

T
347

 XOCHIMILCO SERVICIOS DE INFORMACION
ARCHIVO HISTORICO

84219

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA



Casa abierta al tiempo

**RELACIÓN ENTRE ALGUNOS DE LOS MECANISMOS DE
AGRESIÓN Y DEFENSA DEL APARATO RESPIRATORIO.**

TESIS

**Que para obtener el grado de
Doctora en Ciencias Biológicas
PRESENTA**

Gloria Eugenia Torres Ramírez

México D.F. Diciembre de 2003

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

**El Jurado designado por las
Divisiones de Ciencias Biológicas y de la Salud
De las Unidades de Iztapalapa y Xochimilco
Aprobó la tesis que presentó la**

Médica Gloria Eugenia Torres Ramírez

El día 11 de Diciembre de 2003

MIEMBROS DEL JURADO Y COMITÉ TUTORIAL

Comité Tutorial:

Dr. Ángel Horacio Sandoval Trujillo _____

Dr. Rafael Bojalil Parra _____

Dra. Laura E. Castrillón Rivera _____

Jurado: Dr. Emilio Julio Muñoz Martínez _____

Jurado Dra. Aidee López Merino _____

Por la Comisión: Dr. Rubén Román Ramos _____

ÍNDICE

	PÁG
Dedicatorias	I
Agradecimientos	II
Resumen	III
Summary	IV
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Mortalidad y morbilidad de las enfermedades respiratorias en México.	1
1.2. Altura sobre el nivel del mar.	3
1.3. Contaminación Atmosférica.	4
1.4 Hallazgo inicial	5
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	5
III. HIPÓTESIS	7
IV. OBJETIVOS	7
IV.1. EFECTUAR CURVAS FLUJO VOLUMEN.	
IV.2. DEFINIR LAS CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS: SÍNTOMAS Y ANTECEDENTES.	
IV.3. REGISTRAR LAS CONCENTRACIONES DE LOS CONTAMINANTES FRECUENTES.	
IV.4. IDENTIFICAR EL NUMERO DE MICROORGANISMOS EN LA NARIZ.	
IV.5. MEDIR LA CONCENTRACIÓN DE INMUNOGLOBULINA A SECRETORIA.	
IV.6. ANALIZAR LOS DATOS PARA INVESTIGAR CORRELACIÓN ENTRE VARIABLES.	
V. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES.	8
V.1. SELECCIÓN DE LA MUESTRA.	9
V.1.1. Tamaño de muestra, ética y servicio.	10

V.1.2. Criterios de inclusión y de exclusión.	11
V.2. Métodos	12
VI. FUNCIÓN RESPIRATORIA, MECÁNICA RESPIRATORIA Y CURVAS FLUJO VOLUMEN	17
VI.1. MECÁNICA RESPIRATORIA	17
VI.2. ESPIROMETRÍA Y CURVAS FLUJO-VOLUMEN.	18
VI.2.1. Aparato para efectuar curvas flujo volumen.	21
VI.2.2. Definición de los Parámetros analizados en las curvas flujo volumen	25
VI.2.3. Resistencia y flujo en las vías respiratorias. Determinantes físicos.	26
VI.2.4. Interpretación de las curvas flujo volumen: tipos de alteraciones.	28
VI.3. TÉCNICA PARA EFECTUAR LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN.	28
VI.3.1. Calibración del Aparato.	29
VI.3.2. Preparación e instrucciones a los sujetos.	29
VI.4. Factores fisiológicos que modifican la resistencia de las vías respiratorias	31
VI.5. Resultados de los estudios de la mecánica respiratoria mediante curvas flujo volumen.	34
VI.5.1. Datos generales y diagnósticos establecidos.	35
VI.5.2. Características antropométricas y diagnóstico funcional.	37
VI.5.3. Hallazgos de las curvas flujo volumen (CFV)	39
VI.5.3.1. Volumen espiratorio forzado al 0.5 seg. de la CFV: VEF 0.5	39
VI.5.3.2. Flujo espiratorio forzado al 1.0 seg. de la CFV: VEF1	42
VI.5.3.3. Capacidad Vital forzada FVC	44
VI.5.3.4. Flujo Espiratorio Forzado al 75 %, al 50% y al 25% de la FVC:	46
VI.5.3.5. Flujo Espiratorio Máximo o Pico: PEF	52

VI.5.3.6. Resistencia de las vías respiratorias: RVA o RAW	54
VI.5.4. Discusión sobre los hallazgos en las curvas flujo volumen	55
VI.6. Variaciones Individuales en observaciones repetidas	59
VI.7. Efecto del ejercicio en las curvas flujo volumen	67
VI.7.1. Resultados del ejercicio.	67
VII. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE DEFENSA DEL APARATO RESPIRATORIO	73
VII.1. MECANISMOS GENERALES Y PERFIL CLÍNICO.	74
VII.1.1. Habito deportivo.	74
VII.1.2. Tabaquismo.	76
VII.1.3. Vacunación.	77
VII.2. FUNCIÓN DE LA NARIZ Y RINITIS	77
VII.2.1. .Estructura y función	78
VII.2.2. Acondicionamiento de temperatura y humedad del aire inspirado.	79
VII.2.3. Manejo de las partículas inspiradas.	82
VII.2.4. Moco bronquial producción, composición y propiedades reológicas	86
VII.2.5. Secreciones respiratorias.	89
VII.2.5.1. Propiedades reológicas.	90
VII.2.5.2. Viscosidad	93
VII.2.5.3. Elasticidad.	93
VII.2.5.4. Relación entre secreciones bronquiales y la función respiratoria.	94
VII.2.6. Movimiento ciliar.	95
VII.2.7 Procesos de rinitis y respuesta bronquial	98
VII.3...REFLEJOS; TOS Y ESTORNUDO	100
VII.4. SÍNTOMAS ASOCIADOS:	103
VII.4.1 Dolor torácico	104
VIII.4.2 Disnea	104

VII.5. MATERIAL Y MÉTODO PARA EL ESTUDIO DEL PERFIL CLÍNICO.	106
VII.5.1 Descripción del cuestionario	106
VII.5.2 Técnica y orden para efectuar los procedimientos	108
VII.6. RESULTADOS DEL ESTUDIO CLÍNICO	109
VII.6.1. Características generales del grupo estudiado.	111
VII.6.2. ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS.	111
VII.6.2.1. Hábito deportivo.	111
VII.6.2.2. Tipo de nacimiento y lactancia materna.	114
VII.6.2.3. Tabaquismo.	115
VII.6.3. ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS.	117
VII.3.2. Rinitis	119
VII.3.3. Síntomas respiratorios	120
VII.4. Conclusiones de la relación clínica con las curvas flujo volumen	121
 VIII: LA DEFENSA INMUNE: INMUNOGLOBULINA A	122
VIII.1. SISTEMA INMUNE DE LAS MUCOSAS	123
VIII.2. RESPUESTA INMUNE DEL APARATO RESPIRATORIO	124
VIII.3. FUNCIONES DE LA IgA.	126
VIII.4. FACTORES QUE MODIFICAN CONCENTRACIÓN DE IgA	127
VIII.4.1. Factores fisiológicos.	127
VIII.4.2 Procesos patológicos y factores ambientales que modifican la IgA nasal	129
VIII.4.2.1 Variaciones ambientales	130
VIII.5. MÉTODOS PARA CUANTIFICAR LA IgA .	130
VIII.5.1. Colección, conservación y procesamiento de las muestras	131
VIII.6. PRINCIPIOS GENERALES DE LOS MÉTODOS.	134
VIII.6.1. Bases fisicoquímicas de los métodos de inmunoensayo	134
VIII.6.2. Inmunoensayo con enzimas	136

VIII.6.3. Técnicas de ELISA	137
VIII.6.3.1.Sistemas de Sándwich competitivo.	138
VIII.6.3.2.Sistemas no competitivos.	138
VIII.7. MATERIAL Y MÉTODO.	140
VIII.7.1.Grupos estudiados	140
VIII.7.2. Toma manejo y conservación de las muestras.	140
VIII.7.2.1. Método de Lavado	140
VIII.7.2.2. Método de Raspado	141
VIII.7.2.3. Secuencia para colectar	142
VIII.7.3.Preparación de reactivos y placas.	143
VIII.7.3.1. Preparación de las soluciones de IgA	143
VIII.7.3.2. Preparación de las placas	144
VIII.7.3.3. Control de calidad del proceso.	146
VIII.7.3.4.Preparación del aparato.	147
VIII.7.3.5. Curvas de calibración	148
VIII.7.4. SECUENCIA DE LAS MANIOBRAS para medir IgA	149
VIII.8.MATERIAL, APARATOS Y REACTIVOS	151
VIII.9. RESULTADOS.	152
VIII.9.1. Grupo piloto.	152
VIII.9.1.1. Método de Lavado.	153
VIII.9.1.2. Método de Raspado.	154
VIII 9.2. Validación del método y valores normales de la IgA	157
VIII.9.2.1. Variaciones del método respecto a la prueba piloto.	158
VIII.9.2.2. Resultados Generales del Grupo.	158
VIII, 9.2.3 Problemas operativos.	159
VIII.9.2.4. Validación del Método.	162
VIII.9.2.5. Valores normales de la IgA nasal.	166
VIII.9.3. Factores que influyen en la cantidad de IgA Nasal: ciclo menstrual	168
VIII: CONCLUSIONES referentes a la cantidad de IgA Nasal.	174

IX. MECANISMOS AGRESORES DEL APARATO RESPIRATORIO: MICROORGANISMOS	175
IX.1. MECANISMOS AGRESORES ENDOGENOS	175
IX.2. MICROORGANISMOS COMO AGRESIÓN AL APARATO RESPIRATORIO	176
IX.3. TIPOS DE INTERACCIONES ENTRE EL ANFITRIÓN Y EL PARÁSITO.	178
IX.3.1. Patogenicidad: capacidad de agresión del parásito.	179
IX. 3.2. Vía de entrada de la infección	180
IX.3.3. Dosis de reto de organismos infectantes.	181
IX.4. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE GÉRMENES, LA INFECCIÓN, Y LA ENFERMEDAD.	182
IX.4.1.Diferencias entre infección y enfermedad	183
IX.5. CONCEPTO DE FLORA ENDÓGENA	184
IX.5.1. Desarrollo de la flora endógena	184
IX.5.2. Criterios para definir la flora endógena	186
IX.5.3. Flora transitoria y Flora endógena nasal	187
IX.5.4. Características de la flora endógena nasal	189
IX.5.5 implantación de la flora endógena	189
IX.6. MATERIAL Y MÉTODO PARA DETERMINACIÓN LA FLORA NASAL.	193
IX.6.1. Técnicas General para la toma de la muestra.	193
IX.6.1.1 Ensayo de técnicas para coleccionar y cultivar flora nasal	193
IX.6.1.2. Técnica de Raspado, dilución y siembra.	194
IX.6.2. Lectura de las siembras: técnicas y resultados	196
IX.6.2.1. Determinación del error intra e Inter observador	196
IX.6.2.2. Lectura de la placa completa	197
IX.6.2.3. Efecto de la dilución.	198
IX.6.2.4 Muestras homogéneas	200
IX.6.2.5. Variaciones diarias y efecto de la alternancia.	200
IX.7. CANTIDAD NORMAL DE UFC EN LA NARIZ	203
IX.7.1. Cambios cuantitativos de la flora nasal con el ambiente	206

IX.8. MATERIAL Y MÉTODO PARA LOS ESTUDIO CUALITATIVOS DE LA FLORA ENDÓGENA NASAL.	207
IX.8. 1 Observación macroscópica y tinción de Gram.	207
IX.8.1.1 Técnica general para coleccionar muestras y siembra inicial	207
IX.8.2. Identificación y resiembra	209
IX.8.3 Preparación para el sistema automatizado	210
IX.9. ESTUDIO AUTOMATIZADO DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS DE LOS MICROORGANISMOS	211
IX.9.1 Descripción del sistema VITREK-SYSTEM-BIO-MERRIEUX	212
IX.9.1.1 Cámara de incubación y lectura	213
IX.9.1.2 Sistema y programa de computo	214
IX.9.1.3 Cámara de llenado y sellado de las tarjetas	214
IX.9.1.4 Descripción de las tarjetas de reacción	215
IX.9.1.5. Procedimiento para preparar la suspensión de gérmenes y llenar las tarjetas	216
IX.9.1.6. Control de calidad de los procedimientos	219
IX.10 RESULTADOS DEL ESTUDIO CUALITATIVO DE LA FLORA BACTERIANA NASAL	220
IX.10.1. Identificación de microorganismos	220
IX.10.2. Resultados de cultivos automatizados en el sistema BIO-MERRIUX	222
IX.10.3 Interpretación de los resultados de los estudios cualitativos	225
IX.10.4 Estudio de control en expectoración y lavado bronquial de enfermos.	226
IX.10.5 Modificaciones ambientales de la flora endógena nasal	229
IX.11. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DE LA FLORA ENDÓGENA NASAL	230
 X MECANISMOS AGRESORES	 232
DEL APARATO RESPIRATORIO: AIRE-AMBIENTE	

X.1 CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA Y RESPUESTA BIOLÓGICA	232
X.2 CONCEPTO DE AIRE-AMBIENTE Y SUS COMPARTIMENTOS	234
X.2.1 Composición del aire-ambiente	234
X.2.2. Aire exterior	236
X.2.3 Aire interior o habitacional	238
X.3 CONCEPTO DE CALIDAD DEL AIRE	240
X.3.1 Temperatura e inversiones térmicas	240
X.3.2 Humedad	242
X.3.3 Velocidad del aire	243
X.3.4 Gases y vapores	244
X.4 EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE	244
X.4.1 Efectos del smog clásico y del smog fotoquímico	247
X.4.2 El smog fotoquímico	247
X.5 EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE EN SUJETOS CLÍNICAMENTE SANOS	248
XI.6 MEDICIÓN DE LOS CONTAMINANTES DEL AIRE	248
X.6.1 Registros de concentración de los contaminantes más comunes	250
X.7 RELACIÓN ENTRE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE Y LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN	250
X.7.1 Resultados de las observaciones efectuadas	251
XI. CONCLUSIONES GENERALES	253
FORMATOS ANEXOS	257
TEXTOS ANEXOS.	257
XII. BIBLIOGRAFÍA	258

DEDICATORIAS

Lo único peor que la muerte es el olvido. Por ello dedico este trabajo, primeramente a la memoria de:

Mi padre Dr. Agustín Torres Cravioto

Mi maestro, amigo, esposo y compañero: Dr. Joaquín Remolina López

Mis maestros: Dr. Ismael Cosío Villegas, Dr. Alejandro Célis Salazar.

A quienes me acompañan en las diarias tareas del vivir:

Mi madre, Sra. María Luisa Ramírez Ruiz Vda. de Torres Cravioto, tenaz, trabajadora, digna y generosa, con cariño y gratitud.

Con afecto y reconocimiento a todos los compañeros, con quienes comparto el privilegio de trabajar en la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, quienes día a día me han dado, comprensión, apoyo, fe y afecto.

A mis alumnos del pasado, del presente y del futuro, por y para quienes aspiro a superarme diariamente.

AGRADECIMIENTOS

Durante los once años en los que he realizado este trabajo, numerosas personas me han ayudado; por tanto, es probable que omita algunas. Mis disculpas. Presento la lista en forma cronológica y señalo los aspectos en los que contribuyeron.

Dr. Ignacio Méndez Ramírez, nuestro gran maestro, con profundo afecto y agradecimiento por sus enseñanzas y colaboración directa en el análisis estadístico de los datos de este trabajo y asesoría en la planeación.

M. en C. Sonia Ramírez Zapata quien colaboró directamente en la ejecución de las curvas flujo volumen, los estudios bacteriológicos y determinación de la IgA, en diversos grupos; además participó en el análisis de datos y la redacción de distintos aspectos de este trabajo que han sido presentados en Congresos.

En el diseño y validación de la técnica para el estudio de la flora bacteriana:

Médico Javier Osorio, Q.F.B. José Juan Durán ayudantes de investigación del Área de Ciencias Básicas.

Los estudiantes (actualmente profesionistas), Luis Manuel Rodríguez, José Antonio Maraboto Millán, René Castrejón Morales, Beatriz Vallarta, Fabiola Tapia.

M en C Cristina Fresan Orozco, maestra amable y paciente, que nos guió en las técnicas de microbiología y nos permitió trabajar en su laboratorio.

Dr. Ángel Horacio Sandoval Trujillo. Supervisó la técnica, la lectura, la interpretación y los estudios requeridos para la caracterización de los microorganismos en numerosos frotis y cultivos.

Q.F.B.. Teresita del Niño Jesús Sains, nos dio asesoría al inicio del trabajo.

Del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Dr. Jaime Villalba Caloca quien en su calidad de director autorizó que se efectuara el trabajo en los laboratorios del Instituto.

Dres. Rocío Chapela y Moisés Selman Lama, del comité de Investigación del Instituto, quienes aprobaron el protocolo de esta investigación,

Del Departamento de Inmunología;

Químicas: Rosalia Montes y Elva Valencia Maquero quienes nos capacitaron en la técnica de ELISA para la cuantificación de IgA y colaboraron en todas las determinaciones.

Del Laboratorio Clínico:

Química Lina Larios, quien nos capacito y colaboró en las determinaciones cualitativas de la flora bacteriana que se hicieron en ese Laboratorio.

Al Actuario Zibonele Valdez por su invaluable ayuda en la revisión de las bases de datos y en la selección de los métodos estadísticos especiales.

A los Químicos Marco Antonio González López y Claudia Osnaya por su ayuda, constante y afectuosa en todos los aspectos de este trabajo.

A la Dra. Magdalena Frezan Orozco quien revisó la última redacción de este trabajo.

A los miembros de mi comité tutorial Doctores:

Dr. Ángel Horacio Sandoval Trujillo

Rafael Bojalil Parra

Laura Castrillón Rivera.

Quienes revisaron con paciencia y cuidado mis presentaciones.

A las autoridades de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco quienes de diversas maneras me han dado su apoyo:

I. RESUMEN

Las infecciones respiratorias constituyen una causa elevada de mortalidad y morbilidad en la Ciudad de México. Dada su altura sobre el nivel del Mar y la elevada contaminación atmosférica que puede producir cambios deletéreos en la función respiratoria se considera importante conocer las características de la mecánica respiratoria en sus habitantes. Con este propósito se efectuó en 1991, un estudio de la mecánica respiratoria mediante curvas flujo volumen a 93 jóvenes clínicamente sanos. Se encontraron alteraciones en el 45% de los sujetos, por lo que se consideró prioritario determinar la presencia de estas anomalías en otras muestras de la misma población, en diferentes épocas del año, así como identificar sus causas principales y los mecanismos involucrados en la génesis de dichas anomalías.

Considerando que la condición de salud está dada por el balance entre los mecanismos de agresión del medio y los de defensa de un organismo, se decidió estudiar las alteraciones de la mecánica respiratoria mediante un enfoque multidisciplinario superando la perspectiva que trata de explicarlas en función de un factor único, generalmente solo la contaminación atmosférica.

Para este efecto se seleccionaron los siguientes mecanismos de defensa:

1. Mecanismos de defensa fisiológicos, los cuales determinan las características clínicas. De ellos se estudiaron: a) los reflejos: tos, estornudo, lagrimeo y disnea. b) las secreciones respiratorias y sus características y c) los hábitos y los antecedentes personales que influyen sobre las defensas del aparato respiratorio.
2. Un mecanismo de defensa general, consistente en la respuesta inmunológica, que se estudió mediante la cuantificación de la concentración de inmunoglobulina A en la superficie de la mucosa.

Los mecanismos de agresión estudiados fueron:

3. Los microorganismos nasales, dado que las infecciones son una de las causas más frecuentes de enfermedades respiratorias.
4. La contaminación atmosférica que tiene una elevada relación epidemiológica con la mortalidad y morbilidad de las enfermedades respiratorias.

Con las bases mencionadas, y después de una profusa revisión de investigaciones previas y antecedentes epidemiológicos, se planteó la siguiente hipótesis:

En la Ciudad de México existe una proporción elevada de sujetos clínicamente sanos, con alteraciones fisiológicas de tipo obstructivo susceptibles de ser detectadas mediante curvas flujo volumen. Esos sujetos, comparados con los que presentan curvas flujo volumen normales, presentarían: más síntomas respiratorios, menor concentración de IgA en la mucosa respiratoria y un mayor número de microorganismos en la flora bacteriana nasal (que se desarrollaría en exceso como un oportunista). Lo anterior tendría una baja correlación con los niveles de contaminación atmosférica, dado que la composición del aire informada, por el centro de detección de su calidad, no corresponde con la del respirado por los sujetos al momento del estudio.

Se estudió un total de 917 sujetos en un periodo de 10 años. Las muestras, seleccionadas por conglomerados aleatorios, se tomaron de la misma población de estudiantes y trabajadores de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, por lo que puede considerarse adecuada para un estudio longitudinal de la población. A todos se les informó en forma verbal y por escrito la trascendencia del estudio, después de lo cual firmaron una hoja de "consentimiento informado"; como un servicio se les comunicaron por escrito los resultados del estudio y se les dieron las sugerencias pertinentes para conservar la salud del aparato respiratorio. Se incluyeron para su análisis, solamente los datos de los sujetos que eran clínicamente sanos de acuerdo con un interrogatorio básico pertinente.

Las curvas flujo volumen, que constituyen la variable central (dependiente) de esta investigación se efectuaron en un Pneumotacógrafo Jager, que tiene las características requeridas para este tipo de estudios, de acuerdo con los criterios de la Sociedad Torácica Americana (American Thoracic Society: ATS) y la Sociedad Americana de Fisiología (American Physiological Society APS). El aparato se calibró diariamente antes de efectuar los estudios. Cada sujeto recibió instrucciones y demostraciones detalladas de las maniobras que efectuaría. La técnica también correspondió a la

- a. Las curvas fueron normales en 415 sujetos (53 %). En 460 sujetos fueron anormales. De éstos, en 360 (41%) casos, se presentaron alteraciones obstructivas; en 63 (7.2%) alteraciones mixtas restrictivas y obstructivas y en 36 casos (0.4%) había alteraciones restrictivas. En todas las muestras clasificadas como anormales se presentaron estas características independientemente de la estación, pero en invierno fueron más frecuentes. La proporción de curvas anormales variaron de 34 a 70% entre los conglomerados estudiados y se encontró una tendencia a aumentar al paso del tiempo; esta situación coincide con el aumento en la morbilidad por las enfermedades respiratorias, comunicada por la Secretaria de Salud de acuerdo con el número de consultas impartidas, que aumentó de 9.8 millones en 1992 a 28.7 millones en 2002.
- b. En las curvas clasificadas como anormales, todos los parámetros presentaron diferencias significativas respecto a las curvas consideradas normales.
- c. Se identificó una correlación significativa entre el peso, la estatura y la edad, siendo las tres variables mayores en los sujetos con curvas flujo volumen consideradas normales. La frecuencia de anomalías fue mayor en las mujeres.
- d. Se observaron variaciones amplias en los flujos (hasta de 20%), pero no en la capacidad vital, en los sujetos a quienes se les efectuaron varios estudios (de 3 hasta 11) en días diferentes durante un trimestre; esto sugiere que hay hiper-reactividad bronquial.
- e. El ejercicio disminuyó la resistencia de las vías respiratorias.

MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE DEFENSA.

Como mecanismo de defensa se investigó el conjunto de reflejos que determinan el perfil clínico, con base en los fundamentos fisiológicos y epidemiológicos pertinentes. Se indagó la correlación entre los datos clínicos y el diagnóstico establecido en las curvas flujo volumen.

Los datos clínicos y los antecedentes que podrían influir en la susceptibilidad de los sujetos para desarrollar enfermedades respiratorias, se colectaron mediante un cuestionario cerrado auto contestado.

aceptada por las asociaciones mencionadas y se estandarizó antes del estudio de cada uno de los grupos.

Se analizaron los parámetros de estas curvas que se han definido como básicos y que son: la capacidad vital que indica el tamaño funcional de los pulmones; los flujos espiratorios a 0.5 y 1 seg. de iniciada la espiración, el flujo espiratorio máximo y los flujos observados a diferentes volúmenes (75, 50 y 25%) de aire contenidos en los pulmones. Con base en el análisis de los factores físicos y fisiológicos que determinan la mecánica, así como los convenios establecidos, se consideró que toda disminución de los flujos implica un aumento de la resistencia de las vías respiratorias.

La resistencia se define de acuerdo con la ley de Ohm aplicada a un sistema hidráulico: $R = \Delta P / V$ en donde R: Resistencia, ΔP = diferencia de presión y V flujo aéreo; como la ΔP que pueden producir los músculos respiratorios es muy superior a la requerida para producir el flujo aéreo, cuando este disminuye se considera que se modificó R.

Los datos se interpretaron de acuerdo con los criterios clásicos de Baldwin y Col. Con base en esa interpretación las curvas se clasificaron como:

- Normales: Curvas en las cuales todos los parámetros tuvieron valores iguales o mayores al 80% de los valores teóricos considerados por Ellis como normales para sujetos con peso, estatura, edad y sexo similares.
- Anormales con alteraciones restrictivas: Curvas que evidenciaron una disminución de la capacidad vital a menos del 80% del valor teórico normal.
- Anormales con alteraciones obstructivas: Curvas con valores menores al 80% de los teóricos normales en uno o más de los flujos respiratorios.
- Anormales con alteraciones mixtas restrictivas y obstructivas: Curvas con una disminución de la capacidad vital y de uno o más de los flujos respiratorios.

Los resultados observados en el total de las curvas flujo volumen mostraron:

Un hallazgo importante fue que la totalidad de los sujetos dijeron ser asintomáticos en el interrogatorio previo al estudio, realizado para verificar los criterios de inclusión entre los cuales estaba el de ser asintomático al menos durante tres semanas. Sin embargo cuando respondieron el cuestionario informaron la presencia de síntomas; esta situación, como es del conocimiento de los médicos, se explica, por el hecho de que los enfermos, especialmente aquellos que sufren padecimientos crónicos, se acostumbran a los síntomas. De esta manera, los interpretan como normales o refieren el inicio de los síntomas sólo cuando éstos se intensifican. Posiblemente esto ocurrió con los sujetos clínicamente sanos incluidos en esta investigación.

Se determinó la correlación entre los antecedentes y los diversos síntomas con el diagnóstico establecido con las curvas flujo volumen. De los antecedentes estudiados, la práctica deportiva presentó una correlación negativa con las anormalidades de las curvas flujo volumen, con alteraciones significativamente menores entre quienes practicaban deporte. El tipo de deporte no resultó ser significativo.

También se observaron correlaciones significativas, entre las anormalidades de las curvas flujo volumen, el nacimiento por parto normal y la alimentación por lactancia materna.

La presentación frecuente de rinitis también se correlacionó con una mayor frecuencia de curvas flujo volumen anormales. De los síntomas explorados, la disnea, la tos y el tipo de expectoración, presentaron una mayor correlación con la existencia y la intensidad de las alteraciones mecánicas. La correlación entre las anormalidades de tipo obstructivo en las curvas flujo volumen con la disnea tiene especial importancia dado que este síntoma se traduce en el aumento del trabajo respiratorio, provocado por el aumento de la resistencia de las vías respiratorias.

Otro hallazgo de interés fue la correlación de la frecuencia y magnitud de las anormalidades de las curvas flujo con el peso y la estatura; los sujetos que tenían menor peso y estatura presentaban mayor número e intensidad de alteraciones mecánicas.

El conjunto de correlaciones entre los datos clínicos diversos y las anormalidades de las curvas flujo volumen apoya la hipótesis de que el mecanismo que produce el aumento de la resistencia de las vías respiratorias es multifactorial.

MECANISMO DE DEFENSA INMUNOLÓGICO.

Como mecanismo de defensa general, se estudió la respuesta inmunológica que se analiza con amplitud en el Texto Anexo 1. Para ello se midió la cantidad de IgA de la superficie de la mucosa nasal. Partiendo del análisis de los factores fisiológicos, patológicos y ambientales que influyen sobre la concentración de IgA en las mucosas en general y específicamente en las del aparato respiratorio, se examinan los métodos descritos para cuantificar la IgA, en particular las bases fisicoquímicas de los métodos de inmunoensayo, con énfasis en las técnicas de ELISA (Enzyme Linked Immuno Absorbent Assay) en su modalidad competitiva y no competitiva, para sustentar la elección del método utilizado.

La dispersión de los valores reportados en relación con la cuantificación de IgA en las secreciones, se explica en parte por la naturaleza heterogénea de éstas, pero también y en gran medida por los errores en la colección y conservación de las muestras, por la falta de curvas de calibración y por la confusión en cuanto a las unidades de medida, que en algunos casos se comunican como densidad óptica, unidades ELISA, miligramos por ciento, por litro y otras. Dada la importancia de estos errores que invalidan los resultados de muchas investigaciones, se procedió a depurar la técnica, verificando la calidad del proceso en cada etapa; se describe con detalle la colección, conservación y procesamiento de las muestras realizadas en este trabajo y que probablemente explica los resultados obtenidos.

Se ensayaron dos métodos para coleccionar la muestra, ambos descritos previamente en la bibliografía: el de lavado y el de raspado de la superficie nasal. Se efectuaron estos estudios en un grupo piloto de 45 sujetos. Se encontró que el de lavado era inadecuado en cuanto a la reproducibilidad de los resultados y el rango de variación, porque siempre se recuperaba un volumen menor que el instilado en la nariz. Con este método la cantidad de IgA colectada de la nariz, en promedio fue de 275 mg/l (rango de 20 a 458).

En consecuencia se diseñó un método similar al descrito para coleccionar la flora bacteriana; Con hisopos húmedos en solución salina, se raspó 20 veces la superficie interna de la narina. Inmediatamente los hisopos

se "lavaron" en tubos con solución salina; el lavado se dividió en alícuotas y se congeló inmediatamente a -40°C . Se efectuó la determinación de la IgA mediante el método de ELISA, con la técnica de sándwich competitivo.

La IgA colectada se expresó como la cantidad presente en la superficie de un cilindro de nariz de 1.5 cm de longitud que es la del hisopo; la cantidad total en la nariz resultó de sumar la cantidad detectada en cada nariz. Se efectuaron 867 determinaciones a 167 sujetos, para validar la confiabilidad del método, en todas las series la relación entre ambas muestras fue de 0.92 a 0.98. En la primera dilución del hisopo 1 se colectó el $80\% \pm 10\%$ del total de la IgA. En la segunda dilución y el segundo hisopo, la proporción fue de 20%. Se colectó en la nariz derecha el 51% y en la izquierda el 48% de la IgA total de la nariz. En ninguna serie se observó diferencia significativa entre las narinas.

Se considera que la reproducibilidad de las cifras, y la baja dispersión de los valores observada, permiten considerar validado el método.

Se hicieron 6 determinaciones a 73 sujetos para investigar los valores de referencia para sujetos aparentemente sanos habitantes de la Cd. de México. Los resultados obtenidos mostraron que en sujetos normales la cantidad de IgA en la nariz es de 1500 a 6000 mg/l.

Estas cifras pueden considerarse como referencia para los valores de la IgA nasal en habitantes clínicamente sanos de la Cd. de México. Su magnitud coincide con la comunicada por Sorensen (1990) quien ha efectuado su investigación con la técnica más rigurosa de las descritas. La correlación entre cantidad de IgA medida y alteraciones mecánicas fue baja para el grupo en general.

Entre los factores que modifican la cantidad de IgA se estudiaron los cambios durante el ciclo menstrual en dos grupos de alumnas que cursaban diferente trimestre lectivo. En un grupo se observaron los cambios descritos con mayores concentraciones durante la fase folicular. En el otro grupo no se demostraron cambios. El análisis de los datos clínicos sugiere que la diferencia está relacionada con distintos grados de tensión emocional.

AGRESIÓN POR MICROORGANISMOS

Como mecanismo agresor, con base en los datos epidemiológicos, se estudió la flora endógena nasal.

Se discuten los criterios para definir la flora endógena y sus diferencias con la flora transitoria, dado que en las series de estudios revisadas se encontraron escasas referencias de las características cuantitativas de la flora endógena. Se plantea que muchas de las infecciones respiratorias se producen por una disminución de las defensas del organismo que permite la proliferación de la flora endógena como oportunista.

A partir de estas definiciones, se decidió: a).determinar las características cuantitativas y cualitativas de la flora endógena nasal en sujetos aparentemente sanos habitantes de la Cd. de México; b) Identificar la relación entre el tipo y la cantidad de microorganismos en la flora nasal con las curvas flujo volumen, c) Indagar la influencia del ambiente en la flora nasal y en las curvas flujo volumen. Para lograr los propósitos anteriores se propuso seleccionar o diseñar un método adecuado para coleccionar las muestras y hacer las determinaciones cuantitativas.

Se efectuaron determinaciones cuantitativas y cualitativas de la flora bacteriana nasal. Se ensayaron diversos métodos descritos en la literatura para coleccionar las muestras. El único que proporcionó resultados adecuados fue el diseñado y validado en este trabajo.

El método consistió en raspar en forma estandarizada, la superficie nasal con hisopos húmedos estériles, "lavarlos" en tubos con solución salina y sembrar en medio de caldo cerebro corazón (BHI). Se efectuaron diversos estudios hasta lograr lecturas reproducibles.

Se superó la dificultad de obtener soluciones homogéneas derivadas de las características físicas y reológicas del moco, evitando cuidadosamente incluir en ellas fragmentos de moco, aun cuando esto disminuye la similitud entre las muestras y la realidad de la flora en la nariz.

En 5 sujetos se tomaron muestras en forma consecutiva con cuatro hisopos; se encontró que en los dos primeros se coleccionaba 97% de las unidades formadoras de colonias (UFC) y por tanto en las siguientes series se hicieron las siembras con raspados de 2 hisopos. La cantidad

de UFC presentes en la superficie de la nariz, se calculó sumando la cantidad recuperada con cada hisopo, en ambas narinas. El diseño y validación de este método constituye un aporte original de esta investigación.

Se efectuaron cultivos en 6 sujetos durante 5 días y se encontró que entre los sujetos había diferencias significativas con un rango de 866 a 5920 con desviación estándar de 772 y 116. El número de colonias en los diferentes días no presentó diferencias en un mismo sujeto.

Se encontró que la narina con alternancia, por la que respiraba el sujeto, tenía un número significativamente mayor de unidades formadoras de colonias; este hallazgo no ha sido comunicado previamente. Los resultados en cuanto al número de unidades formadoras de colonias variaron en los grupos, de 53×10^3 a 145×10^3 . Se encontró correlación entre el número de microorganismos y las alteraciones mecánicas detectadas en las curvas flujo volumen, siendo significativamente más abundantes en los sujetos con curvas flujo volumen anormales.

Posteriormente se hicieron estudios cualitativos además de los cuantitativos. Para esto, se identificaron el número de tipos de UFC y se describieron sus características macroscópicas; Se llevó a cabo la identificación de cada uno de los tipos aislados por pruebas bioquímicas y por su afinidad tintorial. El estudio cualitativo se efectuó, en un sistema automatizado BioMerieux. Las familias y géneros encontrados fueron muy variables e incluyeron principalmente la flora descrita como habitual. Los *Staphylococcus* fueron los más frecuentemente observados y de ellos el más común fue el *S.epidermidis*; en 60 casos se identificaron *Staphylococcus hemoliticus*. En 3 casos se aisló *Klebsiella pneumoniae*, en 2 *Pseudomonas aeruginosa* y en uno *Corynebacterium diphtheriae*. En 19 casos se aisló *Escherichia coli* y en tres casos en los que se repitió el cultivo se aisló nuevamente este microorganismo; no es claro si se puede considerar flora endógena o flora transitoria frecuente. Las variedades de microorganismos no presentaron correlación con las anomalías de las curvas flujo volumen.

Para tener la posibilidad de comparar el tipo de flora bacteriana se hizo un estudio retrospectivo de cultivos efectuados en enfermos del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. En ellos el microorganismo más frecuente fue la *Pseudomonas aeruginosa* y la *Escherichia coli*. Finalmente con el propósito de comparar la flora nasal endógena en diferentes ambientes, se efectuaron cultivos en tres grupos de trabajadores de distintos hospitales de la Cd. de Saltillo. Se identificaron en 90% de los casos *Streptococcus saprofiticus*, pero en 9 % se identificaron microorganismos considerados patógenos incluyendo *Mycobacterium tuberculosis* en 2 casos.

También se estudió el efecto del ambiente en la flora endógena nasal y en las curvas flujo volumen, en un grupo de estudiantes, antes que fueran sus prácticas en el hospital y cuando regresaron. Se encontró que el total de sujetos presentaron un mayor número de microorganismos cuando regresaron. Esto sugiere que el ambiente hospitalario generalmente es altamente contaminado.

Del conjunto de estas observaciones se puede concluir que la naturaleza de las secreciones respiratorias es heterogénea, por lo cual, el número de colonias recuperadas en los cultivos presenta variaciones muy amplias. Sin embargo, una técnica cuidadosa permite definir un número aproximado de colonias en los sujetos normales que no supera 145×10^3 .

CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA COMO ELEMENTO AGRESOR

En cuanto a la contaminación atmosférica, el análisis de la composición del aire muestra claramente la dificultad de establecer correlaciones válidas de las alteraciones respiratorias, con mediciones efectuadas en un sitio distante. Esta falta de correlación se ha observado incluso en las grandes epidemias con elevada mortalidad (estudio del smog de Londres en 1952). Además, es fundamental considerar el tiempo que las personas permanecen en los diferentes ambientes toda vez que la composición del aire exterior y el habitacional son muy diferentes; también es necesario establecer el tipo de actividades que se efectúan en cada sitio, lo cual define el volumen de aire respirado.

En esta investigación se calculó la correlación entre la contaminación atmosférica promedio, comunicada por el Instituto de Ecología para la zona sureste de la ciudad de México el día en el que se efectuaron los estudios y las anomalías de las curvas flujo volumen. Se encontró, como se había propuesto en la hipótesis, que la correlación entre las anomalías de las curvas flujo volumen y la contaminación fue baja. Esto se atribuye a que la composición del aire en la Universidad y en el laboratorio, donde se hicieron los estudios, no necesariamente es igual a la registrada en el centro de observación localizado a más de 2 kilómetros. El estudio se efectuó por lo menos 30 minutos después de que los sujetos respiraron el aire del laboratorio, y se ha demostrado que ese tiempo es suficiente para que se equilibre el aire alveolar con el del ambiente. En consecuencia la falta de correlación se explica fácilmente.

Conclusiones: 1. Existe una elevada frecuencia de alteraciones mecánicas respiratorias en sujetos clínicamente sanos habitantes de la Ciudad de México, que evidencian el aumento de la resistencia de las vías respiratorias, y se manifiestan en las curvas flujo volumen. Estas anomalías se relacionan con antecedentes como la práctica deportiva, el tipo de nacimiento, la lactancia materna, la presencia de rinitis frecuentes, la baja estatura y el bajo peso. El parámetro más sensible fue el FEV 25, lo que sugiere que las alteraciones predominan en las vías respiratorias pequeñas.

2. Se diseñó y validó una técnica para la determinación cuantitativa de la flora bacteriana, lo cual se considera uno de los aportes fundamentales de esta investigación. El tipo y número de colonias se puede considerar como valor de referencia para los sujetos clínicamente sanos de la Cd. de México. Se encontró correlación entre las anomalías de las curvas flujo volumen y el número de colonias cultivadas en las secreciones. Se identificó una diferencia significativa en el número de colonias cultivadas en la nariz que respira (con alternancia). El hecho de que normalmente se respire por una nariz es conocido, pero no existe información respecto a su influencia en el número de colonias que se cultiven.

3. Se diseñó y validó una técnica para la determinación cuantitativa de la IgA nasal. Las cifras de sujetos normales es similar a la descrita por Sorensen, el

investigador cuyo método es similar al utilizado en este estudio. El rango de las variaciones encontradas en las cifras y que son atribuibles a la técnica, son pequeñas y los datos respaldan la validez del método. Sin embargo, se aportan datos que sugieren que hay diversos factores fisiológicos, que producen variaciones amplias.

El análisis de las numerosas variables que muestran correlación con las anormalidades de las curvas flujo volumen, sugiere que es la interacción de todas las variables la que tiene correlación con las alteraciones fisiológicas.

