nM) como un est3ndar interno. Los Nitratos y los compuestos Nitrosinados se midieron con analizador de NO (Sievers) adaptado del m3todo Griesse (Dr. Brown laboratory) y se determinaron v3a ELISA. Los 8-isoprostanos se determinaron usando un kit de inmunoensayo enzim3tico espec3fico, para ello el EBC se separ3 sobre una columna de purificaci3n por afinidad y secado bajo funcionamiento de nitr3geno antes del ensayo ELISA. Estas determinaciones se llevaron a cabo en el laboratorio del Departamento de Pediatr3a de la Facultad de Medicina de la Universidad de Emory, Atlanta, GA, USA.

Informaci3n sobre contaminantes atmosf3ricos

Se obtuvo informaci3n sobre contaminantes atmosf3ricos de la Red autom3tica de monitoreo de la zona Metropolitana de la ciudad de M3xico (RAMA) para el periodo considerado para el estudio, incluyendo informaci3n sobre PM_{2.5} y otros contaminantes atmosf3ricos. As3 como informaci3n sobre caracter3sticas meteorol3gicas, incluyendo humedad relativa, temperatura, velocidad y direcci3n del viento.

Evaluaci3n de exposici3n ambiental a PM_{2.5}

Se asign3 la exposici3n a PM_{2.5} para cada uno de los participantes localizando el monitor de la RAMA m3s cercano a su domicilio o la escuela a la que asisti3. Cada domicilio particular y escolar fue georreferenciado utilizando un sistema de Informaci3n geogr3fica (SIG), la exposici3n se asign3 en base al turno al cual el participante acudi3 a la escuela o se encontraba en su casa. Para la generaci3n de las variables de exposici3n se consideraron las concentraciones de PM_{2.5} de manera horaria para generar los promedios m3viles de 8 horas, diarios, m3ximos y m3nimos de 24 horas, as3 como tambi3n se generaron retrasos correspondientes a 1, 2, 4 y hasta 15 d3as previos a la visita y toma de la muestra. Adem3s, se tomaron en cuenta otros contaminantes como ozono (O₃) y Di3xidos de Nitr3geno (NO₂), y a su vez variables meteorol3gicas como humedad relativa, temperatura, velocidad y direcci3n del viento como posibles confusores.

Otras variables de interés

Se obtuvo información sobre nivel socioeconómico, características sociodemográficas de los padres, antecedentes heredofamiliares, así como exposiciones a otros contaminantes en el hogar, mediante la aplicación de cuestionarios durante la etapa basal del estudio. Es importante mencionar que la exposición a biomasa dentro del hogar no fue de importancia para este estudio ya que muy pocos pacientes lo reportaron en el cuestionario.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico consistió en la evaluación y validación de las bases de datos con el paquete STATA 2013. Se tomaron en cuenta aquellos sujetos que contaron con por lo menos una visita a partir del año 2008, y se excluyeron de la cohorte original aquellos sujetos de quienes no tuvimos información completa o con datos no validos (197 individuos) Figura 1. Las características basales de cada grupo de adolescentes (asma, no asma) fueron comparadas por medio de la prueba *chi2* para las variables categóricas, y la prueba *t* o *U de Mann Whittney* para las variables continuas, dependiendo su distribución.

Se evaluó la correlación entre variables de respuesta y covariables de interés. Se utilizó la prueba no paramétrica de Spearman para variables independientes continuas (edad, IMC), y Kwallis para dicotómicas (sexo, actividad física, uso de esteroides, exposición pasiva a tabaco, antecedente atópico) y categóricas (nivel educativo, nivel educativo de la madre). Para evaluar la correlación entre los contaminantes atmosféricos (PM₁₀, O₃, NO₂) y las variables meteorológicas (temperatura, humedad, velocidad del viento, dirección del viento) se utilizó la prueba no paramétrica de Spearman.

La variable FeNO fue transformada a su forma logarítmica ya que no se distribuyó de manera normal. Las variables de estrés oxidativo (8-isoprostano, glutatión, razón GSH/GSSG y Nitratos-nitritos) fueron utilizadas sin transformar, siendo necesaria la eliminación de valores extremos.

Los modelos estadísticos se realizaron considerando los datos repetidos en las mediciones de inflamación y de estrés oxidativo. Para el efecto inflamatorio (FeNO) se utilizó un modelo lineal mixto con intercepto aleatorio, el cual fue ajustado por potenciales confusores

incluyendo sexo, temperatura media de un día previo, uso de corticoesteroides, antecedente atópico, la edad al momento de cada visita y el peso al momento de la visita. Así mismo se consideró la interacción del contaminante con la condición asma.

Donde:

y_{ij} es la observación j (repetida) del sujeto i .

μ es una constante para toda i y j (valor promedio).

η_i es un efecto aleatorio del sujeto i .

α_j el efecto fijo de un determinado punto o intervalo de tiempo

ϵ_{ij} un efecto aleatorio de error.

Modelo:

$$y_{ij} = \mu + \eta_i + \alpha_j + \epsilon_{ij}$$

Se realizó un sub análisis para conocer el efecto de las $PM_{2.5}$ en los biomarcadores de estrés oxidativo con una submuestra de 104 individuos para Nitratos y Nitritos, 48 individuos para 8-isoprostano, 106 individuos para glutatión y 106 individuos para la razón de GSH/GSSG. Para ello se corrieron cuatro diferentes modelos, tomando en cuenta mediciones repetidas para el caso de Nitratos-Nítricos, GSH y razón GSH/GSSG, mientras que para los niveles de 8-isoprostanos únicamente se tomó en cuenta la primera medición basal debido a la cantidad de muestras.

El primer modelo para el efecto sobre los niveles de Nitritos-Nitratos fue una regresión múltiple ajustando por las covariables temperatura máxima de un día anterior, humedad relativa máxima de un día anterior, niveles de exposición máximo móvil de 8 horas de O_3 del mismo día de la medición, asma y la interacción asma- O_3 - $PM_{2.5}$. Para el efecto en 8-isoprostano se corrió un segundo modelo de regresión múltiple ajustando por la temperatura máxima de un día anterior, la humedad media relativa y el consumo de vitaminas, en este caso no se pudo evaluar la interacción con asma ya que existieron muy pocas observaciones. Un tercer modelo para evaluar el efecto en la GSH fue ajustado por consumo de esteroides, el estado asmático y su interacción con las $PM_{2.5}$, dado que el estrés oxidante está influenciado por la cantidad de proteínas ingeridas y la formación de cistina y cisteína este fue a su vez ajustado por las concentraciones de ingesta.

