

INSTITUTO NACIONAL DE SALUD PÚBLICA

**ESCUELA DE SALUD PÚBLICA DE MÉXICO
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS EN SALUD PÚBLICA
EN EPIDEMIOLOGÍA**

Generación 2011-2015

**MODIFICACIÓN DEL EFECTO DE LA EXPOSICIÓN A PM_{2.5} SOBRE LA
INFLAMACIÓN DE VÍAS AÉREAS Y FUNCIÓN PULMONAR POR LA
PRESENCIA DE LA PROTEÍNA(PAI-1) EN UNA COHORTE DE
ADOLESCENTES OBESOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO.**

Tesis que para la obtención del
grado de doctor en ciencias en salud
pública presenta:

MC. JULIO CÉSAR CRUZ DE LA CRUZ

**Director de tesis
Dra. Leticia Hernández Cadena**

**Asesores
Dr. Albino Barraza Villareal
Dra. Hortensia moreno Macías
Dra. Fengyang Huang**

CUERNAVACA, MORELOS. 2016

ÍNDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN.....	2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
OBJETIVOS	4
ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO	5
<i>Problemas respiratorios y Obesidad.</i>	5
<i>Inflamación de vías aéreas y función pulmonar</i>	6
<i>Pruebas para valorar la función pulmonar</i>	7
<i>Contaminantes atmosféricos (PM's)</i>	8
<i>Plasminógeno activador inhibidor 1 (PAI-1)</i>	13
MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
Estudio previo	15
Características del presente estudio.....	16
Definición de variables	17
Función pulmonar	18
<i>Espirometrías.</i>	18
Inflamación.....	18
<i>Óxido nítrico exhalado</i>	18
Evaluación de la exposición.....	19
Determinación de la concentración de PAI-1	20
Otras variables de interés	20
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	21
CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD	22
APORTACIONES RELEVANTES Y RESUMEN DE LOS ARTÍCULOS	22
Resultados 1er artículo (Anexo 1)	22
Resultados 2do artículo (Anexo 2)	23
RECOMENDACIONES.....	24
BIBLIOGRAFÍA	25
Anexos	27
Cuerpo del 1er articulo	27
Cuerpo del 2do articulo.....	28

INTRODUCCIÓN

Son varias las causas que siguen motivando la investigación en el campo de la salud respiratoria, entre ellas; su compleja fisiopatología y el conocimiento parcial de sus relaciones con la genética, con la farmacología, con el género, con los padecimientos asociados, y con factores de riesgo tanto ambientales como sociales. La importancia de dicha investigación está sustentada por la prevalencia e incidencia de enfermedades respiratorias y co-morbilidades que alientan a intentar dilucidar de manera más específica la intrincada relación entre disminución de la función pulmonar, participación genética y ambiente, aún más cuando no hay suficientes estudios en México que evalúen en forma integral el impacto de estos padecimientos en la salud (morbilidad directa y asociada), tanto a nivel social (ausentismo laboral y escolar) como económico, (costos directos e indirectos) y que permitan racionalizar los recursos disponibles para la atención de los pacientes y tomar las medidas políticas para enfrentar la llamada epidemia del siglo XXI [1]. Este trabajo de investigación evaluó la posible modificación del efecto de la exposición a PM_{2.5}, sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar, por la presencia de la proteína plasminógeno activador inhibidor 1 (PAI-1), esta proteína responde a diversos factores, como la presencia de algunos polimorfismo *e.g.* (-675 4G/5G del SERPINE 1) o bien factores de morbilidad cardiovascular y respiratoria. Para ello utilizamos un diseño de cohorte en adolescentes obesos asmáticos y obesos no asmáticos de la ciudad de México. En su primera sección este documento presenta el planteamiento del problema y los objetivos principales, seguidos de los antecedentes involucrados con la historia natural de estos padecimientos y mecanismos relacionados, se consideró la función pulmonar (VEF1, CVF, VEF1/CVF) y la inflamación de vías aéreas (Fracción espiratoria de Óxido nítrico; FeNo) como principales eventos de interés, mientras que el índice corporal y/o estatus de sobrepeso y obesidad, así como la exposición a factores ambientales (específicamente la exposición a PM_{2.5}) fueron considerados como factores de riesgo o de exposición y la concentración en sangre de PAI-1, como un posible modificador de efecto. Los objetivos se desglosan en dos principales, los cuales quedan plasmados en dos diferentes artículos anexos. En la sección de métodos se describen los procedimientos que se utilizaron para la obtención de los datos y su análisis, finalmente se describen y discuten los resultados encontrados.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La ciudad de México tiene características únicas de contaminación ambiental debido a su enorme población y sus condiciones geográficas, condiciones que generan un ambiente ideal para la incidencia de enfermedades, de hecho, México tiene una elevada prevalencia de enfermedades respiratorias [1, 2]. Aunado a esto, se cuenta con muy pocos estudios en población infantil y puberal en los que se investigue el efecto de la exposición a partículas contaminantes suspendidas, o la interacción por la presencia de factores genéticos y otros marcadores que actúan sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar, por lo anterior se presenta una oportunidad poco usual para el estudio de factores de riesgo y padecimientos, mecanismos moleculares asociados y grupos susceptibles, para la creación de biomarcadores, la generación de políticas públicas y estrategias para el diagnóstico y tratamiento, sobre todo cuando se sabe que la población más susceptible son los niños y adolescentes (ISAAC; 1991). El desarrollo de algunos padecimientos respiratorios está asociado principalmente a factores genéticos, estilos de vida y el ambiente, de esta forma nos planteamos la siguiente pregunta ¿Interactúan estas tres condiciones en la inflamación de vías aéreas y la disminución de la función pulmonar? Para respondernos ésta pregunta estudiamos la proteína (PAI-1), de la cual tenemos la hipótesis de que funge como modificador del efecto de la exposición a $PM_{2.5}$ sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar, empeorando estos síntomas. PAI-1 tiene una participación importante en el mecanismo de degradación de fibrina y deposición de matriz extracelular; cuando éste mecanismo no se activa de manera apropiada puede llevar a un cuadro de remodelación bronquial por inflamación de vías aéreas, con subsecuente disminución en la función pulmonar (Buckova et al. 2002; Isordia-Salas et al. 2009). Dado éstas interrogantes y los antecedentes existentes sobre el tema, nos hemos planteado los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

General

Evaluar la modificación del efecto de la exposición a $PM_{2.5}$ sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar a diferentes concentraciones de la proteína (PAI-1) en una cohorte de adolescentes obesos de la ciudad de México.

Específicos

1. Evaluar la asociación entre el cambio en el índice de masa corporal a través del tiempo y la función pulmonar.
2. Determinar la exposición a $PM_{2.5}$ en la población de estudio mediante datos ambientales provenientes de la red automática de monitoreo ambiental de la ciudad de México.
3. Evaluar el impacto de la exposición a $PM_{2.5}$ sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar en los individuos.
4. Evaluar el impacto de la concentración de PAI-1 sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar en los individuos.
5. Evaluar la modificación del efecto entre la presencia de PAI-1 y la exposición a $PM_{2.5}$ sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar en ésta población.

ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

Problemas respiratorios y Obesidad.

En la actualidad los problemas respiratorios tienden a ir en aumento a nivel mundial, particularmente entre niños y adolescentes.[1] En términos de importancia para la salud pública, en México, cerca del 6 y 12.5% de la población infantil tiene estos padecimientos y ocupan el primer lugar como causa de admisión pediátrica. [2-5]. Muchos de los factores de riesgo que predisponen estos padecimientos son ampliamente conocidos, dentro de los cuales entran las características particulares de la población, destacando las condiciones de salud de la madre durante el embarazo, la desnutrición, factores heredofamiliares así como el componente ambiental y el genético. Recientemente se ha sugerido que la obesidad puede jugar un papel importante en los procesos respiratorios; a partir de los estudios del genoma humano, diversos estudios han encontrado en pacientes con asma una mayor presencia de los locus 5q, 6, 11q, 13 y 12q, los cuales contienen genes candidatos tanto para obesidad como para inflamación crónica de vías aéreas, lo que refleja que la probabilidad de padecer algún problema respiratorio siendo obeso especialmente en niños de edad escolar aumente hasta en 50% [5, 6].

La obesidad además se encuentra entre las principales causas de morbilidad en adolescentes. El exceso de peso (sobrepeso/obesidad) en éste grupo es de cerca del 30% [7]. La prevalencia de obesidad en la población escolar y adolescente ha aumentado significativamente en las últimas décadas, llegando a constituir un importante problema de salud pública, siendo una de las patologías predominantes [7]. Éste cambio en la distribución de la obesidad pareciera ser el resultado de efectos ambientales sobre una población susceptible, en donde se han atribuido tanto factores sociales como hábitos alimenticios, el aumento en el consumo de alimentos hipercalóricos, poca ingesta de proteínas y alimentos ricos en grasas saturadas, junto con la disminución de la actividad física y la vida sedentaria. [8, 9]. La encuesta nacional de salud del año 2012, publicó que para la

población en edad escolar (de 5 a 11 años de edad), la prevalencia nacional combinada de sobrepeso y obesidad en ese año, utilizando los criterios de la OMS, fue de 34.4% (19.8 y 14.6%, respectivamente). Para las niñas esta cifra es de 32% (20.2 y 11.8%, respectivamente) y para los niños es casi 5 puntos porcentuales mayor 36.9% (19.5 y 17.4%, respectivamente). Estas prevalencias en niños en edad escolar representan alrededor de 5, 664,870 niños con sobrepeso y obesidad en el ámbito nacional. Por otro lado, el 35% de los adolescentes tiene sobrepeso u obesidad. Esto representa alrededor de 6,325 131 individuos entre 12 y 19 años de edad. En 2006 la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad, bajo este criterio, fue de 33.2% (33.4% en el sexo femenino y 33.0% en el masculino).

Inflamación de vías aéreas y función pulmonar

Gran parte de los procesos inflamatorios a nivel pulmonar son evaluados a partir de la medición de la función pulmonar. Ésta puede describirse como un conjunto de procesos que incluye; a groso modo: la inhalación, el intercambio de gases entre aire-sangre y la exhalación; su desarrollo comienza durante la infancia y se acelera en la adolescencia antes de terminar como una función pulmonar totalmente desarrollada y en promedio 5 años después en los hombres que en las mujeres. Se pueden distinguir 4 etapas en el desarrollo pulmonar: embriogénesis (desarrollo del embrión), morfogénesis (desarrollo del aspecto externo e interno de la configuración pulmonar, vías aéreas y zonas de intercambio gaseoso), diferenciación (desarrollo de las células especializadas a partir de primitivas precursoras) y crecimiento (expansión volumétrica pulmonar y masa tisular), esta última etapa se produce en la vida fetal y en la postnatal. El crecimiento de los pulmones culmina alrededor de los 18 años de edad; la diferencia entre un adulto y un niño radica principalmente en el número de alvéolos, calculándose 400-600 millones y 100-150 millones, respectivamente y debido a que los problemas respiratorios en el adulto inician en la edad pediátrica y de desarrollo, es relevante conocer si daños o deficiencias en etapas tempranas de la vida pueden afectar el

desarrollo y favorecer enfermedades en la edad adulta, por lo que realizar estudios de la función pulmonar en etapas en que el paciente debería haber madurado su función pulmonar es altamente relevante ya que presentan una etapa de alta susceptibilidad [10].

Pruebas para valorar la función pulmonar

Dentro de las pruebas que se utilizan para medir la enfermedad pulmonar se encuentran: la evaluación de la función pulmonar, esta mide el buen funcionamiento de los pulmones, en la cual se inhala/exhala aire y se evalúa la eficacia del transporte del oxígeno hacia la sangre. El proceso de ventilación de la función pulmonar, consiste en la inhalación y exhalación del aire, el cual se moviliza a través de las vías respiratorias superiores y llega hasta la zona de intercambio gaseoso, esto se mide a través de la espirometría, la cual es una técnica que mide volúmenes y flujos pulmonares, generados en una maniobra de espiración máxima voluntaria [14], esta técnica permite medir cualquier daño o alteración en las propiedades elásticas del pulmón que modificarán el proceso de ventilación; y puede medir tanto el tamaño del pulmón como el calibre de los bronquios [15, 16].

La función pulmonar se pueden conocer al medir ciertos parámetros como: capacidad vital forzada (CVF), volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF1) y el índice Tiffeneau (cociente VEF1/CVF). En términos generales, la capacidad vital forzada (CVF) representa el máximo volumen de aire que puede ventilarse (movilizarse) dentro y fuera de los pulmones y se ve disminuida en presencia de algunas enfermedades o por algunos estímulos sobre todo ambientales [16]. EL VEF1 representa la cantidad de aire que puede ser expulsado por un individuo en el primer segundo después de iniciar la exhalación, teniendo los pulmones completamente inflados y realizando su máximo esfuerzo. Se basa en que normalmente en el primer segundo se expulsa la mayor parte del aire de los pulmones (80% de la capacidad vital). El valor de VEF1 en personas jóvenes debe ser igual al 80% de la capacidad vital [16]. Se ha observado que el

crecimiento de las vías aéreas superiores se ve disminuida, por la exposición a contaminantes ambientales [17]. Por otro lado, el cociente entre el VEF1 y la CVF se conoce como índice de Tiffeneau o cociente VEF1/CVF, este parámetro indica una obstrucción en los bronquios si los valores son $<$ al 80%. Este índice es importante ya que se puede determinar si los valores obtenidos de la CVF son bajos debidos a una obstrucción o por algún tipo de malformación [16]. Por otro lado, existen pocos biomarcadores útiles para la detección de síntomas como inflamación y la función pulmonar, recientemente en diversos estudios epidemiológicos y en algunas regiones de Estados Unidos y Europa, el estudio del óxido nítrico exhalado (FeNo), se ha utilizado como herramienta para medir inflamación de la vía aérea, dicha determinación ha mostrado relación entre inflamación y asma. Se han reportado niveles de (FeNo) mayores en los asmáticos, comparados con los grupos control sanos, así mismo con la presencia de síntomas relacionados con asma en niños. De hecho, recientemente se propuesto el uso del (FeNO) como herramienta para el control de los pacientes con asma, en el estudio de Pijnenburg, se determinó que el FeNo es un método efectivo para predecir las recaídas de asma en las primeras 4 semanas, después de haber terminado su tratamiento con esteroides inhalados. La medición de eNOx se ha utilizado para evaluar alteraciones a nivel pulmonar que son detectables a etapas tempranas[11-13] . La función pulmonar, puede verse influida por el género, la altura, la edad, al igual que por la exposición prenatal, la etnia, la obesidad, la altitud del lugar de residencia, el consumo de tabaco, la alimentación, el nivel socioeconómico, factores genéticos, la contaminación y enfermedades pulmonares [18].