4. Se encontró baja correlación entre las anormalidades de las curvas flujo volumen, con los datos de calidad del aire comunicados para la zona de la Universidad, porque no corresponden a los que está respirando el sujeto en el momento del estudio. Por otra parte es factible que los efectos de la contaminación del aire, en parte sean agudos, pero además impliquen un efecto acumulativo.

5. Todas las hipótesis planteadas en la presente investigación fueron confirmadas.

Summary

The definition of the normal characteristics of the respiratory function in residents of Mexico City is necessary as a reference mark to classify the respiratory health condition. Respiratory infections cause considerable mortality and morbidity, the altitude lends the problem special characteristics and the atmospheric pollutions might result in damage. For these reasons a study of respiratory mechanics in 93 clinically healthy young subjects was carried out in 1991 and 45% of them were found to have abnormalities. Considering these antecedents it seemed important to

- a) Find out if similar abnormalities could be detected in other samples of the same population, to discover if seasonal differences existed.
- b) Also to investigate the mechanisms that produced them.

The underlying idea of this was that the health is the result of a balance between the mechanisms of aggression and the mechanisms of defense of the organism.

Taking into consideration the epidemiological antecedents and the information found in the medical literature regarding these facts, it was decided to study the mechanical alterations of the respiratory system by means of volume flow curves, and to explore the relationship of these alterations and defense mechanisms.

The following factors were taken into consideration:

1. The local defense mechanisms which give the clinical characteristics of the subject such as coughing, sneezing and mucous production which are defense reflexes. The past medical history of the subject that might influence the respiratory defense capacity was also analyzed.
2. The concentration of immunoglobulin A in nasal mucosa, that is a general defense mechanism.
3. The aggressive elements that we studied were: the nasal microorganisms, given the fact that infection is a common cause of respiratory diseases and
4. Air pollution that is generally related with respiratory illness

The hypothesis of the present investigation was that there would be a number of clinically healthy subjects with abnormal volume flow curves. The subjects with these curves, when compared with those with normal curves would show: more respiratory symptoms, less concentration of nasal IgA, more colony forming units in nasal mucosa, that would

develop in excess, as an opportunistic infection. The facts that have been mentioned would have a low correlation with air pollution levels. We studied a total of 917 subjects over 10 years. The samples were taken from the same population of students and employees of the Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, and therefore constitute a valid longitudinal study.

The flow volume curves were measured using a Jager Pneumotachograph, of the kind approved by the American Thoracic Society. The technique was standardized at the beginning of the study of each sample. A high proportion of subjects with obstructive alterations, from 34 to 70% were observed in the samples. In the whole group 61% presented obstructive type mechanical alterations.

The clinical data was collected by means of a subject completed questionnaire. It was found that most of the subjects although claiming to have no problems, in the questionnaire did in fact show symptoms such as coughing, dyspnea and rhinitis. Regarding the sports practice and the type on delivery by which they were born, it was found a negative correlation with the presence and degree of mechanical alterations; that is to say that those subjects that practiced sports with more regularity, showed less mechanical alterations, and so those that had been normally delivered. It was also found that subjects with lower weigh and height had more frequent and severe respiratory mechanical alterations.

Quantitative and qualitative studies were performed on the nasal bacterial flora. The samples were collected with a technique that was designed and validated by the investigators. This consisted of scraping the anterior surface of the nares in a standardized way, with a sterile, cotton swab wet with saline. Then the swabs were "washed" in a tube with saline and from this fluid a volume of 0.1 ml was cultured in a Petri dish with brain heart infusion (BHI) media. The number of colonies grown was counted. The intra and inter observer error was determines carrying out a total of 125 cultures, from 5 samples taken from 5 subjects by 5 observers. Each culture was read by the five observers and their counts correlated with a difference of less than 10%. Different dilutions were produced in order to identify the one which allowed the easiest and most accurate count of the colony formation units (CFU); this was the dilution of 1:1000. The number of CFU in each dilution was

not proportional in many cases; this is explained by the physical and reological characteristics of the respiratory secretions which do not allow homogeneous solutions. In 5 subjects samples were taken consecutively with 4 swabs; it was found that the first 2 collected 97% of the total number of CFU. Therefore in the following studies samples were collected with two swabs. The total amount of CFU was calculated by summing the samples recovered with each swab in both nares. It was found that the nare for which the subjects were breathing at the moment the sample was taken, had a significantly higher number of CFU. A high correlation between the presence and degree of mechanical alterations and the number of CFU in the nares was also encountered.

Later on qualitative studies of the nasal flora were carried out. For these studies the initial culture was produced using agar blood medium; the number of CFU was counted and the types identified. The macroscopic characteristics of each type of CFU were described and a Gram smear and a culture in BHI were produced. The number of types varied from 2 to 5. Biochemical reactions of those cultures were carried out: catalaze, and peróxidasa

The quantitative studies were made using the automatized BioMerriex system. For these studies a fresh culture in blood agar, was prepared which had to be from 18 to 24 hours old at the moment of the study. A card was prepared with a fresh a perfectly isolated colony; the concentration of microorganisms was determined by the optical density of the solution, measured with a nephelometer. In each card the Gram classification and the result of the biochemical analysis previously determined were noted.

The results obtained in the different groups studied varied from 53×10^3 to 145×10^4 . The families and gender of the microorganisms were variable, and included all of those that have been previously described as normal flora; even *Mycobacterium tuberculosis* was found in two cases. There was no correlation between the type of microorganisms and the mechanical alterations.

The amount of IgA in the nares' surface, was measured. Two methods, of those described in the medical literature for collecting the samples, were tried in a group of 45 subjects. It was found that the washing method was inadequate because of the low reproducibility and wide range of its results. Therefore, a method similar to that described for

not proportional in many cases; this is explained by the physical and reological characteristics of the respiratory secretions which do not allow homogeneous solutions. In 5 subjects samples were taken consecutively with 4 swabs; it was found that the first 2 collected 97% of the total number of CFU. Therefore in the following studies samples were collected with two swabs. The total amount of CFU was calculated by summing the samples recovered with each swab in both nares. It was found that the nare for which the subjects were breathing at the moment the sample was taken, had a significantly higher number of CFU. A high correlation between the presence and degree of mechanical alterations and the number of CFU in the nares was also encountered.

Later on qualitative studies of the nasal flora were carried out. For these studies the initial culture was produced using agar blood medium; the number of CFU was counted and the types identified. The macroscopic characteristics of each type of CFU were described and a Gram smear and a culture in BHI were produced. The number of types varied from 2 to 5. Biochemical reactions of those cultures were carried out: catalaze, and peróxidasa

The quantitative studies were made using the automatized BioMerriex system. For these studies a fresh culture in blood agar, was prepared which had to be from 18 to 24 hours old at the moment of the study. A card was prepared with a fresh a perfectly isolated colony; the concentration of microorganisms was determined by the optical density of the solution, measured with a nephelometer. In each card the Gram classification and the result of the biochemical analysis previously determined were noted.

The results obtained in the different groups studied varied from 53×10^3 to 145×10^4 . The families and gender of the microorganisms were variable, and included all of those that have been previously described as normal flora; even *Mycobacterium tuberculosis* was found in two cases. There was no correlation between the type of microorganisms and the mechanical alterations.

The amount of IgA in the nares' surface, was measured. Two methods, of those described in the medical literature for collecting the samples, were tried in a group of 45 subjects. It was found that the washing method was inadequate because of the low reproducibility and wide range of its results. Therefore, a method similar to that described for

collecting the endogenous flora was designed; the swabs were washed in two tubes with saline, and each was divided in aliquots and frozen immediately.

IgA was measured by the ELISA method, and the competitive sandwich technique. Each sample was measured twice. The amount of IgA was expressed as that collected from the surface of a cylinder of the nares, of 1.5 cm of height. It was calculated by summing the amount collected in each swab and in both nares. The results obtained showed that the quantity of IgA in the nose of normal subjects is from 1500 mg/l to 6000 mg/l. The correlation between quantity of IgA in the nose and mechanical alterations was positive but low.

The correlation between respiratory mechanical alterations and average air pollution, present the day the studies were carried out. The figure used was that given by the Ecology Institute, for the south east area of Mexico City. The correlation was positive but low.

Conclusions:

1. Flow volume curves indicate that there is a high frequency of respiratory mechanical alterations in clinically healthy subjects living in Mexico City. They consist mainly of increase in air way resistance. The most sensitive parameter was FEF25, which indicates that the alterations affect mainly the small airways,

These alterations correlate with frequent rhinitis, low practice of sports, abnormal type of birth, low weight and low height.

2. A technique to determine the amount of bacterial nasal flora was designed and validated. The type and number of CFU presented can be considered as a reference value for clinically healthy subjects living in Mexico City. It showed correlation with a past history of rhinitis and VFC abnormalities.

3. A technique for the measurement of nasal IgA was designed and validated. The amount found in normal subjects is similar to that described by Sorensen in the paper in which the method used is comparable to the one used in this investigation. Facts are presented which explain why the range of the values found is very wide, even without technical variations.

The multivariate analysis might show that is the interaction of all the variables explored that has the highest correlation with the physiological alterations.

4. The low correlation between the physiological alterations and the air quality, of the area of the University, is due to the fact that did not correspond to that which the subjects were breathing at the moment when the study was performed. Nevertheless it can be assumed that the abnormalities found are due to the accumulative effect of the air pollution.

I INTRODUCCIÓN.

En esta investigación se planeó definir las características de la función respiratoria mediante curvas flujo volumen en habitantes de la Ciudad de México, lo cual tiene gran trascendencia porque:

- I.1. Las enfermedades respiratorias constituyen una causa elevada de mortalidad y morbilidad en México.
- I.2. La altura de esta Ciudad, sobre el nivel del Mar le da características especiales.
- I.3. Porque la elevada contaminación atmosférica puede producir alteraciones patológicas.

I.1. Mortalidad y Morbilidad de las enfermedades respiratorias en México.

Los datos epidemiológicos, muestran que las enfermedades respiratorias en numerosos países, y entre ellos México, constituyen, una causa de mortalidad elevada, en todas las edades, en especial en la avanzada ó en condiciones de vida que reduzcan la capacidad de defensa de su organismo. En 1990 el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), comunicó para la República Mexicana un total de 1759 defunciones por enfermedades agudas respiratorias con una tasa de 7.51/100,000 derechohabientes usuarios, y 2989 defunciones con un tasa de 12.76 por enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Para el año 2002, los datos publicados por la Secretaria de Salud Publica se muestran en la tabla 1. Estas enfermedades también son la causa más elevada de morbilidad y producen ausentismo al trabajo o a la escuela, lo cual tiene un alto costo social. Así, el Informe semanal de la Dirección General de Epidemiología, en la última semana de 1993, comunicó 132,872 casos de enfermedades respiratorias, y la morbilidad acumulada para ese año fue de 9,884,871. Este dato para 1995 fue de 11, 178,289 (Dirección General de Epidemiología.S.S.A. 1995).

TABLA 1
MORTALIDAD Y MORBILIDAD POR ENFERMEDADES RESPIRATORIAS.

	Causa No.	No Muertes	Tasa
EDAD POST PRODUCTIVA			
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	4 ^a	13,856	279
Neumonías e Infecciones Bajas	8 ^a	13,000	12.97
Tumores Respiratorios	13 ^a	6,404	6.34
EDAD PRODUCTIVA			
Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	18 ^a	1,957	3.10
Neumonías e Infecciones Bajas	14 ^a	2,012	3.42
Tumores Respiratorios	15 ^a	2,161	6.34
Tuberculosis	12 ^a	2010	3.18
EDAD ESCOLAR			
Neumonías e Inf. Bajas	7 ^a	180	2.5
Asma	17 ^a	44	0.2
EDAD PRE ESCOLAR			
Neumonías e Inf. Bajas	2 ^a	575	6.73
Infecciones Resp. Altas	17 ^a	37	0.43
Asma	11 ^a	80	0.2
INFANTIL			
Neumonías e Inf. Bajas	2 ^a	2819	7.9
Infecciones Respiratorias. Altas	17 ^a	243	2.32
Asma	19 ^a	51	0.1

Tabla 1. Se aprecia que en todas las edades las enfermedades respiratorias están dentro de las primeras veinte causas de muerte y que tanto el número como la tasa de mortalidad han aumentado.

La morbilidad valorada de acuerdo con el número de consultas impartidas, en total para el año 2000 fueron: por tuberculosis respiratoria 15,201, por infecciones respiratorias agudas 25,498,168 y por neumonías y bronconeumonías de 177,428.

En 2001 fueron por tuberculosis 16,140; por infecciones respiratorias agudas 28,755,666 y por neumonías 200,121.

Durante las semanas 1 a 4 de enero de 2001, las consultas impartidas fueron 27,046,914 y en 2002 para esa misma fecha era de 27,234,487. Estos datos indican claramente un aumento en el número de personas con enfermedades respiratorias y de mortalidad

La frecuencia de las enfermedades agudas respiratorias es mayor en invierno que en verano. Así entre la 3ª y 4ª semanas de enero en 2002 se presentaron 694,668 casos nuevos en tanto que en junio se presentaron 440,285. (Referencia <http://www.salud.gob.mx>. 2003)

1.2. ALTURA SOBRE EL NIVEL DEL MAR.

El efecto de la altura sobre la función de los seres vivos y en especial de la función respiratoria ha sido explorada ampliamente en diferentes aspectos (Forte VA. 1997, Gautier H. 1982). Con respecto a su impacto en la función respiratoria, en la Cd. México se efectuó una investigación en 1962 (Sánchez España) en sujetos clínicamente sanos habitantes de la Cd. de México, los valores de la mecánica respiratoria estudiados mediante espirometrías, eran mayores que los comunicados por Baldwin E., Cournand A. y Riley R. (1948), así como los de Kory (1961) para sujetos estudiados al nivel del mar. En ese estudio se calcularon los valores teóricos normales de la capacidad vital y de los flujos espiratorios para los habitantes de la ciudad de México y se compararon con los de ciudades al nivel del mar. Se encontraron valores significativamente mayores para los habitantes de la Cd. de México lo cual se atribuyó a modificaciones en la fisiología respiratoria debidas a la altura sobre el nivel del mar.

1.3. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA.

La elevada susceptibilidad del aparato respiratorio, a los efectos dañinos de los contaminantes del aire, puede explicarse por el intenso contacto del aparato respiratorio con el ambiente, del cual entran y salen de 15,000 a 20,000 litros de aire al día, y le exponen a una gran cantidad de elementos potencialmente agresores. No es trivial tener en cuenta el volumen respirado en determinado tiempo, porque establece la cantidad de contaminantes introducidos; esto ha llevado en algunos países a limitar la jornada de trabajo en sitios contaminados a un tiempo calculado de acuerdo con la tasa de eliminación de contaminantes del aparato respiratorio (Parkes W 1983).

Por otra parte los pulmones son los únicos órganos por los que circula el total de la sangre del gasto cardíaco, el cual les lleva diversos elementos procedentes de la circulación sistémica, como trombos, parásitos, células neoplásicas y microorganismos, que los dañan a través de diferentes mecanismos. La relación entre la contaminación del aire y las alteraciones del aparato respiratorio ha sido conocida por mucho tiempo y su estudio se inició con el análisis de las enfermedades respiratorias industriales y de la minería.

El interés en los efectos dañinos del aire en habitantes de las ciudades es más reciente. La relación entre el grado de contaminación del aire urbano y los mecanismos por los que se producen no se han definido.

Por las razones mencionadas, se decidió determinar los valores normales para los diferentes parámetros de la mecánica respiratoria, mediante curvas flujo volumen, con un aparato y un método que tienen mejores características que las de los equipos previamente empleados

Además, la importancia de esta investigación esta respaldada por la American Thoracic Society (1995) que recomendó como una tema de investigación prioritario la determinación de las características de la función respiratoria de sujetos aparentemente sanos.

I.4. HALLAZGO INICIAL.

Con los propósitos mencionados, se efectuó en 1991, un estudio de la mecánica respiratoria en 93 jóvenes clínicamente sanos mediante curvas flujo volumen. **Se encontró que en 45% existían alteraciones mecánicas principalmente de tipo obstructivo.**

Dado este hallazgo, se consideró fundamental determinar:

Sí estas anomalías de la mecánica respiratoria se detectaban en otras muestras de la misma población, en otros grupos, en diferentes épocas del año.

En caso que se encontraran se consideró indispensable definir los posibles factores determinantes y su mecanismo de acción.

En consecuencia se reitera que:

“EL EJE de toda esta investigación fueron las curvas flujo volumen respecto a las cuales se investigaron sus causas posibles y sus mecanismos de acción.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Se detectaron alteraciones de la mecánica respiratoria mediante curvas flujo volumen, en un conjunto de jóvenes clínicamente sanos. Esta observación plantea el problema que se intenta esclarecer en esta investigación:

¿Existen alteraciones similares en otras muestras de la misma población y tienen relación con las estaciones?

En caso afirmativo ¿cuáles son las causas probables y sus mecanismos de acción?

En consecuencia, con base en los hallazgos de la primera observación y la información obtenida en el análisis de la literatura médica, se decidió investigar las alteraciones de la mecánica respiratoria, detectadas mediante curvas flujo volumen y su relación con algunos, de los diversos factores que han sido señalados en la literatura, como mecanismos de defensa y otros como elementos agresores del aparato respiratorio.

De entre los mecanismos de defensa se planeó identificar:

Algunas características clínicas que se han descrito como predisponentes o asociadas con alteraciones bronquiales que se manifiestan como cambios de tipo obstructivo en las curvas flujo volumen. También se pensó que era importante identificar algunos de los reflejos respiratorios de defensa (Andersen IB. 1977, Harada N. 1985)

La respuesta inmune mediante la medición de la inmunoglobulina A que es la defensa más importante de la mucosa del aparato respiratorio (Gleich GT. 1990, Passali D. 1990, Albanese CT. 1994, Ben-Ahmeida ETS. 1994, Brandtaeg P. 1982, Farne M. 1992, Brandtzaeg P. 1992, Burgio GR. 1980, Kifuji K. 1993, Cullina MT. 1993, Ren A. 1994).

Las infecciones, las cuales pueden influir en forma deletérea sobre los elementos de defensa. (Savitskaya KI. 1986, Ramsay AT. 1989, Abraham F. 1991, Hall CB. 1971, Hess M. 1985, Hall CB. 1991, Kurono Y. 1991, Pendersen SS. 1992, Ward TT. 1992, Waris M. 1992, Wilson R. 1992).

- a) La contaminación atmosférica (Dubois R. 1966, Folinsbee LJ. 1985, Akbar-Khanzadeh F. 1997, Burkhardt EG. 1975, Goleen JA, Morgan S. 1977, Nadel JA, 1978, Buther BT. 1989, Hazucha MJ. 1989, Hernández G. 1995 Cortez FA.1992, Davlin RB. 1991, Drechsler-Parks DM. 1990, Koenig JK. 1990, Ferris BG. 1964, Fox DL. 1975, Janet A. 1989, Guggenbichler JP, 1990, Hnizado E. 1990, Hnizado E. 1991, Mensing T. 1997, Paoletti P. 1997)

III. HIPÓTESIS.

Con base en los datos epidemiológicos y las investigaciones numerosas publicadas se propone que:

Existe una elevada proporción de sujetos clínicamente sanos que presentan en las curvas flujo volumen alteraciones de tipo obstructivo. Comparados con los que no las presentaran, estos sujetos tendrían: más síntomas respiratorios, un mayor número de microorganismos en la flora bacteriana habitual que se desarrollaría en exceso como un oportunista y tendrían menor concentración de IgA. Todo lo anterior presentaría una baja correlación con los niveles de contaminación comunicados para la zona urbana donde se localiza la Universidad.

IV. OBJETIVOS.

En sujetos clínicamente sanos:

IV.1. EFECTUAR CURVAS FLUJO VOLUMEN.

IV.2. DEFINIR CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS.

**IV.3. REGISTRAR LAS CONCENTRACIONES DE LOS
CONTAMINANTES FRECUENTES.**

**IV.4. IDENTIFICAR EL NÚMERO DE MICROORGANISMOS EN LA
NARIZ.**

**IV.5. MEDIR LA CONCENTRACIÓN DE INMUNOGLOBULINA A
SECRETORIA**

**IV.6. ANALIZAR LOS DATOS PARA INVESTIGAR CORRELACIÓN
ENTRE ESAS VARIABLES.**

V. MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES.

En esta investigación en la cual el eje central o sea la variable dependiente son las curvas flujo volumen se presenta el marco teórico para cada una de ellas, con énfasis en los aportes de esta investigación a los métodos toda vez que la falta de atención a estos aspectos redundan en falta de validez de muchas investigaciones. Se considera que, aún que parezca redundante hay falta de atención a los métodos que son básicos para la investigación científica. Sin métodos, considera la ponente, no hay método científico.

Además se presentan las conclusiones de cada una de los aspectos analizados, pero en cada uno de ellos se establece las relaciones con la variable dependiente. En consecuencia no son estudios o investigaciones diferentes, sino aspectos distintos que interactúan sobre la variable o eje central que son las curvas flujo volumen.

Las variables seleccionadas para resolver el problema planteado fueron:

- 1°. La mecánica respiratoria, que se estudió mediante las curvas flujo volumen
- 2°. El perfil clínico que se estudió mediante un cuestionario auto contestado. En el se incluyen los antecedentes personales de los que se ha comunicado que influyen en el desarrollo de enfermedades respiratorias ya sea en forma positiva como el hábito deportivo o en forma negativa como el tabaquismo. También se incluyen preguntas referentes a factores que alteran la resistencia de las vías aéreas así como los síntomas que se presentan como respuestas de defensa reflejas, ante un proceso de irritación respiratoria.
- 3°. La respuesta inmunológica de defensa, cuantificando la inmunoglobulina A en la mucosa nasal.
- 4°. La flora bacteriana nasal, efectuando la determinación cuantitativa y cualitativa de la flora endógena.
- 5° La contaminación atmosférica, registrando las cifras más representativas del aire ambiente respirado por los sujetos.

Los detalles específicos de cada uno de los procedimientos se describen en los capítulos respectivos.

V.1. SELECCIÓN DE LA MUESTRA.

El universo del que se tomaron las muestras estuvo constituido por los estudiantes que cursaban alguna de las cuatro primeras unidades de las carreras de medicina, enfermería, estomatología, medicina veterinaria y químico farmacéutico biólogo, de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. La muestra se constituyó con conjuntos aleatorios, formados por los estudiantes asignados a un profesor. Este método es válido toda vez que la asignación de alumnos a cada profesor es aleatoria hecha por la oficina de Sistemas Escolares. Además el que los alumnos trabajen con un profesor no tendría por que modificar las características de los miembros del grupo con respecto a las variables que se estudiarán. El estudiar a todo el grupo, con la aquiescencia del maestro, permitió la localización y cooperación de todos los alumnos y evitó la posibilidad de sesgo por la ausencia de algunos de los elementos. Además, durante las horas de actividades académicas respiraban aire con la misma composición.

Las muestras se tomaron de la misma población, por lo que sus medias se aproximan a la media poblacional y respecto a la institución el estudio es longitudinal.

Por razones éticas, se hizo el estudio clínico y la curva flujo volumen a todos los alumnos del grupo seleccionado pero los resultados de quienes no satisfacían los criterios de inclusión no se incorporaron a los datos presentados. El resto de las determinaciones solamente se hicieron a los que satisfacían los criterios de inclusión. También se estudió una muestra de trabajadores de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, para ampliar el rango de edad de los estudios. Se consideró que son comparables con los estudiantes porque: pertenecen aproximadamente al mismo grupo socioeconómico y respiran el mismo aire ambiental que los estudiantes, durante sus horas de trabajo.

Se estudió otro grupo que pertenecía al mismo universo, pero que no era un conjunto aleatorio y por ello los datos obtenidos no se incluyen con el resto que se presentan en la Tabla 2.

Para la selección y la validación de las técnicas se efectuaron estudios en grupos piloto en los que se siguieron los mismos criterios de inclusión y exclusión pero no fueron seleccionados en forma aleatoria, los constituyeron principalmente los estudiantes que participaron en esa parte de la investigación. Los resultados obtenidos se usaron para seleccionar la técnica más adecuada y calcular los diferentes errores intra e inter observador.

Además, se presentan datos de otro grupo de sujetos, constituido por trabajadores de tres hospitales de la Cd. de Saltillo: Hospital del Instituto Mexicano del seguro Social, la Clínica Saltillo y el Hospital de Neumología, a los que se les hicieron cultivos de secreciones nasales. Estos estudios tuvieron por objeto poder comparar nuestros datos con otras poblaciones, puesto que nuestro universo de trabajo es limitado. Además con este propósito se incluye el análisis retrospectivo que efectuamos en los libros de registro del laboratorio de análisis clínicos del Instituto Nacional de Neumología.

V.1.1. TAMAÑO DE MUESTRA, ÉTICA Y SERVICIO.

El tamaño de las muestras fue de conveniencia, pero en todos los casos que se analizan fueron conjuntos aleatorios.

Después de recibir información verbal, cada uno de los sujetos firmó una hoja en la que se reiteraba la información. Después de leerla, firmaron dando su consentimiento para participar y aceptando haber sido informados del objetivo del estudio, así como en que consistían las maniobras que se efectuaron. (Formato 1).

Al finalizar el estudio a todos los participantes se les dio una carta en la que se les informó el resultado y se les dieron las recomendaciones pertinentes (Formato 2). A quienes presentaran curva flujo volumen anormal, se les sugirieron medidas pertinentes para cuidar la salud de su aparato respiratorio. A quienes presentaron

alteraciones se les recomendó que regresaran para un nuevo estudio y evitaran las acciones y ambientes potencialmente dañinas para su salud. Cuando las alteraciones fueron severas se les recomendó acudir al servicio médico pertinente; se dio recomendación similar cuando se detectaron otras enfermedades, haciendo énfasis en la gravedad de la mismas, como en los que se detectó diabetes.

Esta investigación contribuyó a la formación de recursos humanos toda vez que en todas las etapas participaron estudiantes de diversos niveles quienes previa formación y entrenamiento colaboraron en la realización y comunicación de los resultados. (Torres y Col. 1993, Torres y Col. 1994)

V.1.2. CRITERIOS DE INCLUSIÓN. Y DE EXCLUSIÓN.

Se usaron estos criterios para incluir los resultados en la investigación, pero por lo antes explicado se estudiaron todos los sujetos de los grupos seleccionados.

Criterio de inclusión.

- a. Los estudiantes que se consideraron "sanos" porque en el momento del estudio y durante 15 días previos no tenían síntomas respiratorios o no eran conscientes de tenerlos; tampoco habían presentado enfermedad respiratoria aguda o agudización de una enfermedad respiratoria crónica.
- b. Que no hubieran padecido durante el último mes infecciones o traumas de algún otro aparato o sistema. No presentaran diabetes, ni otras alteraciones endócrinas, ni hubieran tomado antibióticos ni recibido vacunas.
- c. Que tuvieran voluntad para cooperar; se procuró convencer a todos para que efectuaran su mejor esfuerzo y así evitar que la muestra pudiera tener sesgos.

En consecuencia los criterios de exclusión fueron:

- a) Que los individuos tuvieran o hubieran tenido síntomas respiratorios o enfermedad respiratoria durante los 15 días previos al estudio o alguna otra enfermedad.

b). Que el sujeto hubiera tenido alguna enfermedad por la cual recibió tratamiento con antibióticos en los 15 días previos al estudio.

V.2. MÉTODOS.

Se estudiaron 18 muestras de la misma población. Para cada una se definieron objetivos específicos que respondían a los objetivos generales de la investigación y a cuestiones surgidas del análisis de la etapa anterior. Para el estudio de cada una de las grandes variables se utilizaron las técnicas pertinentes; algunas como la de la espirometría la investigadora tenía amplia experiencia previamente comunicada (Torres 1991) y fue practicada y estandarizada en cada una de las etapas efectuadas.

Para los otros estudios, fue necesario seleccionar y estandarizar los métodos y las técnicas, incorporando además los cambios que la experiencia mostraba que eran necesarios y pertinentes. En el análisis de los datos se señala qué estudios se efectuaron a cada muestra. Así, al cuestionario se le agregaron preguntas cuando se incorporó el estudio de la IgA. Estas modificaciones y sus causas se describen en las secciones correspondientes.

La Tabla 2 resume la serie de grupos estudiados; a cada uno se le efectuaron diversos estudios de acuerdo con los objetivos específicos que se planearon.

En la columna 1 se anotó la etiqueta que los identifica y corresponde a la del nombre del trimestre lectivo en el que se estudiaron. INV se refiere al trimestre de invierno que se desarrolla en los meses de enero a abril; PRI corresponde al de primavera que se realiza de fines de abril al principio de agosto y OTO se refiere al trimestre de otoño que se desarrolla de septiembre a principios de diciembre.

En la columna 2 (Tabla 2) se señala la fecha en la que se inició la serie de estudios de esa muestra; se continuaron durante el trimestre lectivo, en las fechas pertinentes para los objetivos específicos de ese grupo.

En la columna 3 (Tabla 2) se indica el número de sujetos estudiados en la muestra y el número de estudios.

En la columna 4 se señala cuantos y que tipo de estudios se practicaron en cada grupo.

En la columna 5 se señalan los objetivos que se marcaron para cada muestra.

Los métodos, técnicas y aparatos utilizados para efectuar los estudios enumerados en la Tabla 2, se describen con detalle en las secciones correspondientes, así como los objetivos específicos de cada sección.

En esta sección se mencionan los métodos y criterios que se aplicaron en todos los casos, los objetivos específicos de cada serie y su relación con el objetivo general

TABLA 2

GRUPO	FECHA	NUMERO		TIPO ESTUDIOS				CONTAM	OBJETIVOS
		SUJETOS	ESTUDIOS	CFV	CLÍNICO	BACTERIO	IgA		
1. OTO 91	Nov. 91	93	93	93	0			93	Determinar valores normales CFV
2. PRI 92	Mar. 92	113	236	236	236			113	Frecuencia anormalidad CFV, Ca
3. OTO 92	Nov. 92	130	134	130	130				Ratificar frecuen. Anorma
4. PRI 93-1	Mar. 93	27	144	25	Bacteriología	144			DISEÑAR método: estudio FLOR
6. PRI									
93- 2	May-92	30	30	30	30	30			E. Piloto Caract Clin, C
7. PRI 94	Mar. 94	40	83	83	40	40			Correlación entre
8. OTO. 94	Nov. 94	47	110	110	47	47			Correlación CFV, flora endógena
9. PRI. 95	Abr-95	40	144	Piloto IgA		0	144		DISEÑAR método MED
10. OTO 96-1	Sep. 96	73	167	167	0	0	167		Validación método
11. OTO 96-2	Nov. 96	102	172	172	172	0	66		Confirmar Técnica IgA na
12. OTO 96-3	Nov. 96	24	98	98	98	0	98		Correlación entre CFV
13. INV. 97	Feb. 97	61	101	101	101	0	101		Variación IgA Nasal en CICL
14. PRI 97	Jun. 97	56	70	70	70	70			Reproductividad de CFV,
15. OTO 97	Sep. 97	20	38	38	30	38	38		CAMBIO AMBIENTE y Mo
16. OTO 98	Sep. 98	6	21	21	21	39			CAMBIO DE AMBIENTE
17. PRI 99	Jun. 99	35	138	6	138	138	138	138	Correlación CFV, CI
18. OTO 99-2	Oct-99	20	20	20	20	20			Frecuencia Alt
Total: 18 GRUPOS		917	1799	1400	1133	566	752	344	

Para explicaciones ver texto

Grupo OTO91. Fue el primero, se efectuó en el trimestre de otoño de 1991. El objetivo de la investigación fue determinar los valores teóricos normales de los parámetros de la mecánica respiratoria detectados mediante curvas flujo volumen, de los habitantes de la Cd. de México; la trascendencia de ese objetivo se describe ampliamente en la introducción; a ese grupo solamente se le efectuaron curvas flujo volumen y se colectaron los datos generales de los sujetos e información sobre tabaquismo. Los datos obtenidos mostraron que el 47% de los sujetos presentaban alteraciones de la mecánica respiratoria. De este hallazgo surgió el problema fundamental que se investiga en este trabajo, que fue dilucidar si en otros grupos se presentarían con la misma frecuencia esas alteraciones y sus causas.

Grupos PRI92 y OTO92. En estos grupos se colectaron los datos clínicos pertinentes para indagar si las alteraciones en las curvas flujo volumen tenían manifestaciones clínicas y los factores que se han citado en la bibliografía científica, como predisponentes al desarrollo de enfermedades respiratorias y a hiper reactividad bronquial.

Grupos PRI93-1 y PRI93-2. Se les denomina piloto, porque el objetivo fue identificar el método adecuado para el estudio cuantitativo de la flora bacteriana en la superficie nasal de sujetos clínicamente sanos; se indagaron diversos métodos para el estudio de la flora bacteriana nasal endógena. Se identificó el método de "raspado" como el más adecuado para las determinaciones cuantitativas. Se efectuaron los estudios necesarios para definir los errores y dificultades implícitos en el manejo de la muestra, en las diluciones, la lectura de las placas de siembras, la reproductividad de las cuentas. En PRI93-1, los sujetos de estudio fueron los estudiantes que participaron en la investigación y un grupo inicial no seleccionado al azar, para determinar el número de unidades formadoras de colonias en sujetos clínicamente sanos. En 25 de estos sujetos se hicieron curvas flujo volumen.

Grupos PRI93, PRI 94 y OTO 94 se efectuaron cultivos de la flora nasal para definir el tipo y número de colonias; se hicieron curvas flujo volumen y estudio clínico.

Grupo PRI 95. Se inició la determinación de la inmunoglobulina A en la superficie nasal. Se ensayaron varios métodos para colectar las muestras y se identificó el de raspado como el más eficiente. Se aplicaron los procedimientos utilizados en los estudios de la flora bacteriana, para mejorar la eficiencia del proceso.

Grupos OTO 96-1 y OTO 96-2. En éstos grupos se estudiaron 73 y 112 sujetos a los que se les hicieron diferentes tipos y número de estudios, desde 1 hasta 11 determinaciones de IgA nasal, datos clínicos y curvas flujo volumen. Los objetivos fueron: a) validar la técnica de medición y la reproducibilidad en 2 mediciones efectuadas en alícuotas de la misma muestra; b) determinar las cantidades de IgA en la mucosa nasal de sujetos clínicamente sanos. c) verificar las variaciones de la concentración en diferentes días en un mismo sujeto. También se exploró la correlación con las curvas flujo volumen y con las características clínicas.

Grupo OTO 96-3, se hicieron cuatro determinaciones de IgA y de los otros estudios para explorar sus variaciones durante el ciclo menstrual.

En el Grupo **OTO 97** se exploró el efecto que pudiera tener el cambio de ambiente en las variables mencionadas, en un grupo de alumnos que se desplazaba al campo clínico.

En los otros grupos se trató de ampliar y ratificar o rectificar los hallazgos iniciales.

Nótese que en todas las muestras, excepto los grupos piloto, la variable dependiente, eje de toda la investigación, fue la mecánica respiratoria estudiada mediante curvas flujo volumen.

VI. FUNCIÓN RESPIRATORIA, MECÁNICA RESPIRATORIA Y CURVAS FLUJO VOLUMEN.

El presente trabajo se inició, como se ha mencionado, con el intento de definir las características de las curvas flujo volumen en sujetos clínicamente sanos, habitantes de la Ciudad de México, para establecer un patrón de referencia de esos estudios que informan algunos aspectos de la mecánica respiratoria. Con base en los resultados de la curva flujo volumen, se clasificó el estado de la mecánica respiratoria, respecto a la resistencia de las vías respiratorias y al volumen pulmonar funcional. Se definieron algunas variables susceptibles de influirla, que se han mencionado y se estudió la correlación con ellas. En esta sección se presenta el marco conceptual de la mecánica respiratoria, la relación entre la espirometría y las curvas flujo volumen y sus bases fisiológicas. Se describe el instrumento y técnica para realizarlas y los principios involucrados en su interpretación.

VI.1. MECÁNICA RESPIRATORIA.

La mecánica respiratoria es una parte de la función respiratoria, es uno de los procesos que intervienen en la respiración externa o pulmonar. Comprende el estudio del conjunto de fuerzas y resistencias que participan la ventilación pulmonar que es la entrada y salida de aire de los alvéolos a la atmósfera. (Anthonisen N.R. 1983, 1986)

Las fuerzas se originan fundamentalmente en la contracción de los músculos respiratorios. Las resistencias dependen de las características de las vías respiratorias y de la elasticidad tóraco pulmonar. Los objetos de estudio de la mecánica respiratoria son muy amplios y comprenden el análisis del trabajo de los músculos respiratorios y sus interacciones, la elasticidad del tórax y el pulmón, las características de las vías respiratorias, la síntesis del agente de tensión superficial que determina la distensibilidad pulmonar y el conjunto de factores normales y patológicos que determinan e influyen cada uno de los aspectos mencionados.

La mecánica respiratoria es uno de los aspectos de la fisiología respiratoria, que se estudian con más frecuencia en las investigaciones clínicas, epidemiológicas e incluso básicas. De ella se estudian la resistencia de las vías respiratorias y el "tamaño funcional de los pulmones".

El método que se ha usado para estos estudios fue diseñado desde 1848, por Hutchinson. Se denomina espirometría y que se efectúa generalmente con un aparato llamado espirómetro. Consiste básicamente en un cilindro que flota sobre agua, que se eleva cuando entra aire y baja cuando se inspira; el desplazamiento corresponde al volumen de aire y su magnitud depende del área del mismo. Está asociado con un sistema de inscripción. La estructura y forma de operar de este aparato mecánico, que se usa hasta la fecha, se ha descrito detalladamente (Torres 1991) y es uno de los estudios de fisiología respiratoria que más ha trascendido a la práctica clínica.

En la actualidad estos aspectos de la función respiratoria se pueden estudiar mediante las curvas flujo volumen (CFV) con las cuales se mide el volumen pulmonar funcional y se registran otros parámetros que proporcionan información referente a la resistencia de las vías respiratorias. Estos estudios son más sensibles que los obtenidos con la espirometría clásica. Se describen con detalle estos métodos toda vez que constituyen la variable fundamental que se investiga en este trabajo.

VI.2. ESPIROMETRÍA Y CURVAS FLUJO-VOLUMEN.