Por último se evaluó el efecto sobre la razón GSH/GSSG, ajustando por humedad media relativa de un día anterior, temperatura máxima de dos días anteriores, consumo de esteroides, estado asmático y su interacción con las $PM_{2.5}$.

RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

En total 220 adolescentes contaron con los datos de fracción espiratoria de óxido nítrico (FeNO) y de exposición a PM_{2.5}, los cuales fueron incluidos en el análisis. Las características basales de la población se encuentran descritas, por grupo asmático y no asmático, en la Tabla 1.

No se encontraron diferencias significativas entre los grupos de asma y no asma para las características de sexo, nivel educativo, nivel educativo de la madre, actividad física dentro y fuera de la escuela, uso de esteroides, exposición pasiva al tabaco, GSH, razón GSH/GSSG, NO₂ + NO₃ y 8-isoprostano. En cuanto a las características con diferencias significativas entre grupos (asma y no asma), se observó una mayor proporción en las edades de 9 a 12 años para ambos grupos, el antecedente atópico se presentó en mayor porcentaje para los asmáticos. La media del IMC fue mínimamente mayor en el grupo no asmático (29.98 kg/m²) en comparación con el asmático (28.33 kg/m²), encontrando una diferencia importante entre grupos para la condición de obesidad (92% en no asmáticos, 77% en asmáticos); dentro de la muestra se encontró 1 individuo con peso normal, el cual perteneció al grupo no asmático. El grupo de asmáticos presentó el doble del nivel medio de FeNO ($p = 0.0003$) en comparación al grupo de no asmáticos. Mientras que el grupo no asmático presentó mayores niveles medios de GSSG ($p = 0.044$) (Tabla 1).

CARACTERIZACIÓN DE LA EXPOSICIÓN AMBIENTAL

El rango del promedio máximo móvil de 8 hrs para PM_{2.5} fue de 5.5 a 177.5 µg/m³ durante el periodo de estudio con una media de 35.25 µg/m³, el cual excedió en múltiples ocasiones el valor límite normado de 45 µg/m³ (Figura 2). Las concentraciones para PM_{2.5} en las zonas centro y norte fueron elevadas, sin embargo las zonas del sur a su vez muestran emisiones elevadas, contrario a lo que encontramos en la literatura, donde las zonas del norte son las mayormente afectadas por este contaminante y las del sur muy poco. Las zonas alejadas, como es de esperar, cuentan con la menor exposición a PM_{2.5} (Figura 3).

La mediana con sus cuartiles 25 y 75 (Q25, Q75) y los valores máximos y mínimos para los demás contaminantes y variables meteorológicas en el estudio se encuentran descritos en la Tabla 2. Donde podemos observar que la temperatura promedio durante el periodo de estudio no presentó niveles extremos, oscilando entre los 8 y 25 °C. Para el caso de la humedad relativa presentó una mediana de 54.23% (RI 26.08%) existiendo pocos días donde se saturó al 100%.

ASOCIACIÓN ENTRE LOS EFECTOS EN SALUD Y LA EXPOSICIÓN AL CONTAMINANTE

La asociación entre la exposición a $PM_{2.5}$ y la inflamación de vías aéreas para adolescentes asmáticos y no asmáticos se muestra en la Figura 4.

Después de ajustar por sexo, temperatura media de un día previo, uso de corticoesteroides, antecedente atópico, peso y la edad al momento de cada visita, se observó que por cada $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de incremento en los niveles del promedio máximo móvil de 8 hrs de $PM_{2.5}$ hubo un incremento de 1.02 ppb en los niveles de FeNO para el grupo no asmático ($p=0.025$; IC 95% 1.003, 1.043) y de 1.002 para el grupo asmático ($p=0.069$; IC 95% -0.979, 1.027). La condición de asma incrementó el promedio de FeNO basal en la población de estudio un 66% ($p=0.000$) en comparación a los no asmáticos. En cuanto al efecto de la interacción asma-contaminante, y el peso, no encontramos una asociación estadísticamente significativa ($p=0.204$, $p=0.570$) (Figura 4).

La asociación entre la exposición a $PM_{2.5}$ y el estrés oxidativo local para adolescentes en el estudio, se muestra en la Tabla 3. Donde para Nitritos y Nitratos observamos un efecto positivo significativo en el grupo no asmático de 0.184 pg/ml por cada $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de incremento en las $PM_{2.5}$. Para el 8-isoprostano un incremento de 2.28 pg/ml por cada $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de incremento en las $PM_{2.5}$, sin encontrar diferencias entre grupo asmático y no asmático. Para GSH observamos una relación positiva más evidente en el grupo no asmático de 3.63 nM por cada $10 \mu\text{g}/\text{m}^3$ de incremento en las $PM_{2.5}$. Y por último para la razón GSH/GSSG se observó una tendencia cuadrática, donde en el grupo asmático observamos un efecto negativo significativo a medida que las concentraciones de $PM_{2.5}$ incrementaban, sin embargo esto no fue significativo en los no asmáticos.

DISCUSIÓN

Los resultados del presente estudio muestran una asociación positiva entre la exposición a $PM_{2.5}$ y el incremento en FeNO como respuesta inflamatoria en adolescentes asmáticos y no asmáticos, así como con el incremento en biomarcadores de estrés oxidativo específicamente Nitratos-nitritos, 8-isoprostano y GSH; y disminución en la razón GSH/GSSG.

Existen estudios epidemiológicos de tipo panel, sobre todo en población infantil, que han evaluado, al igual que nuestro estudio, a población susceptible (asmática), y han concluido que la exposición a $PM_{2.5}$ incrementa los niveles de FeNO en los más susceptibles ^(19,20); lo cual es consistente con nuestros resultados. A su vez, otros estudios han evaluado el efecto del contaminante tanto en población asmática como en población no asmática, un estudio realizado en niños residentes de la Ciudad de México ⁽²¹⁾ reporta un efecto significativo sobre el FeNO para el grupo asmático y no significativo para el no asmático. En otro estudio proveniente de población infantil asmática y no asmática ⁽²²⁾, los investigadores encontraron una asociación positiva significativa entre citosinas pro inflamatorias en sangre y la exposición al contaminante únicamente para el grupo asmático. En nuestro estudio, a pesar del efecto marginalmente significativo en los asmáticos, encontramos un efecto para ambos grupos, independiente al estatus de asma o no asma.