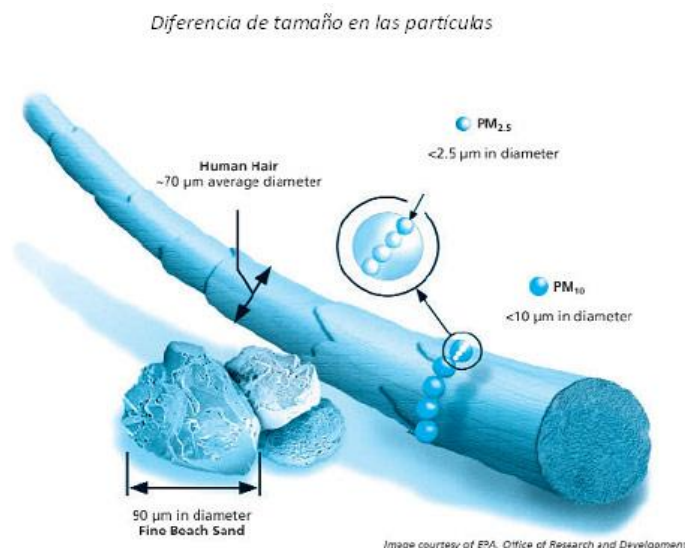
Contaminantes atmosféricos (PM's)

Los contaminantes atmosféricos son uno de los principales factores que contribuyen al aumento de las enfermedades crónicas y la mortalidad, impactando en la salud pública de las poblaciones. Las enfermedades crónicas más comunes asociadas a este fenómeno son: enfermedades pulmonares obstructivas crónicas

(EPOC), enfermedades cardiovasculares (ECV), asma [2] y cáncer. Se ha observado que los principales contaminantes que promueven las enfermedades pulmonares crónicas obstructivas son el ozono, óxido de sulfuro, monóxido de carbono, dióxidos de nitrógeno y partículas finas suspendidas (PM_{10} y $PM_{2.5}$) [4].

Respecto a estas últimas, se sabe que tienen una mayor repercusión en la salud en comparación con otras moléculas, esto debido a sus características y origen. Las partículas suspendidas menores de 2.5 micrómetros o $PM_{2.5}$, son contaminantes del aire constituidos por material sólido o líquido con diámetro menor de 2.5 milésimas de milímetro (figura 1).

Figura 1. Representación gráfica a escala de $PM_{2.5}$.

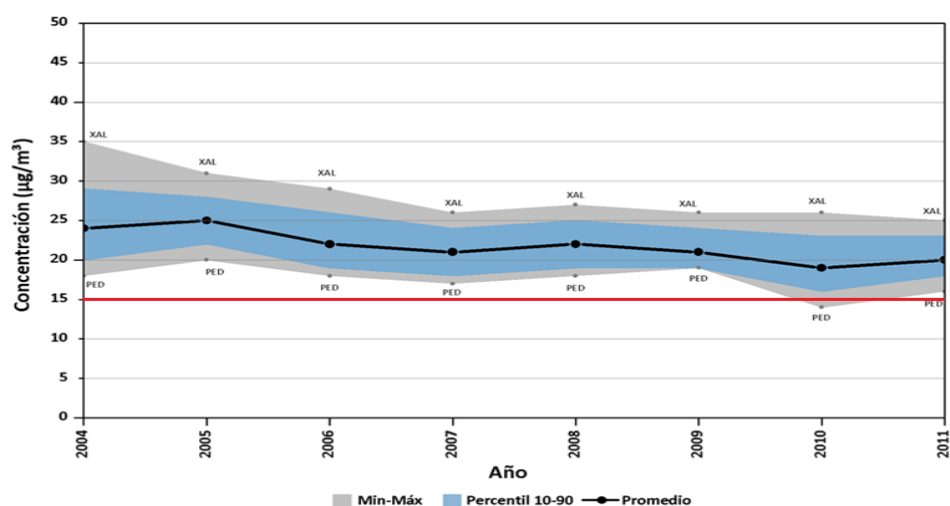


Fuente: www.calidadaire.df.gob.mx. Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA)

Las $PM_{2.5}$ son tan pequeñas que resultan invisibles a simple vista, permanecen en la atmósfera por largo tiempo y recorren grandes distancias antes de ser removidas. Algunas $PM_{2.5}$ se emiten directamente a la atmósfera, originadas por actividades antropogénicas, como son las provenientes de la combustión de vehículos diésel y de gasolina. Las $PM_{2.5}$ se forman también a partir de reacciones químicas de gases emitidos a la atmósfera, formando aerosoles de nitratos, sulfatos y de compuestos orgánicos. En menor proporción contribuyen las fuentes naturales como las geológicas y biológicas. Por ser tan diminutas, las $PM_{2.5}$

pueden ingresar y depositarse en el sistema respiratorio interno, causando serios daños. En la ciudad de México, de acuerdo con datos de la Red Automática de Monitoreo Ambiental (RAMA) las concentraciones de $PM_{2.5}$ registradas desde el año 2004 a la fecha de este estudio se encuentran aún por encima de los valores seguros para proteger a la población, es decir por encima de las concentraciones que la norma oficial mexicana NOM 025-SSA1-1993 [19] establecida como límite y mucho más elevadas si consideramos las concentraciones límite establecidas en la actualización de la norma publicada en el 2014 [19]. Las partículas menores a 2.5 micrómetros ($PM_{2.5}$) de acuerdo a la norma para antes del 2014 debían permanecer en $65 \mu g/m^3$ promedio de 24 horas y $15 \mu g/m^3$ promedio anual (línea roja figura 2).

Figura 2. Concentración promedio anual de $PM_{2.5}$



Fuente: www.calidadaire.df.gob.mx. Red Automática de Monitoreo Atmosférico (RAMA).

Estudios recientes en diferentes ciudades del mundo muestran una asociación directa entre el aumento de las concentraciones de $PM_{2.5}$ y el decremento de la función pulmonar, el incremento de visitas a salas de hospitales, agravamiento de afecciones pulmonares y cardiovasculares preexistentes, y la muerte prematura en personas que padecen esas afecciones [20].