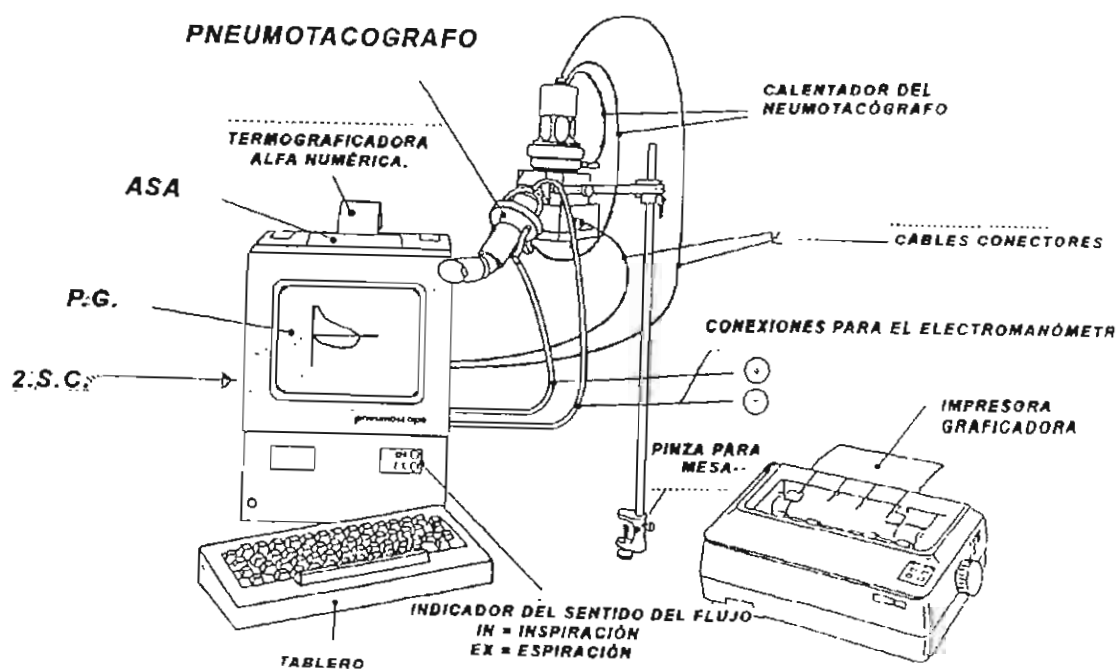
La experiencia referente a la espirometría es muy amplia porque es un método relativamente sencillo, que no implica molestias ni riesgos para el sujeto (Nathar S.P. 1979). Las curvas flujo volumen, dan información similar a la espirometría (Lebowitz y Col 1997 1,2 y 3) y algunas observaciones de ésta se pueden extrapolar a las CFV (Hyatt. 1961, 1973, y 1983). Los métodos para registrar las CFV han sido

desarrollados ampliamente (Lisboa C. 1979, 1980) Se han construido tablas de valores normales en sujetos sanos basadas en datos obtenidos de diversas razas (Aggarwal y Col. 2000), comunidades (Lebowitz M.D. 1997) edades (Knutson R.J. 1978, Le Souef N.P. 1997) , sexo, estatura y peso (Morris J.F. 1971); se ha determinado su variabilidad en un mismo sujeto efectuando numerosas repeticiones para valorar el efecto del entrenamiento y de la fatiga (Rahn 1949), encontrándose que si la técnica es correcta los valores presentan variaciones muy pequeñas; también se han estudiado sus variaciones circadianas (Kravachi K y Wirtz J. 1944, Spengler 2000, Jean D. 1999, Karachi K. 1994, Mirmiran M. 1990), en días subsecuentes (Randel 1999) y en diversas horas del día (Aggarwal A.K. 1997, Lebowitz M.D. 1997). Son muy numerosos los estudios referentes a sus modificaciones con cambios ambientales como la contaminación (Koenig J.K. 1990, Mc Donald 1991) Se conocen sus modificaciones con la posición., con el grado de actividad, con la composición corporal. (Boezen H.M. y Col. 1994) variaciones hormonales (Aggarwal A.K.2000) y estado de ánimo (Martinez J.M. 1996). Hay experiencia amplia respecto a las modificaciones producidas por diversos tipos de enfermedades (Brand y Col. 1997), como el enfisema (Hyatt 1961) la influenza (Jacoby 1988, Johanson J. 1979, Laitenen L.A. 1980), asma (Nicklaus M.T. 1969, Meguro T. 1991, Packe G.E. 1984, Kondo S. 1997, Lemanske R.F. 1989, Martin R.J. 1999). También se ha usado como una herramienta para investigar el efecto de diversas sustancias irritantes y fármacos. (Lebowitz y Col. 1997) y tratamientos (Iwasaki 2000). Por todas estas razones se considera un método adecuado para estudiar las características de la mecánica respiratoria. Sin embargo las curvas flujo volumen proporcionan como se ha mencionado información, sobre otros parámetros relacionados con la resistencia de las vías respiratorias.

Los valores teóricos normales de estas variables, en sujetos clínicamente sanos habitantes de la Ciudad de México no se han determinado. Además en esta investigación se propone utilizarlas para indagar los efectos de algunos mecanismos de agresión.

FIGURA 1

SISTEMA PARA EFECTUAR, REGISTRAR E IMPRIMIR
LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN



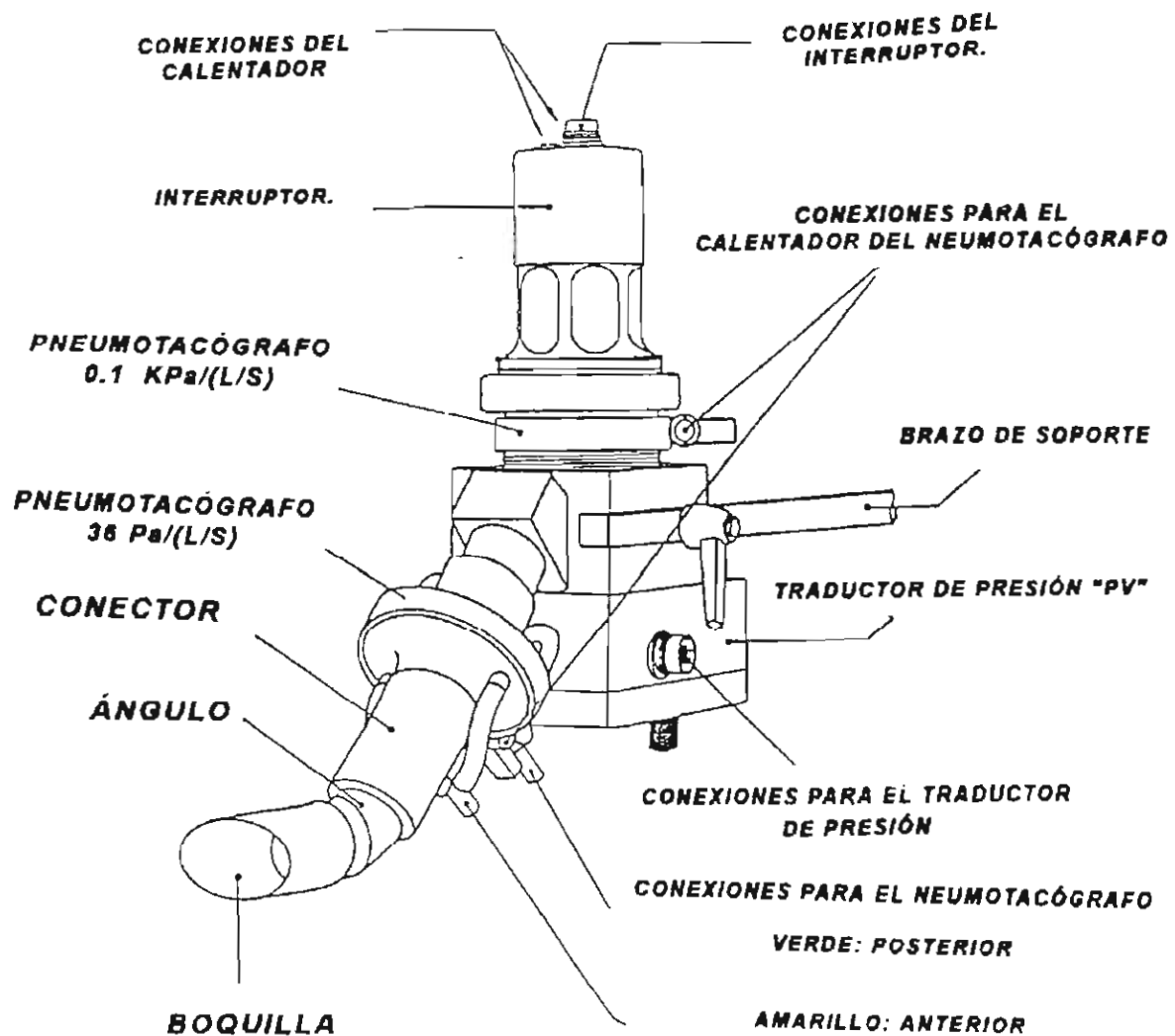
VI.2.1. Aparato para efectuar las curvas flujo volumen.

El aparato usado, consiste en un sistema el Neumoscopio Jager (Pneumoscope Versión 3(02.86#780338) que se ilustra en la Figura 1, en la que se muestran sus diferentes partes, que estan identificadas. El elemento sensor es el neumotacógrafo, a través del cual respira el sujeto; está conectado con un sistema de cómputo, alojado en un cuerpo al que se conectan los cables provenientes del pneumotacógrafo, un teclado y una impresora. Tiene una pantalla en la que se proyectan diferentes menús, las plantillas para suministrar información, los trazos y los resultados numéricos. El sistema efectúa registros y cálculos pertinentes y se pueden imprimir con lo que es factible conservar la información. Además la memoria del sistema es de 5 días. El aparato satisface y supera los requerimientos planteados por la ATS; se siguió la técnica y las definiciones postuladas por ella. Cada estudio implicó la preparación del aparato, su calibración y la ejecución de las curvas.

Principio físico del pneumotacógrafo. (Figura 2) Esta basado en el principio de Bernoulli referente al flujo laminar. Este aparato consiste básicamente en un tubo a través del cual respira el sujeto. Tiene forma de dos conos unidos en su base y en medio de los cuales esta una rejilla metálica; estas dos características aseguran que el flujo sea laminar. Cada uno de los conos tiene un tubo lateral y ambos están conectados con los lados de un electro manómetro diferencial con sensibilidad muy elevada. El flujo laminar produce una presión lateral negativa proporcional a su magnitud; por tanto se establece una diferencia de presión entre los tubos que es directamente proporcional con la magnitud del flujo.

La diferencia de presión se trasmite a través de los tubos al electro manómetro. La señal generada en el electro manómetro se transmite a un sistema de cómputo que tiene los algoritmos pertinentes para procesarla y registrar las cifras y el trazo del flujo instantáneo.

FIGURA 2



**NEUMOTACÓGRAFO Y UNIDAD PARA MEDIR LA
RESISTENCIA DE VÍAS RESPIRATORIAS**

La señal del flujo se integra y se obtiene el volumen. La medida del volumen espirado o inspirado se relaciona con el flujo en diferentes momentos que corresponden a los parámetros de la curva flujo volumen.

Con este aparato las medidas son indirectas y por tanto requiere una calibración cuidadosa que se hace con una jeringa calibrada, que proporciona volúmenes de aire de 500, 1000, 1500 o 2000 ml. Además es necesario tener las precauciones adecuadas para que se den las condiciones que requiere el principio teórico en cuanto a temperatura, humedad, y presión.

El trazo de las curvas flujo volumen se registra en el eje de las ordenadas el flujo en litros por segundo y en las abscisas el volumen en litros. Esta dispuesto de manera que hacia arriba se registra el flujo espiratorio y hacia abajo el inspiratorio. La distancia entre el inicio y el fin del trazo corresponde al volumen. En consecuencia el flujo se mide directamente el trazo.

La integración electrónica tiene gran exactitud; el sistema analiza la señal y proporciona los datos numéricos además del trazo. Una vez terminado el estudio los resultados aparecen en la pantalla aproximadamente en 40 segundos después. En la pantalla aparece un menú que tiene la opción de mandar a imprimir el trazo.

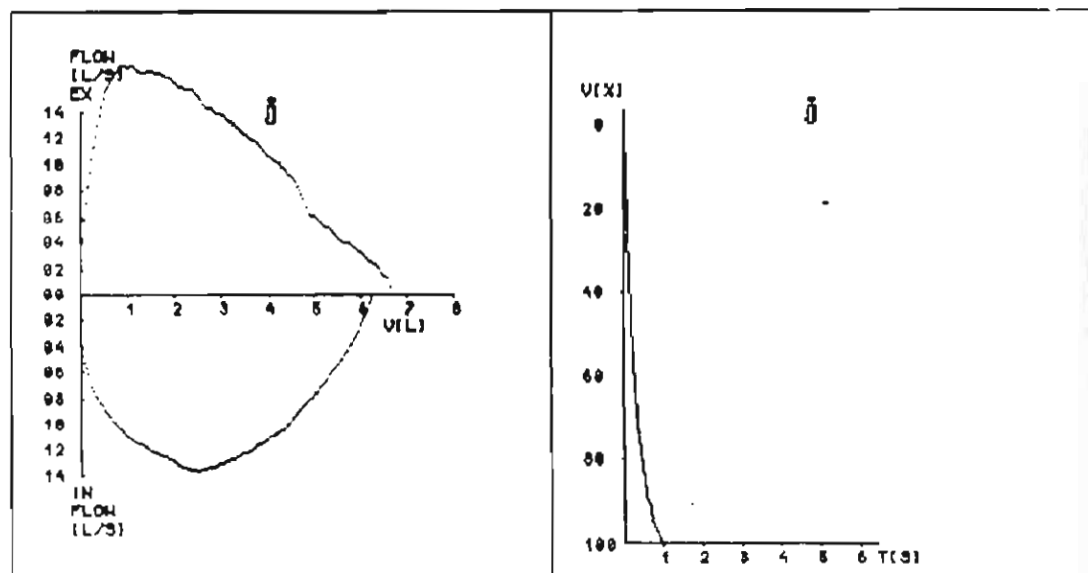
También pueden presentar el trazo del volumen en relación con el tiempo en el cual se determinan otros parámetros.

Las ventajas de este aparato son: A) tiene inercia mínima porque el registro esta dado directamente por la diferencia de presión que genera el flujo: no implica desplazamiento de un cuerpo sólido como en el espirómetro. B) El sistema de cómputo evita la tarea difícil de hacer los cálculos manualmente y disminuye las probabilidades de error.

FIGURA 3

ID. # ECSF10006
NAME MONTERROSA F.
FIRST N.DAVID G.

```
AGE      [YEARS] 23      DATE      16.03.00
HEIGHTCM [INCH] 168     TEMP.     [DEG C] 22
WEIGHT   [KG/LBS] 75     BAR.PR.  [MM/HG] 7770
SEX      [M/F] M        HUMIDITY   [%] 49
CORR.FACTOR: IN .93/EX .94
```



PARAMETER	#	7	PRED	ACT	%PRED
FEV 1.....	L..		3.96		
FVC.....	L..		4.69	6.4	136
VC IN.....	L..		4.69		
FEF 50.....	L/S		5.46	12.2	223
PEF.....	L/S		8.86	16.7	188

C) El registro del flujo permite hacer mediciones directas en tanto que en el trazo del espirómetro clásico, este se mide dibujando una tangente a la curva o sea la primera diferencial; como el trazo se hace por apreciación óptica el margen de error es muy elevado.

Por estas características el neumotacógrafo permite obtener datos de gran exactitud y con poco margen de error, incluyendo los cálculos. También justifican su gran utilidad en clínica.

Por todo lo mencionado se decidió definir los valores normales, de sus diferentes parámetros, para en la población de México. Estos no se han determinado.

En estos estudios es fundamental el análisis de los flujos respiratorios y no solo el del volumen pulmonar; por tanto los registros se denominan curvas flujo volumen (CFV) haciendo énfasis en el aspecto dinámico del estudio. (Figura 3.)

VI.2.2. Definición de los Parámetros analizados en las curvas flujo volumen. Habitualmente se imprimieron las curvas flujo volumen y la relación entre la capacidad vital y el tiempo. Se registraron los datos obtenidos, los teóricos normales y la relación expresada en por ciento correspondiente con las definiciones establecidas por la ATS. Los parámetros definidos en la curva flujo volumen (Mead 1978) se ilustran en la Figura 3 y se definen así:

1. Volumen espiratorio forzado en el 0.5 seg. de la capacidad vital forzada (VEF 0.5 L) Se mide en el trazo que relaciona tiempo con volumen.
2. Volumen espiratorio forzado en el 1.0 seg. de la capacidad vital forzada (VEF 1.0 L). También se mide en el trazo tiempo - volumen.
3. Capacidad vital forzada (FVC L) que se mide en el punto en el que las ordenadas retornan y se cruzan con las abscisas y corresponde al punto donde termina el trazo del flujo. Se define como la cantidad máxima de aire que se puede espirar después de una inspiración máxima.
4. Flujo espiratorio máximo cuando el sujeto tenía en el tórax 75% de la capacidad vital. Estos parámetros habitualmente se expresan con las

iniciales en ingles: FEF 75% (Forced expired flow 75) Se anotan en esta forma porque son las que se manejan en la literatura.

5. Flujo espiratorio máximo cuando el sujeto tenía en el tórax 50% de la CVF: (FEF50 L/S)

6. Flujo espiratorio máximo cuando el sujeto tenía en el tórax 25% de la CVF. (FEF25 L/S)

7. Flujo espiratorio máximo registrado en donde se encontrara el punto más alto del trazo del flujo espiratorio, en la curva flujo volumen: PEF L/S (Peak expiratory flow)

8. Resistencia de las vías respiratorias. Air Way Resistance (AWR KPA/L/S)

También se anotaron los diagnósticos establecidos por el programa, de acuerdo con los criterios de Ellis (1975), quien sigue los criterios generales aceptados por la ATS y la American Physiological Society (1979, 1995). Las figura 3 ayuda a visualizar los parámetros definidos.

VI.2.3. Resistencia y flujo en las vías respiratorias:

Determinantes físicos.

Se revisan estos conceptos básicos de física para explicar porque se derivan conclusiones referentes a la resistencia de las vías respiratorias mediante un estudio en el que solamente se analiza una de las variables implícitas en la ecuación que la define. La resistencia al flujo y el flujo del aire en cualquier sistema de tubos, se describen en las siguientes ecuaciones:

$$\dot{V} = \Delta P / R \quad (\text{Eq. 1})$$

$$R = \Delta P / \dot{V} \quad (\text{Eq. 2})$$

en la cual R es la resistencia en unidades de presión por unidades de flujo; ΔP es la diferencia de presión en el sistema (mmHg o dinas /cm²) y corresponde a la diferencia entre la presión atmosférica y la presión alveolar y V el flujo aéreo (l/min.); por tanto V puede disminuir porque aumente R o por que disminuya ΔP . Debe apreciarse, que para medir la resistencia es necesario conocer la diferencia de presión y el flujo, sin

embargo en la espirometría solamente se mide la velocidad del aire, es decir el flujo aéreo y no la presión.

Este convenio se ha aceptado porque la fuerza disponible para producir la diferencia de presión es mucho mayor que la necesaria en condiciones fisiológicas para distender el pulmón y producir el flujo de aire. La distensibilidad pulmonar normal promedio es de .200/cmH₂O (Hyatt 1983); por tanto para inspirar 800 ml que corresponde a una respiración promedio se requiere un cambio de presión de - 6 cm H₂O. y para inspirar 3 a 4 litros que corresponden a la capacidad vital se requieren de 15 a 20 cm H₂O. La resistencia normal promedio de las vías respiratorias es de 2.5 cm H₂O/l/seg. Por otra parte, por en un esfuerzo máximo con la glotis cerrada los músculos respiratorios pueden generar presiones inspiratorias de - 90 y espiratorias de 180 mmHg (Torres 1991). Esta presión es aproximadamente 100 veces mayor que la necesaria en condiciones fisiológicas. Por tanto, toda vez que se estudie con técnica correcta a sujetos sin problemas musculares y que hagan su máximo esfuerzo, toda disminución del flujo se considera que indica aumento de la resistencia de las vías respiratorias y se considera que la presión no es el factor limitante. Por tanto cuando disminuye el flujo se concluye que existe un aumento de las resistencias de las vías respiratorias. Esta puede ser subclínica o manifestarse.

Factores físicos que modifican la resistencia. La resistencia en un tubo liso, cilíndrico, para un fluido Newtoniano, esta determinada por los siguientes factores:

$$R = 8 \eta L / \pi r^4 \quad (\text{Ec. 3})$$

Donde R es la resistencia; η es la viscosidad del fluido; L es la longitud del tubo; r^4 es el radio elevado a la cuarta potencia. Esta ecuación se aplica, con ciertas limitaciones al flujo en los bronquios, y se presenta porque hace evidente que el elemento fundamental que modifica la resistencia es el radio; nótese que si éste disminuye por ejemplo a la mitad, la resistencia aumenta a la cuarta potencia, es decir 16 veces.

Por lo tanto la evaluación de los cambios de la resistencia de las vías respiratorias que se efectúa con las curvas flujo volumen aun cuando indirecta, es de gran utilidad para detectar y cuantificar alteraciones bronquiales, como el broncoespasmo o procesos inflamatorios, así como para conocer modificaciones del volumen de aire que se puede inspirar y espirar un sujeto.

VI.2.4. Interpretación de las curvas flujo volumen: tipos de alteraciones

Cuando el volumen pulmonar funcional, determinado midiendo la capacidad vital, es inferior al valor calculado para un individuo con similares características morfométricas, se considera que ha disminuido el volumen pulmonar funcional.; a esta condición se le denomina **alteración restrictiva**.

Cuando disminuye la velocidad con la que se desplaza el aire se considera que hay aumento de la resistencia de las vías respiratorias, y a esto se le denomina **alteración obstructiva**, lo cual desde luego no implica que exista obstrucción de las vías respiratorias; traduce disminución del radio de las mismas.

Cuando disminuye la capacidad vital y el flujo respiratorio se concluye que hay alteraciones restrictivas y obstructivas.

Esta clasificación propuesta por Baldwin, Cournand y Richards desde 1948, continúa vigente. Es pertinente mencionar que diversos autores establecen el diagnóstico de "insuficiencia respiratoria obstructiva o restrictiva, pero esto es incorrecto puesto que este estudio no proporciona datos de la composición gaseosa de la sangre ni tiene una relación directa con dichos trastornos.

VI.3. TÉCNICA PARA EFECTUAR LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN.

En todos los tipos de estudios se siguieron una serie de pasos que se anotaron en una guía, principalmente al inicio de cada serie. Esta se efectuó de la misma manera en todos los grupos desde el inicio de la

investigación toda vez que esta bien establecida y se tenía amplia experiencia en ella.

VI.3.1. Calibración del aparato. El aparato se encendió con suficiente anterioridad para que se calentara a 38°C que es la temperatura de operación adecuada y que se había marcado en el botón de mando del termostato. Se introdujeron las variables ambientales de presión atmosférica, temperatura y humedad. La presión atmosférica se consultó al Observatorio Nacional inicialmente y después se leyó en la página Web de la Secretaría del Medio Ambiente. La temperatura y la humedad se leyeron en un termómetro – higrómetro integrados. Una vez alcanzada la temperatura, se calibró con la jeringa descrita. Se considera que la calibración en cada estudio, (Millar M.R. 1997) es indispensable para obtener resultados válidos. Terminada la calibración, se efectuaron las CFV.

En sistema de cómputo se seleccionó el programa denominado Curva flujo volumen tipo "Envelope"; en él aparecen en la pantalla ejes de coordenadas que corresponden, a las ordenadas el flujo en litros/segundo y a las abscisas el volumen en litros; este eje corta al de las ordenadas de manera que hacia arriba de él se registra el flujo espiratorio y hacia abajo el inspiratorio. El aparato conserva el trazo con los valores más elevados para el flujo y para el volumen.

VI.3.2. Preparación e instrucciones a los sujetos. Se estudiaron después de que habían permanecido un mínimo de 60 minutos en el área de la Universidad donde se localiza el laboratorio; esto se hizo con el propósito de que el aire alveolar tuviera una composición equilibrada con el aire inspirado, lo cual de acuerdo con estudios previos de eliminación del nitrógeno o de equilibrio con helio (Torres, 1964) se logra en este tiempo, aún en sujetos con alteraciones patológicas. No se guardó un orden definido cuando se hicieron otros estudios. En general se dieron explicaciones y cuando acudieron varios estudiantes simultáneamente, se efectuaron las curvas flujo volumen a unos, mientras otros contestaban un cuestionario o se les tomaban muestras.

Se observó que esto estimulaba un sentido de competencia que favorecía su cooperación.

Los sujetos se pesaron y se midieron inmediatamente antes del estudio, sin zapatos y con ropa básica. Se usó una báscula (Marca Torino) con altímetro, previamente calibrada.

Se anotaron los datos del sexo, peso, talla y edad de cada sujeto, con los cuales el sistema de cómputo calculó los valores teóricos normales.

A cada sujeto se le dieron las explicaciones y demostraciones, respecto a las maniobras que iban a efectuar. Se indicó que respirara tranquilamente y cuando se le dijera efectuara una inspiración máxima y después espirara lo más que le fuera posible, y que en ambos movimientos movilizara el aire a la mayor velocidad. Una vez que el sujeto manifestó haber comprendido, se indicó que introdujera la boquilla entre sus labios, se le indicó que los cerrara bien y se aplicó una pinza nasal, comprobando que no hubiera fugas.

Durante la ejecución de las maniobras se observó constantemente el trazo en la pantalla y se alentó con entusiasmo al sujeto para que efectuara el esfuerzo máximo. Se constató que este factor modifica considerablemente los resultados, pero no se comunican por no disponer de unidades para medirlo.

Se repitieron las CFV tantas veces como fue necesario para obtener al menos dos que se superpusieran y tuvieran la forma normal. Esto se logró habitualmente con cuatro maniobras. Entonces se dio al aparato la señal de terminar el estudio y la imagen apareció fija en la pantalla, construida con los valores máximos registrados. En 40 segundos, al margen del trazo aparecieron los valores obtenidos, los teóricos normales y la relación entre ambos expresada en por ciento.

Después se seleccionó el programa denominado resistencia de las vías aéreas; se dieron las instrucciones al sujeto para que respirara tranquilamente y se efectuaron determinaciones con volúmenes pulmonares diferentes, pero no medidos. En la pantalla aparecieron

curvas que corresponden al cambio de volumen y cifras que indican la resistencia expresada en kilo pascalios. Cuando se obtuvieron valores estables se indicó al sistema terminar la operación y aparecieron en la pantalla los valores promedio de las resistencias de cada cinco respiraciones. En general se midió la resistencia en 20 ó 25 de ellas y se calculó el promedio.

Terminado el estudio se seleccionaron los datos y los parámetros que se deseaba imprimir y se dio el mando para registrar.

Al sujeto se le entregó la hoja de resultados e instrucciones y se le citó para el próximo estudio cuando así estaba programado.

VI.4. FACTORES FISIOLÓGICOS QUE MODIFICAN LA RESISTENCIA DE LAS VÍAS RESPIRATORIAS.

Como se ha mencionado el factor fundamental que modifica la resistencia de las vías respiratorias es el radio. Experimentalmente o en situaciones especiales, como en la altura (Mansell L.A. 1980), se puede modificar la densidad del gas respirado lo cual también cambia la resistencia (Guillemini S. 1995). Pero respirando aire el factor fundamental es el radio que se modifica por factores fisiológicos y por causas patológicas. Las modificaciones fisiológicas del radio de las vías respiratorias son de tipo pasivo o activo. (Green M. 1973, 1974)

Cambios Pasivos de la resistencia de las vías respiratorias. Los cambios pasivos se deben a la tracción o compresión que sobre ellas efectúan el resto de las estructuras pulmonares durante los cambios de volumen y de presión que producen la respiración (Mead J. 1967, Metzger F.L. 1980). Así, durante la inspiración, la contracción de los músculos respiratorios expande al tórax lo que disminuye la presión intrapleuraleal y alveolar; esto aumenta la diferencia de presión entre los alvéolos y la atmósfera, siendo la presión intra alveolar inferior a la atmosférica. Como consecuencia se produce el flujo de aire. Cuando el tórax se expande ejerce tracción sobre el pulmón y distiende todas las estructuras, incluyendo las paredes de los bronquios que están

rodeados de tejido pulmonar; esto aumenta el radio y disminuye la resistencia.

Lo contrario ocurre durante la espiración, en la que el pulmón se retrae pasivamente por su elasticidad y esa energía causa la salida de aire. Durante la respiración tranquila y con vías respiratorias con una resistencia normal, la espiración es pasiva. En contraste durante una espiración forzada el flujo aéreo depende de la contracción de los músculos respiratorios en la primera parte, cuando se inicia el flujo; pero en la medida en que se invierte la dirección del gradiente de fuerza y tiende a disminuir el diámetro de los bronquios. En esta parte de la espiración el flujo aéreo depende la presión trans mural que resulta del balance entre la presión externa al bronquio y la presión dentro (Mansell L.A. 1977) En esta fase la trascendencia de la fuerza de la contracción muscular disminuye a partir aproximadamente después de la espiración del 25% del volumen contenido en el tórax, poco después del flujo espiratorio máximo. A partir de ese momento la participación de la contracción muscular para influir en el flujo espiratorio decrece en forma lineal y en la última parte no lo modifica y por ello se le califica como "músculo" o "contracción independiente". En esta parte de la espiración el determinante fundamental es la resistencia de las vías aéreas, especialmente de las pequeñas (Macklem P.T. 1998) y se presenta cuando el tórax contiene aproximadamente el 25% del volumen máximo que puede contener, es decir de la capacidad vital. De esto se deduce que en este punto es donde en forma más temprana se manifiesta el aumento de la resistencia de las vías respiratorias. En esta parte de la curva flujo volumen, un gran esfuerzo muscular puede incrementar la presión sobre el bronquio y superar a la presión intrabronquial. Entonces las paredes bronquiales se colapsan y cesa el flujo. A este punto se le denomina presión crítica de cierre. Hay diversos métodos para medir el momento y sitio donde se produce y es de gran trascendencia para identificar el nivel en el que se localizan las alteraciones estructurales más importantes.

Cambios Activos de la resistencia de las vías respiratorias. Las modificaciones activas del radio bronquial se efectúan por alteraciones del tono del músculo bronquial relacionadas con factores nerviosos, humorales (Little J.W. 1978, Lobby M.F. 1981) o combinación de ambos (Mackey T.W. 1998), que pueden ser normales, patológicas o experimentales. El tono bronquial disminuye y el bronquio se dilata por la acción del sistema simpático y la presencia de amins simpático miméticas. La presencia de bióxido de carbono disminuye el tono bronquial (Newhouse T.M. 1974)

La contracción aumenta y por ende disminuye el radio produciendo aumento de la resistencia de los bronquios, la acción del sistema parasimpático, su mediador químico acetilcolina (Mensing T. 1997) y sustancias autacoides como la serotonina y la histamina. La hipoxia y la hipocapnia producen bronco constricción (Nielsen T.M. 1977). La discusión detallada de los mecanismos que regulan la resistencia bronquial es trascendente para interpretar los mecanismos de la adecuación de la circulación y la ventilación en condiciones normales y patológicas.(Torres 1991). En condiciones patológicas el radio bronquial puede disminuir por causas muy diversas. El edema y la inflamación engruesan la pared por aumento de la mucosa y presencia de secreciones; la inflamación se produce por contacto con contaminantes del aire o por infecciones. Las sustancias que se liberan durante las crisis de alergia, como la histamina y la prostaglandina E. Algunos de los factores mencionados se potencian aumentando la reactividad bronquial (Mc Donald M.C. 1988, 1991). La constricción del músculo liso bronquial que puede manifestarse por crisis agudas con síntomas intensos, como en el asma (Navey H.S. 1989). Pero también puede se constricción leve, crónica y no manifestarse, o sea que su curso es subclínico. Otras causas de disminución del radio bronquial son la compresión externa (Melissant C.F. 1995) por ganglios o tumores, crecimiento de alguna masa tumoral que ocupe la luz, la presencia de cuerpos extraños.

Por lo tanto las evaluaciones indirectas de los cambios de la resistencia de las vías respiratorias que se efectúan mediante las curvas flujo volumen son muy útiles para detectar broncoespasmo o alteraciones diversas que producen disminución del radio del bronquio y por ende aumentan las resistencias al paso del aire.

VI.5. RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS DE LA MECÁNICA RESPIRATORIA MEDIANTE CURVAS FLUJO VOLUMEN.

Se efectuaron 1400 curvas flujo volumen que se hicieron a un total de 875 sujetos, estudiantes y de trabajadores de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud. Se presenta el análisis de los resultados de 875 curvas flujo volumen que corresponden a la primera de las efectuadas a los sujetos a los que se hicieron varias o la única, cuando no se hicieron repeticiones. Posteriormente se presentan los datos en los que se efectuaron varios estudios a un mismo sujeto, para detectar, las variaciones espontáneas, las relacionadas con el ejercicio, las que se presentan con cambios del ambiente y las que acontecen durante el ciclo menstrual.

En los grupos en los que que investigó alguna correlación específica de las curvas flujo volumen, por ejemplo las variaciones durante el ciclo menstrual, obviamente se agregaron otros criterios.

Se construyeron bases de datos para cada muestra con el paquete Excel y el análisis se completó con el paquete estadístico JMP. En cada muestra se efectuó el análisis estadístico descriptivo y posteriormente el del total de los datos. Se efectuaron cálculos de t de Student, X^2 y la Prueba de Tukey.

En la Tabla 3 (V) se presentan los datos generales de los sujetos estudiados. Se denominan normales a quienes tuvieron valores de las pruebas similares o superiores a los teóricos calculados para sujetos con la mismas características antropométricas. Se denominan anormales a los sujetos quienes en uno o varios de los parámetros estudiados, de las CFV presentaron valores inferiores al rango aceptado de los teóricos correspondientes.

Los sujetos anormales se clasificaron de acuerdo con los criterios clásicos considerando: alteraciones restrictivas (ALRES) cuando la capacidad vital estaba disminuida y presentaba cifras inferiores a 80% del valor teórico normal y el resto de los parámetros era normal; alteraciones obstructivas (ALTOB) cuando una o varias de las medidas de flujo tenían valores inferiores a 80% de la cifra teórica normal. Cuando presentaban disminución de la capacidad vital (FVC) y de alguna de las medidas dinámicas se clasificaron como sujetos con alteraciones obstructivas y restrictivas (AROB). Estas abreviaturas se usan en todas las tablas referentes a los resultados y no se considera necesario repetirlas.

VI.5.1. DATOS GENERALES Y DIAGNÓSTICOS ESTABLECIDOS.

Se observan en la Tabla 3, que aun cuando todos los individuos estaban clínicamente sanos, la proporción en la que presentaron anormalidades en promedio fue de 47%. La edad promedio fue de 24 años, con rango de 16 a 71 años. Predominaron las mujeres que fueron el 55%.

TABLA 3
DATOS GENERALES DEL TOTAL DE LA MUESTRA ESTUDIADA.

	TOTAL	HOMBRES	MUJERES
NÚMERO	875	394 (45%)	481 (55%)
EDAD	24.1 ± 8.5 (16-71)	23.7 ± 7.4 (16-63)	24.4 ± 9.3 (17-71)
ESTATURA	163 ± 9.5 (140-194)	169.8 ± 8.0 (146-194)	158.2 ± 7.1 (140-193)
PESO	63 ± 11.5 (37-111)	67.6 ± 11.6 (37-111)	58.7 ± 9.7 (38-104)
NORMALES	415 (47%)	269 (66%)	146 (31%)

Se presentan los datos de 17 muestras estudiadas en diferentes trimestres, entre el año de 1991 y 1999; en la Tabla 4, ordenados de acuerdo con la estación del año y el diagnóstico establecido con la CFV. Se muestra el número de los sujetos estudiados agrupados por el trimestre y año en el que se realizaron los estudios. Los trimestres corresponden a los señalados en año académico, como se explicó en la sección de métodos.

TABLA 4
RELACIÓN ENTRE TRIMESTRE Y AÑO CON
NORMALIDAD O ANORMALIDAD DE LAS CFV

TRIMESTRE	ANORMALES		NORMALES		TOTAL
	NÚMERO	%	NÚMERO	%	
OTO-91	37	40	56	60	93
OTO-92	74	57	56	43	130
OTO-94	53	48	57	52	110
OTO-96	46	51	44	49	90
OTO-97	16	80	4	20	20
OTO-98	9	82	2	18	11
TOTAL OTO	235		219		454
INV-97	43	70	18	30	61
INV-99	9	60	6	40	15
TOTAL INV	52		24		76
PRI-92	60	52	55	48	115
PRI-93	12	40	18	60	30
PRI-94	29	35	54	65	83
PRI-96	36	60	24	40	60
PRI-97	36	63	21	37	57
TOTAL PRI	173		172		345
TOTAL	460		415		875

Prueba	Chi Cuadrada	Prob>ChiSq
Probabilidad	43.45	0.00001
Pearson	42.16	0.00001

Se calculó X^2 para determinar si la proporción de casos anormales era diferente en las distintas muestras. Se encontró que la proporción de sujetos anormales en el primer grupo estudiado en Otoño de 1991 (OTO91) era de 40% y llegó hasta 82% en otoño de 1998 (OTO98). Se calculó la X^2 para definir si los cambios observados en diferentes años tenían alguna tendencia y eran significativas. Se encontró que las proporciones de casos anormales observadas en años subsecuentes se incrementaron en forma significativa. (X^2 42, v 472, $p < 0.00001$).

Se analizó la frecuencia con la que se presentaron los diferentes tipos de anomalías en los distintos años y trimestres. Para ello se construyeron tablas de contingencia y se calculó la X^2 . Los datos se presentan en la Tabla 5. Se encontró que en todos los casos las alteraciones obstructivas presentaron una frecuencia

significativamente mayor. Exceptuando dos grupos, OTO91 y OTO92, las alteraciones restrictivas fueron poco significativas.

TABLA 5
FRECUENCIA Y TIPO DE ANORMALIDADES DETECTADAS
EN CURVAS FLUJO VOLUMEN

TRIMESTRE	ANORMALES						NORMALES		
DIAGNOSTICO	ALRES	%	ALTOB	%	AROB	%	NÚM.	%	TOTAL
OTO 91	15	16	14	15	8	9	56	60	93
OTO 92	15	11	40	31	19	15	56	43	130
OTO 94	0	0	49	44	4	4	57	52	110
OTO 96	2	2	40	45	4	4	44	49	90
OTO 97	0	0	14	70	2	10	4	20	20
OTO 98	0	0	9	82	1	9	1	9	11
INV 97	0	0	41	67	2	3	18	30	61
INV 99	0	0	8	53	1	7	6	40	15
PRI 92	1	1	49	42	10	9	55	48	115
PRI 93	0	0	9	30	3	10	18	60	30
PRI 94	2	2	22	27	5	6	54	65	83
PRI 96	1	2	34	56	1	2	24	40	60
PRI 97	0	0	34	60	2	3	21	37	57
TOTAL	36	4	363	42	62	7	414	47	875

Prueba	Probabilidad.>ChiSq
Probabilidad	159.21 0.00001
Pearson	162.74 0.00001

ALRES: Alteraciones restrictivas. ALTOB: Alteraciones obstructivas. AROB: Alteraciones restrictivas y obstructivas. Para detalles ver definición de lo criterios en el texto. Se usarán las mismas abreviaturas en el resto de las tablas.

VI.5.2.Características antropométricas y diagnostico funcional. El total de los casos se presentan en el Tabla 5, organizados de acuerdo con el diagnóstico de las CFV.

Se analizaron las relaciones entre los diversos tipos de alteraciones de las CFV y las características antropométricas de los sujetos. Para ello se realizó el cálculo de las medias, los errores estándar y se hizo un análisis de varianza para la edad, el peso y la estatura. Las categorías de significancia se determinaron mediante la prueba de Tukey. En este, como en el resto de las tablas en los que se usa esta prueba, los valores numéricos y los esquemas que presenta el paquete JMP para la prueba

de Tukey, se tradujeron a letras. La "a" corresponde al valor más grande, la "b" al inmediato inferior y la "d" indica el valor más pequeño. Diagnósticos con al menos una letra en común, son iguales estadísticamente al 5%, en prueba de Tukey; las que tienen distintas letras son estadísticamente diferentes. Los resultados se presentan en las Tablas 6, 7 y 8.

TABLA 6
RELACIÓN ENTRE LA EDAD Y TIPO DE DIAGNÓSTICO

Diagnostico	No. Casos	Media	Error st	Tukey*
ALRES	36	20.7	1.41	B
ALTOB	360	23.8	0.45	A·b
AROB	63	21.9	1.07	B
NORMAL	415	25	0.42	A

• $p < .00016$

Con respecto a la edad hay una diferencia significativa entre los casos normales respecto a los anormales (con $p < .00016$); los diferentes tipos de casos anormales no presentan diferencia significativa entre sí, excepto en el caso de sujetos con ALTOB que muestran valores aproximados a los de los sujetos normales.

El peso corporal presentó diferencia estadísticamente significativa entre los casos normales y todos los anormales. La estatura entre los sujetos con CFV anormales con diagnóstico de ALRES y AROB el peso fue significativamente menor.

La relación entre la masa corporal con alteraciones de la función respiratoria y circulatoria han sido descritos previamente y se atribuyen a un factor genético que interviene en ambas características (Rimm EB. 1993)

TABLA 7
RELACIÓN ENTRE PESO Y DIAGNÓSTICO.

Diagnostico	No. Casos	Media	Error st	Tukey*
ALRES	36	59.6	1.88	b
ALTOB	360	61.0	0.59	b
AROB	64	59.3	1.41	b
NORMAL	415	65	0.55	a

$P < 0.00001$

TABLA 8
RELACION ENTRE TALLA Y TIPO DE DIAGNÓSTICO

Diagnostico	No. Casos	Media	Error st	Tukey*
ALRES	36	162.2	1.53	ab
ALTOB	360	160.8	0.48	b
AROB	64	161.1	1.14	b
NORMAL	415	166.1	0.45	a

P< 0.00001

VI.5.3.HALLAZGOS DE LOS PARÁMETROS DE LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN.