En relación al estrés oxidativo, un estudio que examinó las defensas antioxidantes en la superficie pulmonar de pacientes asmáticos comparados con un grupo control sano reportó que las concentraciones de GSSG (signo de estrés oxidativo) se encontró incrementado para el grupo asmático ⁽²³⁾. Lo cual es concordante con nuestro estudio, en donde encontramos un mayor efecto en el grupo asmático, aunque éste efecto mostró una relación cuadrática negativa con respecto al incremento en las concentraciones del contaminante. Esto es, nosotros observamos una relación no lineal en donde de manera inicial a medida que la concentraciones de la partículas se incrementaban la razón GSH/GSSG tanto para asmáticos como para no asmáticos aumentaban también, sin embargo a medida que las concentraciones de las $PM_{2.5}$ aumentaban aún más dicha razón se disminuía. Esto pudiera ser explicado desde el hecho de que el organismo de manera inicial, o bien, a concentraciones bajas del contaminante intenta mantener un equilibrio mediante la producción tanto de GSH como GSSG como un mecanismo de defensa. Sin embargo, a

medida que el organismo se expone a mayores concentraciones de dicho contaminante, entra en imposibilidad de equilibrar estas reacciones oxidativas, existiendo una mayor acumulación de GSSG, en comparación con la de GSH, dado que éste no puede regresar a su forma reducida y es entonces cuando se da el fenómeno de estrés oxidativo ^(24,25).

Otro estudio donde se evaluaron los niveles de GSH en pacientes expuestos a oxidantes tóxicos provenientes de contaminantes inhalados (cigarrillo) demostró que aquellos expuestos tuvieron hasta 80% mayores niveles de GSH en el fluido que recubre el epitelio de las vías respiratorias bajas lo que sugiere que la presencia de este biomarcador a nivel alveolar en individuos normales contribuye al proceso de protección contra oxidantes en el espacio extracelular del tracto respiratorio bajo ^(26,27).

En un ensayo aleatorio cruzado donde se midieron biomarcadores de estrés oxidativo a jóvenes adultos después de conducir en horarios de alto tránsito vehicular, se observó que los niveles de Nitratos y Nitritos se encontraron incrementados de manera significativa comparando los niveles basales con los niveles inmediatos post exposición, estos resultados son congruentes con los de nuestro estudio, encontrando en nuestro caso un mayor efecto para el grupo no asmático. Sin embargo no contaron con niveles detectables de 8-isoprostano en la mayoría de sus muestras. ⁽²⁸⁾. Otro estudio realizado en niños de primaria en Europa que evaluó la relación entre la exposición a carbón negro (promedio móvil de 2 hrs por la mañana) y los niveles de 8-isoprostano, mostró una asociación positiva del 5.9% ⁽²⁹⁾.

Otro objetivo en nuestro estudio fue evaluar el efecto modificador de las condiciones de asma y obesidad sobre las respuestas inflamatoria y de estrés oxidativo. Resultando una asociación no significativa para el caso de la interacción PM_{2.5}-asma, sin embargo el efecto estratificado del contaminante fue demostrado.

Un estudio observacional en el Grady Memorial Hospital en Atlanta, Georgia demostró que en un grupo de asmáticos con ausencia de exacerbación, el IMC estaba relacionado con la reducida exhalación de óxido nítrico (NO), y que este mismo se encuentra asociado con el aumento de 8-isoprostano exhalado, reflejando un incremento en el estrés oxidativo de las vías respiratorias. Sin embargo, como esta asociación no fue encontrada en el grupo control

los resultados sugieren que el IMC por sí solo no es suficiente para provocar cambios en el NO y estrés oxidativo en las vías respiratorias ⁽¹²⁾.

Para el caso de nuestra investigación, la interacción PM_{2.5}-obesidad reveló coeficientes negativos no significativos. Un estudio realizado en población adulta asmática reportó que el IMC está asociado con una reducción en el óxido nítrico exhalado ⁽³⁰⁾, sugiriendo que el efecto del IMC en este tipo de población induce cambios en el metabolismo del NO a través del incremento en biomarcadores de estrés oxidativo, como lo es el 8-isoprostano ⁽²⁴⁾, convirtiendo al NO en especies reactivas nitrogenadas, disminuyendo sus niveles ^(31,32), lo cual es consistente con nuestros resultados. Sin embargo decidimos ajustar nuestro modelo por el peso al momento de la medición, resultando esta positiva no significativa.

Se sabe ya muy bien que el sistema respiratorio es susceptible a los contaminantes en el aire. Los mecanismos de protección en el organismo ocurren a través de múltiples vías que involucran al sistema inmune. La inflamación de las vías aéreas puede estar causada por la generación de especies reactivas de oxígeno, por los neutrófilos, provocando daño oxidativo en el epitelio, lo cual libera sustancias (IL-8, IL-6, PGE2 y LTC4) que junto con el contaminante activan células residentes del sistema respiratorio (macrófagos), induciendo así la hiperreactividad de las vías aéreas. La presencia de polimorfismos en genes encargados de la activación de enzimas antioxidantes como la GSH-M1 influencia respuestas dadas por la exposición a contaminantes en la vía aérea ⁽³³⁾.

Las partículas suspendidas en el ambiente contienen una gran cantidad de metales solubles, componentes orgánicos y endotoxinas que provocan el efecto tóxico a partir de ciclos reductivos y oxidativos ⁽³⁴⁾. El estrés oxidativo mediado por las PM está dado por la generación directa de especies reactivas de oxígeno desde la superficie de sus componentes solubles, por la alteración en la función de las mitocondrias, por la reducción de la NADPH-oxidasa y por la activación de células inflamatorias capaces de generar especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno, así como de daño oxidativo al DNA ⁽³²⁾. La partícula proporciona una plantilla para la transferencia de electrones al oxígeno molecular durante eventos cíclicos de reducción y oxidación. Además células epiteliales y macrófagos generan ERO en respuesta a la captación de la partícula por medio de reacciones biológicas de oxidación que ocurren en la membrana celular y la mitocondria. Los componentes

biológicos de las partículas a su vez inducen la liberación de Factor de necrosis tumoral e interleucinas por los macrófagos ⁽³⁵⁾.