Parte del mecanismo de acción de estos contaminantes ambientales se cree que es mediante la inducción de estrés oxidativo e inflamación también asociados a

susceptibilidad genética; esta triple interacción (ambiente-gen-población) parece por lo tanto, ser el disparador de padecimientos como los mencionados anteriormente [4]. Estudios epidemiológicos han demostrado una clara asociación entre la morbilidad cardiovascular, aumento de hospitalizaciones, mortalidad y las concentraciones en aire de compuestos fotoquímicos y partículas contaminantes [21]. Se ha demostrado que la exposición a corto plazo conduce a un efecto inflamatorio agudo en las vías respiratorias normales en una pequeña pero relevante proporción de individuos (10-20%). Las consecuencias de la exposición prolongada a la contaminación del aire son difíciles de medir pero en general se cree que el efecto es mayor del estimado. Estudios realizados en niños y adultos también han demostrado que la exposición a material particulado, dióxido de nitrógeno y dióxido de azufre, entre otras, están asociados con síntomas de bronquitis. Además, la exposición a estas partículas se ha relacionado con la reducción del crecimiento de la función pulmonar en niños [4, 21].

En el caso de la relación entre partículas suspendidas y el proceso respiratorio se sabe que estas llegan al tracto respiratorio (TR) por varios procesos de deposición como: impactación, sedimentación, difusión, intercepción y atracción electrostática, todos estos mecanismos son dependientes de características inherentes a la propia partícula o factores biológicos [22], como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Factores que afectan la deposición de las PM en el TR

Fisicoquímico	Biológicos	Referencia
Tamaño	Anatomía de vías aéreas	
Forma	Ruta de respiración(nasal y oral)	
Densidad	Patrón de respiración (volumen y ritmo respiratorio)	Yeh et al., 1976; Lippmann et al., 1980; Bennett y Brown, 2005; Bezemer,
Carga eléctrica		
Higroscopia		

En México, Barraza y colaboradores encontraron que la exposición a material particulado (PM_{2.5}) genera inflamación aguda en vías aéreas y disminución de la función pulmonar, estos resultados se obtuvieron de un estudio de cohorte con

población infantil en edad escolar y fueron similares para niños asmáticos y no asmáticos [23]. Como se describió anteriormente existen diversos padecimientos asociados a la contaminación ambiental, sobretodo del tipo atmosférica, un buen ejemplo de estos problemas de salud es el asma y sus síntomas relacionados, por ejemplo; estrés oxidativo, función pulmonar, e inflamación de vías aéreas, estas dos últimas de particular interés en este estudio ya que el asma es proceso inflamatorio pulmonar crónico, asociado a la hiperrespuesta de la vía aérea con limitación del flujo aéreo y síntomas respiratorios, en la tabla 2 se presentan algunos hallazgos reportados en la literatura donde se pueden observar asociaciones encontradas entre contaminación por partículas suspendidas y problemas respiratorios [24, 25].

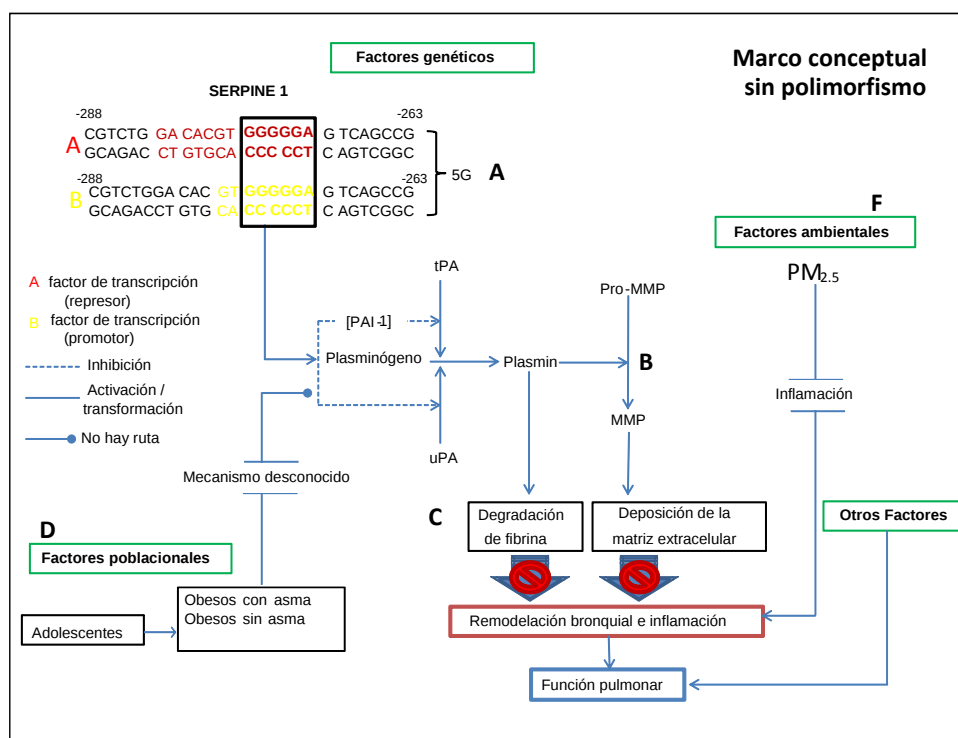
Tabla 2. Asociación entre material particulado y problemas respiratorios.

Estudio	Hallazgo	Referencia
Cohorte: 112 niños de Alemania	Incrementos en PM ₁₀ de 100 µg/m ³ en el mismo día se asocian a una disminución del 2.5% en los diferentes parámetros de la función pulmonar: (CVF, VEF1)	Hoek et al., 1993
975 niños de Austria	Cambios de 10 µg/m ³ en PM ₁₀ se asocian con una disminución de VEF1 de 0.23 ml/día	Horak et al., 2002
147 niños asmáticos y 50 niños sanos de México	Incrementos de 17.4 µg/m ³ se asocian con un incremento de 8.9% en síntomas como sibilancia y 10% en tos en niños asmáticos	Escamilla Núñez et al., 2008
Cohorte: 24 niños Polotitlán. 28 niños Suroeste de Cd. de México	Exposición a PM _{2.5} presenta inflamación sistémica y un incremento en los niveles de PCR	Calderón et al., 2008.
Cohorte 158 niños asmáticos 50 niños no asmáticos	Asociación negativa entre PM _{2.5} y VEF1 Niveles de IL-8 altos se asocian con la exposición a PM _{2.5} en niños no asmáticos	Barraza-Villareal et al., 2008.

Plasminógeno activador inhibidor 1 (PAI-1)

Recientes estudios han encontrado que el plasminógeno activador inhibidor 1 (PAI-1), está asociado a la disminución de la función pulmonar en adolescentes asmáticos y/u obesos, se ha demostrado que el grado de inflamación sistémica y el grado de obesidad en los grupos de adolescentes estudiados tienen una correlación negativa con la función pulmonar, lo que sugiere un patrón pulmonar obstructivo, aunque el mecanismo no está elucidado [26]. La proteína PAI-1 activa o desactiva a una proenzima llamada plasminógeno dependiente del sistema PAS (tPA y uPA), y cuyo producto final es el plasmín, enzima que a su vez está involucrada en la degradación de fibrina y productos de la deposición de la matriz extracelular (DME) [27] (figura 3).