Se presentan los resultados obtenidos en cada una de las variables, las cifras teóricas correspondientes y la relación en por ciento (%) entre ambas; este análisis es importante porque toda vez que los valores teóricos se calculan con relación al sexo, la edad, el peso y la estatura del sujeto, se pueden hacer comparaciones sin que influyan estas variables. Además se analizaron las diferencias para cada una de las variables estudiadas en las CFV entre los grupos normales respecto a los anormales y de estos últimos las relaciones entre los casos con diferente tipo de diagnóstico.

VI.5.3.1.Volumen Espiratorio Forzado en el 0.5 seg. de la capacidad vital forzada (VEF 0.5 L).

Se estudiaron las relaciones entre las alteraciones de los valores observados de FEV 0.5 en la señal integrada de volumen contra tiempo de las CFV y el tipo de diagnóstico establecido. También se analizó la relación en por ciento entre los valores observados de FEV 0.5 y las cifras teóricas correspondientes a cada sujeto, con el diagnostico establecido. Se calcularon las medias, los errores estándar y se hizo un análisis de varianza para la edad, el peso y la estatura. Las categorías de significancia se determinaron mediante la prueba de Tukey que se presenta en la forma descrita previamente.

En la Tabla 9 se muestran los valores observados; y en la Tabla 10 se presenta la relación en por ciento entre los valores observados y las

cifras teóricas predichas. Se aprecia que los sujetos normales tienen una diferencia con los anormales, altamente significativa como era de esperarse, toda vez que en ella se basa la clasificación. Esta diferencia a su vez confirma la validez del parámetro para hacer la clasificación. Se presentan hallazgos similares en la Tabla 11 en la que se muestra la relación entre los valores observados y los teóricos normales para sujetos con iguales características de edad, sexo, peso y talla, lo que sugiere que las diferencias en los valores absolutos son independientes de las características antropométricas. Por otra parte, se encontró también una diferencia significativa en los valores teóricos esperados, siendo mayores los de los sujetos normales (Tabla 11); como estos valores se basan en las características antropométricas, se aprecia que los sujetos anormales tenían menor estatura y peso que los normales y que hay relación entre las variables antropométricas y la frecuencia de anormalidades

TABLA 9
PROMEDIO DE VALORES OBSERVADOS DE VEF₀₅

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	2	0.028
NORMAL	415	2.92	0.029
TOTAL	875	2.43	0.607

$P < 0.00001$

TABLA 10
PROMEDIO DE LAS RELACIONES EN % ENTRE EL VEF₀₅

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	78.11	0.808
NORMAL	415	107.41	0.851
TOTAL	875	92	17.34

$P < 0.00001$

TABLA 11
VALORES TEÓRICOS DE FEV₀₅

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	2.56	0.019
NORMAL	415	2.72	0.02
TOTAL	875	2.63	0.418

$P < 0.00001$

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey para los valores observados del VEF05 se presenta en la Tabla 12 en la que se puede apreciar una gran diferencia entre los sujetos normales y todos los anormales; además se aprecia que los sujetos anormales, todos tienen valores diferentes entre si. La disminución menor se observa en los sujetos con alteraciones restrictivas (ALRES), le siguen en magnitud los que se clasificaron como ALTOB y los que presentaron los valores menores fueron los clasificados como AROB.

En la Tabla 13 se aprecia que la media para la relación entre los valores teóricos y los observados expresada en por ciento para el VEF05, en el caso de los sujetos normales fue superior a la cifra esperada que sería de 100; esta diferencia es estadísticamente significativa y esta relacionada muy probablemente con la baja densidad del aire debida a la altura de la Cd. de México. Para estos sujetos la prueba de Tukey mostró que los valores de esta relación eran mayores y diferentes la de los sujetos anormales. Los valores es los sujetos anormales fueron todos diferentes entre si, correspondiendo las alteraciones mínimas a los sujetos con ALRES y las máximas a los sujetos con AROB. Esto hace énfasis en la coherencia entre los criterios para la clasificación de los casos, en los cuales se estableció que los sujetos con alteraciones restrictivas tenían modificación anormal solamente de la capacidad vital.

TABLA 12
Relaciones entre valores observados de VEF05 y tipo de diagnóstico.

Diagnostico	Número	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	2.4	0.1	b
ALTOB	360	2	0.032	c
AROB	64	1.79	0.075	d
NORMAL	415	2.92	0.029	a

($p < 0.00001$)

TABLA 13
Relaciones entre el % del VEF 05 y el tipo de diagnóstico.

Diagnostico	Número	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	89.81	2.82	b
ALTOB	360	78.89	0.89	c
AROB	64	67.14	2.12	d
NORMAL	415	107.41	0.83	a

(p<0.00001)

VI.5.3.2. Volumen Espiratorio Forzado a 1 seg/l (VEF1).

En la señal integrada de volumen contra tiempo de las CFV, se analizaron las relaciones entre las alteraciones de los valores observados de VEF1 y el tipo de diagnóstico establecido. También se estudió la relación en por ciento entre de los valores observados de VEF1 y las cifras teóricas correspondientes a cada sujeto, con el diagnostico establecido. Se calcularon las medias, los errores estándar y se hizo un análisis de varianza para la edad, el peso y la estatura. Las categorías de significancia se determinaron mediante la prueba de Tukey y se presentan en la forma descrita previamente.

Las tablas 14, 15 y 16. Se aprecia al igual que en el VEF05, los valores observados y la relación en por ciento entre estos y las cifras predichas, tienen una diferencia altamente significativa como era de esperarse toda vez que en esta diferencia se basa la clasificación. También se encontró una diferencia significativa en los valores teóricos esperados (Tabla 16) siendo mayores en los sujetos normales; esto posiblemente también esta en relación con las diferencias en las variables antropométricas detectadas. También existe diferencia entre los valores observados del VEF05 y el VEF1.

TABLA 14
VALORES OBSERVADOS DE VEF1

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	2.99	0.035
NORMAL	415	3.92	0.037
TOTAL	875	3.43	0.767

P< 0.00001

TABLA 15
RELACIÓN EN % DE LOS VALORES DE VEF1

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	86.99	0.694
NORMAL	415	108.98	0.731
TOTAL	875	97.42	14.89

P< 0.00001

TABLA 16
VALORES TEÓRICOS DE VEF1

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	3.43	0.03
NORMAL	415	3.62	0.03
TOTAL	875	3.52	0.566

P< 0.00001

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey se presentan en las Tablas 18 y 19. En la Tabla 18 se puede apreciar que hay una gran diferencia entre los sujetos normales y todos los anormales. Además se aprecia que en los sujetos anormales los clasificados como ALRES tienen valores inferiores a los normales pero mayores que los presentados por los sujetos con ALTOB. La disminución máxima la presentaron los sujetos clasificados como AROB. En la Tabla 19 se aprecia la media para la relación entre los valores teóricos y los observados expresada en por ciento para el FEV1 y el tipo de diagnóstico; en el caso de los sujetos normales es superior a la cifra esperada que sería de 100 y la diferencia es estadísticamente significativa. Para estos sujetos la prueba de Tukey mostró que los valores de esta relación eran mayores y diferentes de los sujetos anormales. Los valores de los sujetos anormales fueron todos diferentes entre si correspondiendo las alteraciones mínimas a los sujetos con ALRES y las máximas a los sujetos con AROB.

TABLA 17
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre el valor observado del VEF1 y el tipo de diagnóstico.

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St	Tukey
ALRES	36	3.3	0.126	b
ALTOB	360	3.04	0.04	c
AROB	64	2.51	0.094	d
NORMAL	415	3.93	0.037	a

P<0.00001

TABLA 18
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre el % del VEF1 y el tipo de diagnóstico.

Diagnostico	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	92.86	2.362	b
ALTOB	360	89.19	0.747	c
AROB	64	71.34	1.772	d
NORMAL	415	108.98	0.697	a

p<0.0001

VI.5.3.3. CAPACIDAD VITAL FORZADA.(FVC L). Los datos de la capacidad vitalse presentan en las Tablas 19, 20 y 21. Los valores observados en los sujetos normales son significativamente mayores que los correspondientes a sujetos con iguales características de edad y antropométricas, estudiados a nivel del mar; esto se hace evidente a la simple observación en la relación entre los valores observados y los teóricos, que es de 112%. Esto confirma la hipótesis de que la altura sobre el nivel del mar con la menor densidad del aire, produce un mayor volumen pulmonar y confirma las observaciones previas hechas en México por Sanchez España así como otras efectuadas en otros sitios con gran altura sobre el nivel del mar. La relación en por ciento entre estos y las cifras predichas, tienen una gran diferencia entre los sujetos normales y los anormales. Esta diferencia es altamente significativa; sin embargo ésta no es tan amplia como en las medidas dinámicas, porque la FVC solamente estaba disminuida en los casos con alteraciones restrictivas puras (AROB) y en las combinadas con alteraciones obstructivas (ALRES). También se encontró una diferencia significativa

en los valores teóricos esperados siendo mayores los de los sujetos normales; esto posiblemente esta en relación con las diferencias en las variables antropométricas detectadas.

TABLA 19
VALORES OBSERVADOS DE LA FVC (L)

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	3.58	0.043
NORMAL	415	4.29	0.046
TOTAL	875	3.92	0.939

$P < 0.00001$

TABLA 20
RELACIÓN EN % DE LOS VALORES DE FVC

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	92.62	0.76
NORMAL	415	102.93	0.801
TOTAL	875	97.51	16.305

$P < 0.00001$

TABLA 21
VALORES TEORICOS DE LA FVC (L)

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error S
ANORMAL	460	3.86	0.032
NORMAL	415	4.19	0.034
TOTAL	875	4.02	0.707

$P < 0.00001$

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey se presentan en las Tablas 22 y 23 En la Tabla 22 se puede apreciar que hay una gran diferencia entre los sujetos normales y todos los anormales. Además se aprecia que en los sujetos anormales los clasificados como ALRES tienen valores inferiores a los normales pero mayores que los presentados por los sujetos con ALTOB. Esto era de esperarse toda vez que en esta disminución de la FVC se basa la clasificación de las alteraciones restrictivas. La disminución máxima la presentaron los sujetos clasificados como AROB.

En la Tabla 23 se aprecia que la media para la relación entre los valores teóricos y los observados expresada en por ciento para el

FVC y el tipo de diagnóstico; en el caso de los sujetos normales es superior a la cifra esperada que sería de 100 y la diferencia es estadísticamente significativa. Para estos sujetos la prueba de Tukey mostró que los valores de esta relación eran mayores y diferentes en los sujetos normales. Los valores en los sujetos anormales fueron todos diferentes entre sí correspondiendo las alteraciones mínimas a los sujetos con ALTOB y las máximas a los sujetos con AROB.

TABLA 22
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores observados de la FVC y el tipo de diagnóstico.

Nivel	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	2.95	0.147	c
ALTOB	360	3.82	0.047	b
AROB	64	2.65	0.111	d
NORMAL	415	4.29	0.043	a

($p < 0.0001$)

TABLA 23
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores en% de la FVC y el tipo de diagnóstico.

Nivel	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	367	73.72	2.282	c
ALTOB	360	99.02	0.722	b
AROB	64	67.26	1.712	d
NORMAL	415	102.93	0.672	a

($p < 0.0001$)

VI.5.3.4. FLUJO ESPIRATORIO FORZADO al 75 %, al 50 % y al 25% de la Capacidad Vital Forzada.

El análisis comparativo de estos parámetros tiene una gran trascendencia para establecer el diagnóstico funcional, toda vez que el FEF75 está influenciado por el esfuerzo muscular y el FEF25 es independiente de él. Se calculan para cada uno de estos parámetros las cifras observadas, las teóricas normales y la relación en por ciento entre ambas. Las definiciones de cada uno se han hecho previamente

Flujo Espiratorio Forzado al 75% l/s (FEF75). En la Tabla 24 se presentan los valores observados del FEF75; en la 25 la relación en por ciento entre valores observados y los teóricos. Se aprecia una diferencia

altamente significativa, entre los sujetos normales y los anormales, tanto en los valores observados como en la relación en por ciento entre las cifras teóricas y las observadas. Esta diferencia es más amplia que la observada en el VEF05 y el VEF1. En este parámetro no se encontró diferencia significativa en los valores teóricos esperados de los sujetos normales y los anormales.

TABLA 24
VALORES OBSERVADOS DEL FEF75

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	5.08	0.084
NORMAL	415	7.98	0.088
TOTAL	875	6.45	1.811

$P < 0.00001$

TABLA 25
RELACIÓN EN % DE LOS VALORES DE FEF75%

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	74.24	0.982
NORMAL	415	110.57	1.034
TOTAL	875	91.45	21.073

$P < 0.00001$

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey se presentan en los Tablas 27 y 28. En el tabla 27 se aprecia que hay una gran diferencia entre los sujetos normales y todos los anormales. Además se observa que en los sujetos anormales los clasificados como ALRES tienen valores similares, inferiores a los normales pero mayores que los presentados por los sujetos clasificados como ALTOB. Esto era de esperarse toda vez que en esta disminución de los flujos, se basa la clasificación de las alteraciones como obstructivas. La disminución máxima la presentaron los sujetos clasificados como AROB.

En el Tabla 28 se aprecia que la media para la relación entre los valores teóricos y los observados expresada en por ciento para el FEF75 y el tipo de diagnóstico; en el caso de los sujetos normales es superior a 100 y la diferencia es estadísticamente significativa. Para

estos sujetos la prueba de Tukey mostró que los valores de esta relación eran mayores y diferentes en los sujetos normales. Los valores en los sujetos anormales fueron todos diferentes entre sí. Los sujetos con ALRES presentaron alteraciones mínimas; los sujetos con alteraciones obstructivas presentaron mayor decremento respecto a los valores normales y el máximo los sujetos con AROB.

TABLA 26
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores observados del FEF75 y el tipo de diagnóstico

DIAGNOSTICO	Número	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	6.43	0.298	b
ALTOB	360	5.04	0.094	c
AROB	64	4.52	0.223	d
NORMAL	415	7.98	0.088	a

($p < 0.0001$)

TABLA 27
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores en % del FEF75 y el tipo de diagnóstico.

DIAGNOSTICO	Número	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	90.17	3.449	ab
ALTOB	360	74.28	1.099	c
AROB	64	65.05	2.587	d
NORMAL	415	110.57	1.016	a

$P < 0.0001$

FLUJO ESPIRATORIO FORZADO 50 l/s (FEF50). Los datos se presentan en las Tablas 28 y 29. Se aprecia que al igual que en los FEF75, los valores observados (Tabla 28) y la relación en por ciento entre estos y las cifras predichas, (Tabla 30) tienen una diferencia altamente significativa, entre los sujetos normales y los anormales; además esta diferencia es más amplia que la observada en el VEF05 y el VEF₁. En este parámetro las cifras teóricas en los sujetos normales no presentaron diferencia con las calculadas para los anormales.

TABLA 28**VALORES OBSERVADOS DE FEF50**

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	3.89	0.057
NORMAL	415	5.89	0.059
TOTAL	875	4.84	1.221

P< 0.00001

TABLA 29**RELACIÓN EN % DE LOS VALORES DE FEF50**

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St	P
ANORMAL	460	74.78	0.92	0.00001
NORMAL	415	114.43	0.968	
TOTAL	875	93.59	19.739	

P< 0.00001

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey se presentan en las Tablas 30y 31. En la Tabla 30 se aprecia que hay una gran diferencia entre los sujetos normales y todos los anormales. Además se observa que en los sujetos anormales los clasificados como ALRES tienen valores inferiores a los normales pero mayores que los presentados por los sujetos clasificados como ALTOB; la diferencia entre éstos y los clasificados como AROB no fue significativa

En la Tabla 31 se aprecia la media para la relación entre los valores teóricos y los observados expresada en por ciento para la FEF50 y el tipo de diagnóstico; en el caso de los sujetos normales es superior a la cifra esperada que sería de 100 y la diferencia es estadísticamente significativa. Para estos sujetos la prueba de Tukey mostró que los valores de esta relación eran mayores y diferentes en los sujetos normales. Los valores en los sujetos anormales fueron todos diferentes entre si; los sujetos con ALRES presentaron alteraciones mínimas. Los casos con alteraciones obstructivas (ALTOB) tuvieron mayor decremento respecto a los valores normales y el máximo los sujetos con AROB.

TABLA 30
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores observados del FEF50 y el tipo de diagnóstico.

DIAGNÓSTICO	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	4.96	0.059	a
ALTOB	360	3.81	0.200	b
AROB	64	3.68	0.15	c
NORMAL	415	5.89	0.059	a

P < 0.0001

TABLA 31
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores en % del FEF50 y el tipo de diagnóstico.

DIAGNOSTICO	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	91.75	3.233	b
ALTOB	360	74.03	1.022	c
AROB	64	69.47	2.425	c
NORMAL	415	114.43	0.952	a

P < 0.0001

FLUJO ESPIRATORIO FORZADO 25 l/s (FEF25). Este parámetro es el más importante para definir el nivel de las alteraciones de la resistencia de las vías respiratorias puesto que traduce alteraciones de las pequeñas y es independiente del esfuerzo muscular. Los datos se presentan en las Tablas 32, 33 y 34. Se aprecia que al igual que en los FEF75 y los FEF50, los valores observados en los sujetos normales fueron significativamente diferentes que las de los normales. Además la relación en por ciento entre estos y las cifras teóricas (Tabla 34) tiene una diferencia altamente significativa, entre los sujetos normales y los anormales; además esta diferencia es la más amplia de todas las observadas en los parámetros dinámicos. Debe observarse que esta diferencia es mucho mayor que en el caso del VEF1. En este parámetro la t mostró que también había diferencia significativa entre los valores teóricos esperados de los sujetos normales y los anormales; este

hallazgo es muy importante porque en este caso las cifras de los sujetos normales eran menores y tiene especial significado relacionado con la forma en la que se establecen las cifras teóricas normales.

TABLA 32
VALORES OBSERVADOS DE FEF25 lt/seg.

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	2.15	0.038
NORMAL	415	3.17	0.041
TOTAL	875	2.63	0.831

$P < 0.0001$

TABLA 33
RELACIÓN EN % DE LOS VALORES DE FEF25

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	66.47	0.972
NORMAL	415	110.32	1.023
TOTAL	875	87.27	20.845

$P < 0.0001$

TABLA 34
VALORES TEÓRICOS DE FEF25

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	3.26	0.03
NORMAL	415	2.86	0.032
TOTAL	875	3.07	0.656

$P < 0.0001$

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey se presentan en las Tablas 35 y 36. En la Tabla 36 se aprecia que hay una gran diferencia del FEF25 entre los sujetos normales y los anormales. Esta diferencia es la más grande entre todos los parámetros estudiados, lo que sugiere que es uno de los indicadores más sensibles del aumento de la resistencia de las vías respiratorias y que las más afectadas son las pequeñas, cuyas alteraciones se reflejan en esta porción de las curvas flujo volumen. **Toda vez que las vías respiratoria pequeñas son las más afectadas, probablemente por que son sensibles a la presencia o contaminación con partículas respirables, es decir de menos de 10 micras, esto plantea la posibilidad que este contaminante sea uno de los más importantes por su efecto.** En los

sujetos anormales los clasificados como ALRES, los valores observados no son significativamente inferiores a los normales, lo cual reafirma la congruencia de la clasificación. Los presentados por los sujetos clasificados como ALTOB; tuvieron diferencia significativa respecto a los normales pero la diferencia con los clasificados como AROB no fue significativa

TABLA 35
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores observados del FEF25 y el tipo de diagnóstico

DIAGNOSTICO	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	3.07	0.135	a
ALTOB	360	2.06	0.043	b
AROB	64	2.16	0.101	b
NORMAL	415	3.17	0.04	a

P< 0.0001

TABLA 36
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores en % del FEF25 y el tipo de diagnóstico.

DIAGNOSTICO	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	88.53	3.39	b
ALTOB	360	64.44	1.072	c
AROB	64	65.48	2.542	c
NORMALES	415	110.32	0.998	a

P< 0.0001

VI.5.3.5. FLUJO ESPIRATORIO o MÁXIMO o PICO (PEF) L/s. Los datos se presentan en las Tablas 37, 38 y 39. Se aprecia que al igual que en los flujos a diferente volumen, FEF75, 50 Y 25, los valores observados y la relación en por ciento entre estos y las cifras predichas, tienen una diferencia altamente significativa, entre los sujetos normales y los anormales; además esta diferencia es tan amplia como la observada en el FEF25 y por ende mayor que las observadas en otros parámetros dinámicos, como el VEF1. En este parámetro la t también mostró que había diferencia significativa entre los valores teóricos esperados de los

sujetos normales y los anormales; en este parámetro, las cifras de los sujetos normales eran mayores que las de los anormales.

TABLA 37
VALORES OBSERVADOS DEL PEF

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	5.42	0.1
NORMAL	415	8.67	0.106
TOTAL	875	6.96	2.155

$P < 0.00001$

TABLA 38
RELACIÓN EN % DE LOS VALORES DE PEF

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	71.66	1.03
NORMAL	415	107.62	1.085
TOTAL	875	88.72	22.101

$P < 0.00001$

TABLA 39
VALORES TEORICOS DEL PEF (L/seg)

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	7.51	0.055
NORMAL	415	8.06	0.058
TOTAL	875	7.77	1.178

$P < 0.00001$

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey se presentan en las Tablas 40 y 41. En la Tabla 40 se aprecia que hay una gran diferencia entre los sujetos normales y los anormales. En los sujetos anormales los clasificados como ALRES los valores observados no son significativamente inferiores a los normales. Los presentados por los sujetos clasificados como ALTOB; presentan diferencia significativa respecto a los normales pero la diferencia con los clasificados como AROB no fue significativa

TABLA 40
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre valores observados del PEF y el tipo de diagnóstico.

DIAGNOSTICO	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	6.94	0.355	b
ALTOB	360	5.39	0.112	c
AROB	64	4.75	0.266	c
NORMAL	415	8.67	0.104	a

P < 0.0001

TABLA 41
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre los valores en % del PEF y el tipo de diagnóstico.

DIAGNOSTICO	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	88.81	3.62	b
ALTOB	360	71.49	1.145	c
AROB	64	62.98	2.715	d
NORMAL	415	107.62	1.066	a

P < 0.0001

VI.5.3.6. RESISTENCIA DE LAS VÍAS A RESPIRATORIAS (RVA). Los datos se presentan en las Tablas 43 y 44. Se aprecia que al igual que en los FEF75, 50 Y 25, los valores observados en los sujetos normales son significativamente diferentes de los que presentan los sujetos clasificados como anormales. No hay cifras teóricas normales descritas para este parámetro.

TABLA 42
RESISTENCIA DE LAS VÍAS AÉREAS

DIAGNOSTICO	NUMERO	MEDIA	Error St
ANORMAL	460	0.38	0.005
NORMAL	415	0.27	0.005

P < 0.0001

Los resultados del análisis de las categorías de significancia y la prueba de Tukey se presentan en la Tabla 46. Se aprecia que hay una gran diferencia entre los sujetos normales y los anormales. En los sujetos anormales los clasificados como ALRES los valores observados de la resistencia, son significativamente mayores que en los normales. Los presentados por los sujetos clasificados como ALTOB; presentan

diferencia significativa respecto a los normales, y la diferencia con los clasificados como AROB fue significativa.

TABLA 43
Medias para ANOVA en una dirección.
Relaciones entre los valores de la resistencia de las vías respiratorias
Y el tipo de diagnóstico.

DIAGNOSTICO	Numero	Media	Error St	Tukey
ALRES	36	0.36	0.018	b
ALTOB	360	0.38	0.006	b
AROB	64	0.41	0.013	a
NORMAL	415	0.27	0.005	c

P< 0.0001

VI.5.4. DISCUSIÓN SOBRE LOS HALLAZGOS OBSERVADOS EN LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN.

El hallazgo más importante de la presente investigación es la elevada frecuencia de sujetos sanos clínicamente y que presentan alteraciones respiratorias desde moderadas hasta severas.

La explicación más simple de este fenómeno es que se relaciona con la elevada contaminación atmosférica.

Esto se encontró en todas las estaciones del año. Este hecho sugiere que otros factores como sería la temperatura y la humedad, no son determinantes primarios de las anormalidades puesto que se detectaron diferencias poco significativas en la proporción de casos con anormalidades del las CFV en las diferentes épocas del año.

De los diferentes parámetros que se miden en las curvas flujo volumen, y que se toman como base para establecer el diagnóstico de alteraciones obstructivas, todos tuvieron valores significativamente diferentes entre los sujetos clasificados como normales, es decir el criterio fue congruente. Además se observó que el grado y la frecuencia de la alteración presente, fue diferente entre ellas. La medida que se usa con mayor frecuencia en las investigaciones clínicas es el VEF1 o sea el volumen espiratorio forzado que se expulsa en el primer segundo

de la capacidad vital, en esta serie presentó valores inferiores a lo normales o en los límites más bajos de la normalidad.; comparado con los de los flujos espiratorios, especialmente los del FEF25 los decrementos fueron mayores. Este hallazgo indica que éste es un parámetro más sensible. Por otra parte, como se ha señalado, el flujo aéreo observado en el VEF1 depende de la fuerza de la contracción muscular además de la resistencia de las vías respiratorias incluyendo las grandes. En cambio el FEF25, está determinado únicamente por la elasticidad pulmonar y la resistencia de las vías respiratorias pequeñas. Esto sugiere que el mecanismo relacionado con estas anomalías actúa principalmente al nivel de las vías aéreas pequeñas.

Por otra parte es necesario explicar porque no todos los sujetos presentan algún tipo de alteración en la función mecánica respiratoria, toda vez que todos respiran el mismo aire. La explicación más plausible es que los sujetos tienen diferentes tipos de reactividad para la contaminación atmosférica de la Ciudad de México, global o para alguno de sus componentes.

Además en esta parte de la investigación se encontraron una correlaciones que algunos índices antropométricos influyen en las características de la función respiratoria explorada por curvas flujo volumen y la reactividad bronquial. Se encontró que los valores teóricos normales para los sujetos con CFV anormales eran menores que para quienes tenían en las siguientes variables: Capacidad vital forzada (CVF), Volumen espirado en la mitad y en el primer segundo de la CVF, y en el flujo espiratorio máximo. No se encontraron tales diferencias en los valores de los flujos al volumen de 75 y 50% del volumen pulmonar (FEF75 y FEF50).

Como se ha indicado los valores teóricos de la capacidad vital se calculan con base en la estatura y la edad; la CVF aumenta en relación con la estatura y disminuye con la edad a partir de los 16 años. En consecuencia el valor teórico inferior para un grupo de sujetos sin diferencia de edad, indica que tenían menor estatura promedio, lo cual puede asociarse a un menor grado de desarrollo corporal. El análisis

estadístico de estas variables peso y estatura en efecto fueron significativamente diferentes entre los sujetos con CFV normales y anormales; el peso y la estatura fueron mayores en los sujetos con CFV normales.

Respecto a la edad se encontró que era mayor en los sujetos normales. Esto inclina más la explicación a que el mayor valor teórico en los sujetos normales se debe a un mayor índice de masa corporal.

Por otra parte se ha mencionado que el VEF1, el VEF05 y el PEF son medida dinámicas influidas considerablemente por el esfuerzo muscular. Un menor desarrollo muscular asociado con la menor masa muscular explica que el valor teórico normal y el encontrado sean menores en los sujetos con alteraciones de las CFV.

En cuanto a la ausencia de diferencia entre los valores teóricos normales para los flujos FEF50 y FEF75 entre los sujetos con CFV normales y los que presentaron alteraciones también se explica por la forma en la que se calculan los valores teóricos. Estos se calculan como proporciones del flujo máximo observado y cuando este disminuye disminuyen las proporciones teóricas que se espera para ellos. En consecuencia si estos flujos disminuyen proporcionalmente con el máximo se consideran la referencia normal. En estos casos los flujos observados no disminuyeron en proporción con el flujo máximo y por ello la proporción con los valores teóricos. Esto se explica porque los factores fisiológicos que los determinan son diferentes. El flujo máximo depende en gran medida de la fuerza muscular y los flujos en diferentes volúmenes, FEF75, FEF50 y FEF25 dependen de la resistencia de las vías respiratorias. Estos hallazgos refuerzan la conclusión de que la presencia de alteraciones mecánicas no pueden descartarse únicamente mediante el VEF1, como se hace en muy numerosas investigaciones, sino que es necesario determinar el FEF25 que es el parámetro más sensible para la detección de alteraciones de las vías respiratorias pequeñas e independiente de la contracción muscular y factores antropométricos-

El hallazgo de alteraciones respiratorias en relación con la masa corporal y sus diferentes bases antropométricas ha sido descrito en niños, van Helden SN., 2002, Hebestreit H. 2001) y en jóvenes universitarios, en quienes se encontró además una correlación significativa (inesperada comentan los autores) con el rendimiento académico. (Maaroos J. 2001).

El aumento de la resistencia de las vías respiratorias puede estar relacionado con la acción directa de gases y partículas que produzcan inflamación la cual disminuya el diámetro bronquial o por que estimulen al músculo bronquial y causen broncoespasmo. (Mead J. 1967, Nadel J. 1986).

Se ha descrito un mecanismo neurogénico que produce broncoconstricción (MC. DONALD D.M. 1991); además de un mecanismo reflejo originado por inflamación nasal que produce hiperreactividad bronquial y aumento de la resistencia de las vías respiratorias. También se ha postulado un mecanismo humoral, (LEMANSKE, R.F., 1989, Laiten L.A. 1993 y EMPEY, D.W., 1976), que es la disminución de una encefalinasa (Jacoby, D.B. 1988). Para aclarar este proceso fue menester indagar la presencia de otros factores que modulen o influyan la reactividad de las vías respiratorias.

La participación de diferentes mecanismos productores de broncoespasmo la respalda los hallazgos en diferentes observaciones respecto a la falta de correlación entre la de diversos contaminantes y las alteraciones respiratorias, Timomen K.L. (2002) encontró que en 141 estudios no había correlación entre la concentración de partículas NO_2 , CO , SO_2 y la constricción de las vías respiratorias. Tampoco se encontró en investigaciones en la que los sujetos respiraron O_3 respiraron en una cámara o con una máscara (Adams. 2002), o en forma repetida en cámara. En un estudio (Frank R. 2001) encontraron que las lesiones se presentaban en las vías respiratorias pequeñas, las cuales son silenciosas en el VEF1. Estos datos no pueden explicar las observaciones epidemiológicas en las que hay definitivamente un daño respiratorio asociado con la contaminación atmosférica. Al respecto se

ha sugerido la coexistencia de algún contaminante ajeno a los que habitualmente se miden, especialmente para explicar las epidemias con elevada mortalidad como la de Londres y la de Los Ángeles (Ferris 1964). Esta situación no es aplicable a nuestras observaciones puesto que la elevada proporción de anormalidades no se ha observado en forma de epidemia sino a lo largo de 9 años y en estudios practicados en diferentes estaciones del año. En esta serie se observó, desde la primera muestra estudiada en 1991 hasta la última en 1999, un incremento de la proporción de sujetos con alteraciones y esta tendencia fue estadísticamente significativa. Esto se puede interpretar como que cualquiera que sean las causas, o factores predisponentes, aumentaron o presentó un efecto acumulativo y que no se puede establecer una relación lineal causa efecto con un factor ni en una observación. Al respecto se ha descrito en fumadores las alteraciones funcionales y los síntomas no se relacionan con la cantidad de cigarrillos consumidos, sino con la combinación de la intensidad y la duración del tabaquismo (Heijdra YF, 2002). En trabajadores de la industria de tejidos también se encontró que presentaban alteraciones respiratorias con rinitis, tos y expectoración se relacionaban con la intensidad y duración de la exposición al polvo. (Kraus T. 2002).

Además de estos factores externos, en numerosas observaciones referentes a la falta de linealidad entre el estímulo, contaminante o de otro tipo y la respuesta, invocan la diferencia en la sensibilidad y reactividad de los sujetos. Las causas que modifican la reactividad son muy numerosas, y comprenden desde el tipo de nacimiento, las enfermedades en la infancia, el ejercicio, la respuesta inmunológica y diversos factores genéticos (Sengler 2003). De este conjunto exploramos algunos factores que se presentan en las siguientes secciones.

VI.6. VARIACIONES INDIVIDUALES EN OBSERVACIONES REPETIDAS.

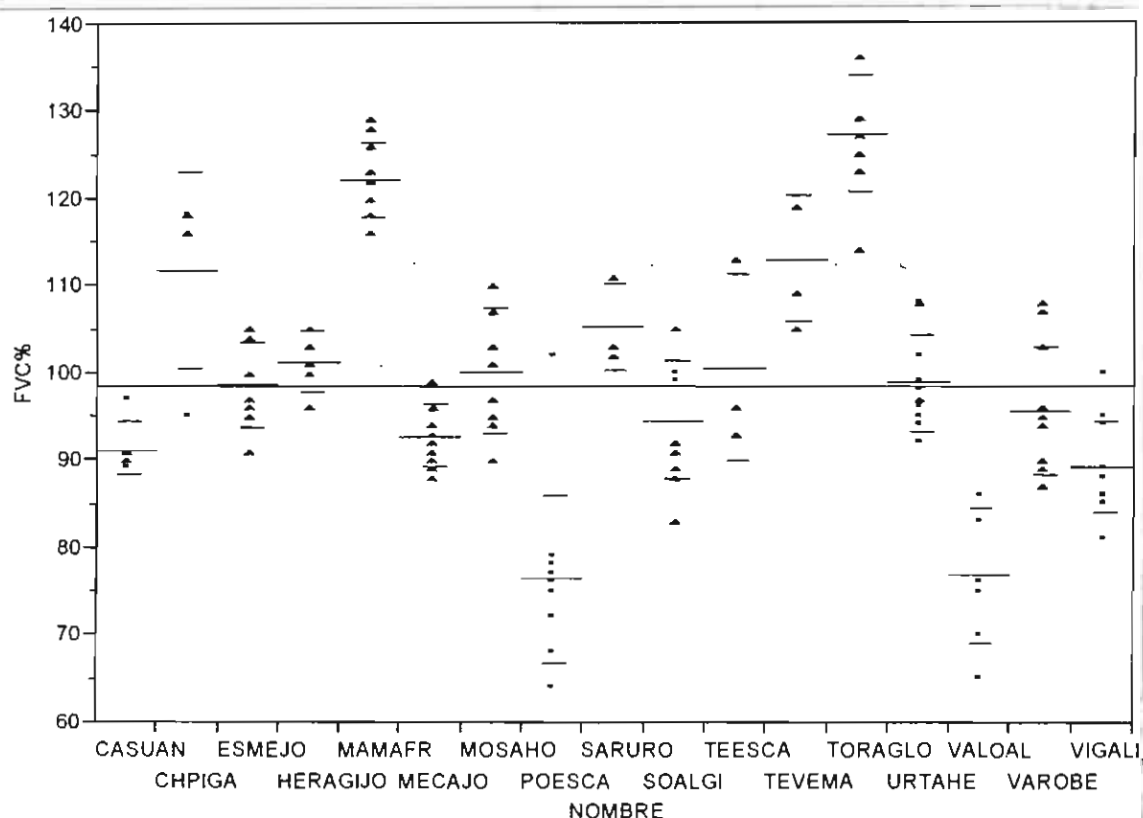
Dada la elevada frecuencia de anormalidades en las curvas flujo volumen se decidió investigar si sus características cambiaban y en que

proporción en mismo individuo, siempre que se mantenga la misma posición y técnica en todos sus aspectos. Este problema se ha investigado en relación con la capacidad vital y otros volúmenes pulmonares; Rhan (1949) encontró una variación de 2.35% de la capacidad vital en determinaciones efectuadas diariamente a 17 individuos, durante 3 meses. Gibson y Jones (1949) efectuaron 400 determinaciones a un individuo en un período de 3 semanas y encontraron variaciones de 10% alrededor de la media; no observaron ninguna tendencia en el tiempo que sugiriera efecto del cansancio o aprendizaje. No se han comunicado estudios de los cambios observados en los diferentes parámetros de las curvas flujo volumen. Consideramos que si una explicación para la elevada proporción de alteraciones es un aumento en la sensibilidad de las vías respiratorias, sería muy probable que se detectaran variaciones amplias en la población estudiada. En este trabajo se efectuaron determinaciones repetidas en diversos grupos; en algunos sin que ocurriera ningún cambio detectable y en otros, en relación con alguna variable que se modificó, como el ciclo menstrual (OTO96, INV97, PRI99) o el cambio de ambiente (OTO97).

En el grupo PRI93 se estudiaron 113 sujetos a los que se les efectuaron 236 estudios; eran estudiantes y trabajadores en los que no se produjo ningún cambio aparente. Se efectuó el análisis de variancia de diferentes parámetros de 18 sujetos a los que se efectuaron 3 o más curvas flujo volumen.

En Tabla 44, se presenta el Análisis de Varianza de la capacidad vital forzada, expresada en % del valor teórico normal. En el eje de las ordenadas se muestra una escala en por ciento a la que cruza una horizontal de referencia del 98% que corresponde a la media de todos los valores. Se aprecian una serie de puntos en una vertical, que corresponden cada uno a un estudio de la capacidad vital en un sujeto cuyas iniciales lo identifican, tanto en la gráfica como en la lista en la que se presentan los datos del número de estudios analizados, la desviación estándar absoluta, respecto a la media y a la mediana.

TABLA 44
FVC% POR SUJETO



PRUEBAS DE IGUALDAD DE VARIANZAS.

Nivel	Cuenta	Des.Std	Diferencia Media de la media	Diferencia media de la Mediana	
CASUAN	6	2.99444	1.944444	1.833333	
CHPIGA	4	11.20640	8.375000	6.250000	
ESMEJO	9	4.84768	4.074074	4.000000	
HERAGIJO	9	3.57071	2.814815	2.777778	
MAMAFR	10	4.28952	3.440000	3.400000	
MECAJO	10	3.48987	2.800000	2.800000	
MOSAHO	10	7.09930	6.000000	6.000000	
POESCA	11	9.56414	5.487603	5.272727	
SARURO	3	4.93288	3.777778	3.333333	
SOALGI	10	6.94742	6.000000	6.000000	
TEESCA	3	10.78579	8.222222	7.666667	
TEVEMA	4	7.11805	6.000000	6.000000	
TORAGLO	9	6.68954	4.592593	4.555556	
URTAHE	10	5.52670	4.280000	4.100000	
VALOAL	7	7.64697	6.122449	6.142857	
VAROBE	11	7.24004	5.652893	5.363636	
VIGALI	11	5.22059	3.801653	3.545455	
Prueba		F Ratio	DFNum	DFDen	Prob>F
O'Brien[.5]		0.9589	16	120	0.5056
Brown-Forsythe		0.8270	16	120	0.6530
Levene		1.3668	16	120	0.1698
Bartlett		1.5574	16	.	0.0713

En esta serie de Tablas, entre la serie de puntos, se presenta una línea horizontal grande que señala la media y las dos horizontales más pequeñas indican una desviación estándar.

Es evidente la gran diferencia o sea la amplia dispersión de los valores observados; sin embargo no es estadísticamente significativa para la capacidad vital, de acuerdo con varios estadígrafos calculados como son las pruebas de O'Brien, la de Brown-Forsythe Levene y Bartlett.

Se observó una dispersión similar en los sujetos cuyos valores estaban dentro de límites normales que quienes los presentaban anormales. Del total de parámetros analizados la capacidad vital fue la que presentó menos variaciones. Esto se explica porque es una medida estática relativamente poco susceptible a cambios dinámicos.