La principal ventaja del presente estudio es el efecto longitudinal de la cohorte, el cual nos asegura validez de nuestros resultados, ya que se cuentan con mediciones repetidas y cada individuo funge como su propio control.

Los niveles de óxido nítrico (NO) en las vías aéreas son sugestivos del nivel de inflamación local en estas vías, su concentración fraccional en el aliento exhalado (FeNO) es fácilmente medible en el aire exhalado y es una medición no invasiva ^(36,37,38,39), lo que aporta una fortaleza a nuestro estudio. Sin embargo es también sabido que la exposición a partículas induce un proceso inflamatorio sistémico marcado, por lo que la medición de citosinas y otros biomarcadores en sangre en algunos estudios, son un buen biomarcador que muestra resultados positivos significativos entre la exposición a material particulado y la respuesta inflamatoria, además de que ayudan a explicar la susceptibilidad en poblaciones asmáticas principalmente ⁽²⁹⁾, por lo que la utilización de este tipo de biomarcadores podría aportar resultados que amplíen el conocimiento en cuanto a efectos sistémicos en este tipo de población.

La GSH tiene un rol central en la protección contra estrés oxidativo y detoxificación, siendo esencial en el mantenimiento de la homeostasis celular, está presente en el citoplasma celular. Su forma oxidada, la GSSG, se encuentra principalmente de manera extracelular. Biomarcadores como GSH, la GSSG y su relación, son indicadores de la función celular, su alteración se encuentra relacionada con procesos patológicos ⁽⁴⁰⁾, y de estrés oxidativo ⁽⁴¹⁾, por lo que su utilización aporta una fortaleza a nuestro estudio.

La estimación de la exposición en este estudio se obtuvo por medio de mediciones diarias de la RAMA, lo que pudiera hablarnos de un error de medición, sin embargo en caso de que existiera este sería no diferencial. Se asumió que la variación temporal para cada individuo correspondía a aquella medida en el monitor más cercano al individuo, tomándose en cuenta dos mediciones, una para su casa y otra para su escuela, lo que permitió proveer una mayor variabilidad en los datos y reforzar la validez de los supuestos.

Sabemos también que los componentes específicos de las partículas juegan un papel importante para el efecto adverso. La asociación entre PM e inflamación de vías respiratorias en asmáticos puede estar siendo diluida al utilizar la masa gravimétrica de las partículas en el ambiente como indicador de exposición, esto puede estar no representando suficientemente a los componentes contaminantes causales que se encuentran en el aire, procedentes de la combustión de combustibles fósiles que no suelen ser monitoreados de manera rutinaria ^(26,42,43). El subanálisis de los niveles de carbón elemental, PHAs, etc. podrían aportar un fortalecimiento a la asociación causal del contaminante, sin embargo no contamos con las mediciones correspondientes para dicho análisis, por lo que se sugiere que para otros estudios se realice dicha evaluación.

En cuanto al sub análisis del efecto de las PM_{2.5} en la respuesta del estrés oxidativo, este se realizó de manera transversal debido a la poca cantidad de muestra, sin embargo los datos significativos arrojados por este estudio nos dan una idea del efecto positivo dado por la exposición a contaminantes ambientales y aportan información con respecto a la posible interacción entre los niveles de estrés oxidativo basal en población asmática y su respuesta antioxidante posterior a la exposición a contaminantes atmosféricos, la cual se desconoce aún.

Existen estudios que asocian la exposición ambiental a PM_{2.5} y el incremento en asma y síntomas respiratorios en niños, adolescentes y adultos, sin embargo este estudio es uno de los pocos estudios longitudinales que hablan de respuesta inflamatoria y respuesta oxidante como efecto de las partículas suspendidas en el ambiente, no solo en población asmática, sino también en población no asmática.

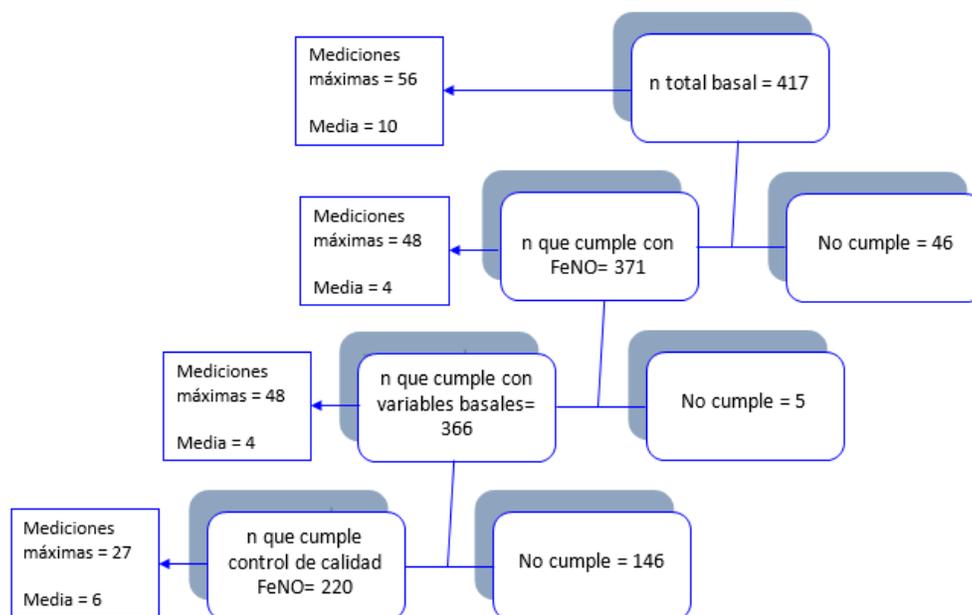
En conclusión nuestro estudio demuestra un efecto inflamatorio y de estrés oxidativo como respuesta a la exposición a PM_{2.5} en población adolescente asmática y no asmática. Estos hallazgos tienen importantes implicaciones normativas para la Salud Pública, ya que demostramos que el efecto de la contaminación del aire provoca un efecto no únicamente en pacientes considerados como susceptibles (asmáticos), sino en la población sana en general.