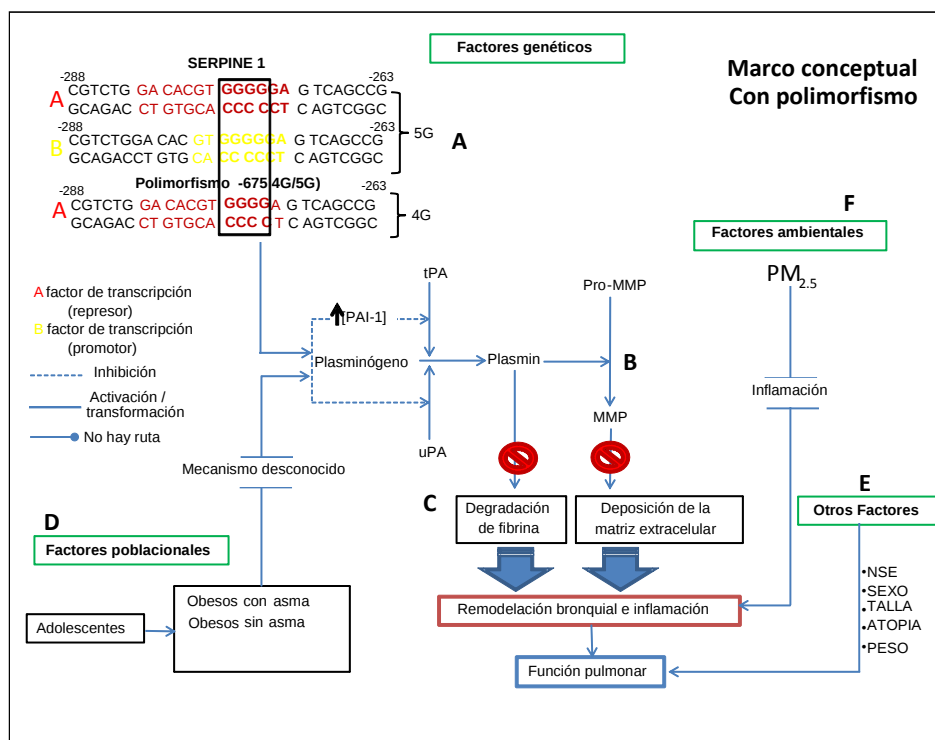
Figura 3. Sistema PAS y degradación de fibrina.



Se cree que a nivel fisiológico el aumento en la concentración de PAI-1 produce una reducción en la capacidad del sistema fibrinolítico y en la eliminación de la deposición extracelular, lo que conlleva a la obstrucción y remodelación de los bronquios, inflamación de vías aéreas y por lo tanto disminución de la función pulmonar (figura 4B).

La limitación del flujo aéreo está dada por broncoespasmo agudo, edema de la pared bronquial, formación de tapones de moco e inflamación, y recientemente se ha agregado lo que se conoce como “remodelación bronquial” [2]. PAI-1 también está asociado a una red de otras moléculas que se ha descubierto tiene implicaciones en la obesidad, encontrándose PAI-1 en concentraciones elevadas en obesos [28] (figura 4D) y pudiera tener un interacción con la exposición ambiental a partículas contaminantes como PM_{2.5} (figura 4F), potenciando los efectos, particularmente en la inflamación de vías aéreas y función pulmonar en sujetos susceptibles (adolescentes asmáticos obesos) derivados de la exposición. [29, 30].

Figura 4. Cambio en el sistema PAS a elevadas concentraciones de PAI-1.



MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio previo

El estudio madre del que se desprende el trabajo presentado en este documento estuvo conformado por un grupo de adolescentes obesos con y sin asma con un índice de masa corporal arriba de la percentil 95% , los cuales fueron sometidos a una intervención y la cual consistió en orientación alimentaria, manejo con psicoterapia y actividad física programada. El estudio se realizó en conjunto entre el Instituto Nacional de Salud Pública y el Hospital Infantil de México, Federico Gómez (HIMFG), éste último localizado en el área central de la ciudad de México, encargado de atender una población de nivel socioeconómico medio a bajo, que proviene de todos los lugares del área metropolitana de la ciudad y cuyos pacientes adscritos tiene de 0 a 18 años de edad. El reclutamiento consistió en invitar a participar a los adolescentes obesos que acudieron a consulta a través de la clínica de obesidad del Hospital Infantil de México y remitidos al departamento de alergias. Una vez que se comprobaba que el adolescente cumplía con el criterio de obesidad de acuerdo a Cole[31], se evaluó por un médico especialista su estado asmático en donde se utilizó el criterio GINA para su clasificación, junto con los siguientes criterios:

Criterios de inclusión: Sujetos de 10 a 16 años de edad, ambos sexos, los obesos no asmáticos debieron de carecer de antecedentes atópicos, desear participar en el estudio y presentar el consentimiento informado de sus padre y el asentimiento del paciente.

Criterios de exclusión: Sujetos que padecieran una patología diferente a las mencionadas (crónicas o agudas) y pacientes con síndromes somatodismórficos (Síndrome de Prader Willi, Lawrence, Moon-Biedl, Carpenter, Summit, Cohen).

Los obesos fueron valorados cada mes durante 6 meses y después cada tres meses hasta terminar el estudio (30 meses O Visita numero15), por médicos investigadores especialistas encargados del estudio del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Los pacientes clasificados como asmáticos fueron aquellos con diagnóstico médico de asma en base a su expediente o bien que en su expediente médico presente síntomas como tos, disnea y sibilancias de 3 meses de evolución o por lo menos 2 episodios de broncoespasmo en los últimos 12 meses. (GINA, <http://www.ginasthma.org/>).

Los pacientes sin diagnóstico de asma debieron no haber presentado síntomas de enfermedad respiratoria en los últimos 12 meses. Durante el estudio se excluyó a aquellos pacientes que no asistieron a sus citas para valoración (antropometría y exploración física) y a aquellos que desearon abandonar el estudio de manera voluntaria. Asimismo a aquellos que presentaron problemas de salud durante el seguimiento, tales como; con Tanner avanzado, caracterizado por ser mayor al percentil 97 para edad y sexo basado en los estándares publicados.

Características del presente estudio.

Tipo y diseño del estudio: Estudio cohorte longitudinal tipo panel (figura 5. Se tomaron en cuenta pacientes con obesidad reclutados en el estudio previo, de igual manera se usaron los criterios de inclusión y exclusión de acuerdo al diseño original no obstante se excluyeron también aquellas personas de quienes no tuvimos información completa o que los datos requeridos no cumplieran con los propósitos de nuestro estudio. Se tomaron en cuenta las determinaciones de las muestras basales para los datos inflamación de vías aéreas y función pulmonar, aunque esto influyó en que algunos pacientes en su primera evaluación de la función pulmonar o de medición de inflamación de vías aéreas no cumplieran con el estado de obesidad como lo fue al inicio del estudio.