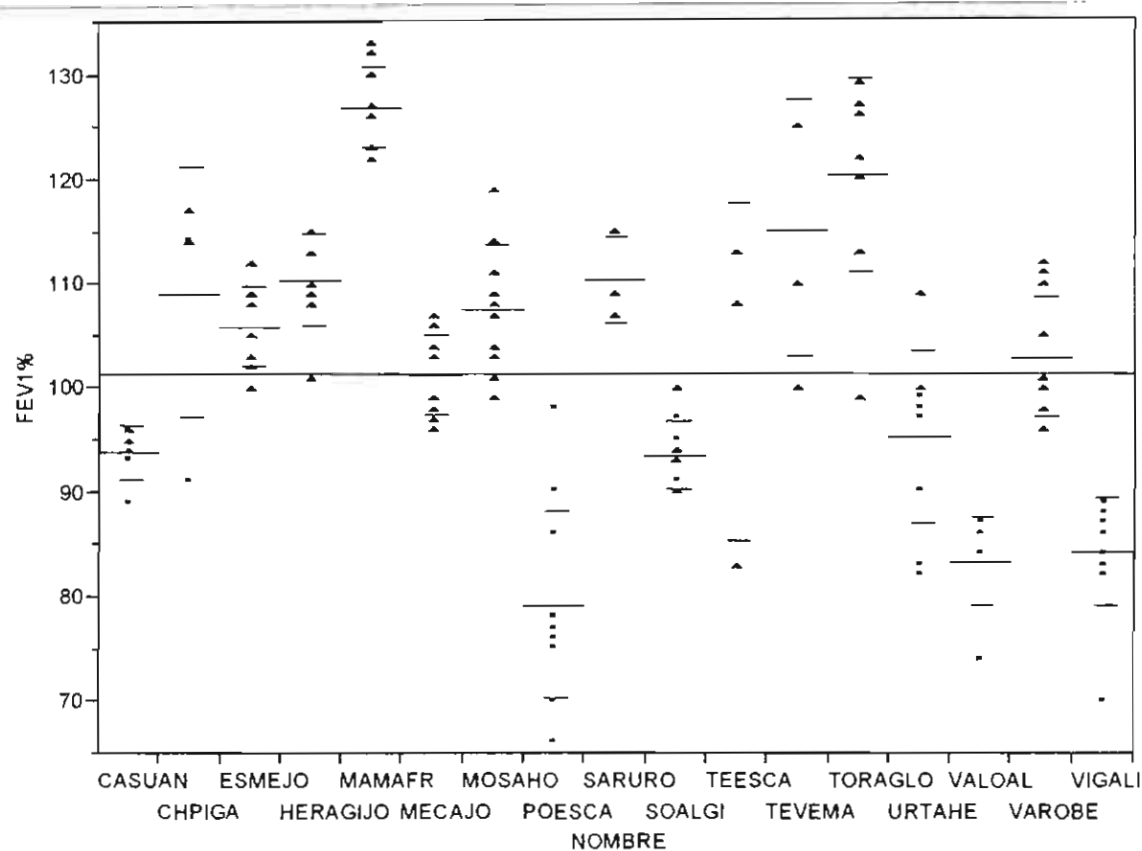
La Tabla 45, presenta el Análisis de Varianza del Volumen Espirado en el primer segundo de la capacidad vital forzada: VEF1% expresado en % del valor teórico normal de los mismos sujetos y respecto al mismo parámetro.

Se aprecia una dispersión aparentemente similar pero los valores calculados son mayores y el análisis efectuado con los estadígrafos los interpreta como altamente significativos.

En la Tabla 46, se muestra el análisis de Varianza del Flujo Espiratorio Forzado al 75% de la capacidad vital forzada o FEF75% expresado en % del valor teórico normal. En esta prueba se aprecian fenómenos similares a los observados en el VEF1, que como se ha mencionado es el parámetro más estudiado en medicina clínica; el presente comportamiento valida la utilidad del mismo.

TABLA 45

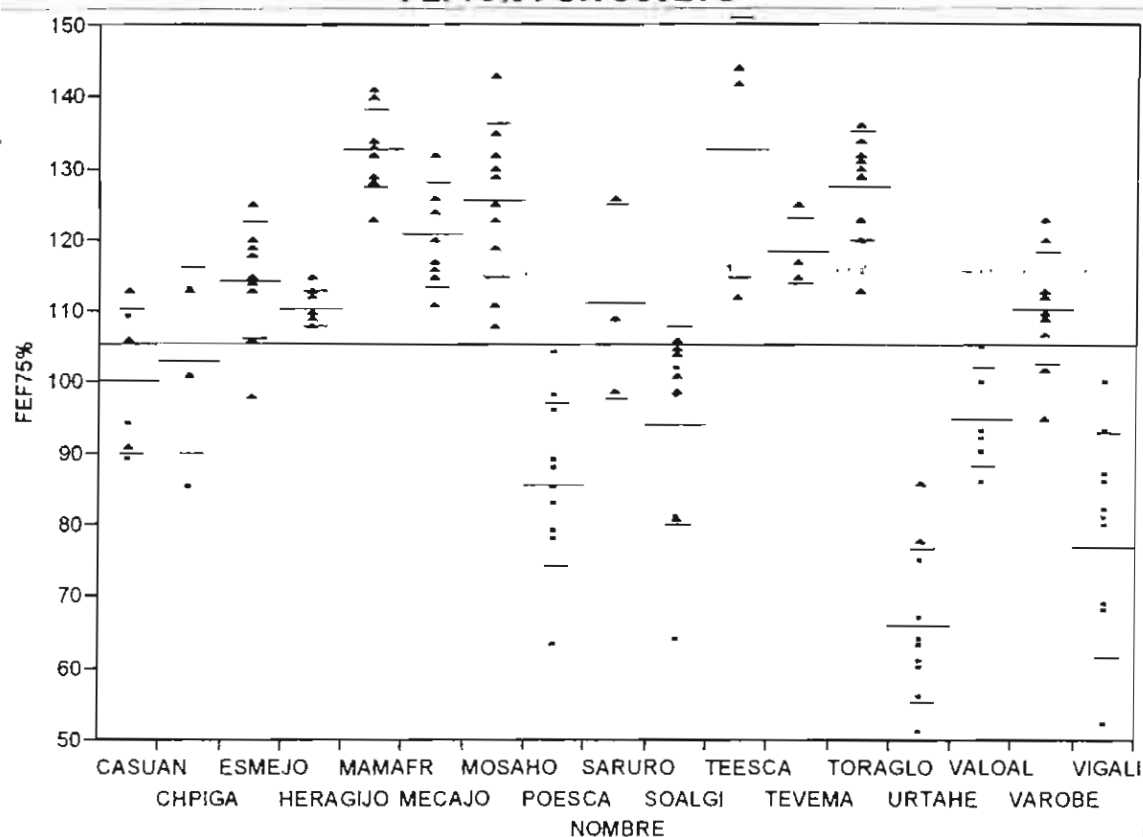
FEV1% Por SUJETO



Pruebas de Igualdad de Varianzas

Nivel	Cuenta	DesSt	Desviación	Media de la Media	Diferencia Media de la Mediana
CASUAN	6	2.63944	1.88889	1.83333	
CHPIGA	4	12.08305	9.00000	6.50000	
ESMEJO	9	3.88730	3.20988	3.11111	
HERAGIJO	9	4.38748	3.25926	3.33333	
MAMAFR	10	3.79473	2.96000	2.80000	
MECAJO	10	3.88158	3.40000	3.40000	
MOSAHO	10	6.11465	4.70000	4.70000	
POESCA	11	9.03126	6.62810	6.00000	
SARURO	3	4.16333	3.11111	3.33333	
SOALGI	10	3.23866	2.48000	2.40000	
TEESCA	3	16.07275	12.22222	11.66667	
TEVEMA	4	12.24745	10.00000	10.00000	
TORAGLO	9	9.32440	6.41975	6.44444	
URTAHE	10	8.16565	6.18000	5.50000	
VALOAL	7	4.27061	2.65306	2.14286	
VAROBE	11	5.84497	4.85950	4.36364	
VIGALI	11	5.25011	3.43802	3.27273	
PRUEBA		F Ratio	DFNum	DFDen	Prob>F
O'Brien[.5]		2.3308	16	120	0.0049
Brown-Forsythe		1.6005	18	120	0.0786
Levene		2.9850	18	120	0.0003
Bartlett		2.7330	16	.	0.0002

TABLA 46
FEF75% POR SUJETO



PRUEBAS DE IGUALDAD DE VARIAS.

NIVELI	Cuenta	Desviación St	Diferencia Media de la media	Diferencia media de la Mediana
CASUAN	6	10.23067	9.00000	9.00000
CHPIGA	4	13.26650	10.00000	10.00000
ESMEJO	9	8.05881	5.75309	5.77778
HERAGIJO	9	2.40370	1.92593	1.77778
MAMAFR	10	5.34997	3.84000	3.80000
MECAJO	10	7.37564	6.16000	6.00000
MOSAHO	10	10.73157	8.30000	8.30000
POESCA	11	11.31612	8.51240	8.63636
SARURO	3	13.65040	9.77778	12.33333
SOALGI	10	13.97180	11.26000	9.50000
TEESCA	3	17.92577	13.77778	11.33333
TEVEMA	4	4.43471	3.25000	2.50000
TORAGLO	9	7.43490	5.92593	5.44444
URTAHE	10	10.67135	8.32000	7.90000
VALOAL	7	6.69399	5.59184	5.42857
VAROBE	11	7.68588	5.40496	5.27273
VIGALI	11	15.52476	12.38017	11.63636
PRUEBA	F Ratio	DFNum	DFDen	Prob>F
O'Brien[.5]	1.6699	16	120	0.0616
Brown-Forsythe	1.4469	16	120	0.1316
Levene	2.5378	16	120	0.0021
Bartlett	2.3375	16	.	0.0018

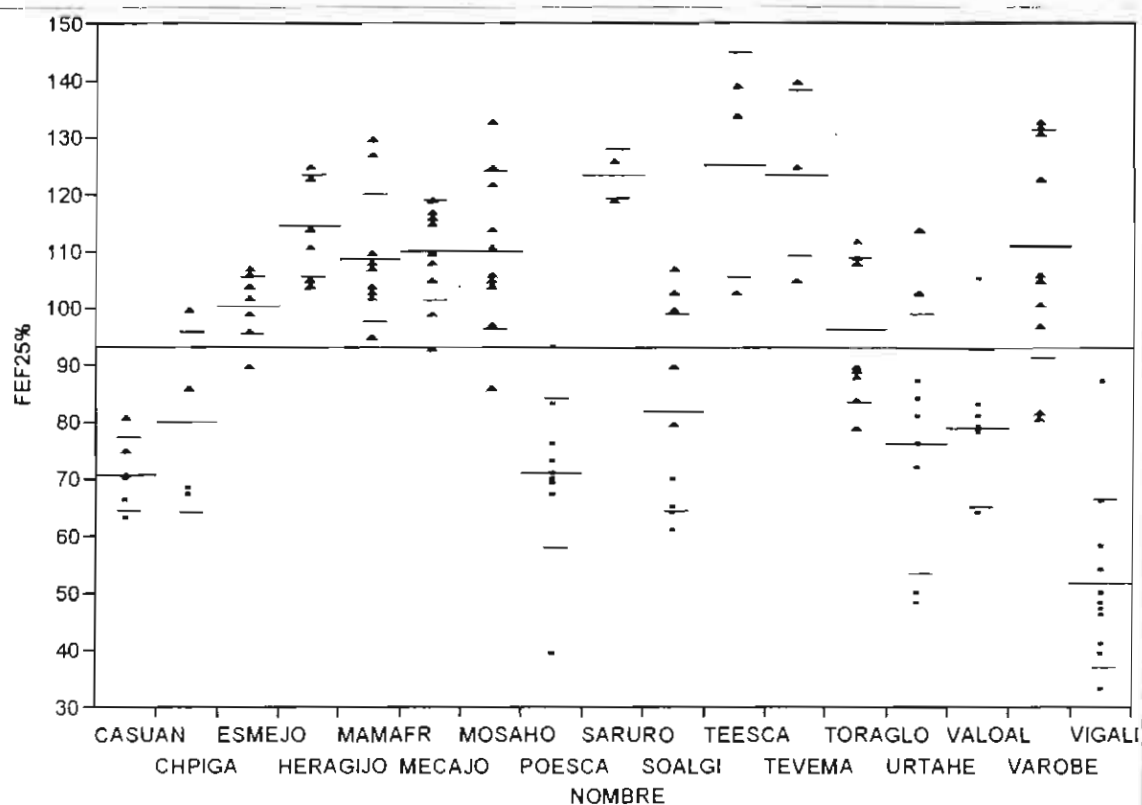
Se calculó el Análisis de Varianza del Flujo Espiratorio Pico o máximo, expresado en % del valor teórico normal. El PEF%, muestra dispersión similar al FEF75% y al VEF1 y aproximadamente de igual nivel de significancia. Esto se explica porque lo influyen los mismos factores que a éstos parámetros, como son la retracción tóraco pulmonar, la resistencia de vías respiratorias mayores y el esfuerzo muscular.

La Tabla 47 presenta el Análisis de Varianza del Flujo Espiratorio Forzado al 25% de la capacidad vital forzada. El FEF25% expresado en % del valor teórico normal. Se aprecia dispersión de los valores de este parámetro en todos los individuos y aún cuando significativo, el grado de significancia es menor que en el VEF1 y en el FEF75. Esta observación es trascendente en cuanto al fenómeno fisiológico que traduce. Se ha mencionado, que el flujo en las vías respiratorias cuando se produce con volúmenes pequeños, como el 25% de la capacidad vital, es dependiente de la retracción elástica y la resistencia de las vías respiratorias, e independiente del esfuerzo muscular, además corresponde al flujo en las vías pequeñas. La observación mencionada sugiere que la alteración más permanente ocurre a este nivel y que es menos modificada que la presente en las grandes vías aéreas. Además indica que las variaciones en los otros parámetros dependen más de factores externos, pero posiblemente no de la voluntad del sujeto.

Del conjunto de las observaciones repetidas en un mismo sujeto se desprenden las siguientes conclusiones:

TABLA 47

FEF25% POR SUJETO



PRUEBA DE IGUALDAD DE VARIANZAS

Nivel	Cuenta	Desviación Std	Diferencia Media de la Media	Diferencia media de la Median	
CASUAN	6	6.41872	4.66667	4.66667	
CHPIGA	4	15.79821	12.75000	12.75000	
ESMEJO	9	5.29413	4.04938	3.88889	
HERAGIJO	9	9.01388	7.85185	8.11111	
MAMAFR	10	11.12005	8.06000	7.50000	
MECAJO	10	8.88757	7.10000	7.10000	
MOSAHO	10	13.88884	10.70000	10.70000	
POESCA	11	13.07531	7.85289	7.72727	
SARURO	3	4.04145	3.11111	2.33333	
SOALGI	10	17.19173	14.40000	14.00000	
TEESCA	3	19.50214	14.88889	13.66667	
TEVEMA	4	14.36141	9.37500	8.75000	
TORAGLO	9	12.71810	11.48148	10.88889	
URTAHE	10	22.71099	17.50000	17.50000	
VALOAL	7	13.82544	9.02041	9.14286	
VAROBE	11	20.01908	17.28926	16.90909	
VIGALI	11	14.80602	10.56198	10.00000	
PRUEBA		F Ratio	DFNum	DFDen	Prob>F
O'Brien[.5]		1.7719	16	120	0.0427
Brown-Forsythe		1.7415	16	120	0.0477
Levene		2.2988	16	120	0.0056
Bartlett		1.9130	16		0.0151

1. A diferencia de las observaciones clásicas de Rhan y Gibson -Jones, se observó una gran dispersión de todos los parámetros incluyendo la capacidad vital, que fue el que cambió menos.
2. Los parámetros que dependen de fenómenos dinámicos presentan una dispersión altamente significativa que es compatible con la hipótesis de que existe un aumento de reactividad bronquial de los sujetos estudiados.
3. En todas las observaciones los sujetos con valores "normales" los presentaron muy superiores al 100% del los teóricos normales para sujetos estudiados al nivel del mar, que se explica por la menor densidad del aire a 2780 metros de altura de la Cd. de México.

VI.7. EFECTO DEL EJERCICIO EN LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN.

Se ha mencionado que el ejercicio modifica la resistencia de las vías respiratorias y que las comunicaciones al respecto son heterogéneas. Por tanto se decidió explorar el efecto del ejercicio en la resistencia de las vías respiratorias mediante curvas flujo volumen, en jóvenes clínicamente sanos, habitantes de la Ciudad de México.

VI.7.1. Material y método para el estudio del efecto del ejercicio.. Se exploró el efecto del ejercicio en un grupo de 58 sujetos que se seleccionaron con los mismos criterios que se han descrito, pero que no pertenecía todos a un mismo grupo, es decir no segían el criterio de ser un conjunto aleatorio; todos cursaban una de las primeras Unidades de alguna carrera de ciencias biológicas, es decir pertenecían al mismo universo. Se les dieron las explicaciones referentes a las curvas flujo volumen y al ejercicio. Las curvas flujo volumen se efectuaron también con la misma técnica y con el mismo aparato descrito. El ejercicio se efectuó en una banda deslizante (Quintrop) con velocidad y pendiente regulables, acoplada a un sistema de registro del electrocardiograma (ECG) que se uso únicamente para medir la frecuencia cardiaca. Se colocaron tres electrodos, dos debajo de cada clavícula y el tercero en la base izquierda del tórax. Se vigiló la frecuencia cardiaca en el trazo

proyectado en una pantalla monocromática; el registro se efectuó antes, durante y después del ejercicio.

Uno de los observadores demostró al sujeto como se efectuaban tanto las curvas flujo volumen como el ejercicio. Se indicó a los sujetos que una vez instalados sobre la banda, esta empezaría a moverse muy lentamente; se aumentaría la velocidad poco a poco hasta que el sujeto tuviera la sensación de estar caminando aprisa pero con comodidad y sintiendo que era capaz de sostener ese ejercicio durante 10 minutos. Se modificó la velocidad de la banda y se midió el tiempo para lograr la velocidad indicada. Una vez lograda, se midió el tiempo experimental.

Se efectuó una curva flujo volumen antes de efectuar el ejercicio. Después el sujeto caminó en la banda hasta lograr la velocidad óptima. Luego, caminó durante 10 min. a una velocidad en la cual el paso fuera rápido sin llegar a correr. Transcurridos 10 min. Se detuvo la banda, se retiraron los electrodos e inmediatamente después se repitió la Curva Flujo Volumen.

La carga de ejercicio, una vez lograda la velocidad óptima, vario de 4.3 a 7.3 millas por hora y fue seleccionada por el sujeto como se ha señalado. El tiempo para alcanzar la velocidad óptima varió de 1'50" a 2' 35" minutos- segundos. La variación se debió a que aun cuando la velocidad de la banda se incrementó aproximadamente con la misma tasa, de 1 milla por hora, cada 15 segundos, algunos sujetos pidieron que se incrementara durante más tiempo y en consecuencia alcanzaron una mayor velocidad. Esto implica que el tiempo total del ejercicio no fue igual en todos los sujetos.

En la Tabla 48 se presentan las características generales de los sujetos de este grupo, el cual como se ha indicado no se incluyó con los descritos en la Tabla 2. Puede apreciarse que son similares a las de los grupos incluidos en la Tabla 2.

La proporción de sujetos con curvas flujo volumen anormal fue de 41%, (Tabla 49) predominaron las alteraciones obstructivas y la frecuencia de anomalías fue significativamente mayor en las mujeres.

TABLA 48
RESULTADOS del Ejercicio.
Datos generales de los sujetos estudiados mediante curvas
flujo volumen

	HOMBRES	MUJERES	TOTAL
#	20	38	58
EDAD	20 $\pm$ 3 (18-24)	21 $\pm$ 6 (17-56)	21 $\pm$ 5 (17-56)
PESO	71 $\pm$ 11 (50-95)	61 $\pm$ 11 (42-90)	64 $\pm$ 12 (42-95)
TALLA	171 $\pm$ 6 (160-180)	160 $\pm$ 7 (149-175)	164 $\pm$ 8 (149-180)
TABAQUISMO	6 (30%)	8 (21%)	14 (24%)

TABLA 49
Resultados de las curvas flujo volumen agrupados por categoría y sexo.

DIAGNÓSTICO	HOMBRES	MUJERES
NORMALES: 34(59%)	16 (80%)	18 (47%)
ANORMALES: 24(41%)	4 (20%)	20 (53%)
ALTOB: 13 (54%)	3 (75%)	10 (50%)
ALRES: 5 (25%)	1 (25%)	4 (20%)
AROB: 6 (26%)	0 (0%)	6 (30%)

χ^2 anormales vs. Normales por sexo = 5.16 ;P< 0.02

TABLA 50
Cambios del puso.

REPOSO
100.1 $\pm$ 15 (80-140)
EJERCICIO
147 $\pm$ 18 (120-180)

P < 0.001

En la Tabla 50 se presenta la frecuencia cardíaca control, o sea en reposo y la registrada después del ejercicio. El incremento fue en promedio de 49% con relación a los datos control; la diferencia fue significativa. Esto indica que el aumento en el consumo de oxígeno aumentó significativamente, puesto que la frecuencia cardíaca se modifica en forma proporcional así como la ventilación.

TABLA 51
Modificaciones en el volumen espiratorio forzado: VEF1

	REPOSO	EJERCICIO
FEV 1 Pre.	3.69 ± 0.43 (2.2 a 4.4)	3.69 ± 0.43 (2.2 a 4.4)
FEV 1 AC	3.69 ± 0.93 (1.9 a 4.13)	3.91 ± 1.15 (1.86 a 4.64)
FEV %	101.6 ± 17.49 (55 a 141)	110 ± 26.5 (65 a 193)

TABLA 52
VALORES OBSERVADOS EN DISTINTOS PARÁMETROS DE LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN

PARAMETRO	PROMEDIO		DIFERENCIA
	REPOSO	EJERCICIO	P
FEV1 AC	3.69	3.93	.0001
FEV1 %	101.7	110.4	.0004
FVC AC	3.66	3.78	.05
FVC %	91.3	93.53	NS
FEF 75 ^a C	7.2	7.92	.002
FEF 75%	101.6	110.5	.003
FEF25 AC	3.76	4.37	.0002
FEF25 %	117	133.4	.0003
PEF %	99.6	108.2	.008

TABLA 53
Cambios en la mecánica respiratorias después del ejercicio

CONDICIÓN INICIAL		SIN CAMBIO	DISMINUYO	AUMENTO
NORMALES	34	9 (26%)	22 (65%)	3 (9%)
ANORMALES	24	3 (17%)	16 (58%)	5 (25)
ALTOB	13	1	10	2
ALRES	5	2	1	2
AROB	6	0	5	1

En la Tabla 51 se presentan el promedio de los valores observados del Volumen espirado en el primer segundo de la capacidad vital (VEF1), los valores teóricos correspondientes para sujetos con las mismas características de sexo, edad, peso y estatura y su relación en porciento

Los primeros son los controles y la siguiente columna presenta los observados después del ejercicio. El cambio en este parámetro fue significativo.

En la Tabla 52, se presentan los datos referentes a todos los parámetros estudiados de las curvas flujo volumen. En la primera columna estan los valores control, en la segunda las cifras observadas después del ejercicio. En la última columna se aprecia el valor de t la cual indica que las diferencias son significativas para todos los flujos. No fue significativo el cambio para la capacidad vital.

En la Tabla 53 se presenta el diagnóstico de la CFV establecido con base en el análisis de todos los parámetros. Debe notarse que en la mayoría de los sujetos, disminuyó la resistencia de las vías respiratorias, manifestada como alteraciones obstructivas en las CFV.

TABLA 54

POLVOS	TOTAL DE SUJETOS		NORMALES		ANORMALES	
	Media	Desv. Estándar	Media	Desv. Estándar	Media	Desv. estándar
O ₂	0.85	+ - 0.25	0.84	+ - 0.28	0.87	+ - 0.22
NO ₂	0.27	+ - 0.11	0.26	+ - 0.11	0.29	+ - 0.11
SO ₂	0.17	+ - 0.05	0.17	+ - 0.054	0.18	+ - 0.05
CO	0.35	+ - 0.72	0.35	+ - 0.08	0.86	+ - 0.05
Partículas	0.72	+ - 0.086	0.72	+ - 0.08	0.73	+ - 0.09

Se calculó t de Student para explorar la relación entre el diagnóstico y la concentración de cada uno de los contaminantes. En ninguno se encontró relación significativa.

VI.6.2. Discusión de las modificaciones de las CFV después del ejercicio.

1.- De los 58 sujetos estudiados 34(59%) presentaron CFV normal y (24 41%) anormal. Esto comprueba la hipótesis de que en la población de sujetos aparentemente sanos habitantes de la Cd. México, hay una elevada proporción de anomalías de la mecánica respiratoria estudiada mediante las Curvas Flujo Volumen. Esta proporción es similar a las registradas en las otras muestras estudiadas.

2.- De los sujetos con curva flujo volumen anormal, 13 (54% presentaron alteraciones tipo obstructivo que indican aumento de la

resistencia de las vías respiratorias: Se observaron alteraciones restrictivas en 5 (25%) de los sujetos que se interpretan como disminución del volumen funcional del pulmón y 6 (26%) sujetos mostraron alteraciones mixtas restrictivas y obstructivas.

4.- La concentración de contaminantes presentes en el momento del estudio no mostró diferencia entre los grupos.

En una misma hora los sujetos presentaron CFV normales o anormales. El estadígrafo t de Student y R de Pearson no mostró relación entre la contaminación y el tipo y grado de alteraciones funcionales.

5.- Se investigó el índice de correlación R de Pearson y la t de Student para las siguientes variables continuas: volumen espiratorio forzado del primer segundo (VEF1), capacidad vital forzada (CVF) y el flujo espiratorio forzado al 25% final de la CVF y la concentración de contaminantes.

6.- Los sujetos fueron capaces de efectuar un ejercicio fisiológico puesto que el pulso aumentó en forma significativa ($P < 0.005$)

7.- Todos los parámetros analizados presentaron diferencias altamente significativas excepto la CVF en %

8.- En una proporción elevada de los sujetos normales y de los anormales disminuyó la resistencia de las vías respiratorias, lo cual apoya la hipótesis planteada.

9.- Aumentó la Resistencia de las vías respiratorias únicamente en algunos de los sujetos que en el estudio control presentaban anormalidades.

VII. MECANISMOS FISIOLÓGICOS DE DEFENSA DEL APARATO RESPIRATORIO.

Se ha mostrado en la sección anterior que una elevada proporción de sujetos clínicamente sanos presentaron alteraciones en las curvas flujo volumen, por las que fueron clasificados como anormales en la mecánica respiratoria. En vista de los numerosos factores que pueden influir en el tono del músculo bronquial y su reactividad, se investigaron las características clínicas que se han descrito como predisponentes o asociadas con alteraciones bronquiales, las cuales se manifiestan como cambios de tipo obstructivo en las curvas flujo volumen. Se postuló que el perfil clínico de los sujetos con curvas flujo volumen normales, fuera diferente del de los que presentaban anormalidades. Los datos clínicos susceptibles de relacionarse con las alteraciones de la función respiratoria detectada con las curvas flujo volumen, son los síntomas respiratorios y los antecedentes.

Los antecedentes incluyen conductas y medidas profilácticas. La influencia que ejercen sobre el aparato respiratorio puede ser más o menos directa como es el caso de las vacunas o del tabaquismo cuyo efecto en principio es deletéreo. Una conducta con efecto indirecto es la práctica deportiva.

Los antecedentes personales que se han descrito asociados con el desarrollo de enfermedades respiratorias y modificaciones de la mecánica incluyen en primer lugar la rinitis cuya relación con las alteraciones bronquiales ha sido objeto de numerosas investigaciones de diferentes tipos. Otros antecedentes de este tipo son: el tipo de nacimiento, de lactancia, las enfermedades respiratorias en la infancia.

En cuanto a los síntomas algunos constituyen respuestas que se interpretan como defensas ante un proceso de irritación respiratoria, como la tos, el estornudo y el aumento en la

producción de secreciones; su función primordial es eliminar materiales extraños y mantener permeable la luz bronquial y como todos los reflejos tienen receptores, vías, centros y efectores.

Hay otros síntomas respiratorios que aún cuando no constituyen un mecanismo de defensa, se investigaron para completar el perfil clínico de los sujetos. Estos son la disnea y el dolor torácico. La disnea, que es la sensación subjetiva de falta de aire generalmente esta relacionada con aumento del trabajo-respiratorio. El dolor torácico se puede originar en diversas estructuras; tiene tipos y fisiopatología muy diversos.

VII.1. MECANISMOS GENERALES Y PERFIL CLÍNICO.

Las conductas con frecuencia no se incluyen dentro de los mecanismos de defensa, sin embargo por su carácter profiláctico quizá sean las más importantes. Por ejemplo la acción de huir al percibir ciertos olores o ruidos, evita al organismo enfrentarse a situaciones o a sustancias potencialmente dañinas. El reflejo de natación presente en numerosos mamíferos también es un mecanismo trascendental para evitar la invasión del aparato respiratorio. Otras conductas como llevar los miembros para ocluir la nariz, que se observa en animales, o tratar de ocluirla con materiales diversos que se observa en el hombre, también evitan o disminuyen la penetración de agentes dañinos al aparato respiratorio y eventualmente al resto del organismo. Algunas están socialmente determinadas. Debe mencionarse que hay conductas deletéreas para la salud, como el tabaquismo.

VII.1.1. HABITO DEPORTIVO. El deporte tiene efectos inmediatos y a largo plazo sobre la estructura y la función de todos los sistemas del organismo; los más evidentes y de interés para esta investigación son los que se presentan en el aparato respiratorio. El resultado de estos cambios es el aumento del consumo de oxígeno por el organismo; esto ocurre de inmediato. Se aprecia que en

reposo un adulto no entrenado consume aproximadamente 250 ml/min. y haciendo ejercicio de la intensidad máxima que pueda se puede incrementar hasta 4000 ml/min. La ventilación pulmonar aumenta proporcionalmente con el consumo de O_2 pero esta no es el factor limitante durante el ejercicio. Así se aprecia que durante la maniobra denominada "Capacidad Respiratoria Máxima que consiste en que el sujeto respire lo más hondo y rápido que le sea posible, un joven puede respirar hasta 180 litros por minuto y el consumo de oxígeno aumenta muy poco, solamente lo correspondiente al gasto metabólico de los músculos respiratorios; es similar en sujetos deportistas que en no deportistas. Durante el ejercicio máximo la ventilación aumenta aproximadamente a 100 litros, que es una cifra inferior a la ventilada voluntariamente

Referente al volumen pulmonar medido por espirometría o mediante curvas flujo volumen, se detecta que en general no se producen modificaciones relacionadas con el entrenamiento deportivo exceptuando en algunos deportes como la natación y el ciclismo en los que aumenta el volumen pulmonar (Hue O. 2003)

La resistencia de las vías respiratorias durante el ejercicio disminuye en función del aumento del volumen pulmonar y la consiguiente distensión de los bronquios. Hay numerosos estudios referentes a los cambios en la resistencia de las vías respiratorias antes y después de efectuar ejercicio; se le denomina broncoespasmo inducido por el ejercicio (Becker A. 2001, Gotshall RW. 2002) o asma inducida por el ejercicio (Ogston J. 2002), Se ha descrito después de muy distintos tipos de deportes como esquiadores, corredores de distancia y atletas en general.(Smith 2002, Holzer .2002, Shapiro 2002) Se ha definido este fenómeno como la disminución del VEF1 en 10 % con respecto a los valores control previos al ejercicio del PEF. Los grupos estudiados en estas series incluyeron sujetos que tenían diagnóstico de asma (Becker 2001), y muchos que eran deportistas completamente sanos o sujetos sanos (grupos control) Es de trascendencia notar que

algunos grupos se observaron alteraciones obstructivas con el VEF1 hasta en 11% de la población normal estudiada. En todos los informes presentados se observó el aumento de la resistencia bronquial, que fue mayor en asmáticos y en sujetos sedentarios (Jakes RW). Esto ha llevado a cuestionar si en realidad este fenómeno se puede calificar como asma no diagnosticada o inducida (Langdeau 2003) o se debe considerar como un broncoespasmo inducido por el ejercicio, que se explica entre otros factores con la presencia de un gen que regula la secreción de la proteína CC16 producida por las células Clara del epitelio bronquial. (Sengler 2003)

VII.1.2. TABAQUISMO. Las alteraciones del organismo que se producen en relación con el hábito de fumar son tan evidentes y generalizadas que en diversos países, incluyendo México, se han tomado medidas tendientes a limitar el hábito como: obligar a las compañías productoras de cigarrillos a que anoten en las cajetillas que el producto es dañino para la salud y puede producir cáncer; limitar los sitios públicos donde se puede fumar y prohibirlo en lugares cerrados. Prohibir la venta a menores de edad y limitar los sitios donde se venden. Las dos enfermedades pulmonares que se asocian al hábito tabáquico son el cáncer pulmonar y la bronquitis crónica con enfisema. En ambas se presentan alteraciones mecánicas con aumento de la resistencia de las vías respiratorias, detectables en curvas flujo volumen y que se acompañan de disnea. En general la magnitud de las alteraciones funcionales esta relacionada con la intensidad y duración del hábito tabáquico. Se detectan alteraciones tempranas en niños hijos de padres fumadores y madres que fumaron durante el embarazo (van Helden SN. 2001); éstas son más frecuentes si los niños fuman (Louie D. 2001). Sin embargo, en clínica no hay una cantidad determinada de cigarrillos ni un tiempo preciso de duración del hábito para la aparición de los procesos patológicos, lo que

posiblemente se relaciona con diferente grado de sensibilidad que esta genéticamente determinada y a la asociación con otros elementos que actúen sobre el aparato respiratorio.

VII.1.3. VACUNACIÓN. Son importantes tanto las especiales para problemas respiratorios como las preventivas de otros padecimientos. Su mecanismo de acción estimulando la reacción inmune, se describe en el capítulo en el que se analiza la IgA y los factores que la modifican.

VII.2. FUNCIÓN DE LA NARIZ Y RINITIS.

De los antecedentes personales que pueden ser factores asociados con los procesos de aumento de la resistencia de las vías respiratorias son las rinitis. Es factible que los sujetos con rinitis repetidas, tengan deficiencia en la función de limpieza nasal y por ende que llegue a los bronquios una mayor proporción de contaminantes. La capacidad de acondicionamiento del aire inspirado por las vías respiratorias, puede estar influida por una serie de características clínicas de los sujetos.

En una investigación preliminar efectuada en una muestra de esta población se encontró que la rinitis era significativamente más frecuente en quienes tenían curvas flujo volumen anormales, que en quienes tenían mecánica respiratoria normal. Esto es importante porque la nariz es el primer nivel de defensa del aparato respiratorio y en ella se realizan los procesos de acondicionamiento del aire inspirado: calentamiento, humidificación y limpieza de partículas; esta más expuesta a los agentes agresores y sus alteraciones pueden disminuir la eficiencia y eficacia de los mecanismos fisiológicos nasales y favorecer las alteraciones bronquiales y pulmonares (13). En efecto, se ha descrito relación entre los procesos inflamatorios nasales y el aumento de la resistencia de las vías respiratorias, en sujetos humanos (Little J.W. 1978, Meguro T. 1991). La similitud en las respuestas de células del epitelio bronquial

y del bronquial se ha observado en cultivos de células en condiciones normales (Devalia JL. 1990) y esputos a contaminantes (Devalia JL. 1997). La similitud de estas respuestas observadas *in vitro*, también se ha observado en sujetos normales y enfermos con asma (Davies RJ 1995)

Por tanto es fundamental considerar la relación entre la nariz y los bronquios (Corren J. 1997) para explicar la elevada frecuencia de las rinitis, las alteraciones mecánicas de las vías respiratorias inferiores y caracterizar los mecanismos de defensa de la mucosa nasal.

VII.2.1. ESTRUCTURA Y FUNCIÓN.

La nariz es la primera estructura por la que habitualmente penetra el aire al aparato respiratorio de los mamíferos. Tiene una estructura directamente relacionada con sus características funcionales las cuales constituyen mecanismos protectores fundamentales del aparato respiratorio. Las partículas y sustancias que no son retenidas en ella, llegan, de acuerdo con sus características a distintos niveles del aparato respiratorio, y solo las muy pequeñas y los gases llegan hasta los alvéolos; muchas salen con el aire espirado. (Proctor, D. 1986)

Los contaminantes que se retienen en el aparato respiratorio son eliminados principalmente por el sistema mucociliar y en una pequeña proporción por los macrófagos.

La nariz, es el conducto principal por el que penetra el aire inspirado y en principio, tanto el aire como los contaminantes que lleguen a las vías respiratorias inferiores y al pulmón, deben pasar por ella. Tiene un esqueleto óseo cartilaginoso con un tabique central formado por el hueso vomer, y la lamina perpendicular del etmoides. Sus paredes laterales en la porción superior están formadas por los huesos nasales y en parte por el etmoides. De las masas laterales de este hueso se proyectan dos prolongaciones, los cornetes superiores y los medios; en la parte inferior se articula a cada lado el cornete inferior que es un hueso independiente. Esta

estructura esta relacionada con su función que consiste en acondicionar el aire inspirado de manera que sus características sean las más adecuadas para el intercambio gaseoso. De esta forma, la superficie interna es muy amplia, altamente vascularizada e inervada y anfractuosa, lo cual por una parte aumenta su superficie y por otra hace que el flujo aéreo sea de tipo turbulento. Esto a su vez favorece el contacto del aire con las paredes, lo cual es indispensable para que se efectúe el proceso de acondicionamiento que incluye el calentamiento, la humidificación y la limpieza. (Swift 1977)

El calentamiento se hace en forma asociada con la humidificación; así, el aumento de la temperatura del aire se hace por difusión de calor desde la mucosa; al aumentar la temperatura aumenta la capacidad del gas para contener vapor de agua el cual pasa desde la superficie de la mucosa al aire. En general en la nariz, la temperatura del aire se eleva hasta 37°C y la humidificación a 47 mmHg de presión de vapor de agua. La gran vascularización e inervación de la mucosa nasal, permiten adaptaciones rápidas adecuadas para suministrar el calor y la humedad necesarios de acuerdo con la ventilación. (Proctor 1977)

VII. 2.2. ACONDICIONAMIENTO DE LA TEMPERATURA Y LA HUMEDAD DEL AIRE INSPIRADO

Una de las funciones más importantes de la nariz, es llevar la temperatura del aire inspirado a la adecuada para el medio interno que es de 37°C y saturado con vapor de agua, lo que implica que éste ejerza una presión de 47 mmHg. Dada su estructura, con amplia superficie y que permite el flujo turbulento, prácticamente todas las moléculas de aire tienen contacto con la mucosa. Además tiene una abundante inervación y circulación que permite modificaciones rápidas del volumen de la mucosa. Esto permite la transferencia de calor y agua en forma altamente eficaz y eficiente; así es capaz de lograr el cambio en el rango de

temperaturas en las que vive el hombre y que es de -68°C en la Antártica a $+58^{\circ}\text{C}$ en el desierto y en las fábricas de acero donde son aún mayores. Además estos cambios acontecen sin modificaciones en la temperatura corporal. Los cambios en temperatura y humedad son dos fenómenos interdependientes.

CALENTAMIENTO DEL AIRE. Cuando un cuerpo con determinada temperatura y contenido calórico tiene contacto con otro con menor temperatura, hay una transferencia de calor hacia el de temperatura menor con lo cual aumenta su temperatura, de acuerdo con su capacidad calórica.

En la nariz, se efectúa la mayor parte del cambio de temperatura, sin embargo no alcanza a llegar a 37°C . El aumento que se logra depende de la temperatura del aire inspirado y de su velocidad. Para un flujo de aire de 15 litros por minuto con una temperatura de 26°C , al terminar la nariz, la temperatura es aproximadamente de 32.5°C . El equilibrio a 37°C se alcanza en los bronquios segmentarios.

El calor se transfiere de acuerdo con el gradiente de temperatura. Las formas en las que se transfiere son por convección favorecida por el flujo turbulento y por conducción, por irradiación y por evaporación.

TRANSFERENCIA DE AGUA. La capacidad del aire para contener vapor de agua se incrementa en proporción con el aumento de temperatura. Cuando hay agua disponible para el intercambio, las moléculas de agua pasan de la fase líquida al gas hasta que se tenga toda la que puede contener de acuerdo con su temperatura. En estas condiciones se dice que el aire está saturado con agua; cuando no hay agua disponible no se logra la humidificación completa y esta se expresa de acuerdo con la relación expresada en por ciento, entre el agua que contiene y la que puede contener.