Además sabemos muy bien que en nuestro país una gran proporción de la población infantil y adolescente se encuentra expuesta a este y muchos otros contaminantes, aunados a la

presencia de condiciones de susceptibilidad como lo es también la obesidad. A pesar de que no encontramos una interacción significativa con el peso, existe evidencia científica que nos habla de su participación en el proceso inflamatorio, por lo que nuevos estudios con respecto al tema deben llevarse a cabo. Los resultados de la presente investigación evidencian la importancia del cumplimiento de la normatividad de calidad del aire en nuestro país, e impulsan a la revisión y modificación de los valores límite permitidos y normados.

FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Esquema de obtención de submuestra para población adolescente con obesidad, asmática y no asmática, residente del Área Metropolitana del Valle de México, durante el periodo 2008-2011.



* Se consideraron a las variables edad, sexo y nivel escolar como variables basales necesarias para integrar la submuestra, así como contar con la medición basal de FeNO (fracción espiratoria de óxido nítrico) y cumplir con criterio de control de calidad del equipo de medición de FeNO.

Tabla 1. Características basales de la población adolescente con obesidad, asmática y no asmática, residente del Área Metropolitana del Valle de México, durante el periodo 2008-2011.

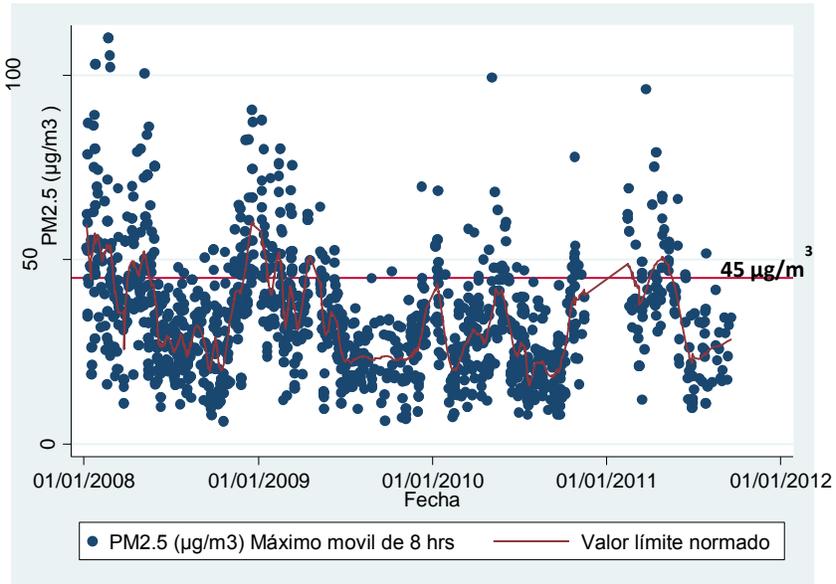
	ASMÁTICOS	NO ASMÁTICOS	
	Frecuencia (%)	Frecuencia (%)	p
Sexo ^a, n=234			
Femenino	44 (46)	52 (37)	0.174
Masculino	51 (54)	87 (63)	
Edad (años) ^a, n=224			
9 – 12	62 (67)	83 (63)	0.021
13 - 16	24 (26)	48 (36)	
17 - 19	6 (7)	1 (1)	
Nivel educativo ^a, n=221			
Primaria	52 (58)	64 (48)	0.217
Secundaria	30 (34)	60 (46)	
Bachillerato	7 (8)	8 (6)	
Nivel educativo de la madre ^a, n=197			
Primaria	14 (21)	22 (17)	0.894
Secundaria	26 (38)	52 (40)	
Prepa/Técnica	25 (37)	47 (36)	
Profesional	3 (4)	8 (6)	

Actividad física en la escuela ^a, n=215				
Si	77 (89)		111 (87)	
No	10 (11)		17 (13)	0.698
Actividad física fuera de la escuela ^a, n=217				
Si	29 (33)		54 (42)	
No	58 (67)		76 (58)	0.223
Uso de esteroides ^a, n=197				
Si	15 (22)		17 (13)	
No	53 (78)		112 (87)	0.108
Exposición pasiva al tabaco ^a, n=220				
Si	23 (26)		42 (32)	
No	67 (74)		88 (68)	0.280
Antecedente atópico ^a, n=234				
Si	81 (85)		69 (50)	
No	14 (15)		70 (50)	0.000
IMC (kg/m²) ^a, n=228				
Normal	0		1 (7)	
Sobrepeso	20 (22)		10 (7)	
Obesidad	71 (77)		126 (92)	0.014
ASMÁTICOS				
NO ASMÁTICOS				
	Media (DE)	Min y Max	Media (DE)	Min y Max
IMC (kg/m²) ^b, n=233				p
	28.33 (4.69)	19.58 52.05	29.98 (5.05)	17.73 50.2
				0.0124
FeNO (ppb) ^c, n=234				
	60.13(46.002)	7.1 174.7	30.53(29.74)	2.1 247.3
				0.0003
logFeNO ^b, n=234				
	3.75 (0.89)	1.96 5.16	3.32 (0.73)	1.09 5.51
				0.0001
GSH (nM) ^b, n=106				
	0.211 (0.156)	0.007 0.518	0.308 (0.461)	0.003 3.692
				0.186
GSSG (nM) ^b, n=106				
	4.66 (10.87)	0.91 51.61	11.60 (20.48)	0.09 135.15
				0.044
Razón GSH/GSSG ^b, n=106				
	0.16 (0.15)	0.005 0.531	0.14 (0.13)	0.002 0.480
				0.407
NO₂ + NO₃ (ppb) ^b, n=104				
	0.50 (0.30)	-0.001 1.722	0.53 (0.38)	-0.18 1.92
				0.723
8-isoprostanos (pg/mL) ^b, n=48				
	2.85 (4.98)	0.0003 20.04	4.26 (4.22)	0.0002 16.12
				0.310

^a chi-2, ^b t-test, ^c Mann Whittney

IMC = Índice de masa corporal, FeNO = Fracción espiratorias de óxido nítrico, logFeNO = transformación logaritmizada de la fracción espiratorias de óxido nítrico, GSG = Glutation, GSSG = Glutation oxidado, GSH/GSSG = Razón Glutation/Glutation oxidado, NO₂ + NO₃ = Nitratos y Nitritos.