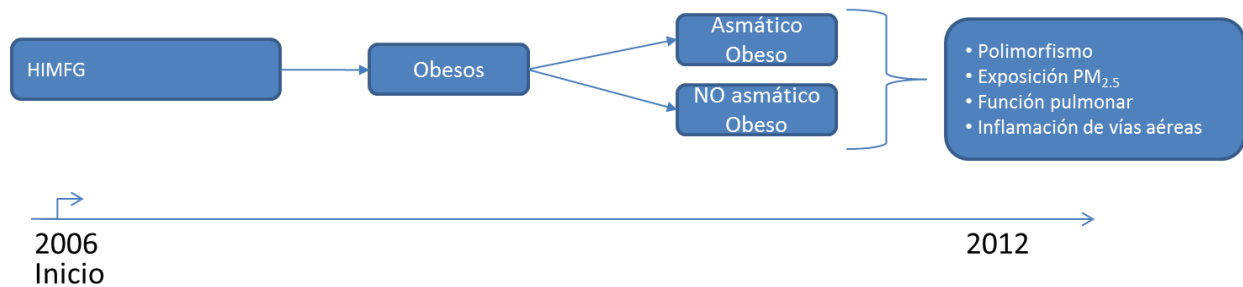


Figura 5. Diseño del estudio (Cohorte).

La población de estudio se conformó por adolescentes obesos asmáticos y no asmáticos de entre 10 y 16 años de edad reclutados en el HIMFG en la ciudad de México del año 2006 al 2012.

Definición de variables

Las variables Independientes principales fueron: IMC para uno de los objetivos del primer artículo y la Exposición a $PM_{2.5}$ y la concentración en sangre de la proteína (PAI-1) para el segundo artículo. El IMC fue calculado mediante la medición del peso y talla, la exposición a $PM_{2.5}$ se midió mediante geo-referencia relacionando el domicilio de los sujetos de estudio y la estación de la RAMA más cercana. Estas mediciones fueron evaluadas a lo largo del tiempo en cada visita del paciente al hospital infantil. PAI-1 se midió por ELISA a partir de muestras plasmáticas de sangre almacenadas a $-70^{\circ}C$ que se obtuvieron al inicio del estudio y cada 3 meses para cada participante, en éste caso se seleccionaron dos muestras por paciente en dos diferentes momentos en el tiempo (primera y última visita) para comparar los cambios con respecto al tiempo y empatar estas con los datos de función pulmonar y contaminante en la fecha de medición de ambos. PAI-1 fue determinado ya que su concentración en sangre (la concentración normal promedio es de 5 a 40 ng/ml, con valores medios de 20ng/ml [32, 33]) determina la disponibilidad del sistema fibrinolítico, la modulación de tal sistema responde inhibiéndose a concentraciones altas de PAI-1 mientras que a concentraciones

bajas actúa como activador del sistema fibrinolítico, tal sistema es esencial para eliminar depósitos intravasculares de fibrina resultantes de la activación fisiológica o patológica del sistema de coagulación. El sistema fibrinolítico desempeña además un papel importante en diversas situaciones en las que se produce proteólisis tisular, tales como inflamación, invasión tumoral o neovascularización [32, 34].

Las variables dependientes fueron: Función pulmonar e Inflamación de vías aéreas. Se tomaron en cuenta los parámetros de VEF1, CVF VEF1/CVF para evaluar la función pulmonar y las determinaciones de óxido nítrico exhalado (FeNO) para los datos de inflamación de vías aéreas, ambos tanto función pulmonar como FeNO fueron medidas a lo largo del tiempo (cada mes y cada 3 o 6 meses). Las variables de ajuste principales fueron: Obesidad, asma, sexo, edad.

Función pulmonar

Espirometrías. Se tomaron los resultados de las pruebas de función pulmonar realizadas por espirometría a través del Easy-One. Al inicio del estudio y cada mes y posteriormente cada tres meses se realizaron dichas pruebas donde se midió: volumen espiratorio forzado en el primer segundo (VEF1), capacidad vital forzada (CVF; l), razón VEF1/CVF por espirometría, de acuerdo a la Sociedad Americana del Torax (ATS 1995). La prueba se llevó a cabo máximo tres ocasiones durante la visita hasta obtener la mejor prueba de tal manera que todas las pruebas fueran aceptables al ser evaluadas por un neumólogo y se seleccionaron las mejores para ser incluida en el análisis.

Inflamación

Óxido nítrico exhalado. A través de la medición del óxido nítrico exhalado se evaluó el nivel de inflamación a nivel pulmonar, por lo que al inicio del estudio y

cada mes y posteriormente cada tres meses se realizaron pruebas de Óxido Nítrico (NO) en aire exhalado. La medición de la cantidad de óxido nítrico se realizó en un aparato ECO medics, modelo CLD88, Originario de Michigan, EU. El eNOx se mide por quimioluminiscencia. La técnica esta estandarizada por la Sociedad Americana del Tórax.

El sujeto inhala el óxido nítrico 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 repitió hasta 3 veces por intento por 2 segundos y hasta obtener un nivel de concordancia del 5%. El equipo empleado en esta prueba, pertenece al Instituto Nacional de Salud Pública, se encuentra en el área designada para estudios colaborativos con dicho instituto.

Evaluación de la exposición

Para conocer la exposición al contaminante del aire, se asignó la exposición a material particulado (PM_{2.5}) a cada uno de los participantes a partir de su domicilio localizando el monitor de la RAMA más cercano al mismo o a la escuela a la que asistían. Cada domicilio particular y escolar fue geo-referenciado utilizando un sistema de Información geográfica (SIG) y la exposición se asignó en base al turno al cual el participante acudía a la escuela o si se encontraba en su casa, respectivamente. Para la generación de las variables de exposición de interés se consideraron las concentraciones de PM_{2.5} de manera horaria para generar los promedios diarios, máximos y mínimos de 24 horas, promedios móviles de 8 horas, así como también se generarán retrasos correspondientes a 1, 2, 4 y hasta 15 días previos a la visita y toma de la muestra. Se consideraron otros contaminantes como ozono y NO₂ como posibles variables de confusión así como las variables meteorológicas contemplando humedad relativa, velocidad, dirección del viento y temperatura.

Determinación de la concentración de PAI-1

Se realizó la técnica ELISA, Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay por sus siglas en inglés (“ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas”) es una técnica de inmuno-ensayo en la cual un antígeno inmovilizado se detecta mediante un anticuerpo enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo; la aparición de colorantes permite medir indirectamente mediante espectrofotometría el antígeno en la muestra. En nuestro caso, se utilizó el kit Duo Set ELISA development system, Human serpine E1/PAI-1. Y el complemento DuoSet ancillary reagent kit 2 (5 plates) de R&D systems y se siguieron las instrucciones del fabricante. Las concentraciones de PAI-1 se hicieron en plasma libre de plaquetas a partir de muestras de sangre almacenadas a -70 °C que se obtuvieron al inicio del estudio y cada 3 meses para cada participante, en éste caso se seleccionaron dos muestras por paciente en dos diferentes momentos en el tiempo para comparar los cambios con respecto al tiempo y empatar estas con los datos de función pulmonar y contaminante en la fecha de medición de ambos.