Simultáneamente con la transferencia de calor, al aumentar la temperatura aumenta la capacidad del aire para contener agua. Por

lo tanto el agua se evapora y pasa de la mucosa al aire en un volumen de 3.2 mg/ seg. Esto produce enfriamiento de la mucosa porque el proceso de evaporación, implica por si mismo la pérdida del calor latente de evaporación que es de 500 cal/ml de agua; por esta característica física del agua, la evaporación es el mecanismo más eficiente para perder calor.

Por tanto cuando la temperatura del aire es inferior a 37 ° la mucosa cede calor lo que eleva la temperatura del aire y por ello al final de la inspiración, su superficie queda relativamente fría y seca. Durante la espiración las transferencias se hacen en sentido opuesto y pasa calor del aire a la mucosa y el vapor de agua se condensa, con lo que regresa el agua casi en su totalidad. La parte de agua que se elimina, es mayor cuanto más grande fue la transferencia inicial, dado que por la abundante circulación, la mucosa se calienta y por tanto el gradiente térmico en el momento de la espiración, disminuye y por ello el intercambio es menor.

Es importante notar que la presencia y naturaleza del moco previene considerablemente la deshidratación de la mucosa, pero en condiciones patológicas o de cambios muy grandes de temperatura llegan a producirla; esto interfiere con el mecanismo mucociliar porque el frío y la deshidratación son unos de los factores que disminuyen el movimiento ciliar.

Finalmente debe recordarse que cuando los sujetos respiran por la boca, por una traqueotomía o intubación traqueal, se eliminan las funciones de la nariz, que en su conjunto son los mecanismos más importantes para el acondicionamiento del aire. En estas situaciones, deberán efectuarse cuidados especiales para calentar, humidificar y eliminar las secreciones, sin los cuales se pueden producir lesiones en la traquea y los bronquios y retenerse impidiendo la ventilación pulmonar

VII.2.3. Manejo de las partículas inspiradas.

El aire inspirado con los contaminantes que contenga, ingresan al aparato respiratorio, por la nariz de donde pueden emigrar a otras partes del organismo. De acuerdo con las características químicas y aerodinámicas, los contaminantes penetran hasta diferentes niveles del aparato respiratorio en él, cual producen alteraciones morfológicas y funcionales, algunas de las cuales son bien conocidas, como por ejemplo las neumoconiosis de los mineros y de trabajadores de algunas industrias y que se producen por la inspiración de polvos diversos por ejemplo, sílice, antracita y berilio. Otros daños producidos por los polvos, como el cáncer asociado con la exposición al asbesto, tienen un respaldo epidemiológico importante, pero el mecanismo productor no está bien definido.

El manejo de las partículas en el aparato respiratorio implica el análisis de tres fenómenos: a) los mecanismos que determinan la retención de las partículas en el aparato respiratorio y en el organismo. b) los mecanismos para eliminarlos del organismo y del pulmón. c) los procesos por los cuales se desplazan a otras partes del organismo.

Los contaminantes del aire se han clasificado de acuerdo con sus características físicas, químicas y por sus efectos sobre el organismo. Se pueden distinguir en principio los gases de los polvos. Se denomina polvo a una suspensión de materia sólida en un gas a la cual también se le denomina aerosol.

Los polvos tienen efectos más o menos característicos sobre el pulmón, con base en los cuales se les ha clasificado como polvos: a) Minerales que producen neumoconiosis malignas, como el sílice. b) Minerales que producen neumoconiosis benignas como el talco y el carbón. c) Que producen lesiones fibrosas intersticiales difusas, como el berilio d) Partículas asociadas con la producción de neoplasmas como el asbesto. e) Orgánicos que producen lesiones por hipersensibilidad, como los productos derivados de las

aves. f) Gases irritantes que producen bronquitis. Se han hecho otras clasificaciones, pero en general es difícil hacer una adecuada porque un mismo polvo puede tener efectos muy diferentes de acuerdo con la cantidad que se respire, lo cual depende de la concentración y el tiempo de exposición, así como de la sensibilidad del sujeto.

Los efectos de los polvos hacen necesario el análisis de las características de las partículas. Para ello se han diseñado sistemas que pueden determinar su diámetro, volumen, superficie y número. La toma de las muestras que sean verdaderamente representativas del aire que se respira tiene algunas dificultades porque al captarlas se modifica la relación de las mismas y esto no necesariamente es lo que ocurre cuando el aire entra al pulmón; así mismo para analizar el aire espirado e interpretar sus cambios es menester la presencia de un gas testigo como el bióxido de carbono cuya concentración varía de acuerdo con la parte del aparato respiratorio del cual proceda. El uso de gases radioactivos como el talio y el tecnecio son muy adecuados para observar en imágenes, la distribución de las partículas, la cual en términos generales se hace de acuerdo con la distribución del aire inspirado. Esta distribución del aire inspirado depende de la resistencia local de las vías respiratorias y de la elasticidad pulmonar.

El comportamiento de las partículas depende de sus características fisicoquímicas y los procesos que se desarrollan en el aparato respiratorio. Las fuerzas que intervienen en su comportamiento son la inercia, la gravedad, la actividad termodinámica que produce la difusión y las fuerzas eléctricas. La fuerza que va a predominar en el comportamiento de las partículas depende de la masa, el diámetro, el volumen y el número.

Los procesos respiratorios que influyen en las partículas son el tipo de flujo respiratorio y su velocidad, así como el volumen del aire corriente. A las partículas se les calculan varios índices como

son: La Inhalabilidad que se refiere a la posibilidad de que ingresen al aparato respiratorio. La depositabilidad que indica la probabilidad de que las partículas que entren en contacto con la superficie del aparato respiratorio se depositen en ella; algunas se depositan principalmente en las vías superiores y el mecanismo que predomina es la inercia, corresponden a las de mayor masa y se eliminan rápidamente por lo que tienen un tiempo de residencia corto. Otras se depositan en el árbol traquobronquial y las fuerzas que actúan son la decantación y la inercia; su permanencia es mayor que en las vías superiores. Las partículas que llegan a los alvéolos lo hacen por movimientos brownianos y por sedimentación gravitacional. Corresponden a las más pequeñas con diámetro menor de 10 micras; su tiempo de permanencia es largo, desde días hasta años. Se eliminan por el movimiento mucociliar.

El flujo turbulento aumenta la retención de partículas. Así en la nariz, donde por su forma la turbulencia es máxima, se produce la mayor captación. La eficiencia fue de 83% para las de diámetro aerodinámico de 5 micras y de 30 a 52 % para las de diámetro aerodinámico de 30 micras.

La hidratación favorece la retención de partículas en las vías aéreas superiores porque aumenta su diámetro aerodinámico.

El total de las partículas se han dividido en la fracción respirable y la no respirable. Se considera fracción respirable es la que penetra a los alvéolos y bronquiolos, o sea a las porciones donde no hay cilios y comprenden principalmente las que tienen un diámetro de 10 micras.

En cuanto a las partículas suspendidas en el aire, en la nariz se retienen aproximadamente de 90 a 95% de aquellas cuyo diámetro aerodinámico es de cerca de 100 micras. Las de tamaño intermedio entre 90 y 10 micras quedan en diferentes niveles del árbol bronquial y solamente las menores de 10 micras llegan casi en su mayoría hasta los alvéolos. Las partículas retenidas en la nariz, son expulsadas por el movimiento mucociliar hacia la parte posterior y

cuando llegan a la faringe, se produce el reflejo de deglución. También pueden expulsarse por la tos o el estornudo.

El resto de las partículas, que llegan a las vías respiratorias medias, salen en su mayoría, por el mecanismo mucociliar que las lleva a la faringe. Algunas son fagocitadas principalmente por macrófagos, los cuales pueden transportarlas a los ganglios linfáticos locales.

Las partículas menores de 10 micras, presentan movimientos brownianos y la mayoría salen con el aire espirado a través de la nariz. La eficiencia para la eliminación del polvo es tan grande, que de 6 kilos que respira un individuo promedio a lo largo de su vida, solamente pueden recuperarse por micro incineración del organismo aproximadamente 6 gramos. Nótese que estas partículas pequeñas, dentro de las cuales están los microorganismos, son las únicas que entran en contacto con la nariz en dos ocasiones, una a la entrada y otra a la salida del aire.

La eficiencia de los mecanismos de limpieza, también es muy grande en cuanto a la velocidad de eliminación de las partículas; así, mediante el uso de gases radioactivos, se ha demostrado que en promedio en un lapso de 30 minutos se elimina el 99% de las partículas.

Cuando estos cambios no se efectúan en la nariz, por ejemplo en los sujetos que respiran por traqueotomía o por la boca, ocurren alteraciones de las vías respiratorias inferiores, principalmente desecación, la cual interfiere con el movimiento mucociliar y por ende con la eliminación de partículas; además llega un exceso de éstas al epitelio bronquial. En consecuencia se producen lesiones inflamatorias por la acción química, de ciertas sustancias como los óxidos de nitrógeno, el bióxido de azufre y otras. Lo anterior disminuye la capacidad de defensa y favorece las infecciones de las vías respiratorias inferiores e incluso del pulmón.

Esto concede importancia al estudio de los mecanismos por los cuales se producen las funciones normales de la nariz así como de

sus alteraciones. Los detalles de la estructura y función nasal se encuentran ampliamente descritos en la literatura. (Proctor y Swift 1977).

VII.2.4. Moco bronquial producción, composición y propiedades reológicas.

Las secreciones bronquiales son una mezcla compleja de sustancias y células, que recubren completamente la superficie interna de las vías respiratorias. En los alvéolos la superficie esta cubierta esta formada por una sustancia lipoprotéica que es el agente de tensión superficial el cual en parte se recicla y se capta por los neumocitos II que son los que lo producen. En las vías respiratorias la superficie esta cubierta por una capa compleja formada por dos fases: una fluida de sol que es la que tiene contacto con la superficie del epitelio y sobre ella hacia la luz bronquial esta la capa de gel, constituida por el moco, que forma una superficie adherente. Los cilios se mueven en la fase de sol y solamente sus ganchos se introducen a la superficie profunda de la capa de moco a la cual desplazan, como a una correa continua.

Respecto a su producción, el moco se sintetiza en las células caliciformes y las glándulas del epitelio respiratorio. En las porciones más centrales hay glándulas mucosas que contribuyen a la producción. Además del moco las secreciones contienen material lipoprotéico que en parte procede de los alvéolos y también se produce en los bronquiolos y los bronquios probablemente por las células de Clara. Las estructuras productoras de moco se inician al nivel de los bronquiolos y son más abundantes a medida que aumenta el diámetro de las vías respiratorias.

La función protectora del moco esta asociada con la efectividad del movimiento ciliar; para que este ocurra adecuadamente la capa de sol debe tener por lo menos 5 micras de espesor; además el moco debe estar formado por las secreciones de las células mucosas, las caliciformes y las serosas así como por las glándulas en

proporciones adecuadas lo que le permite una fluidez y viscosidad adecuada para su función.

El moco generalmente se ha descrito como una capa continua que cubre la mucosa. En una revisión sobre los mecanismos de defensa del aparato respiratorio, López Vidriero y Reid (1977) han señalado que por sus propiedades y fuerzas elásticas, la secreción mucosa no se mezcla en forma homogénea con las otras secreciones, no forma una capa continua, y permanece como fragmentos que se deslizan por la acción del movimiento ciliar (Reid M.L. 1997). La descripción más adecuada sería la que se deslizan como balsas acarreado fijas en su superficie partículas, fragmentos de células, microorganismos y otros materiales.

La producción de moco está regulada parcialmente por el sistema nervioso; el parasimpático y los agentes parasimpáticos miméticos la aumentan y el simpático la disminuye. Los procesos inflamatorios producen un desbalance en la proporción de células con predominio de las glándulas mucosas, lo cual causa un desbalance en la composición del moco con predominio de la fracción mucosa respecto a la serosa. En estas condiciones la capa de moco se hace heterogénea, discontinua, más adherente y dificulta el movimiento ciliar. Diversos agentes irritantes, algunos formados en las vías aéreas, como el ácido sulfúrico a partir de los sulfatos, aumentan la producción de moco actuando sobre las células mucosas y las caliciformes, en cambio tienen poco efecto sobre las células serosas y las de Clara.

El moco está compuesto de 5% de sólidos y 95% de agua. El 70 a 90% de los sólidos del moco son glicoproteínas con peso molecular de 1.5 a 2.0 millones. Las macromoléculas están formadas por un eje central proteico con cadenas laterales de carbohidratos de los cuales los más importantes son la alfa N y la beta N acetil glucosamina. Tienen además otros azúcares que les dan especificidad de grupo.

Las propiedades visco elásticas del moco corresponden a las de un líquido viscoso y un gel semisólido. La viscosidad es independiente de la elasticidad, depende de la estructura del gel e implica capacidad para almacenar energía. La viscosidad es una forma de fricción intermolecular que disipa energía y regula el flujo. Los materiales elásticos, tienen la característica de que en forma simultánea acumulan energía como cuerpos elásticos y disipan energía como líquidos viscosos. El moco es fluido y elástico, lo que es fundamental para su función.

El moco tiene las características de cohesión, adhesión, tendencia a formar películas, es filante y tiene capacidad para sostener tensión estática en grandes distancias. También tiene elevada capacidad para retener agua la cual puede constituir hasta 99% de su peso; por ello es una barrera altamente hidratada y sin embargo el agua no corre sino que esta organizada entre las moléculas. Estas propiedades reológicas dependen de todas las características del moco y del equilibrio entre ellas. Además todas las secreciones del aparato respiratorio y la saliva tienen propiedades similares si bien no en la misma proporción. En condiciones patológicas se afectan en distinto grado sus componentes en la medida en que se destruyen en distinta proporción algunas de las células que las producen y en consecuencia se modifican sus propiedades reológicas.

Los aminoácidos del eje proteico tienen una composición característica. La treonina y la serina forman aproximadamente el 50%; junto con la alanina, prolina y glicina constituyen el 80% del contenido proteico.

El tejido linfático asociado a los bronquios BALT (**B**ronchial **A**ssociated **L**ymphoid **T**issue) al igual que el asociado al intestina , GALT, esta formado por células plasmáticas pequeñas que sintetizan y secretan globulinas como la globulina IgA secretora, formada por monómeros unidos por la fracción secretora. Estas globulinas formadas localmente se incorporan al moco en uniones

que son puentes de hidrógeno, puentes disulfuro y enlaces covalentes. La IgA secretora de la que se trata en secciones posteriores es la defensa antiinfecciosa más importante de la mucosa.

La estructura terciaria y cuaternaria del moco es compleja y no está completamente aclarada; sus modificaciones repercuten sobre las propiedades reológicas.

VII.2.5. SECRECIONES RESPIRATORIAS

Las secreciones respiratorias, como se ha señalado no están constituidas únicamente por moco; además contienen las secreciones de las glándulas serosas, las células caliciformes y las células de Clara. Contienen plasma trasudado con proteínas como las inmunoglobulinas y la albúmina; la proporción de plasma contribuye aproximadamente con 5 veces el peso seco de las mismas. Por ultra centrifugación las secreciones se separan en dos fases, una de sol y una de gel, que tienen diferentes proporciones de macromoléculas no dializables y pequeñas sustancias como electrolitos, kininas, histamina, prostaglandinas y AMP cíclico. Los componentes fundamentales son las glicoproteínas neutras y las glicoproteínas ácidas que contienen ácido psialico y sulfatos. Cada uno de estos componentes confieren propiedades especiales a las secreciones. (Jacquot, 1992)

Se han clasificado las secreciones respiratorias de acuerdo con su aspecto macroscópico según Miller y Jones (1963) en:

M1. Que tiene aspecto transparente, como clara de huevo.

M2. Predominantemente mucoso con "sospechas" de pus.

P1. Con aspecto purulento en menos de un tercio de su volumen.

P2. Con aspecto purulento entre uno y dos tercios de su volumen.

P3. Aspecto purulento en más de dos tercios de su volumen.

Esta clasificación tiene muchas deficiencias porque la apreciación es subjetiva y no hay consistencia entre observadores ni en un observador, Sin embargo cuando se han estudiado sus

componentes químicos, especialmente determinando el contenido de fibras de DNA que indican la cantidad de células presentes, se han encontrado diferencias. También han sido diferentes las concentraciones de electrolitos: en el esputo purulento la concentración de potasio es mayor, las de sodio y cloruros son menores como correspondería a una solución contaminada con líquido intracelular. Otros marcadores como la mucosa o el ácido neuraminico también se modifican en proporción con el aspecto purulento del esputo. (Lopez Vidriero M.T. 1977),

En preparaciones frescas las células blancas, especialmente macrófagos y células de descamación están aumentadas.

Todo lo anterior confirma que las secreciones bronquiales normales no son equivalentes a la expectoración; esta última está constituida por secreciones que el individuo expulsa voluntariamente o por movimientos tusígenos y contiene además saliva e incluso secreciones mucosas nasales. En principio no hay expectoración normal, porque cuando las secreciones se producen en cantidad normal, el transporte ciliar las lleva hasta la glotis donde por un movimiento reflejo se degluten. Siempre que se produce expectoración implica que se produce un volumen mayor de secreciones; el incremento se produce por que aumenta la cantidad secretada, el número de células y el volumen de trasudado del plasma. La proporción de albúmina en las secreciones, es un índice del aumento de la permeabilidad de los capilares por el proceso inflamatorio y se ha usado como un indicador del grado de inflamación. Las secreciones contienen anticuerpos que ejercen su propia acción frente a los microorganismos, sin interferir con los movimientos respiratorios, por lo tanto la cantidad de secreciones normales no requieren movimientos tusígenos para su eliminación.

VII.2.5.1. Propiedades reológicas. Estas propiedades de las secreciones bronquiales les permiten fijar las partículas y aislar al epitelio de las sustancias químicas, toda vez que a través de él

tienen poca difusión. También determinan los patrones de flujo. Hay numerosos estudios sobre estas propiedades de las secreciones bronquiales, pero pocas de ellas son confiables porque la técnica y los aparatos para medirlas no necesariamente son los más adecuados.

El primer problema lo constituye el pequeño volumen que se produce normalmente el cual es difícil de coleccionar por su viscosidad. Para facilitar se aplican sustancias irritantes o estímulos fisiológicos como prostaglandinas $F2\alpha$; sin embargo es cuestionable en que medida se alteran las propiedades de las secreciones. Otra forma de facilitar la colección de las secreciones es lavar la superficie de las vías respiratorias con solución salina. En estas condiciones como se diluyen las secreciones, las mediciones se hacen identificando las sustancias más características y se expresan en proporción con los gramos de peso seco. Otro problema es que son heterogeneas porque aún en las vías respiratorias el moco se desplaza en forma de acúmulos que no se mezclan con las secreciones serosas. Este problema se presenta en todos los estudios que se efectúan en secreciones respiratorias, incluyendo las nasales.

Algunos de los aspectos metodológicos que es indispensable considerar, de acuerdo con la revisión de López-Vidriero, Das y Reid (1977) son los siguientes:

- Someter a congelación rápida las muestras tan pronto se coleccionan, para evitar cambios inducidos por las enzimas que contienen, las de la saliva y las de células inflamatorias que estén presentes. Esto hace necesario que cuando se coleccionan cerca del enfermo se disponga de un recipiente con hielo seco para conservar los tubos.
- Evitar el uso de sustancias fluidificantes porque para que actúen se requiere una temperatura en la que pueden funcionar las enzimas; por otra parte en la medida en la que desnaturalizan las proteínas, y se modifica la estructura del moco, se tendrán

medidas repetibles pero que no necesariamente reflejan la naturaleza de las secreciones originales. Esto es especialmente importante en cuanto se refiere a las medidas de las propiedades reológicas que precisamente están dadas por la naturaleza bioquímica de las sustancias e incluso la proporción de las mismas. La temperatura a la que se hagan las mediciones las modifica de manera que la viscosidad de las secreciones aumenta al doble cuando la temperatura desciende de 37°C a 20°C.

- Una practica no recomendable, es juntar las secreciones de varias personas incluso enfermos, para tener una muestra de tamaño suficiente para las determinaciones. Estas determinaciones no tienen significado porque se han encontrada numerosas variaciones de las características de la secreciones de diferentes personas con una misma enfermedad y desde luego en diferentes enfermedades.
- Hay variaciones de estas propiedades y de la composición a lo largo del día, y del año. Las modificaciones son diferentes en distintas enfermedades y estado evolutivo de las mismas.
- La definición de la propiedad física que se va a medir debe ser precisa y haber congruencia entre ella y lo que mide el aparato usado. Entre las características del esputo que se han medido están la adhesividad, fluidez, permeabilidad, consistencia, capacidad de hidratación, viscosidad y elasticidad. Estas dos últimas tienen una definición física precisa y constituyen determinantes del comportamiento de las secreciones.
- La determinación de la viscosidad en una muestra modifica la estructura molecular de manera que no se puede repetir la lectura. Para verificar la calidad de la medida es menester usar alícuotas. Aun en estas condiciones hay diferencias promedio hasta de 30% entre lecturas.
- Para las determinaciones bioquímicas de la composición de las secreciones es factible usar sustancias que las homogenicen toda vez que no modifiquen las macromoléculas.

VII.2.5.2. Viscosidad. La definición y sus implicaciones en el comportamiento de las secreciones y otros materiales que la presentan son de gran trascendencia fisiológica. La viscosidad es la relación entre la deformación de un fluido y la magnitud de una fuerza tangencial que se le aplique. Se mide en poises que se definen como:

Viscosidad en poises =

Tensión de deslizamiento (dinas cm^{-2}) / tasa de tensión (seg.^{-1}).

Una sustancia ideal, definida como Newtoniana tiene la misma tensión independientemente del grado de deformación que se le imponga y esta tiene una relación lineal con la magnitud de la fuerza aplicada.

Las secreciones respiratorias no son líquidos Newtonianos y su viscosidad debe definirse dentro de un rango definido de fuerzas aplicadas, en un tiempo determinado. Modificando cada parámetro por separado se describe una serie de comportamientos diferentes como el flujo pseudo plástico en el que la viscosidad disminuye a medida que aumenta la fuerza tangencial que se le aplica. Otro comportamiento es el de tixotropía que es la cualidad por la cual disminuye la viscosidad con el reposo del fluido después de haber sido deformado. Todos los fluidos orgánicos estudiados hasta el momento muestran este comportamiento que en algunas condiciones es extremadamente conveniente, como es el caso de la estabilización del volumen alveolar ante diferentes gradientes de presión.

VII.2.5.3. Elasticidad. Es la propiedad física de un cuerpo de deformarse cuando se aplica una fuerza y retornar a su forma y volumen original cuando cesa de aplicarse. Los cuerpos elásticos ideales mantienen una relación lineal entre la fuerza aplicada y la deformación o cambio de volumen dentro de los límites de la deformación. Además la fuerza y deformación guardan la misma proporción cuando se esta aplicando la fuerza que cuando se libera y el cuerpo regresa a su posición de reposo. Las secreciones

respiratorias, el plasma y prácticamente todos los materiales, fluidos y tejidos que se han estudiado no tienen este comportamiento. Presentan una parte en la que hay un gran aumento de deformación por unidad de fuerza aplicada, después disminuye esta relación y si se continúa aumentando la fuerza no se observa más deformación.

La otra propiedad denominada histéresis consiste en que cuando cesa la aplicación de la fuerza, para un mismo grado de deformación es mayor la fuerza requerida. El registro de estas relaciones proporciona unas curvas en forma de S itálica que por la diferente relación en la distensión y el retorno a posición de reposo, forman un aro.

La posición, la pendiente y la amplitud del aro se modifican cuando se agregan sustancias como la urea, con cambios de pH, de temperatura, la proporción de diversos componentes y en diferentes enfermedades.

La implicación principal de este comportamiento es que una medida de la viscosidad y la elasticidad no es suficiente para describir las características físicas del sistema y se requiere efectuar diversas mediciones de manera de identificar el aro.

VII.2.5.4. Relaciones entre las secreciones bronquiales y la función respiratoria. Las propiedades reológicas de la expectoración se han correlacionado con diferentes aspectos de la función respiratoria como la mecánica respiratoria, la distribución del aire inspirado y el intercambio gaseoso. Feather y Russell (1970) encontraron que había una elevada correlación negativa entre la capacidad vital y el FEV1 y la viscosidad del esputo en sujetos con fibrosis quística y en asma. Hallazgos similares se han encontrado en sujetos con bronquitis (Polgar 1972, Chodosh 1973). López-Vidriero estudió durante varios días a una serie de sujetos con bronquitis; presentaban aumento de la viscosidad, y de los marcadores fucosa y ácido nramínico y disminución del FEV1 y de la CVF encontrando una correlación negativa significativa. En las diferentes observaciones apreciaron que estas alteraciones funcionales se

modificaban de acuerdo con los datos de inflamación medidos por los cambios en el esputo, y que no se manifestaban clínicamente. Se consideran estos hallazgos de especial trascendencia para la interpretación de los datos obtenidos en la presente investigación.

VII.2.6. MOVIMIENTO CILIAR. Los cilios son unas prolongaciones filamentosas de las células ciliadas, que se prolongan o proyectan hacia la luz bronquial, y la membrana que los cubre es una prolongación del resto de la membrana celular. Su estructura es similar en todas las especies y tipos de células ciliadas que se han estudiado, incluyendo cilios tan especializados y aparentemente diferentes como la cola de los espermatozoides. El patrón del movimiento y el mecanismo de control difieren en diferentes animales y distintos tejidos, constituyendo en cada caso un sistema estructurado como un conjunto (Bang 1977). Son fuertes en cuanto a la presión que pueden generar, pero relativamente frágiles ante las manipulaciones. Por ello Sleight (1977) plantea que es difícil definir cuantas de las descripciones que se ha hecho de sus funciones corresponden a la de los cilios intactos *in situ*.

El aparato respiratorio normal está cubierto desde la nariz hasta los bronquiolos terminales, por células ciliadas. Estas no se presentan en los bronquiolos respiratorios ni en los alvéolos.

Cada célula ciliada tiene de 200 a 300 cilios. Son estructuras cilíndricas que miden aproximadamente 0.25 micras de diámetro y 6 de largo. Se les describe la raíz, el cuerpo y la punta. El cuerpo tiene una estructura característica de 9 pares de túbulos periféricos y un par de túbulos centrales denominados A y B, con distinta estructura, que se inician en la raíz y se juntan en la punta. Cada par de túbulos periféricos tiene cuatro prolongaciones o brazos: uno, el más largo denominado en "eje de rueda" se proyecta del túbulo A hacia el centro y se pone en contacto mediante un engrosamiento terminal, con los dos brazos que tiene cada túbulo central que los rodean como una membrana. Otros dos brazos

laterales en forma se dirigen uno hacia el centro, sin entrar en contacto con los túbulos centrales y otro hacia la pared; el primero esta constituido por una proteína específica la dineína y el otro por tubulina. El otro filamento une a un par de túbulos con otro.

En la punta se juntan entre si los cilios de cada par, y luego todos incluyendo a los centrales. En la superficie hay tres prolongaciones como ganchos que se proyectan y se unen a la cubierta de moco. En la porción basal los cilios se dividen, en tres que se entrecruzan formando una red y se prolongan hacia el interior del cuerpo celular al cual quedan fijos. Las figuras VIII.1 y VIII.2, diseñadas y publicadas por Torres (1991) dan una idea de la estructura de los cilios.

Cada cilio tiene dos movimientos, uno rápido en el que se desplaza recto hacia delante, y otro en el que se dobla lentamente dirigiéndose hacia atrás; el primero es el que desplaza a las "balsas" de moco.

El movimiento mucociliar básicamente consiste en un mecanismo comparable a una banda de transporte, que esta constituida por el moco y que se desplaza por la acción motora de los cilios. El moco se ha descrito como una banda continua que recubre por completo la superficie interna de los bronquios, lo cual, como se ha mencionado en la sección anterior no es exacto. Sin embargo, el resultado es que se tiene una gran capacidad para la eliminación de las secreciones normales y las sustancias extrañas que desplazan desde el nivel de los bronquiolos terminales hasta la glotis donde habitualmente es deglutida (Sleigh A.M. 1977) Los ganchos de los cilios penetran a la superficie interna de la capa de moco y la desplazan en la dirección del movimiento rápido. Todos los elementos del cilio participan en su movimiento y cuando por alteraciones genéticas o manipulaciones bioquímicas se altera uno de ellos, por ejemplo el brazo de dineína, se presentan enfermedades respiratorias por alteración en la eliminación de las secreciones.

FIGURA 4

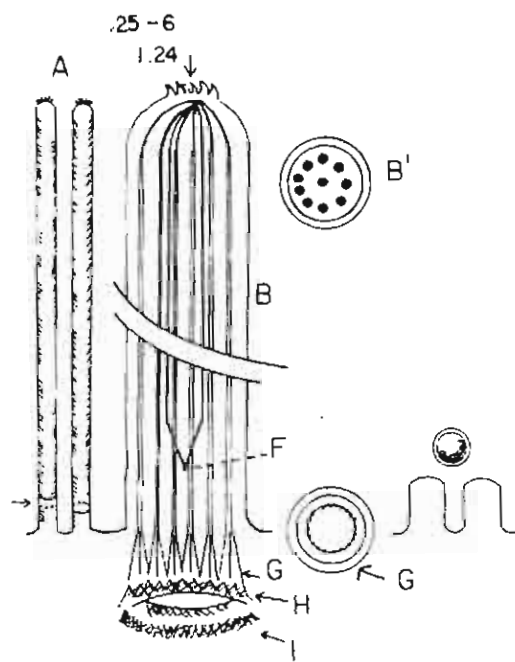
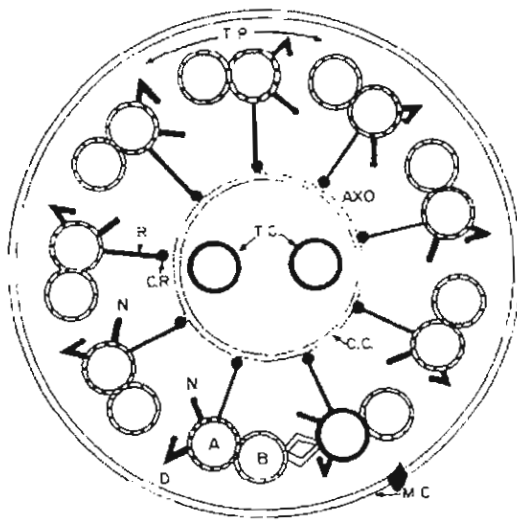


FIGURA 5



Los cilios, actúan en forma coordinada, y no tiene influencia del sistema nervioso. Se mueven en la misma dirección para una porción del sistema, en forma de ondas denominadas metacronales, que convergen hacia la porción proximal con respecto a la traquea; El movimiento tiene direcciones diferentes en distintos bronquios, hacia abajo en los superiores y hacia arriba en los inferiores, cuando el sujeto esta de pié; en todo caso, el resultado del movimiento es un desplazamiento centrípeto hacia la traquea en donde el movimiento es hacia arriba. La potencia del movimiento ciliar es capaz de generar en condiciones experimentales presiones hasta d 180 mmHg.

En la nariz el movimiento ciliar es hacia atrás, dirigiendo el moco hacia la rinofaringe. Se ha encontrado que los procesos inflamatorios modifican la estructura y función mucociliar a través de diversos mecanismos de acción. (Boots, 1992))

VII.2.7.Procesos de Rinitis y respuesta bronquial.

En los sujetos con aumento de la resistencia de las vías respiratorias, se encontró un aumento significativo de los procesos de rinitis; esto es importante porque la nariz es el primer nivel de defensa del aparato respiratorio y en ella se efectúan los procesos de acondicionamiento del aire; por tanto sus alteraciones pueden disminuir la eficiencia de los mecanismos fisiológicos nasales y favorecer las alteraciones bronquiales y pulmonares (Chodish 1973). En efecto, se ha identificado que existe relación entre los procesos inflamatorios nasales y el aumento de la resistencia de las vías respiratorias en sujetos humanos (Brandtzaeg P. 1992, Morrow P.E. 1977, Proctor D. 1986). Se ha demostrado que el mecanismo que produce la broncoconstricción en las vías inferiores, en parte es de tipo neurogénico (Goleen 1978); además la inflamación nasal produce hiperreactividad de las fibras musculares bronquiales y aumento de resistencia de las vías respiratorias (Baraniuk N.J.

1993, Mc Donald D.M. 1988). El mecanismo por el que se produce es la disminución de una encefalinasa (Jacoby D.B., 1988)

Hay diversos mecanismos para explicar los procesos inflamatorios nasales. De ellos se consideran los siguientes:

1. Que sean de tipo inflamatorio irritativo, producidos directamente por las sustancias contaminantes de la atmósfera, toda vez que se han demostrado tanto en animales como en humanos lesiones de la mucosa causadas por gases, en especial ozono.

2. Que se produzcan por una reacción alérgica hacia las sustancias contaminantes.

3. Que se deba a procesos infecciosos desencadenados por una disminución en la defensas de los tejidos, específicamente una disminución de la inmunoglobulina A secretoria (SIgA) causada o favorecida por estrés, por enfermedades concomitantes, desnutrición, y por el exceso de polvos y sustancias irritantes toda vez que la efectividad del movimiento mucociliar disminuye y llega a cesar cuando la sobrecarga de partículas es muy elevada.

En caso de que se trate de una infección, ésta puede producirse por dos mecanismos:

4. Proliferación exagerada de la flora endógena, que se comporta como "oportunista" como se ha observado en los casos en los que disminuyen las defensas locales y o generales del hospedero.

5. Existencia de infección por el arribo de gérmenes, diferentes a la flora endógena, de preferencia patógena.

6. Que prolifere la flora endógena y esto favorezca una sobre infección con gérmenes patógenos.

7. Que la rinitis sea producida por un proceso infeccioso asociado con una inflamación de tipo alérgico.

Para diferenciar estas posibilidades primeramente es necesario identificar el número de gérmenes que normalmente colonizan las fosas nasales en sujetos sanos. Estas observaciones constituyen la

base para comparar posteriormente las modificaciones cuantitativas y cualitativas que acontecen durante los procesos inflamatorios, Además es indispensable medir simultáneamente la concentración de IgA toda vez que de ella depende en gran parte la proliferación bacteriana.

VII.3. REFLEJOS: TOS Y ESTORNUDO.

Los reflejos respiratorios tienen gran importancia por la rapidez de la respuesta en situaciones que podrían ser mortales con una respuesta más lenta. (Widdicombe 1977) Hay mecano receptores y quimiorreceptores. Ambos reflejos se interpretan como protectores de la permeabilidad de las vías aéreas. Los fenómenos mecánicos en ambos son similares, aun cuando tienen diferencias importantes, especialmente en lo referente a los mecanismos de control. Se describirá principalmente la tos.

La tos es un movimiento complejo, que generalmente es un reflejo pero puede ser parcial o totalmente voluntario, en contraste con el estornudo que siempre es un reflejo involuntario. Es factible que el individuo pueda provocarse la tos, y drenar secreciones o no. La intensidad del movimiento algunas veces puede modificarse voluntariamente. Se presenta por tosidas aisladas o en forma de accesos. Su función fundamental es mantener la permeabilidad de las vías respiratorias. Esta relacionada con el proceso de eliminación de agentes nocivos que han penetrado al aparato respiratorio, como gases irritantes o cuerpos extraños; igualmente importante es la función de eliminar secreciones y expectoración, por lo que se presenta en todas la enfermedades respiratorias en las se la irritación bronquial aumenta la producción de moco e induce la aparición de células inflamatorias y descamadas. Puede ser irritativa sin que haya secreciones y en ese caso no cumple un propósito benéfico para el aparato respiratorio. Un descenso de la temperatura del aire inspirado y un aumento intenso del volumen pulmonar pueden desencadenar la tos. Algunas veces tiene origen

social y psicológico, llegando a constituir un hábito o un tic. Se presenta en condiciones en las cuales no hay alteración bronquial importante como en enfermedades de la pleura, en embolias pulmonares y en rinitis alérgica. También se presenta en neoplasias, neumoconiosis y enfermedades de la colágena

La intensidad de la tos no siempre tiene relación con la magnitud o tipo de las alteraciones estructurales o fisiológicas y el acostumbamiento al síntoma puede hacer que el enfermo indique no tener tos a pesar de que el explorador detecte en la exploración física, datos como la presencia de estertores (ruidos producidos por las secreciones que vibran dentro de las vías respiratorias). En estos casos el clínico bien entrenado efectuará las preguntas cruzadas y las maniobras necesarias para demostrar que existe el reflejo.

La existencia de tipos de tos muy diferentes entre sí, sugieren que dependen de la activación de distintos grupos funcionales o de la participación e interacción de más de un grupo de receptores, para un estímulo particular. Estas variaciones indican además que el mecanismo nervioso que controla la tos no implica una secuencia única de eventos prefijados, que se desencadenan en forma invariable ante un estímulo; sugieren más bien que existe un complejo neuronal que puede fraccionarse, recombinarse y modularse en diferentes formas, convenientes a la situación. También se hace evidente que el síntoma si bien es un reflejo protector en sentido amplio, puede ser indicador de que existen alteraciones en alguna parte del sistema, es decir indicar enfermedad.

Los receptores para la tos y para el estornudo se localizan en la nariz. Para la tos también hay receptores en la faringe, laringe, traquea y bronquios mayores. No tienen una estructura específica que los identifique, y los que funcionalmente se han identificado como tales, son terminaciones libres de fibras mielinizadas colocadas cerca de la superficie de la mucosa.

Las vías aferentes son las ramas sensitivas del neumogástrico y el glossofaríngeo. Existen neuronas relacionadas con estos reflejos, localizadas en el bulbo y que se han denominado centro tusígeno. Las vías eferentes descienden a las motoneuronas medulares cuyos impulsos van por los nervios motores a los órganos efectores que son diversos músculos respiratorios; el número que interviene y la intensidad de la contracción, se modifica de acuerdo con la intensidad del estímulo. El conjunto de músculos que pueden participar son los del tórax, de la cintura escapular, del abdomen, del dorso y los de las vías respiratorias; por esto se considera que aún cuando los estímulos que los producen son relativamente locales, toda vez que los receptores están localizados, sin embargo los efectores son muy amplios e incluso interfieren con la función de otros sistemas. Se han descrito como complicaciones de la tos, rupturas musculares, fracturas de costillas, colapso circulatorio por compresión de los vasos, pérdida de la conciencia por déficit circulatorio cerebral. Nótese que aun cuando la tos es un reflejo protector, constituye un síntoma que puede ser muy molesto y por ello se tiene la tendencia a eliminarlo, lo cual en principio es una conducta errónea.

El fenómeno de la tos, consiste en una inspiración profunda, seguida de una fase de apnea durante la cual la glotis esta cerrada, en tanto que se contraen los músculos espiratorios; esto produce una gran elevación de la presión intratorácica del orden de 60 a 100 mmHg. pero que puede llegar a 200 mmHg. Después de la fase de apnéa, se abre súbitamente la laringe y dada la gran diferencia de presión se produce una corriente aérea de cerca de 10 litros por segundo con una velocidad de 50 metros /seg. Se han comunicado durante la tos, velocidad del aire hasta de 1200 Km/hora. Esta corriente tan intensa arrastra las secreciones y cuerpos extraños que estén en la luz de las vías respiratorias.

El reflejo de la tos, como se ha mencionado es de muy diferentes tipos e intensidades. se considera una manifestación de un proceso

patológico o enfermedad, toda vez que cuando la cantidad y la calidad producción de secreciones es normal, se eliminan por el movimiento ciliar hasta la glotis, donde se degluten y no se presenta el reflejo. Por ello es un indicador de la activación de un reflejo ante el aumento de las secreciones producidas por la acción de los polvos y o alteraciones inflamatorias de origen químico o infeccioso. En cualquiera de estos casos, aparecen alteraciones en la pared bronquial, que disminuyen el radio y aumenta la resistencia de las vías respiratorias. Esto se manifestaría en las curvas flujo volumen por alteraciones de tipo obstructivo. Por este motivo en la presente investigación se incluye este mecanismo fisiológico de defensa entre las variables que se estudiarán.