Figura 2. Promedio máximo móvil de 8 horas para PM_{2.5} del área Metropolitana del Valle de México, durante el periodo 2008 - 2011.



PM_{2.5} = Material particulado de 2.5 µm de diámetro.

Figura 3. Concentraciones promedio de PM_{2.5} por zona del área Metropolitana del Valle de México, durante el periodo 2008 - 2011.

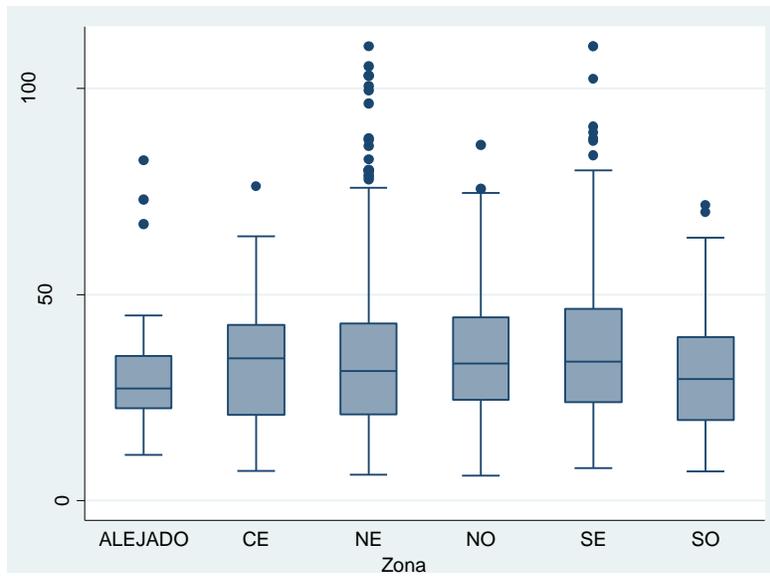
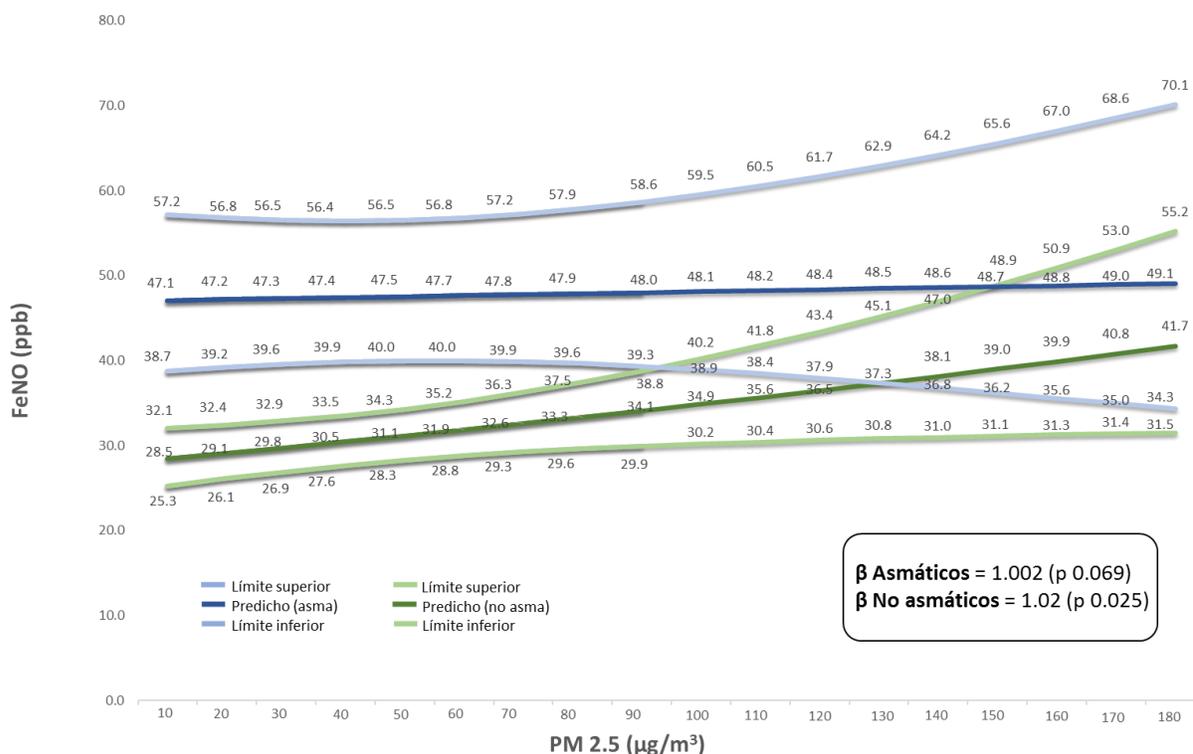


Tabla 2. Contaminantes y variables meteorológicas del área Metropolitana del Valle de México, durante el periodo 2008 - 2011.

Variable	Mediana (Q25 - Q75)	Mínimo – Máximo
O ₃ (ppb) Máximo móvil de 8 hrs	0.06 (0.04 - 0.07)	0.001 - 0.14
NO ₂ (ppb) Máximo móvil de 8 hrs	0.038 (0.03 - 0.05)	0.006 - 0.12
PM ₁₀ (µg/m ³) Máximo móvil de 8 hrs	52.25 (35.71 - 78.13)	5.13 - 214.13
PM _{2.5} (µg/m ³) Máximo móvil de 8 hrs	35.25 (24.75 - 45.86)	5.5 - 177.5
Temperatura promedio (°C)	17.4 (15.64 - 18.90)	8.59 - 24.96
Temperatura máxima promedio (°C)	24.31 (22.36 - 26.37)	10.88 - 33.98
Humedad media relativa (%)	54.23 (40.28 - 66.36)	12.17 – 100
Humedad máxima relativa (%)	78.09 (64.2 - 89.03)	21 – 100
Velocidad media del viento (m/seg)	1.56 (1.22 - 1.98)	0.43 - 5.24
Velocidad máxima del viento (m/seg)	3.57 (2.82 - 4.4)	1 - 7.78
Dirección media del viento	195.3 (160.2 - 233.5)	56.77 - 344.06
Dirección máxima del viento	353 (340 - 358)	110 – 360

O₃= Ozono, NO₂= Dióxido de nitrógeno, PM₁₀ = Material particulado de 10 µm de diámetro, PM_{2.5} = Material particulado de 2.5 µm de diámetro.