Otras variables de interés

A partir del cuestionario basal, el cual se aplicó al inicio del estudio de origen durante la primera visita al HIM, se considerarán variables como historia clínica, antecedentes hereditarios, familiares, variables socio-demográficas, sexo y características particulares de exposición para cada uno de los participantes. Además se consideraron otros posibles factores de confusión como actividad física y dieta a partir de los cuestionarios recabados específicos para ello.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis exploratorio de la información obtenida. Se corroboró la información capturada con la de la información en papel y los resultados que entregaron los laboratorios. Se realizó un análisis para describir a la población de estudio. Se evaluaron las diferencias entre hombres y mujeres para las características sociodemográficas de los participantes, así como las diferencias entre estado asmático y no asmático. Así mismo para la información obtenida de función pulmonar y óxido nítrico exhalado. Como parte de los objetivos del primer artículo se exploraron asociaciones entre función pulmonar e IMC, sexo y edad y estatus asmáticos, y como parte del segundo artículo se evaluaron las asociaciones entre función pulmonar y óxido nítrico exhalado con concentraciones de PAI-1 y exposición local a PM_{2.5}. Se analizaron las diferencias también para concentraciones de PAI-1 entre sexo, estatus de obesidad, sobrepeso o normal por IMC y asma y no asma. El análisis se realizó estratificado por sexo, para identificar de forma más precisa el efecto.

Para el ajuste de los datos se utilizó la información obtenida a partir de los cuestionarios aplicados en el estudio de origen para variables que pudieran ser consideradas como potenciales variables de confusión en las relaciones antes mencionadas. Considerando el uso de medicamentos y presencia de síntomas como parte de las principales. Se utilizó un modelo mixto lineal para datos longitudinales con pendiente e intercepto aleatorio. El modelo empírico fue el siguiente:

$$Y_{ij} = \beta_0 + \beta_1 t_{ij} + \beta_2 X_i + \beta_3 X_{it_{ij}} + b_{1i} + b_{2t_{ij}} + e_{ij}$$

Se utilizó el paquete estadístico STATA 12.

CONSIDERACIONES ÉTICAS Y DE BIOSEGURIDAD

Consideraciones éticas (basadas en la cohorte original)

Al participante se le informó acerca del estudio así como los riesgos que puede tener en el mismo, y solo se incluyó en el estudio previo consentimiento informado de su padre o tutor y previo asentimiento del mismo. La información que se generó durante el estudio fue utilizada únicamente con fines de investigación y no se evidenció información particular de los participantes. El estudio se hizo bajo las condiciones enmarcadas de la declaración de Helsinki y dadas las características del mismo se considera que es de riesgo menor al mínimo. El proyecto se registró ante el comité de Ética del Instituto Nacional de Salud Pública y del Hospital Infantil de México.

APORTACIONES RELEVANTES Y RESUMEN DE LOS ARTÍCULOS

Resultados 1er artículo (Anexo 1)

“Caracterización de la función pulmonar asociada a cambios en el índice de masa corporal en una cohorte de adolescentes de la ciudad de México.”

Este artículo tuvo como objetivo, evaluar la asociación entre la función pulmonar y el cambio en el índice de masa corporal a través del tiempo después de ser sometidos a intervención psicológica y nutricional supervisada en una cohorte de adolescentes obesos asmáticos y no asmáticos de la ciudad de México. Encontramos que conforme aumentaba la edad tanto el VEF1 como la CVF aumentaban de manera significativa siendo ésta mayor en hombres que en mujeres; 526 ml (IC_{95%} de 410.5 a 641 ml) y 155 ml (IC_{95%} de 66.7 a 245.1 ml) para VEF1, respectivamente y 192 ml (IC_{95%} de 63.9 a 320.1 ml) y 676.9 ml (IC_{95%} de 537.7 a 816.3 ml) para CVF, respectivamente. Sin embargo, entre adolescentes de la misma edad el aumento en el VEF1 se ve afectado en un 2% menos aproximadamente si el IMC aumenta; es decir, por cada 5 unidades de incremento en el IMC el VEF1 aumenta solo en 472.5 ml (IC_{95%} de 337.1 a 607.9 ml) y 138.4 ml (IC_{95%} de 66.6823 a 245.1 ml) en hombres y mujeres respectivamente.

Resultados 2do artículo (Anexo 2)

“Modificación del efecto de la exposición a $PM_{2.5}$ sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar por la presencia de la proteína PAI-1, en una cohorte de adolescentes de la ciudad de México.”

Este artículo tuvo como propósito evaluar la modificación del efecto de la exposición a $PM_{2.5}$ sobre la inflamación de vías aéreas y función pulmonar por la presencia del producto genético del SERPINE1 en una cohorte de adolescentes de la Cd. de México.

Se observó que en promedio y para todos los participantes, por cada $10 \mu g/m^3$ de incremento en las concentraciones $PM_{2.5}$ máximas del día hubo un decremento del VEF1 en 22.8 ml ($IC_{95\%}$ -1.17, -46.9 ml), y de la razón VEF1/CVF de del 0.38% ($IC_{95\%}$: 0.056, -7.16%). Además, por cada $10 \mu g/m^3$ que incrementan las $PM_{2.5}$ hay un decremento en el VEF1, CVF y razón VEF1/CVF del 87 ml ($p=0.027$, $\beta_{interacción}=0.30ml$, $p<0.05$), 73.85 ($p=0.055$, $\beta_{interacción}=24$ ml, $p=0.090$) y 1.16% ($p=0.006$, $\beta_{interacción}=.449$ %, $p=0.00$) respectivamente cada vez que aumentan las concentraciones de PAI-1 en 2 unidades logarítmicas. Con respecto a la relación de FeNOx y $PM_{2.5}$ modificada por las concentraciones de PAI-1, no encontramos una asociación positiva a niveles altos de PAI-1, sin embargo cuando evaluamos un modelo para asmáticos y no asmáticos se observó un incremento del FeNOx a medida que las concentraciones de $PM_{2.5}$ incrementan siempre y cuando los pacientes fueran no asmáticos.

RECOMENDACIONES

De acuerdo a nuestros resultados, estos sugieren que un programa nutricional/psicológica bien llevado o una educación bien fundamentada desde la infancia en base a la alimentación y actividad física pudiera mejorar la calidad de vida de las personas pues su crecimiento pulmonar no se vería afectado como indican nuestros resultados, posiblemente reducir de peso en la adolescencia sea efectivo y puede ser útil para rescatar parte de ese crecimiento pulmonar, aunque este no tenga un comportamiento lineal en etapas avanzada del crecimiento.