El reflejo del estornudo se produce principalmente cuando el estímulo se presenta en la nariz. Generalmente es involuntario, difícil de controlar y tiene gran intensidad del flujo aéreo.

VII.4. SÍNTOMAS ASOCIADOS.

Los síntomas que se han mencionado, como el estornudo, la tos, la expectoración y las molestias nasales, se relacionan directamente con alteraciones del aparato respiratorio y actúan como mecanismos de defensa. Existen otros síntomas que se producen por alteraciones respiratorias pero no son propiamente mecanismos de defensa. Entre estos están:

La hemoptisis que es la expulsión de sangre del aparato respiratorio, traduce una alteración estructural de las vías respiratorias o del parénquima pulmonar. En general es un síntoma que alarma a la persona, quien puede acostumbrarse a toser y no acudir a consultar, pero expectorar o expulsar sangre, la lleva inmediatamente a buscar atención médica. En este sentido activa una conducta de defensa; no se analizará aquí porque es un síntoma que no se presenta en sujetos clínicamente sanos.

VII.4.1.DOLOR TORÁCICO. El dolor torácico que en la mayoría, del 60 a 80% de los sujetos que lo presentan, se produce por alteraciones óseas y musculares. El pulmón y las vías respiratorias inferiores no tienen innervación sensitiva y en consecuencia no producen dolor. Los bronquios mayores, la traquea, laringe y faringe si tienen amplia innervación sensitiva. El dolor torácico puede producir alteraciones restrictivas porque como un reflejo protector, cuando se presenta, la movilidad de esa parte del tórax disminuye.

VII.4.2.DISNEA. La disnea es la sensación de falta de aire que se presenta cuando la persona hace un esfuerzo al que esta acostumbrado. Es decir, es "normal" tener la sensación de falta de aire o respiración, cuando se hace un esfuerzo muy intenso, como correr o subir escaleras, a una velocidad superior a las acostumbradas. Pero se considera síntoma que traduce una modificación anormal de la estructura o la función del aparato respiratorio, cuando se presenta al efectuar una actividad a la cual estaba acostumbrado el sujeto, o sin relación con el esfuerzo como en el caso del asma. La disnea, en principio se origina y esta relacionada en forma directa, con el aumento del trabajo respiratorio. Este en principio se produce por disminución de la elasticidad de las estructuras tóraco pulmonares o por aumento de la resistencia de las vías respiratorias. Lo anterior puede acontecer por enfermedades o alteraciones propias del aparato respiratorio en todas sus partes, piel, esqueleto, pleuras, vías respiratorias y parénquima pulmonar. También pueden producirla cambios secundarios a enfermedades de otros sistemas, especialmente del cardiovascular, ya relacionada con congestión pulmonar pasiva o por hipertensión venosa secundaria a alteraciones valvulares. La fisiopatología del aumento del trabajo respiratorio por causas extra pulmonares esta fuera del contexto de esta investigación.

Sin embargo toda vez que, como se ha mencionado, este síntoma siempre implica aumento del trabajo respiratorio y esto ocurre cuando aumenta la resistencia de las vías respiratorias.

Se ha investigado la relación entre la magnitud de la sensación de falta de aire y diversas alteraciones fisiológicas normales y patológicas. Se ha encontrado que aumenta en proporción con la ventilación, con el consumo de oxígeno del organismo en general y con más precisión con el costo de oxígeno de la respiración, con el volumen pulmonar y con la sobrecarga del trabajo respiratorio. La relación con el aumento en el consumo de oxígeno por los músculos de la respiración o sea el costo de la respiración es uno de los que tiene una relación más cercana y se interpreta como un mecanismo de defensa, toda vez que la sensación hace que el individuo limite su esfuerzo y no lo lleve a un nivel en el que el aumento de la ventilación incurra por si misma en una deuda de oxígeno.

La sensación de falta de aire, definida como incapacidad respiratoria, se ha investigado ampliamente y hay diversos sistemas para estudiarla en sus diferentes aspectos. Así, se ha definido el umbral de percepción para los cambios en los diferentes aspectos mencionados, el incremento de la sensación con la de los cambios y la capacidad de discriminación entre las diferentes alteraciones que pueden producirla. Se han analizado estos problemas en trabajos anteriores (Torres 1991)

En sujetos enfermos con alteraciones mecánicas, como bronquitis o asma, la relación entre los cambios y la magnitud de la sensación de disnea, tiene un buen índice de correlación, pero no es lineal ni constante. Además en los enfermos crónicos se presenta adaptación y disminuye el umbral de percepción y la proporción entre el aumento de las alteraciones de la función Sin embargo se reconoce que las alteraciones de tipo obstructivo, detectadas con espirometría, curvas flujo volumen o cualquier otro método, guardan una relación casi lineal con la disnea. Por tanto es de gran

importancia el analizar este síntoma para interpretar la repercusión clínica de las alteraciones que se han detectado en la resistencia de las vías respiratorias mediante curvas flujo volumen en personas clínicamente sanas.

Sin embargo es necesario tomar en cuenta que la disnea en una elevada proporción de sujetos sanos, se presenta por alteraciones psicológicas, como ansiedad o nerviosismo. Esto debe considerarse interpretar el síntoma y su relación con las alteraciones de las curvas flujo volumen. Por ejemplo se ha descrito la presencia de disnea en sujetos obesos alteraciones obstructivas ni aumento del trabajo respiratorio (Sin D.D. 2002). En población abierta también se ha encontrado que la percepción no esta relacionada con la presencia, intensidad y duración de alteraciones del VEF1. (Melani A.S. 2003)

VII.5. MATERIAL Y MÉTODO PARA EL ESTUDIO DEL PERFIL CLÍNICO.

Se redactó un cuestionario cerrado con base en el formato de la historia clínica. Se hizo una prueba piloto confrontando el número de datos colectados con las preguntas abiertas habituales de una historia clínica y se encontró que el cuestionario cerrado incluía todos los datos que se colectaban con el método clínico tradicional.

VII.5.1. DESCRIPCIÓN DEL CUESTIONARIO.

El cuestionario clínico incluye datos que se relacionan de manera directa o indirecta con el aparato respiratorio. Se anota la razón por la cual se incluyó cada pregunta o grupo de ellas haciendo énfasis en su trascendencia sobre las curvas flujo volumen. Los cuestionarios iniciales indagaban aspectos que influyen directamente en el aparato respiratorio. A partir del grupo OTO 96 se incluyeron preguntas relacionadas con factores que se ha comunicado tienen influencia sobre la cantidad de inmunoglobulina A. Además la concentración de IgA se exploró porque su

concentración influye las demás variables, incluyendo posiblemente las curvas flujo volumen. Se prosiguió en la siguiente forma:

- 1). Datos generales del sujeto: Nombre, domicilio, teléfono y demás información que permitan localizarlo en caso de que se proyecte hacer un seguimiento; tipo de trabajo en el caso de los trabajadores y carrera que estudia en el caso de los estudiantes.
- 2). Datos antropométricos: Edad, estatura, peso y sexo.
- 3) Antecedentes deportivos que cuando son positivos incluyen: tipo de deporte que practica, tiempo que lo ha practicado, y frecuencia con la que lo practica expresado como horas semanales promedio.
- 4) Antecedentes personales que incluyen información respecto a: 1. tipo de nacimiento: normal o anormal ya sea cesárea o alguna otra anomalía toda vez que se ha comunicado que los sujetos que nacen en parto distócico o cesárea, presentan mayor susceptibilidad para desarrollar enfermedades respiratorias. 2. lactancia materna puesto que se ha publicado que la IgA en la leche materna protege al lactante de las infecciones. 3. Enfermedades respiratorias "graves" y en caso positivo el diagnóstico, toda vez que los procesos infecciosos severos en la infancia, suelen dejar secuelas que hacen que el individuo sea más susceptible a padecer infecciones respiratorias.
- 7) Tabaquismo: en caso afirmativo, tiempo que fuma y cantidad promedio de cigarrillos fuma al día.
- 8) Rinitis: Número que presenta al año y si ha notado aumento de la frecuencia, en el último año.
- 9) Síntomas del aparato respiratorio que incluye: si presenta tos y en caso afirmativo, a que hora la presenta, si es productiva y el color de la expectoración. Si tiene disnea y en caso afirmativo duración del síntoma y causa que la produce. Molestias de la nariz como ardor o hipersecreción sin tener catarro. Presencia de alguna molestia del aparato respiratorio que no se hubiera preguntado.

10) Síntomas de procesos infecciosos o inflamatorios que involucren otras mucosas y que pueden influir sobre la concentración de IgA de las mucosas y probablemente la IgA nasal.

11) Factores de los que se ha comunicado que modifican la concentración de inmunoglobulina A en las mucosas, tales como: Presencia de acné; enfermedad infecciosa relativamente reciente y su tratamiento. Inmunizaciones recibidas en la infancia y en etapas ulteriores de la vida.

12) Estado de ánimo habitual y en el día del estudio. Se ha publicado que un ánimo positivo cursa con aumento de la concentración de IgA en la saliva y en la leche.

13) Fecha de la última regla para calcular la fase del ciclo menstrual en la que se encuentra. La IgA en saliva aumenta durante la fase de progesterona con respecto a la fase folicular.

14) Si ha efectuado ejercicio el día del estudio, antes de acudir al laboratorio; se ha descrito aumento de la IgA en los sujetos que hacen ejercicio como entretenimiento o sin tensión y el efecto opuesto en el caso del ejercicio acompañado de estrés, como es el caso de las competencias.

VII.5.2. Técnica y orden para efectuar los procedimientos.

Las maniobras se hicieron fueron las siguientes:

1. Los sujetos llegaron porque previamente se había hecho la invitación a todo el grupo y se les había explicado la importancia de la investigación a nivel social y también personal. Cuando se presentaron, se les informó en términos generales lo que iban a hacer y se les dio la hoja de consentimiento informado en la cual se especifican las maniobras además de informar que no implican ninguna molestia ni peligro. Se les animó para que cooperaran con entusiasmo y demostraran que "soplaban muy bien".

2. El orden subsiguiente no fue definido y ocurrió en forma variada dependiendo de los objetivos del estudio de ese grupo y del número de estudiantes que acudieron simultáneamente, en general llegaban de 3 a 6. Cuando se incorporó la toma de muestras, primero para el estudio bacteriológico y después para las determinaciones de IgA se organizó para que no llegaran más de 4 y permanecieran sentados, lejos del área de toma de las muestras. Habitualmente mientras unos contestaban el cuestionario a otros se les hacía la curva flujo volumen.

3. Cuando solicitaron aclaraciones referente a alguna pregunta, se les contestó pero tratando de no inducir la respuesta. Se solicitó a todos los sujetos que anotaran NO o SI, pero que contestaran todas las preguntas. Como se indica en los criterios de inclusión, en la investigación solamente se analizan los datos de sujetos que se consideraban a si mismos sanos.

4). Antes de efectuar las curvas flujo volumen, se pesó y midió al sujeto; estando descalzo y con la ropa básica. No se hizo corrección por el peso de la ropa. Se efectuó el estudio por lo menos 60 minutos después de que el sujeto llegó a la Universidad, por que en este tiempo se ha efectuado una mezcla adecuada del aire ambiente con el del aparato respiratorio, como se ha mencionado en la sección anterior (Britton J 1997).

VII.6- RESULTADOS DEL ESTUDIO CLÍNICO.

Se estudiaron los datos clínicos de 14 grupos que dieron un total de 1010 cuestionarios. Dado que se incorporaron nuevas preguntas por las razones expuestas en el método, no todos tienen los mismos datos. Los datos generales de los sujetos se presentan en las Tablas 55 y 56. Solo se incluyen los del primer estudio; en los datos clínicos generales no hay variaciones significativas entre las distintas observaciones.

TABLA 55

CARACTERÍSTICAS GENERALES							
GRUPO	# ESTUDIOS	Dx CFV	MUJER	VARÓN	EDAD	PESO	ESTATURA
OTO 91	NORMALES	56	13	43	24 (6.3)	68 (9.5)	170 (9.4)
	ANORMALES	37	33	4	23 (9.2)	57 (7.2)	159 (8.3)
PRI 92	NORMALES	55	10	45	24 (8.2)	67 (12)	168 (8)
	ANORMALES	60	32	28	22 (5.2)	62 (13.3)	164 (10)
OTO 92	NORMALES	56	27	29	23 (6.6)	62 (8.8)	163 (8.7)
	ANORMALES	74	54	20	21 (4.2)	60 (12)	161 (9.7)
PRI 93	NORMALES	18	6	12	34 (8.4)	64 (9)	162 (7)
	ANORMALES	12	7	5	25 (11)	68 (18)	163 (7)
PRI 94	NORMALES	54	17	37	23 (6.4)	65 (12)	167 (7)
	ANORMALES	29	19	10	26 (8.5)	62 (9)	163 (7)
OTO 94	NORMALES	57	23	34	23 (6.2)	62 (10.5)	165 (9.4)
	ANORMALES	53	38	15	22 (7.7)	59 (11.4)	161 (9.4)
PRI 96	NORMALES	24	6	18	24 (5.6)	65 (11)	168 (8.5)
	ANORMALES	36	28	8	23 (7.6)	61 (9.5)	161 (9.7)
OTO 96	NORMALES	44	15	29	24 (5.5)	64 (11)	166 (9.1)
	ANORMALES	46	39	7	22 (2.2)	59 (11)	158 (8.2)
PRI 97	NORMALES	20	14	6	40 (13.4)	66 (13)	162 (9)
	ANORMALES	37	27	10	29 (13.7)	62 (12)	161 (9)
OTO 97	NORMALES	4	4	0	24 (5.3)	71 (11.6)	156 (8.3)
	ANORMALES	16	12	4	23 (3.6)	57 (10)	157 (6.6)
INV 97	NORMALES	18	11	7	30 (16)	65 (12.4)	162 (9.5)
	ANORMALES	43	33	10	24 (10.3)	61 (9.4)	161 (9.3)
OTO 98	NORMALES	2	0	2	21 (0)	55 (10.6)	163 (9)
	ANORMALES	9	4	5	21 (3)	64 (18.5)	164 (10)
INV 99	NORMALES	6	2	4	28 (9.3)	77 (10.4)	171 (10)
	ANORMALES	9	5	4	29 (14)	62 (13)	165 (10)
		875	479	396	64.8; 161.4		

TABLA 56

**RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS
SUJETOS ESTUDIADOS Y Dx CURVA FLUJO VOLUMEN**

CARACTERÍSTICA	Anormales	Normales	Total
HOMBRES	130 = 33%	266 55%	396=453
MUJERES	331 =69%	148	479=55.
PESO Kg	54.7	65	
EDAD	26	24	
ESTATURA	161.4	164.8	

Además de estas características se anota que en el 80% los sujetos eran estudiantes de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, especialmente de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, principalmente de las Carreras de Medicina Enfermería, Químico farmacéutico Biólogo. Eran trabajadores administrativos y docentes el 15% y el resto eran estudiantes o profesores de otras divisiones. Se incluyeron 4 personas docentes que asistían a impartir cursos pero que no eran personal de base de la Universidad. Se acepta que esta composición de la muestra limita la validez externa de la investigación.

VII.6.1. Características generales del grupo estudiado.

En la Tabla 55 se puede apreciar que predominan las mujeres respecto a los hombres y que en ellas la proporción de personas anormales con base en el diagnóstico de las curvas flujo volumen es significativamente mayor que en los hombres.

El peso es mayor en los sujetos normales, pero este dato puede estar sesgado con base en que en este grupo hay una mayor proporción de varones. Lo mismo puede

La edad no tiene diferencia significativa entre sujetos normales y anormales.

VII.6.2. ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLÓGICOS.

Antecedentes Deportivos. Del total de sujetos estudiados en los que se indagó este dato, dijeron practicar algún deporte 152 sujetos con CFV normal y 140 anormal. La proporción de sujetos que practicaban deporte fue significativamente mayor entre los sujetos que tuvieron curvas flujo volumen normales. Los datos generales se presentan en la Tabla 57.

Se presentan tablas de contingencia con datos de 4 grupos con base en las cuales se calculó Chi cuadrada la cual en todos los grupos mostró que la diferencia era estadísticamente significativa.

Los deportes que practicaron con más frecuencia se presentan en la Tabla 58. El tipo y el tiempo de práctica deportiva no tuvieron correlación con los hallazgos de las curvas flujo volumen.

TABLA 57
RELACIÓN ENTRE PRACTICA DE DEPORTE
Y Dx CURVA FLUJO VOLUMEN.

PRI94	No Deporte	Si Deporte	Total
ANORMAL	9 69.23	4 30.77	13
NORMAL	4 14.81	23 85.19	27
	13	27	40
	Chi Cuadrada	Probabilidad	
Índice de similitud	11.746	0.0006	
Pearson	11.84	0.0006	
PRI92	No Deporte	Si Deporte	Total
ANORMAL	29 50.88	28 49.12	57
NORMAL	18 32.14	38 67.66	56
	47	66	113
	Chi Cuadrada	Probabilidad	
Índice de similitud	4.111	0.0426	
Pearson	4.081	0.0434	
OTO92	No Deporte	Si Deporte	Total
ANORMAL	45 68.18	31 31.82	66
NORMAL	44 67.69	21 32.31	65
	89	42	131
	Chi Cuadrada	Probabilidad	
Índice de similitud	0.004	.9952	
Pearson	0.004	0.952	

TABLA 58

GRUPO	DxCFV	# Dx	NO DEP	DEP	T DEP	Hr DEP	TIPO DEPORTE				
							CORRER	CAMINAR	GIMNASIA	VOLIBALL	BASQU
PRI 92	NORMAL	56	18 (32%)	38 (68%)							
	ANORMAL	57	29 (51%)	28 (49%)							
OTO 92	NORMAL	65	44 (68%)	21 (32%)							
	ANORMAL	67	45 (67%)	22 (33%)							
PRI 94	NORMAL	27	4 (15%)	23 (85%)	5.8 (5.8)	6.5 (7.8)	6 (26%)	5 (22%)	2 (9%)	1 (4%)	0
	ANORMAL	13	9 (69%)	4 (31%)	5.6 (7.2)	5 (4.4)	0	2 (50%)	1 (25%)	0	1 (25%)
OTO 94	NORMAL	28	10 (35%)	18 (65%)	4.8 (3.6)	5.5 (4.8)	4 (22%)	4 (22%)	8 (44%)	1 (6%)	0
	ANORMAL	19	4 (21%)	15 (79%)	4.9 (4.1)	6.2 (4.2)	4 (27%)	3 (20%)	2 (13%)	0	3 (20%)
OTO 96	NORMAL	44	15 (34%)	29 (66%)	40 (38.5)	4.8 (4.4)	1 (4%)	9 (31%)	9 (31%)	5 (17%)	0
	ANORMAL	59	32 (54%)	27 (46%)	18.4 (24.4)	4.7 (4.4)	8 (30%)	4 (15%)	4 (15%)	0	2 (7%)
PRI 97	NORMAL	20	12 (60%)	8 (40%)	6.8 (3.8)	3 (1.7)	4 (50%)	2 (25%)	2 (25%)	0	0
	ANORMAL	51	32 (63%)	19 (37%)	6 (8.5)	4.4 (3)	3 (16%)	6 (32%)	5 (26%)	4 (21%)	1 (5%)
OTO 97	NORMAL	4	4 (100%)	0	-	-	-	-	-	-	-
	ANORMAL	16	9 (56%)	7 (44%)	24.1 (12.2)	8.1 (6.2)	1 (14%)	0	3 (43%)	2 (29%)	1 (14%)
INV 97	NORMAL	21	6 (28%)	15 (72%)	5 (5)	4.2 (3.1)	5 (33%)	5 (33%)	2 (13%)	1 (7%)	1 (7%)
	ANORMAL	39	21 (54%)	18 (46%)	5 (4.7)	4.4 (2.8)	6 (33%)	1 (6%)	5 (28%)	0	2 (10%)

El tiempo durante el cual habían practicado deporte fue en promedio fue de 5 años con rango de 1 a 7 años. Las horas semanales fue de 4 por semana son rango de 2 a 8. Los deportes practicados con mayor frecuencia fueron carrera, caminata y gimnasia. No tuvieron relación con los resultados de las curvas flujo volumen.

VII.6.2.2. Tipo de nacimiento y lactancia materna. En el cuestionario se presentaron como opciones, el nacimiento por parto normal, por parto anormal, por cesárea y la posibilidad que lo ignorara. En la tabla VIII.5 se aprecian los datos de 5 trimestres en los que se contestaron estas preguntas; se encontró, que los sujetos que tuvieron nacimiento normal tienen menos frecuencia de anomalías en las curvas flujo volumen que los que tuvieron nacimiento por parto anormal o por cesárea. Esto esta acorde con lo comunicado respecto a que los sujetos que nacen en parto distócico o cesárea, presentan mayor susceptibilidad para desarrollar enfermedades respiratorias. En este caso solamente sería, alteraciones fisiológicas de la mecánica respiratoria a nivel subclínico.

TABLA 59
RELACIÓN ENTRE TIPO DE NACIMIENTO Y Dx. CFV

GRUPO	Dx CFV	CFV	NACIMIENTO			
			NORMAL	ANORMAL	CESAREA	OTROS
OTO 96	NORMAL	44	36 (82%)	5 (11%)	3 (7%)	0
	ANORMAL	59	48 (82%)	2 (3%)	9 (15%)	0
PRI 97	NORMAL	20	17 (85%)	2 (10%)	1 (5%)	0
	ANORMAL	51	42 (82%)	4 (8%)	5 (10%)	0
OTO 97	NORMAL	4	2 (50%)	2 (50%)	0	0
	ANORMAL	16	13 (81%)	0	0	3 (19%)
INV 97	NORMAL	21	19 (90%)	0	2 (10%)	0
	ANORMAL	39	35 (90%)	1 (2%)	3 (8%)	0
OTO 98	NORMAL	2	2 (100%)	0	0	0
	ANORMAL	9	9 (100%)	0	0	0

Respecto a la lactancia materna, esta documentado que protege al lactante de enfermedades respiratorias (Cravioto 1995) en especial infecciosas, dado que contiene anticuerpos, principalmente inmunoglobulinas, específicas

contra los microorganismos del ambiente. En la Tabla 60 se aprecia que en algunos grupos fue muy superior el número de personas que recibieron lactancia materna y tenían curva flujo volumen normal, pero en otros grupos esta relación no se presentó. Esto puede relacionarse con el hecho de que la IgA de la leche materna tiene menos cantidad de IgA cuando la actitud de la madre hacia el lactante era negativa. Este dato no se puede investigarse con nuestra herramienta.

TABLA 60
RELACIÓN ENTRE LACTANCIA MATERNA Y
Dx. CURVA FLUJO VOLUMEN.

GRUPO	Dx CFV	CFV	LACTANCIA MATERNA		
			SI	NO	NO SABE
OTO 96	NORMAL	44	37 (84%)	3 (7%)	4 (9%)
	ANORMAL	59	46 (78%)	11 (19%)	2 (3%)
PRI 97	NORMAL	20	18 (90%)	2 (10%)	0
	ANORMAL	51	31 (61%)	16 (31%)	4 (8%)
OTO 97	NORMAL	4	3 (75%)	1 (25%)	0
	ANORMAL	16	14 (87%)	2 (13%)	0
INV 97	NORMAL	21	16 (76%)	5 (24%)	0
	ANORMAL	39	35 (90%)	1 (2%)	3 (8%)
OTO 98	NORMAL	2	2 (100%)	0	0
	ANORMAL	9	9 (100%)	0	0

VII.6.2.3. Tabaquismo. Es del dominio común y aceptado incluso a nivel legal, la influencia deletérea del hábito de fumar en la salud en general y especialmente en el aparato respiratorio. Por ello esta pregunta se formuló al total de los grupos estudiados y en caso afirmativo se indagó el tiempo durante el cual había fumado, y la cantidad promedio cigarrillos fumados al día. Los datos se presentan en la TABLA 61 en la que puede apreciarse que

el tiempo promedio en el que han fumado en todos los casos fue menor a 35 meses o sea a tres años. También se observó que en la mayoría de los grupos el número de cigarrillos fumados es menor de 10 al día.

Además se aprecia que el número de sujetos fumadores con curva flujo volumen anormal no es muy diferente de la observada en sujetos no fumadores.

TABLA 61
RELACIÓN ENTRE TABAQUISMO Y
DIAGNÓSTICO DE CURVAS FLUJO VOLUMEN

ANTECEDENTES PREDISPONENTES A ENFERMEDADES RESPIRATORIAS						
GRUPO	Dx CFV	Dx CFV	TABACO		TIEMPO TABA	# Ciga
			SI	NO		
OTO 91	NORMAL	49	7 (13%)	49		
	ANORMAL	8	29 (78%)	8		
PRI 92	NORMAL	56	25 (45%)	31	35	9
	ANORMAL	57	25 (44%)	32	38	9
OTO 92	NORMAL	65	20 (31%)	45	28	6
	ANORMAL	67	22 (33%)	45	23	10
PRI 93	NORMAL	18	9 (50%)	9	6	10
	ANORMAL	12	8 (67%)	4	14	9
PRI 94	NORMAL	27	12 (44%)	15	4	5
	ANORMAL	13	1 (8%)	12	6	20
OTO 94	NORMAL	28	15 (54%)	13	5	6
	ANORMAL	19	6 (32%)	13	8	11
PRI 96	NORMAL	24	7 (29%)	17		
	ANORMAL	36	10 (28%)	26		
OTO 96	NORMAL	44	16 (36%)	28	7	5
	ANORMAL	59	13 (22%)	46	5	4
PRI 97	NORMAL	20	5 (25%)	15	12	6
	ANORMAL	51	10 (20%)	41	12	11
OTO 97	NORMAL	4	0	4	0	0
	ANORMAL	16	5 (31%)	11	23	6
INV 97	NORMAL	21	6 (29%)	15	3	4
	ANORMAL	39	9 (23%)	30	8	6

Estos datos explican que el análisis estadístico que se presenta en la TABLA 62, mostrara que las diferencias no son estadísticamente significativas. En las estadísticas mundiales, la diferencia en la frecuencia de cáncer entre

fumadores y no fumadores aparece cuando el número de cigarrillos fumados al día es de 10 o más. El tiempo de fumar modifica la frecuencia de aparición de cáncer, solamente cuando el hábito tiene 5 años o más de duración. (Brown K.L. 1995)

TABLA 62
RELACIÓN ENTRE TABAQUISMO Y
Dx CURVA FLUJO VOLUMEN.

PRI94	No FUMAN	Si FUMAN	Total
ANORMAL	1 7.69	12 12.31	13
NORMAL	13 48.15	14 85.19	27
	14	26	40
	Chi Cuadrada	Probabilidad	
Indice de similitud	7.352	0.00067	
Pearson	6.313	0.012	
PRI 92	No FUMAN	Si FUMAN	Total
ANORMAL	32 56.14	25 43.86	57
NORMAL	25 44.64	31 55.36	56
	57	56	113
	Chi Cuadrada	Probabilidad	
Indice de similitud	1.497	0.221	
Pearson	1.494	0.2216	
OTÓ 92	No FUMAN	Si FUMAN	Total
ANORMAL	45 68.18	21 31.82	66
NORMAL	45 69.23	20 30.67	65
	90	41	131
	Chi Cuadrada	Probabilidad	
Indice de similitud	0.017	0.897	
Pearson	0.017	0.897	

VII.6.3. ANTECEDENTES PERSONALES PATOLÓGICOS.

Se indagaron los referentes a enfermedades respiratorias que se hubieran considerado graves, las rinitis y los síntomas respiratorios actuales.

Los datos de enfermedades respiratorias "graves" se investigaron porque los procesos infecciosos severos en la infancia, suelen dejar secuelas que hacen que el individuo sea más susceptible a padecer infecciones respiratorias.

En la TABLA 63 se presentan estos datos en la primera columna. Se aprecia que no tuvieron mayor frecuencia entre los individuos cuya curva flujo volumen era anormal y los que la tenían normal. Puede concluirse que en este grupo no hubo influencia significativa de estas enfermedades en la susceptibilidad de las personas al o los agentes que produjeron las alteraciones que se reflejan en la curva flujo volumen.

TABLA 63
RELACIÓN ENTRE ANTECEDENTE DE ENFERMEDADES
RESPIRATORIAS Y RINITIS CON EL
DIAGNÓSTICO DE CURVAS FLUJO VOLUMEN

ANTECEDENTES PREDISPONENTES A ENFERMEDADES RESPIRATORIAS								
GRUPO	Dx CFV	Dx CFV	ANT PATO		# CATA	IncreCata		CataAc
			SI	NO		SI	NO	
PRI 92	NORMAL	56	12 (21%)	44	3	21 (38%)	33	
	ANORMAL	57	10 (18%)	47	3	9 (16%)	48	
OTO 92	NORMAL	65	8 (12%)	57	3	14 (22%)	51	
	ANORMAL	67	17 (25%)	50	4	32 (48%)	35	
PRI 93	NORMAL	18			2			
	ANORMAL	12			3			
PRI 94	NORMAL	27	8 (30%)	19	3	9 (33%)	18	3
	ANORMAL	13	2 (15%)	11	3	8 (62%)	5	4
OTO 94	NORMAL	28	2 (7%)	26	2	6 (21%)	14	3
	ANORMAL	19	6 (32%)	13	2	12 (63%)	7	4
OTO 96	NORMAL	44	8 (18%)	36	3	13 (30%)	31	3
	ANORMAL	59	14 (24%)	45	3	25 (42%)	34	3
PRI 97	NORMAL	20	7 (35%)	13	5	4 (20%)	16	1
	ANORMAL	51	8 (16%)	43	3	10 (20%)	41	1
OTO 97	NORMAL	4	2 (50%)	2	3	3 (75%)	1	4
	ANORMAL	16	6 (38%)	10	4	6 (38%)	10	4
INV 97	NORMAL	21	2 (10%)	19	3	9 (43%)	12	4
	ANORMAL	39	11 (28%)	28	3	17 (44%)	22	4

VII.3.2. Rinitis. En cuanto a las rinitis se dio gran importancia a éste análisis porque hay numerosos mecanismos por los cuales los procesos inflamatorios nasales pueden influir en las respuestas bronquiales favoreciendo la aparición de alteraciones de tipo obstructivo. Los datos se presentan en la TABLA 63 en la que se aprecia que la diferencia entre los sujetos con curva flujo volumen anormal y los que la tenían normal es poco significativa. El análisis estadístico confirma esta impresión. Al respecto el único dato con leve significado estadístico es que los sujetos con alteraciones obstructivas habían notado aumento de la frecuencia de rinitis.

TABLA 64
SÍNTOMAS RESPIRATORIOS Y RELACIÓN CON EL DX DE LA
CURVA FLUJO VOLUMEN

GRUPO	Dx CFV	Dx CFV	TOS		DISNEA		EXPECT		COLOR EXPECT					
			SI	NO	SI	NO	SI	NO	NO SABE	1	2	3	4	5
PRI 92	NORM	56	11 (20%)	45	25 (45%)	31								
	ANORM	57	15 (26%)	42	18 (32%)	39								
OTO 92	NORM	65	11 (17%)	54	21 (32%)	44								
	ANORM	67	21 (31%)	46	33 (49%)	34								
PRI 94	NORMAL	27	5 (19%)	22	11 (40%)	16								
	ANORM	13	7 (54%)	6	3 (23%)	10								
OTO 94	NORM	28	3 (11%)	25	14 (50%)	14	2 (7%)	26	0	1	1	0	0	0
	ANORM	19	9 (47%)	10	11 (58%)	8	4 (21%)	15	0	3	1	0	0	0
OTO 96	NORM	44	14 (32%)	30	16 (36%)	28	14 (32%)	30	2	6	1	4	0	1
	ANORM	59	12 (20%)	47	26 (44%)	33	12 (20%)	47	3	5	3	0	1	0
PRI 97	NORM	20	5 (25%)	15	5 (25%)	15	15 (75%)	5	1	1	1	2	0	0
	ANORM	51	11 (22%)	40	21 (41%)	30	6 (12%)	45	0	3	1	0	2	0
OTO 97	NORM	4	1 (25%)	3	2 (50%)	2	1 (25%)	3	0	1	0	0	0	0
	ANORMAL	16	5 (31%)	11	8 (50%)	8	5 (31%)	11	1	1	2	1	0	0
INV 97	NORM	21	8 (38%)	13	9 (43%)	12	8 (38%)	13	0	5	2	1	0	0
	ANORM	39	7 (18%)	32	15 (38%)	24	8 (21%)	31	0	3	5	0	0	0

Color de la expectoración. 1. Mucoso. 2. Ligeramente purulento. 3. 30% Purulento. 4) 60% Purulento. 5. 100% Purulento.

VII.3.3. Síntomas Respiratorios. Como se ha indicado en las consideraciones teóricas, se interrogaron los síntomas respiratorios a pesar de que todos los sujetos incluidos se consideraban sanos. Pero con frecuencia las personas se acostumbran a los síntomas y no son concientes de tenerlos. En este caso sucedió así; un número significativo de sujetos presentó tos, sin embargo la frecuencia del síntoma entre los que tenían CFV normales y anormales no fue significativamente diferente.

La disnea en cambio si fue significativamente diferente con una Chi cuadrada de 0.018. También presentó relación inversa con el FEV1. Se analizó la presencia de expectoración, de acuerdo con la clasificación de Jones y también se encontró correlación positiva.

Finalmente en la Tabla 65, se aprecia una elevada frecuencia de síntomas de irritación de la nariz y los ojos, sin que exista correlación con las alteraciones de las curvas flujo volumen.

TABLA 65
SÍNTOMAS DE IRRITACIÓN DE MUCOSAS

GRUPO	Dx CFV	Dx CFV	OJOS		NARIZ	
			SI	NO	SI	NO
PRI 92	NORMAL	56	12 (21%)	44	19 (34%)	37
	ANORMAL	57	11 (19%)	46	13 (23%)	44
OTO 92	NORMAL	65	11 (17%)	54	12 (18%)	53
	ANORMAL	67	19 (28%)	48	18 (27%)	49

VII.4. CONCLUSIONES DE LA RELACIÓN ENTRE DATOS CLÍNICOS Y CURVAS FLUJO VOLUMEN.

Los diferentes hallazgos mencionados, en los que se ha encontrado una correlación entre diversos datos clínicos y las curvas flujo volumen, muestran que tampoco desde el punto de vista clínico los sujetos eran "sanos". Estos datos indican que examinados con detalle, los sujetos aparentemente sanos incluidos en esta investigación, tenían antecedentes predisponentes a desarrollar enfermedades respiratorias, incluyendo hiperreactividad bronquial. También presentaban síntomas respiratorios. Esto sugiere la necesidad de un estudio longitudinal para precisar el pronóstico de estas alteraciones.

VIII. LA DEFENSA INMUNE: INMUNOGLOBULINA A NASAL.

Los mecanismos de defensa inmunológicos comprenden dos grupos: la respuesta inespecífica en la cual intervienen los fenómenos de la reacción inflamatoria y la respuesta específica que implica fundamentalmente el reconocimiento de una sustancia como extraña denominada antígeno y la respuesta del organismo que consiste en la formación de anticuerpos.

La respuesta inmune, en especial en los tegumentos y las mucosas tiene transcendencia fundamental porque limita la entrada de sustancias al organismo y cuando penetran microorganismos, los mata o los elimina. Por la importancia de las reacciones inmunes, especialmente las de la IgA se consideró necesario investigar sus características cuantitativas de este anticuerpo y su relación con las alteraciones de la mecánica respiratoria en sujetos sanos.

Las cantidades y concentraciones de IgA nasal, comunicadas por diversos autores, tienen una dispersión muy amplia. Por ello se revisaron y se discuten los datos publicados respecto a las variaciones relacionadas con el método usado para coleccionar la muestra y para medirla, toda vez que parte de la dispersión puede ser metodológica. Además se revisaron las diversas condiciones fisiológicas y patológicas que influyen en la respuesta inmune en general y la concentración de IgA específicamente. Los datos obtenidos de esta revisión se tomaron en consideración para el diseño del método usado en esta investigación para medir la IgA.

En el cuestionario clínico se incluyeron preguntas respecto a los factores que influyen en la respuesta inmune y cuyo conocimiento fortalece el análisis y la interpretación de los datos obtenidos. También se investigaron los factores que pueden influenciar la correlación de la IgA nasal, con las alteraciones de la mecánica respiratoria (Ramírez Z.S. 1996, Aufricht C.1992)

Objetivos específicos de esta Sección.

Con base en estos datos se planteó en esta investigación hacer una determinación cuantitativa de la Inmunoglobulina IgA nasal con los siguientes propósitos:

1. Seleccionar y diseñar en su caso, el método y la técnica más adecuada para el estudio cuantitativo de la IgA nasal, con énfasis en la toma de la muestra.

1. Analizar las diferencias en la cantidad de IgA nasal, entre los sujetos clínicamente sanos, que presentan curvas flujo normales y quienes las tienen anormales.

3. Identificar las relaciones que puedan existir entre la concentración de IgA nasal y: a) El ciclo menstrual. B) La hora del día (ritmos circadiano).

4. Definir la constancia de la cantidad de IgA nasal en un sujeto estudiado durante varios días. Los propósitos anteriores se enmarcan en los conceptos básicos de la reacción inmune general y de las características específicas de la respuesta inmune de las mucosas.

Se revisan los conceptos generales de inmunología y se presentan en el Texto Anexo

VIII.1. SISTEMA INMUNE DE LAS MUCOSAS.

La inmunoglobulina A (IgA) es el mecanismo inmunológico más importante de las mucosas. Estudios clínicos y experimentales han demostrado que existe un sistema inmune común para las mucosas, que tiene diferencias importantes con el sistema inmune general, en su especificidad, y los mecanismos de regulación en los receptores y los efectores (Tomasi B. T.1994). Se ha identificado el tejido linfático asociado con las mucosas de los bronquios (BALT: **B**ronchial **A**ssociated **L**ymphoid **T**issue)(Bienenstock 1984). y el asociado con el aparato digestivo (GALT: **G**ut **A**ssociated **L**ymphoid **T**issue). Este tejido linfático forma una unidad funcional con el epitelio para la respuesta inmune.

Se ha observado que es posible inducir a las células epiteliales del intestino para que produzcan moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) tipo II mediante el contacto con el interferón gama; sin embargo no hay evidencias experimentales de que estas células sean capaces de actuar como presentadoras del antígeno y de estimular a los linfocitos B. Es más probable que las células estimuladas en los ganglios mesentéricos regresen a poblar las placas de Peyer a la submucosa y a la lámina propia. Algunos

linfocitos pueden regresar a los ganglios linfáticos mesentéricos y por esa vía llegar a la circulación sistémica. Así, se aprecia que los compartimentos del sistema inmune de las mucosas están conectados ampliamente con la circulación sistémica y en esa forma se comunican entre sí. La mayor parte de los antígenos que se administran por vía oral, entran desde la luz intestinal hacia los vasos linfáticos por lo cuales llega a los ganglios linfáticos mesentéricos, donde se inicia la respuesta inmune generalizada.

VIII 2. RESPUESTA INMUNE DEL APARATO RESPIRATORIO.

Con una perspectiva teleológica, se puede afirmar que el pulmón requiere todas las clases de mecanismos de defensa y regulación porque esta expuesto a gran variedad de agresiones. La magnitud de las agresiones y los mecanismos de defensa del pulmón se han revisado ampliamente.(Brian J., 1977, Proctor B, Raid Lynne 1977 y John Bienenstock,J 1987.). La monografía de Ogra P.L. y Col (1994) presenta una revisión amplia.

En el pulmón hay células específicas tienen capacidad fagocítica la cual se incrementa en presencia de IgA. Mediante la ingestión y el procesamiento de materiales extraños estas células eliminan microorganismos y sustancias extrañas y estimulan la producción de inmunoglobulinas, por lo que constituyen un mecanismo de defensa muy importante para el aparato respiratorio y para todo el organismo.