Figura 4. Asociación [coeficiente por cada 10 µg/m³ de incremento] entre FeNO y PM_{2.5} en adolescentes asmáticos y no asmáticos, residentes del área Metropolitana del Valle de México durante el periodo 2008 - 2011.



Ajustado por: sexo, temperatura media de un día previo, uso de corticoesteroides, antecedente atópico, peso y la edad al momento de cada visita.
FeNO = Fracción espiratorias de óxido nítrico, PM_{2.5} = Material particulado de 2.5 µm de diámetro, β = coeficiente.

Tabla 3. Asociación [coeficiente por 10 $\mu\text{g}/\text{m}^3$ de incremento] entre Nitratos y nitritos, 8-isoprostano, GSH, GSH/GSSG y $\text{PM}_{2.5}$ en adolescentes, residentes del área Metropolitana del Valle de México durante el periodo 2008 - 2011.

	$\text{PM}_{2.5}$ ($\mu\text{g}/\text{m}^3$)	
	Coeficiente (IC 95%)	p
Nitratos – nitritos¹ (pg/ml)		
No asma	0.184 (0.08, 0.287)	0.000
Asma	0.007 (-0.157, 0.171)	0.932
8 – isoprostano² (pg/ml)	2.28 (0.84, 3.72)	0.003
Glutation³ (nM)		
No asmáticos	3.63 (2.19, 5.05)	0.000
Asmáticos	1.34 (-6.6, 3.33)	0.189
GSH/GSSG⁴		
No asmáticos		
Lineal	0.081 (0.001, 0.161)	0.047
Cuadrático	-0.0003 (-0.0012, 0.0005)	0.461
Asmáticos		
Lineal	0.19 (0.06, 0.31)	0.003
Cuadrático	-0.002 (-0.0032, -0.0006)	0.004

Modelo ¹: Ajustado por temperatura máxima de un día anterior, humedad relativa máxima de un día anterior, niveles de exposición máximo móvil de 8 horas de Ozono del mismo día de la medición, asma y la interacción asma-Ozono- $\text{PM}_{2.5}$

Modelo ²: Ajustado por temperatura máxima de un día anterior, la humedad media relativa y el consumo de vitaminas

Modelo ³: Ajustado por consumo de esteroides, el estado asmático y su interacción $\text{PM}_{2.5}$ y cisteína.

Modelo ⁴: Ajustado por humedad media relativa de un día anterior, temperatura máxima de dos días anteriores, consumo de esteroides, estado asmático y su interacción con $\text{PM}_{2.5}$.

GSH/GSSG = Razón Glutation / Glutation oxidado

REFERENCIAS

- ¹ Organización Mundial de la Salud. Informe sobre la salud en el mundo 2004. Cambiemos el mundo de la historia. Ginebra, Suiza, mayo 2004.
- ² Organización Mundial de la Salud. Ambientes saludables prevención de enfermedades. Hacia una estimación de la carga de morbilidad atribuible al medio ambiente, 2006.
- ³ Lim S., Vos T., Flaxman A., Danaei G., Shibuya K., Adair-Rohani H., et al. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet* 2012;380:2224-60.
- ⁴ Marcelo E. Korc. Calidad del aire y su impacto en la salud en América Latina y el Caribe. CEPAL – SERIE Seminarios y conferencias. Tema I Gestión de la calidad del aire.
- ⁵ Rosales J., Torres V., Olaiz G., Borla V.. Los efectos agudos de la contaminación del aire en la salud de la población: Evidencias de estudios epidemiológicos. *Salud Pública Méx*, 2001; 43: 544-55.
- ⁶ Dominici F., Peng R., Bell M., Pham L., McDermott A., Zeger S., Samet J. Fine particulate air pollution and hospital admission for cardiovascular and respiratory diseases. *J Am Med Assoc*, 2006; 295:1127–1134
- ⁷ Barrios S., Pena F., Osses S. Efectos de la contaminación atmosférica por material particulado en las enfermedades respiratorias agudas en menores de 5 años. *Cienf Enferm*, 2004; 10, 2: 21-9.
- ⁸ Romero M., Más P., Lacasaña M., Téllez M., Aguilar J., Romieu I. Contaminación atmosférica, asma bronquial e infecciones respiratorias agudas en menores de edad, de la Habana. *Salud Pública Méx* 2004; 46:222-233.
- ⁹ Nel A. E., Díaz D., Ng D., Hiura T., Saxon A. Enhancement of allergic inflammation by the interaction between diesel exhaust particles and the immune system. *J Aller Clin Immunol*, 1998; 102:539-554.
- ¹⁰ Risom L., Møller P., Loft S. Oxidative stress-induced DNA damage by particulate air pollution. *Mutat Res*, 2005; 592:119–137
- ¹¹ Mills N., Donaldson K., Hadoke P., Boon N., MacNee W., Cassee F., et al. 2009. Adverse cardiovascular effects of air pollution. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 6:36–44
- ¹² Alaníz A., Canseco M., Granados A., Becerril M. Asociación entre obesidad y gravedad de asma en niños. *Aleg Mex* 2013; 60:117-122.
- ¹³ Komakula S., Khatri S., Mermis J., Savill S., Haque S., Rojas M., Brown L., Teague G., Holguin F. Body mass index is associated with reduced exhaled nitric oxide and higher exhaled 8-isoprostanes in asthmatics. *Bio Med Cen* 2007; 8:32.
- ¹⁴ Flaherman V., Rutherford G. A meta-analysis of the effect of high weight on asthma. *Arch Dis Child* 2006; 91; 334-339.
- ¹⁵ Martínez E., Sánchez M., El Hafidi M. Participación de la mitocondria en el desarrollo de estrés oxidativo en la obesidad. *Bioquímica* 2005; 30 (3):82-89.
- ¹⁶ Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Subirán. Manual de antropometría. Segunda edición. México, 2004.