Por otro lado, evaluar el perfil de PAI-1 de forma más precisa puede ayudar a la generación de biomarcadores, que indiquen el grado de inflamación pulmonar que permita evaluar el riesgo en el que se encuentran los pacientes en términos de salud respiratoria. Es de suponer que para establecer mecanismos y lograr elucidar el complejo sistema de variables que condicionan el correcto desempeño de la función pulmonar, es necesario realizar estudios más detallados como ensayos clínicos.

En cuanto a las partículas contaminantes, fue evidente que las $PM_{2.5}$ se asocian a la inflamación y disminución de la función pulmonar, estos resultados, concuerdan con otros trabajos similares, por lo que sugieren que a pesar de los reglamentos y métodos de control de emisiones, es necesario, más evidencia para regular aún más los límites permitidos respaldar con evidencias las políticas públicas y los reglamentos para el control de emisiones contaminantes en beneficio de la población.

BIBLIOGRAFÍA

1. Lezana, V. and J.C. Arancibia, *Consideraciones epidemiológicas del asma en Latinoamérica*. Neumología pediátrica, 2003.
2. Sienra-Monge, R.-N.B., Manuel Baeza-Bacab, *Asma*. Salud pública de México, 1999. **41**(1).
3. Balam, M.R.S. and M.A. Albores, *Polimorfismos y exposición a xenobióticos en el asma infantil*, 2011, Gaceta Médica de México. p. 38-47.
4. Yang, W. and S.T. Omaye, *Air pollutants, oxidative stress and human health*. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2009. **674**(12): p. 45-54.
5. Campos, L.M.G. and B.-P. Blanca, *Asthma: relations and mechanisms*. Bol Med Hosp Infant Mex, 2011**68**(3).6. Navarro, B.E.D.R., A.B. Eslava, and J.J.L.S. Monge, *Relationship among obesity, asthma and pulmonary function*. Bol Med Hosp Infant Mex 2011. **68**(3).
7. salud, S.d. and I.n.d.s. pública, *ENSANUT*. Resultados nacionales, 2012.
8. Del Río-Navarro, B.E., et al., *The High Prevalence of Overweight and Obesity in Mexican Children*. Obesity Research, 2004. **12**(2): p. 215-223.
9. Strauss, R.S., *Childhood obesity*. Pediatric clinics of North America, 2002. **49**(1): p. 175-201.
10. Cobos, N., *Desarrollo del aparato respiratorio, fisiología Aplicada en la exploración funcional respiratoria en niños*. Editorial Sanitaria, 2000: p. 9-16.
11. Ho, L.-P., et al., *Atopy Influences Exhaled Nitric Oxide Levels in Adult Asthmatics*. Chest, 2000. **118**(5): p. 1327-1331.
12. Pijnenburg, M.W., et al., *Exhaled nitric oxide predicts asthma relapse in children with clinical asthma remission*. Thorax, 2005. **60**(3): p. 215-218.
13. Baraldi, E., et al., *Measurement of exhaled nitric oxide in children*, 2001. E. Baraldi and J.C. de Jongste on behalf of the Task Force, 2002. **20**(1): p. 223-237.
14. Korta, J., *Función pulmonar en niños: espirometría forzada en la exploración funcional respiratoria en niños*. Editorial Sanitaria, 2000: p. 127-59.
15. Pérez-Padilla, R., et al., *Spirometric function in children of Mexico City compared to Mexican-American children*. Pediatric Pulmonology, 2003. **35**(3): p. 177-183.
16. Tavárez, J., *Espirometría*. Departamento ciencias fisiológicas, 2004: p. 1-14.
17. Escribano, A., *El Laboratorio pediátrico de función pulmonar en la exploración funcional respiratoria en niños*. Editorial Sanitaria, 2000: p. 23-24.
18. Martínez-Briseño, D., et al., *Longitudinal Lung Function Growth of Mexican Children Compared with International Studies*. PLoS ONE, 2013. **8**(10): p. 1-10.
19. salud, S.d., *Norma Oficial Mexicana NOM -025- SSA1-1993, Salud ambiental*. 1993: p. 55-64.
20. RAMA, http://www.sma.df.gob.mx/imecaweb/mapas/descrip_pm.html. 2013.
21. Kelly, F.J., *Oxidative stress: its role in air pollution and adverse health effects*. Occupational and Environmental Medicine, 2003. **60**(8): p. 612-616.
22. Klaassen, C.D., *CASARETT AND DOULL'S TOXICOLOGY THE BASIC SCIENCE OF POISONS*. McGraw-Hill MEDICAL PUBLISHING DIVISION, 2008.
23. Barraza-Villarreal, A., *Air Pollution, Airway Inflammation, and Lung Function in a Cohort Study of Mexico City Schoolchildren*. Environmental Health Perspectives, 2008. **116**(6): p. 832-838.
24. McGovern, V., *Taking a World View of Asthma*. Environ Health Perspect, 2002. **110**(9).

25. Spanier, A.J., et al., *Environmental exposures, nitric oxide synthase genes, and exhaled nitric oxide in asthmatic children*. Pediatric Pulmonology, 2009. **44**(8): p. 812-819.
26. Huang, F., et al., *Plasminogen Activator Inhibitor-1, Fibrinogen, and Lung Function in Adolescents with Asthma and Obesity*. Endocrine Research, 2011. **37**(3): p. 135-144.
27. Cho, S.H., C.H. Ryu, and C.K. Oh, *Plasminogen Activator Inhibitor-1 in the Pathogenesis of Asthma*. Experimental Biology and Medicine, 2004. **229**(2): p. 138-146.
28. Hoffstedt, J., et al., *The common -675 4G/5G polymorphism in the plasminogen activator inhibitor -1 gene is strongly associated with obesity*. Diabetologia, 2002. **45**(4): p. 584-587.
29. Dijkstra, A., et al., *SERPINE1 -675 4G/5G polymorphism is associated with asthma severity and inhaled corticosteroid response*. European Respiratory Journal, 2011. **38**(5): p. 1036-1043.
30. Pampuch, A., et al., *The -675 4G/5G plasminogen activator inhibitor-1 promoter polymorphism in house dust mite-sensitive allergic asthma patients*. Allergy, 2006. **61**(2): p. 234-238.
31. Cole, T., *Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: international survey*. British medical journal, 2000. **320**: p. 1240-1243.
32. Edward, K., *On the regulation and control of fibrinolysis*. Thrombosis and Haemostasis, 1980. **43**(2): p. 77-89.
33. Orbe, J., R. Montes, and J.A. Páramo, *Papel del PAI-1 en los procesos trombóticos*. Medicina Clínica, 1999. **113**(2): p. 63-69.
34. Vassalli, J.D., A.P. Sappino, and D. Belin, *The plasminogen activator/plasmin system*. The Journal of Clinical Investigation. **88**(4): p. 1067-1072.

Anexo 1.

Cuerpo del 1er articulo

Anexo 2.
Cuerpo del 2do articulo