-
- ¹⁷ World Health Organization Reference 2007. STATA macro package. Readme_stata.doc. Recuperado el 13 de Mayo del 2015 desde: http://www.who.int/growthref/tools/readme_stata.pdf?ua=1
- ¹⁸ Recommendations for standardized procedures for the online and offline measurement of exhaled lower respiratory nitric oxide and nasal nitric oxide in adults and children. *Am J Respir Crit Care Med* 1999;160:2104-2117.
- ¹⁹ Delfino R. J., Staimer N., Gillen D., Tjoa T., Sioutas C., Fung K., George S. C., Kleinman M.T. Personal and ambient air pollution is associated with increased exhaled nitric oxide in children with asthma. *Environ Health Perspect.* 2006 Nov; 114(11): 1736–1743.
- ²⁰ Mar T. F., Jansen K., Shepherd K., Lumley T., Larson T. V., Koenig J.Q. Exhaled nitric oxide in children with asthma and short-term Pm2.5 exposure in Seattle. *Environ Health Perspect.* 2005 Dec;113(12):1791-1794.
- ²¹ Barraza A, Sunyer J, Hernandez L, Escamilla M. C., Sienna J. J., Ramírez M., Cortez M., Holguin F., Diaz D., Olin A.C., Romieu I. Air pollution, airway inflammation, and lung function in a cohort study of Mexico city schoolchildren. *Environ Health Perspect.* 2008 Jun;116(6):832-8.
- ²² Klümper C., Krämer U., Lehmann I., von Berg A., Berdel D., Herberth G., Beckmann C., Link E., Heinrich J., Hoffmann B., Schins R. P. Air pollution and cytokine responsiveness in asthmatic and non-asthmatic children. *Environ Res.* 2015 Apr;138:381-90.
- ²³ Kelly F. J., Mudway I., Blomberg A., Frew A., Sandström T. Altered lung antioxidant status in patients with mild asthma. *Lancet* 1999 Aug 7;354(9177):482-3.
- ²⁴ Denzoin L. A., Soraci A. L., Tapia M. O. Homeostasis del glutation. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2013; 47 (3):529-539.
- ²⁵ Quintanar M., Calderon J. V. La capacidad antioxidante total. *Bases y aplicaciones. REB* 2009; 28(3):89-101.
- ²⁶ Cantin A. M., North S. L., Hubbard R. C., Crystal R. G. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J Appl Physiol* (1985). 1987 Jul;63(1):152-7.
- ²⁷ Zielinski H. The interactions of carbón black particles with reduced glutathione and proteins in respiratory tract lining fluid. *The Journ of Prevent Med* 2001; 9(2):57-65.
- ²⁸ Laumbach R. J., Kipen H. M., Ko S., Kelly-McNeil K., Cepeda C., Pettit A., Ohman-Strickland P., Zhang L., Zhang J., Gong J., Veleparambil M., Gow A. J. A controlled trial of acute effects of human exposure to traffic particles on pulmonary oxidative stress and heart rate variability. *Part Fibre Toxicol.* 2014 Nov 1;11:45.
- ²⁹ De Prins S., Dons E., Van Poppel M., Int Panis L., Van de Mierop E., Nelen V., Cox B., Nawrot T. S., Teughels C., Schoeters G., Koppen G. Airway oxidative stress and inflammation markers in exhaled breath from children are linked with exposure to black carbón. *Environ Int.* 2014 Dec;73:440-6.
- ³⁰ Barros R., Moreira A., Fonseca J., Moreira P., Fernandes L., Ferraz de Oliveira J., Delgado L., Castel-Branco M.G.: Obesity and airway inflammation in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2006, 117:1501-1502.
- ³¹ Gow A. J.: The biological chemistry of nitric oxide as it pertains to the extrapulmonary effects of inhaled nitric oxide. *Proc Am Thorac Soc* 2006, 3:150-152.

-
- ³² Nguyen T. A., Woo-Park J, Hess M, Goins M, Urban P, Vaughan J, Smith A, Hunt J: Assaying all of the nitrogen oxides in breath modifies the interpretation of exhaled nitric oxide. *Vascul Pharmacol* 2005, 43:379-384.
- ³³ Auerbach A., Hernandez M. L. The effect of environmental oxidative stress on airway inflammation. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2012 April; 12(2):133-139.
- ³⁴ Kelly F. Oxidative stress: Its role in air pollution and adverse health effects. *Occup Environ Med* 2003; 60:612-616.
- ³⁵ Romieu I., Castro-Giner F., Kunzli N., Sunyer J. Air pollution, oxidative stress and dietary supplementation: a review. *Eur Respir J* 2008; 31:179-196.
- ³⁶ Bates C.A., Silkoff P.E. Exhaled nitric oxide in asthma: from bench to bedside. *J Allergy Clin Immunol.* 2003 Feb;111(2):256-62.
- ³⁷ Jones S. L., Kittelson J., Cowan J. O., Flannery E. M., Hancox R. J., McLachlan C. R., Taylor D. R. The predictive value of exhaled nitric oxide measurements in assessing changes in asthma control. *Am J Respir Crit Care Med.* 2001 Sep 1;164(5):738-43.
- ³⁸ Zeidler M. R., Kleerup E. C., Tashkin D.P. Exhaled nitric oxide in the assessment of asthma. *Curr Opin Pulm Med.* 2004 Jan;10(1):31-6.
- ³⁹ Dinakar C. Exhaled nitric oxide in the clinical management of asthma. *Curr Allergy Asthma Rep.* 2004; 4:454-459.
- ⁴⁰ Denzoin L. A., Soraci A. L., Tapia M. O. Homeostasis del glutation. *Acta Bioquim Clin Latinoam* 2013; 47 (3):529-539.
- ⁴¹ Zitka O., Skalickova S., Gumulec J., Masarik M., Adam V., Hubalek J., Trnkova L., Kruseova J., Eckschlager T., Kizek R. Redox status expressed as GSH:GSSG ratio as a marker for oxidative stress in paediatric tumour patients. *Oncology letters* 2012; 4: 1247-1253.
- ⁴² Delfino R. J. Epidemiologic evidence for asthma and exposure to air toxics: linkages between occupational, indoor, and community air pollution research. *Environ Health Perspect.* 2002 Aug;110 Suppl 4:573-89.
- ⁴³ Li N, Hao M., Phalen R.F., Hinds W.C., Nel A.E. Particulate air pollutants and asthma. A paradigm for the role of oxidative stress in PM-induced adverse health effects. *Clin Immunol.* 2003 Dec;109(3):250-65.