En el pulmón se localizan granulocitos polimorfonucleares que son los más comunes (Ahlsted G.S. 1986). También se encuentran monocitos, células grandes con núcleo reniforme que cuando salen de la circulación, crecen aproximadamente diez veces su tamaño y se convierten en macrófagos (Eisen 1978). Estos dos tipos de células son los principales fagocitos extrínsecos que infiltran el pulmón y las vías respiratorias. (Sorell L.1977)

Siempre se encuentran basófilos en el tejido conjuntivo que rodea a los bronquios y algunos vasos. Los acompañan células cebadas y eosinófilos. Su actividad fagocítica es escasa pero tienen capacidad para atraer otros fagocitos; posiblemente su función más importante esta relacionada con la producción de sustancias vasoactivas.

Las células fagocíticas propiamente pulmonares son los macrófagos alveolares que comparten muchas de las características funcionales de los macrófagos sistémicos, y tienen características específicas como actuar de preferencia en la superficie alveolar y tener un consumo de energía más alto que obtienen por fosforilación oxidativa. Los macrófagos pulmonares no constituyen una población homogénea; algunos se originan de células alveolares y otros de monocitos circulantes que difunden al parénquima. Además hay otros macrófagos que se encuentran en el tejido intersticial.

Las células escamosas del epitelio alveolar y las endodérmicas del epitelio pulmonar tienen una acción fagocítica de escasa magnitud que no se acompaña de digestión de las partículas; por lo que se ha propuesto denominarla macroendocitosis.

El potencial de fagocitosis de las células endoteliales a diferentes niveles del pulmón, no está definido. Se ha estudiado su papel en el transporte a través de la membrana alveolo capilar, por el cual pasan macromoléculas ya sea mediante macroendocitosis o por la formación transitoria de fisuras intercelulares.

La reacción inmunológica de la nariz y la orofaringe tiene características especiales que han sido revisadas por Bernstein y Col. (1994), por Brandtzaeg (1984) y otros autores. Se ha comunicado que cuando se estimula una las mucosas, mediante la aplicación de microorganismos, hay respuesta in situ y en otras mucosas, aumentando la producción de IgA. (Lammme N. 1995). Así la administración de antígenos en la mucosa nasal, induce la producción de IgA específica en toda la mucosa de las vías respiratorias y aumenta la resistencia a las infecciones pulmonares. Además, microorganismos dados por vía oral, producen respuesta en el GALT y en el BALT, y se incrementa la IgA de las secreciones respiratorias y de la saliva (Ahlstedt S.G. 1986); En estas observaciones se basa la administración de vacunas por vía digestiva, como profilaxis de enfermedades respiratorias y de caries (Abraham F. 1991, Abraham F.1992, Gregory R.L.1994). Se ha incrementado el uso de vacunas; sin embargo tanto la aplicación como las observaciones subsecuentes tienen deficiencias en sus planteamientos y

sus resultados en muchos casos no implican una mejoría clínica (Boots 1992)

La aplicación percutánea de antígenos como albúmina de huevo produce aumento de la producción de células y de IgA en las secreciones respiratorias (Bene 1987). Todas estas observaciones demuestran que el estímulo inmunológico en la mucosa respiratoria, tiene efectos generales, y no solamente en el aparato respiratorio.

VIII. 3. FUNCIONES DE LA IgA.

La IgA tiene diversas funciones como las siguientes:

- a) limitar la colonización de la superficie de las mucosas por microorganismos, que se efectúa por diversos mecanismos.
- b) promover la formación de complejos antígeno anticuerpo.
- c) evitar la adhesión local (Cravioto A. 1991).
- d) neutralizar virus y toxinas e) inhibir la penetración de antígenos a través de la mucosa (Bienenstock 1984, Albanese C.T 1992).

En la submucosa, la IgA promueve la eliminación de los materiales extraños que han penetrado.

En su conjunto las acciones de la IgA tienden a disminuir las manifestaciones inflamatorias de los otros mediadores de la reacción inmune. La leche materna es rica en IgA y se ha observado que la lactancia materna tiene un efecto protector sobre la colonización nasofaríngea del lactante (Harabuchi Y. 1994). Esto ha incrementado el uso de las vacunas, a pesar de que muchas investigaciones carecen de rigor y sus resultados no se acompañan de mejoría clínica (Béné M.C.1986). Hall y Col. (1991) encontraron que la aplicación de vacunas contra el virus sincitial respiratorio, aumentó la concentración de IgA específica, pero no disminuyó la frecuencia de las infecciones. Brandtzaeg (Bowersock 1992, Abraham F. 1992) considera que los aspectos celulares y moleculares del sistema inmunológico secretorio, sus relaciones con la IgM y el papel del componente secretorio, no se conocen en forma tal que permitan diseñar vacunas locales eficientes.

El papel que tiene dentro del conjunto de la respuesta inmune se describe en el Texto Anexo.

VIII.4. FACTORES QUE MODIFICAN LA CONCENTRACIÓN DE IgA.

En plasma la IgA tiene una concentración aproximadamente de 0.5 a 3 mg/l. Se ha identificado en todas las mucosas: intestino, estomago, vías biliares, vías urinarias, en aparato genital; en secreciones como el sudor, las lagrimas y la leche. En las secreciones nasales se han encontrado valores que varían entre 145 a 3400 mg/l como se ilustra en la Tabla 66.

Las concentraciones de la IgA en las mucosas se modifican las por factores de muy diversos tipos; por tanto es difícil obtener muestras tengan la misma composición, porque ésta varía. Incluso en saliva la concentración de IgA se modifica por el método usado para coleccionar las muestras (Aufricht 1992). La respuesta de las mucosas está influenciada por múltiples factores e interacciones entre ellos y un cambio en cualquiera puede ser debido a un evento que se efectúe o lejos del sitio donde se tome la muestra para su medición. Además una causa fundamental de estas diferencias en los resultados son las dificultades técnicas para coleccionar y medir las muestras.

También complica el análisis de los datos, la forma en la que se comunican. Las unidades en las que se expresan son muy diversas; algunos autores comunican concentración como "unidades ELISA", otros refieren directamente la medida de la densidad óptica leída en las muestras, otras la expresan como una transformación logarítmica, lo cual impide comparar los resultados comunicados. Pero incluso los estudios en los que la refieren como mg/ml, no son comparables excepto cuando se coleccionaron por aspiración directamente las secreciones, toda vez que la concentración se refiere a una relación específica entre cantidad y volumen. Considerando que la IgA se encuentra en la superficie de la mucosa, al raspar con un hisopo, muy probablemente se recoge el material que se encuentra en ella, ya sean microorganismos o macromoléculas lo que permite, expresar la cantidad de IgA por área, pero no por volumen. Esto se tomó en consideración para el manejo de la muestra.

VIII.4.1. Factores fisiológicos. Entre los factores fisiológicos que influyen en la producción de la IgA nasal, se señala que la edad; Gleeson y Col.(1991) encontraron que en niños de 6 meses a 5 años, la [IgA] aumentó en forma

proporcional con la edad y sus valores siempre eran mayores que los de IgG excepto cuando presentaban infecciones; además observaron "modificaciones espontáneas" durante 1 a 3 días, en ausencia de infecciones ni algún otro cambio detectable. En niños de 8 a 12 años se encontró que el proceso de relajación psicológica aumentaba la [IgA] y su actividad (Drummond P.D. 1996). En ratas jóvenes y viejas aplicaron *Mycoplasma pulmonis* y se observó aumento de la IgA en las secreciones bronquiales y en la saliva; la magnitud de la respuesta fue similar en ambos grupos pero en las ratas jóvenes fue más rápida (Brand P.L. 1997, Steffen M.J. 1992)

En el recién nacido se modifica la IgA salival cuando recibe leche materna (Fitzimons S.P. 1994) y la concentración de esta sustancia en la leche así como la respuesta de los niños se modifica de acuerdo con el carácter agresivo o indiferente de la madre. (Groer M.W. 1994, Cravioto A. 1995). El estado nutricional modifica la [IgA] en las mucosas; es menor en los desnutridos (Johansson T. 1994, Hunninghake W. 1978) y aumenta con complementos alimenticios (Darne M. 1992). En perros con disminución sistémica de la IgA, no se presenta disminución en las mucosas (Ginel P.T. 1993). La tensión emocional de la vida diaria (Martinez J.M. 1996, Farne 1992), así como la de situaciones especiales como la de pilotos durante el vuelo (Framakova I.G. 1993), o atletas en entrenamiento (Pedersen B.K. 1996) disminuyen la [IgA] en la saliva.

En las mucosas la [IgA] se modifica durante el ciclo menstrual (Ellegard E. 1994). La [IgA] y el cortisol cambian en la leche de las mujeres en la fase preterminal y terminal del embarazo; esos cambios son inversamente proporcionales entre ambas sustancias; se considera que están relacionados con el estado emocional de la mujer (Cunningham R. 1994), y se encontró que presenta más IgA cuando tiene mayor valor y actitud positiva ante el parto. El ejercicio modifica la reactividad bronquial y la concentración de IgA; (Deschenes M.R. 1998); el moderado la aumenta (Housh TT 1991) y el ejercicio extenuante y acompañado de tensión previa a competencias o de gran intensidad (Carette D.M. 1998), la disminuye (Mc Dowell S.I. 1991 y 1992). Para interpretar datos referentes a la concentración de IgA es fundamental considerar los factores fisiológicos, que modifican la IgA.

Entre los factores ambientales físicos, se ha encontrado que la exposición a contaminantes y alérgenos aumenta la concentración de IgA en secreciones nasales (Morrow P.E. 1977).

VIII.4.2. Procesos Patológicos y factores ambientales que modifican la IgA nasal. Entre los factores patológicos modifican la IgA y otras globulinas en las mucosas se han señalado diversos procesos locales y generales. Hess y Col (1991) encontraron que niños con hiperplasia de las adenoides y otitis media presentan disminución de la IgA; esto se puede interpretar asumiendo que la infección se debe a la disminución de la IgA y por ende, de la defensa inmune, o al contrario, que la IgA disminuye por unirse con los complejos antígeno anticuerpo. Además los productos bacterianos tales como las proteasas producidas por el *H. influenzae* (Harabuchi y 1994) y los *Pneumococos* (Sestini P.L. 1987), y otros (Mulks M.H. 1980) producen rompimiento de la IgA lo cual disminuye su concentración y por ende la eficacia de la barrera inmunológica (Pendersen 1992). Por lo tanto, la integridad estructural y funcional de la mucosa, esta influenciada por la relación entre la cantidad y tipo de microorganismos de la mucosa, los anticuerpos, las proteasas, las antiproteasas y otros mecanismos fisiológicos.

El estudio de la composición química del pulmón y de las secreciones bronquiales ha mostrado modificaciones en condiciones de salud y enfermedad. Así en las paredes de los bronquios normales hay células productoras de IgG y de IgA siendo ésta última la más abundante; esas células aumentan cuando hay procesos inflamatorios. López Vidriero, Das y Reid (1977) han comunicado que la concentración de IgA tiene relación directa con el grado de infección, medido este por la concentración de DNA en el esputo. Los valores promedio de IgA en sujetos asintomáticos fue de 52 mg/ 100 ml. En grupos de enfermos encontraron que presentaban diferentes concentraciones de IgA entre si, pero que estudiándolos durante varios días las concentraciones de IgA para cada uno eran muy similares. Se clasificó a los pacientes de acuerdo con la intensidad de los síntomas y encontraron que: el grupo 1 con síntomas mínimos presentaban IgA siempre por abajo de 100 mg/ ml; los del grupo II presentaban entre 100 y

200 mg/ 100 ml y los pacientes del grupo III presentaban más de 200 mg/100 ml cuando el proceso inflamatorio estaba en su nivel máximo.

VIII.4.2.1. Variaciones ambientales.

. La exposición a contaminantes y alergenicos aumenta la concentración de IgA en las secreciones nasales y otras secreciones (Cullina M.T. 1993, Burgio GR. 1980) López Vidriero, Das y Reid (1977) han demostrado variaciones en la cantidad, la composición las propiedades reológicas de las secreciones y su concentración de IgA a lo largo del día; alcanza su máximo nivel en la madrugada, y comienza a disminuir lentamente llegando a su nivel inferior en la noche. Este patrón de actividad cambia en diversas enfermedades. Además la IgA se modifica a través del año presentando importante ascenso en los meses de invierno; en un sujeto que estudiaron durante cuatro años observaron que el patrón de la composición de las secreciones bronquiales no se modificó, toda vez que la persona conservó su estado de salud.

VIII.5. MÉTODOS PARA CUANTIFICAR LA IgA.

Se han mencionado que la definición de las concentraciones "normales" de la IgA en las diferentes mucosas tiene múltiples dificultades porque es un hecho dinámico, que se modifica por numerosos factores fisiológicos, patológicos y ambientales. Pero es igualmente importante la complejidad de los métodos para medirla que implican problemas diversos, en la toma y conservación de la muestra, el costo de los reactivos, la necesidad de pipetas capaces de medir cantidades muy pequeñas, las variaciones en la sensibilidad de los aparatos que implica la necesidad de efectuar diariamente curvas de calibración de diversos rangos.

Investigaciones publicadas comunican concentraciones de IgA nasal y de otras mucosas, con un rango muy amplio, en sujetos aparentemente sanos. La variación tan alta en gran parte se debe a las diferencias en los métodos de estudio (Aufrich C. 1992). Los factores mencionados, con frecuencia no se consideran en las investigaciones, señala López Vidriero

(1977) y hacen necesario el análisis de la validez metodológica de las publicaciones.

En esta sección se revisan los antecedentes del método y se describe el que se ha diseñado para esta investigación y cuyos resultados preliminares ya han sido publicados.

Las etapas para medir la IgA nasal son:

1. Colección, conservación y procesamiento de las muestras.
2. Construcción de las curvas de calibración pertinentes.
3. Cuantificación de la concentración y la cantidad de IgA en la nariz.

VIII.5.1. Colección, conservación y procesamiento de las muestras.

El primero y uno de los problemas técnicos y conceptuales más importantes (Brandtzaeg 1984) para la medición de la IgA nasal es la colección, el manejo y la conservación de la muestra. Estas dificultades se derivan de la naturaleza de las secreciones las cuales son heterogéneas, con propiedades y componentes difíciles de homogenizar y con sustancias que pueden interactuar entre sí.

Se ha descrito en la sección anterior, que en condiciones normales las secreciones respiratorias, y entre ellas las nasales, son escasas, de manera que no se eliminan, es decir no se expectoran las secreciones aún cuando el sujeto tosa voluntariamente o se suene; Además son adherentes y heterogéneas; la presencia de moco es la causa principal de esa dificultad, porque es una sustancia viscosa, elástica, con la propiedad de absorber agua sin modificar sus propiedades reológicas; por ello es prácticamente imposible diluirlas; además están constituidas por una fase líquida que secretan las glándulas serosas y sobre ella esta la capa de moco en cuya superficie se localizan las partículas que penetran del exterior, las células propias del organismo como los macrófagos y bacterias procedentes del exterior o del organismo. Esto implica que son muy heterogéneas no solamente en sus características físicas sino en su composición. Se han ensayado métodos químicos y enzimáticos para homogeneizarlas, pero ambos afectan la estructura de la IgA. Por otra

parte, cuando se logra hacer homogénea la muestra con enzimas, seguramente se modifican sus propiedades reológicas (López-Vidriero y Col. 1977) lo cual es inaceptable para ese tipo de estudios. En principio todas las técnicas que hacen homogéneas las secreciones, facilitan que las mediciones sean reproducibles, pero se considera que en esa medida el producto estudiado no refleja la situación *in vivo*.

Otra dificultad surge del hecho que hay antiproteasas y enzimas que se producen en el aparato respiratorio o que proceden de microorganismos y células inflamatorias. Estas interactúan y se modifican sus concentraciones haciendo difícil la interpretación de los resultados. Por este hecho se recomienda (Lopez-Vidriero 1977) que tan pronto se colecte la muestra se someta a congelación rápida y profunda (- 40°C) y que cuando se colecta lejos del congelador se sumerja el tubo o catéter en hielo seco.

Por tanto se consideró indispensable revisar los procesos incluidos en los métodos más usados, y de acuerdo con las conclusiones derivadas de esta revisión, seleccionar el método para esta investigación, así como el procedimiento para coleccionar y conservar las muestras.

Las cifras obtenidas por diversos autores, con distintas técnicas y diferentes formas de coleccionar las muestras, se presentan en la Tabla 66: las muestras se coleccionaron por raspado con papel filtro, por lavado con solución salina y por aspiración directa. Esta es una de las maniobras más difíciles de efectuar y es factible que sea una de las causas fundamentales de la enorme variación en las concentraciones de IgA nasales que se han comunicado, además de las variaciones fisiológicas. Uno de los métodos más usados es el lavado nasal, propuesto por Ogra que consiste en introducir una determinada cantidad de solución salina en cada narina, recoger el líquido que salga y en él efectuar las mediciones. Este método tiene serias deficiencias porque:

1. El líquido que se colecta nunca tiene un volumen igual al que se introduce; parte de él queda adherido a la mucosa, parte en la piel de la nariz y parte se deglute. En consecuencia se pierde una porción de la IgA que pueda haberse disuelto y es difícil interpretar que significa la cantidad coleccionada en relación con la que existe en la superficie nasal. Esta crítica planteada por

Sorensen señala la necesidad de referir con precisión, en los métodos de raspado, datos del área donde se colectó la muestra.

El método empleado por Sorensen (1990) tiene gran validez porque es el único en el que verdaderamente puede decirse a que volumen de secreciones nasales corresponde; la concentración de IgA medida y calcular la cantidad presente en la nariz. Este autor, en sus múltiples investigaciones, efectuadas principalmente en niños, aspira las secreciones nasales con un dispositivo especialmente diseñado, y las colecta directamente de la fosita piriforme y otras áreas de la nariz; para ello los sometió a anestesia general, lo que el mismo autor considera discutible desde el punto de vista ético.

Los datos presentados en la Tabla 66, muestran que las cifras más elevadas se obtuvieron en los tres estudios en los que la medición se hizo en secreciones nasales aspiradas directamente.

TABLA 66

CONTENIDO DE IgA NASAL

AUTOR	MÉTODO DE COLECCIÓN	MÉTODO DE ANÁLISIS	PROMEDIO. Y RANGO
Haworth & Dilling(1966)	Aspiración con catéter	RID	145 (x-358)
Cohen et.al (1970)	Lavado Nasal	RID	228 (62 - 294)
Mygind (1976)	Cepillado Nasal con papel	RID	210 (150- 460).
Sorensen (1982)	Aspiración con catéter	ELISA	1440 (610 - 2430)*
Kurono y Mogi (1987)	Aspiración	EID	235 (122-348)
	"	"	1968 (483 - 3453)*
Sorensen y Nielsen (1988)	Aspiración Directa *	ELISA	1740 (920 - 3520).
		"	1220 (620 - 1960).
Brandtzaeg (1970)	Cepillado Nasal con Papel	ELISA	(500 A 2500)

RID: Radio Inmuno difusión. EID: Electro Inmuno difusión. ELISA Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

El rango de las cifras fue muy amplio en todos los casos; éstas se expresan en miligramos por litro; sin embargo solamente en los casos de aspiración esta nomenclatura es correcta, puesto que se refiere a mg/L de secreciones

aspiradas. En el resto la concentración depende del volumen del líquido en el que se diluyeron las secreciones extraídas ya sea por lavado o por raspado.

VIII.6. PRINCIPIOS GENERALES DE LOS MÉTODOS.

Las técnicas de inmunoquímica, para cuantificar la IgA y otros anticuerpos se basan en el principio general de producir una reacción antígeno –anticuerpo en la que sea posible medir el complejo formado. Incluyen la nefelometría, la inmunodifusión en gel y en líquido, la inmuno electroforesis y las de inmunoensayo con anticuerpos unidos a enzimas.

La nefelometría mide el grado de turbidez de la solución, la cual es proporcional con la concentración de la sustancia. Para la IgA en secreciones nasales no es adecuada porque puede dar resultados erróneos debido a la presencia de las dos formas de IgA y posiblemente por la presencia de otras proteínas en las secreciones. Por otra parte en el nefelómetro, tiene tubos de conexión muy delgados y las secreciones respiratorias, contienen partículas heterogéneas como las de moco, introducen error y pueden producir oclusión del sistema.

Las técnicas de inmunoensayo para medir anticuerpos, comprenden la radioinmuno difusión en gel, las de inmunoensayo marcadas con isótopos y las técnicas de ELISA. Se han efectuado investigaciones usando la radio inmuno difusión en gel, las de inmunoensayo marcadas con isótopos y las de inmunoensayo marcadas con enzimas.

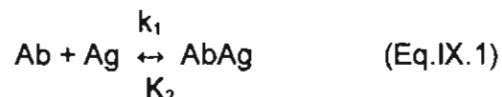
Estas técnicas se han utilizado ampliamente para la detección de antígenos y anticuerpos en tejidos y en líquidos. Más recientemente se han usado para medir contaminantes en la tierra.

VIII.6.1. Bases fisicoquímicas de los métodos de inmunoensayo.

Las técnicas originales de los inmuno ensayos en las que se usan enzimas marcadas para cuantificar antígenos o anticuerpos, aplican fundamentalmente la misma metodología y principios desarrollados para los

radioinmuno ensayos; en estas se mide la radioactividad y en las de ELISA, la reacción colorida.

Las reacciones antígeno anticuerpo, se han descrito de acuerdo con la ley de acción de masas (Clausen 1991) como una reacción bimolecular reversible; si Ab es el anticuerpo y Ag es el antígeno se tiene:

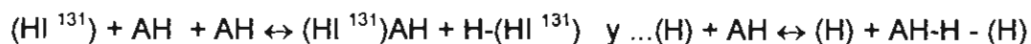


En esta ecuación K_1 y K_2 indican el equilibrio de reacción en un sentido y en el opuesto. En consecuencia de acuerdo con la ley de acción de masas se puede expresar en la siguiente forma:

$$\frac{\text{AbAg}}{(\text{Ab}) \times (\text{Ag})} = \frac{K_1}{K_2} = K_3$$

en donde K_3 es un estado de equilibrio en las reacciones para una determinada concentración de los reactantes. Si en esta situación se agrega más antígeno se producen más complejos antígeno anticuerpo, hasta que se llega al "punto de inhibición", según Clausen (1991) en el cual ya no se forman mas complejos,

Radioinmuno ensayos. En los radioinmuno ensayos el principio general es el mismo. Se aplican para en la cuantificación de algunas proteínas, como las hormonas. Se basan en unir un radioisótopo por ejemplo I^{131} o I^{125} a una tirosina (que en cantidades moderadas no interfiere con la acción de la hormona) con lo que se obtiene hormona marcada: $H + I^{131} \leftrightarrow H + HI^{131}$ Ahora bien, si se mezcla una cantidad conocida de proteína no marcada (H) con una cierta cantidad de hormona marcada (HI^{131}) y con el antisuero correspondiente (AH), la hormona marcada (HI^{131}) compite con la no marcada (H) por el anticuerpo, se dan las siguientes reacciones:



Ambas reacciones se producen en forma dinámica hasta alcanzar un estado de equilibrio. Posteriormente se separan la hormona unida (U) con el anticuerpo de la hormona libre (L). En ambas fracciones habrá hormona marcada y no marcada. Si se determina la radioactividad de las dos fracciones, se puede calcular la cantidad de hormona marcada presente en

cada una de ellas. La cantidad de hormona marcada unida al anticuerpo, depende de la cantidad de hormona no marcada presente en la mezcla. Se construye una curva de calibración que muestre la relación entre la radioactividad de la hormona unida al anticuerpo y de la libre (U/L) en función de la cantidad de la hormona no marcada presente en la mezcla; esta curva permite conocer la cantidad de hormona contenida en una muestra con concentración desconocida. En la reacción descrita la hormona actúa como el antígeno con el cual se une el anticuerpo.

Este método también es útil para cuantificar los anticuerpos

Esencialmente la cuantificación radio inmunoquímica de un anticuerpo implica mezclar el antígeno con un exceso de anticuerpo radioactivo y dejarlos reaccionar durante un tiempo suficiente, después se separa el antígeno unido con el anticuerpo del antígeno libre. La relación entre la radioactividad de las dos fracciones informa la proporción entre el anticuerpo unido al antígeno U. y el anticuerpo libre L: (U/L). Esta relación se modifica si se agrega anticuerpo no marcado a la mezcla que tiene el anticuerpo radioactivo; se producirá un cambio en la relación (U/L). Este cambio en la relación es una medida de la cantidad de anticuerpo no marcado que se agregó.

El método se calibra agregando cantidades conocidas del anticuerpo purificado y de esta manera se produce una curva de calibración de la cual puede estimarse la cantidad de anticuerpo presente en una solución de concentración desconocida.

VIII.6.2. INMUNOENSAYO CON ENZIMAS.

Estos métodos se basan en la capacidad del antígeno libre para inhibir en forma competitiva la unión de un anticuerpo en el complejo inmune, con su correspondiente antígeno marcado con una enzima. Los inmuno ensayos con enzimas varían de acuerdo con: 1.- La naturaleza de la reacción. 2.- El reactante que se etiqueta. 3.- La forma en la cual la reacción inmune influye sobre la reacción enzimática. 4.- El estado de los reactantes: ya sea que estén libres o unidos y deban separarse

VIII.6.3. Técnicas de ELISA.

De las diversas técnicas que se han usado para medir la IgA las más aceptadas son las de ELISA

Las técnicas de ELISA derivan su nombre de las iniciales en Inglés: **E**nzyme **L**inked **I**mmuno **A**bsorbent **A**ssay, se designan así porque detectan los antígenos por medio de anticuerpos unidos con enzimas y viceversa. Son similares a las técnicas de radio inmunoensayo y a las de inmunoensayo marcado con isótopos.

El Ensayo con Inmuno Adsorbente Unido a Enzimas o ELISA, fue descrito en 1971 por Engvall y Perlmann, para la determinación de antígenos; usaron un antígeno marcado con enzima y un anticuerpo insoluble unido con microcristales de celulosa mediante enlaces covalentes. La unión del anticuerpo con el antígeno marcado se inhibió completamente por el antígeno no marcado.

Para efectuar este ensayo se requiere unir las enzimas con las proteínas, lo cual se ha logrado sin desnaturalizar la proteína; además es necesario que los conjugados sean puros y estables.

Con respecto a los métodos de radioinmuno ensayo tienen las siguientes ventajas: a) las enzimas son más baratas y estables b) carecen del efecto dañino potencial de los isótopos. c) se han diseñado sistemas manuales y automatizados específicos para esta técnica, los cuales facilitan la tarea y disminuyen las posibilidades de error. d) Con el radio inmunoensayo, la coexistencia de IgA en forma de monómero y de dímero propicia diferencias en los resultados; además se producen precipitados no inmunes que alteran el resultado. La técnica de ELISA, en un ambiente heterogéneo funciona adecuadamente

Hay distintas enzimas que se usan como marcadores para tejidos, para antígenos o para anticuerpos y todas se caracterizan por dar una reacción típica colorida que puede medirse. Entre estas enzimas están la peroxidasa

que tiene como sustrato la 3', 3' diamino benzidina H_2O_2 la cual da una reacción café- amarilla y se ha usado para cuantificar anticuerpos anti DNA, estrógenos, gonadotropina coriónica; la fosfatasa alcalina que se une a la α -naftilfosfato que da una reacción roja se ha usado para medir anticuerpos a *Salmonella*, fetoproteínas e IgG; la glucosa oxidasa que se ha usado insulina.

La técnicas de ELISA tienen diferentes modalidades que pueden ser competitivas o no competitivas.

VIII.6.3.1. SISTEMAS DE SÁNDWICH COMPETITIVOS.

En este tipo de ensayos es necesario usar:

- 1.- Anticuerpos en una fase sólida (material inmunoabsorbente).
- 2.- El antígeno específico correspondiente.
- 3.- El antígeno etiquetado con enzima.

La muestra que contiene el antígeno en cantidad desconocida se incuba con cierta cantidad de antígeno conjugado con enzima (en cantidad conocida). Después se añade el inmunoabsorbente que contiene el anticuerpo específico; los dos reactantes antagónicos compiten por los sitios (de unión) del anticuerpo. Cuando la reacción llega a su equilibrio la actividad de la enzima en la fase sobrenadante de inmunoabsorbente es directamente proporcional con la concentración del antígeno en la muestra. La actividad enzimática en la fase sólida será inversamente proporcional con la concentración del antígeno. El método competitivo de inmunoensayo con enzima también puede ser efectivo en un sistema heterogéneo. La actividad residual de la enzima se determina por espectrofotometría.

VIII.6.3.2. SISTEMAS DE ENSAYOS NO COMPETITIVOS. (Técnica de sándwich)

Este método implica la interacción entre los siguientes elementos: a) El reactante inmovilizado por ejemplo el anticuerpo unido con el material inmunoabsorbente. b) La muestra que contiene el antígeno. c) El antígeno marcado con enzima; d) el sustrato de la enzima.

Se siguen los siguientes pasos:

- 1.-El anticuerpo inmunoabsorbente (Anti IA) reacciona con el antígeno de la muestra dando complejos antígeno-anticuerpo IA.
2. Se produce el equilibrio de la reacción.
- 3.- Después se agrega el antígeno etiquetado con la enzima.
- 4.- Se produce un segundo equilibrio, en el cual el antígeno etiquetado se une con el anticuerpo libre, o sea el que no se había unido al inmunoabsorbente.
5. A continuación se aísla la fase sólida con su antígeno unido al anticuerpo.
6. Finalmente se mide la actividad enzimática en la fase sólida la cual es directamente proporcional con la concentración de antígeno de la muestra; el color de la reacción será inversamente proporcional a dicha concentración.

Este método tiene las siguientes ventajas:

El color final de la reacción se desarrolla en la fase sólida; esto elimina la mayor parte de los factores que causan interferencias; además elimina la necesidad de hacer la reacción en blanco para evitar errores por absorción en sueros con hemólisis o ictericos, haciendo la lectura a 420 nm.

5. El rango que cubre el ensayo es de dos ciclos logarítmicos; por tanto los errores debidos a las diluciones se reducen.
6. Todo el equipo que se usa, comparado con el de radioinmuno ensayo es poco costoso. Sin embargo el umbral de sensibilidad y la reproducibilidad de los resultados son comparables con los efectuados con RIA.
7. Las marcas con enzimas son estables y no requieren equipo especial para su manipulación. En contraste los isótopos, que emiten rayos γ y tienen una vida media corta y requieren medidas especiales de protección.
8. El uso de anticuerpos marcados muy puros no es indispensable.

Por estas razones la técnica ELISA tipo sándwich en fase sólida es la modalidad que se usa con más frecuencia, especialmente a partir del diseño de las placas de microtitulación que contienen 96 pozos; éstas permiten manejar muchas muestras simultáneamente, así como efectuar curvas de titulación amplias por duplicado. Voller, Bidell y Bartlett en 1979

en su monografía sobre ésta técnica presentan una revisión de 292 artículos publicados entre 1971 y 1979 en los que se usa este método. Describen su aplicación en veterinaria, agronomía y medicina; las cuales son muy amplias y comprenden el diagnóstico de enfermedades virales, nemátodos, concentración de fármacos, hormonas, anticuerpos como IgA, IgG, anticuerpos coriónicos, fetales y otras. Notese que en estas reacciones los anticuerpos funcionan como antígenos.

Se han descrito diversas modalidades de la Técnica de Sándwich. Estas son: A. El método de sándwich con doble anticuerpo y B. El de sándwich con doble anticuerpo modificado que fue la que se usó en esta investigación.

VIII.7.MATERIAL Y MÉTODO.

VIII, 7.1. Grupos estudiados.

Se estudió un grupo PRI 95, con el propósito de estandarizar diversos aspectos del método, adquirir las habilidades para preparar y manejar los aparatos y reactivos, definir el rango de las cifras de IgA obtenidas y adecuar las curvas de calibración.

Logrado lo anterior se estudiaron otros grupos como parte de la investigación central: OTO 96-1, OTO 96-2, OTO 96-3. INV 97, PRI 99. A estos grupos se les efectuó la curva flujo volumen y el perfil clínico de acuerdo con las técnicas descritas en las secciones anteriores.

VIII.7.2. TOMA, MANEJO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS.

VIII.7.2.1.Método de lavado. En los estudios iniciales se efectuó la determinación de IgA habiendo colectado la muestra con el método del lavado. Se efectuó de acuerdo con el procedimiento descrito por Ogra (1994) Se explicó al sujeto lo que se iba a hacer; después se sentó frente a una mesa en la cual apoyo la cabeza colocada de lado, Se introdujo en la narina inferior una jeringa desechable, con capacidad de tres mililitros

procurando que penetrara 1.5 cm dentro de la narina. En la parte inferior de la cara, adosado a la mejilla se colocó un vidrio de reloj que se había pesado previamente. Se aplicaron 2 ml de solución salina fisiológica que se recogió en el vidrio. Se pidió al sujeto que respirara con un poco de fuerza para que expulsara la mayor cantidad posible de líquido. Se midió el volumen del líquido recuperado en el lavado nasal pesando el vidrio en una balanza de precisión y suponiendo una densidad de 1 para el líquido o sea que 1 g significa un mililitro. El aumento de peso del vidrio indicó la cantidad de líquido recogido que se colectó en un tubo de ensayo; la diferencia entre el líquido el líquido colectado y el introducido correspondió al que se perdió durante el lavado nasal. Dado que el volumen recuperado era muy pequeño se aplicaron 3 ml de solución. El líquido colectado en el vidrio se recogió con una pipeta y se colocó en un tubo de ensayo de 3 ml. Se repitieron todas las maniobras en la otra narina. El orden en el que se estudiaron las narinas fue arbitrario, no aleatorio. Los volúmenes recuperados se presentan en la Tabla 70 y este método se desechó rápidamente dados los resultados obtenidos.

VIII.7.2.2.Método de Raspado o cepillado nasal. Se hizo con dos hisopos húmedos con solución salina, en cada narina, para colectar la mayor parte de las secreciones adheridas a la mucosa.

Se comunican los resultados como mg de IgA contenidos en la superficie nasal de cada narina y de la nariz en total; Esta superficie corresponde a un cilindro de aproximadamente 1.5 cm de largo por la circunferencia de la narina con un diámetro promedio de 9 mm. Esto dará una superficie aproximada de 4.7 cm^2 . por narina. Sin embargo no se referirá en función de superficie porque esta es variable dependiendo del estado de dilatación vascular aumentar; cuando aumenta la dilatación aumenta el grueso de la mucosa y en consecuencia disminuye el diámetro y la superficie.

La vascularización cambia constantemente, por numerosos factores de diversos tipos: físicos como la temperatura, fisiológicos como la tasa de ventilación pulmonar; o por el fenómeno de alternancia nasal (Gilbert A.N. 1979, Hallen H. 1996) , por estímulos sexuales y emocionales.

Por tanto la cantidad de IgA que se comunica corresponderá a la superficie nasal constituida por un cilindro de 12 mm de altura y diámetro que corresponda a la narina.

VIII.7.2.3. Secuencia para coleccionar la muestra. Se describen los detalles pertinentes a la toma de la muestra cuando solamente se va a determinar la IgA. Las diferencias respecto a la toma de la muestra cuando en ella se hace la determinación de la flora bacteriana se describe en la Sección correspondiente.

a. El hisopo se moja en un tubo con solución salina y se exprime bien contra la pared del tubo.

b Se introduce hasta que la marca localizada a 1.4 cm de la punta, queda en el vestíbulo de la narina. Se hace girar sobre la superficie de la narina 10 veces en un sentido y 10 veces en otro.

c. Se saca y se agita en el primer tubo que estará marcado para identificación como DH1D1: D=Derecha, H1 = Hisopo 1, Dilución 1 o para la narina izquierda: IH1D1; se agita 10 veces en un sentido y 10 en el opuesto. Se exprime contra la pared del tubo.

d. Este hisopo se introduce en otro tubo y se agita en la misma forma, con objeto de diluir las secreciones que no se hubieran desprendido en el primero. Se rotuló a estos tubos como DH1D2; H1 indica que es el primer hisopo y D2, que es la segunda dilución

d. Se introduce un segundo hisopo en cada narina, con objeto de coleccionar las secreciones que no hubiese recogido el primero. Estarán marcados IH2 o DH2. Se tapan herméticamente y se meten al congelador de tipo doméstico temporalmente y posteriormente se llevan a congelación profunda a -40°C.

No se fijó un orden para tomar las muestras ni se anotó la alternancia nasal o sea por que narina respiraba mejor el sujeto. y método usado. Esta es una falla de la técnica porque es posible que la manipulación de una

narina produzca reflejos vasculares en la otra y pudiese modificar la secreción. El orden debió ser aleatorio.

VIII.7.3. PREPARACIÓN DE REACTIVOS Y PLACAS.

Los reactivos que se utilizan en la técnica de sándwich no competitivo, deben ser de alta pureza y las soluciones tienen tiempos diferentes de caducidad.

VIII.7.3.1. Preparación de las soluciones de IgA.

Los reactivos más delicados son la inmunoglobulina y el conjugado, los cuales deben conservarse en congelación profunda (- 40°C) y una vez que se descongelan no se pueden volver a congelar porque se desnaturalizan las proteínas.

Las preparaciones comerciales de la inmunoglobulina humana usada, son frascos que contienen 1.0 mg, como polvo liofilizado, el cual debe mantenerse a baja temperatura, durante su traslado y almacenamiento. Para preparar las soluciones de trabajo se debe considerar que las cantidades y los volúmenes que se usan son muy pequeños, y que una vez descongelados no se puede volver a usarlos. Los pasos y consideraciones para prepararlas son:

$$1\text{mg} (10^{-3} \text{ g}) = 1,000,000 \text{ ng} (10^{-9})$$

$$1 \text{ mg en } 10 \text{ ml} = 100,000 \text{ ng x ml} = 1000 \text{ } \mu\text{l}$$

$$100 \text{ ng} = 1 \mu\text{l}$$

Para una concentración de 1 ng x 1 μ l se deberá diluir 100

Para sensibilizar 1 pozo de acuerdo con Clausen (1991) y Soller (1979) se depositan 100 μ l que contengan entre 100 ng de IgA. Por lo tanto la concentración debe ser de 100 ng/100 μ l.

En la experiencia de los investigadores del Departamento de Inmunología del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, 50 ng son suficientes y esa fue la cantidad que se usó en esta investigación.

Para hacer las soluciones se deben tener en cuenta las necesidades del reactivo. Así se tiene:

Una placa tiene 96 pozos; para preparar las soluciones es prudente hacer los cálculos para 100, porque es prudente tener una pequeña cantidad extra por la posibilidad de problemas en el llenado (burbujas).

por tanto se requieren para 1 placa: $100 \mu\text{l} \times 100 \text{ pozos} = 10,000 \mu\text{l}$.

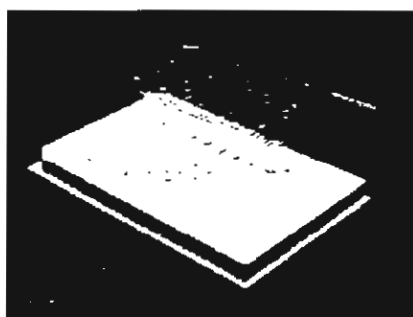
Se requieren para 10 placas: $10,000 \times 10 = 100,000 \mu\text{l}$

Durante el trabajo de las determinaciones solamente se necesita IgA para las curvas de calibración, aproximadamente 15,000 ng para la curva alta y 1350 ng para la baja. Por tanto un vial que contenga 25,000 ng será suficiente. La dilución inicial por tanto deberá ser tal que pueda diluirse a la concentración necesaria en el momento de la operación y proporcionar la cantidad requerida y no contener un exceso porque como se ha indicado, no se puede volver a usar. Tampoco debe estar muy concentrada porque se deshidrata y es difícil manipularla. Viales que contengan 100,000 ng serán útiles para preparar placas y para el trabajo son convenientes los que contengan una cuarta parte o sea 25,000 ng. Una vez preparados los viales con las soluciones de IgA se guardan en congelación profunda y se sacan cuando se van a usar.

VIII.7.3.2.Preparación de las placas.

Las placas son dispositivos de material plástico incoloro, transparente con forma de paralelogramo plano.

FIGURA 6



En la superficie superior presenta oquedades en forma de cilindros con 350 μl de capacidad. Están dispuestos en filas de 12 en 8 columnas. Se considera que el desarrollo de estas placas y todos los aparatos para hacer las técnicas de ELISA en forma automatizada, han dado impulso al uso de éstas técnicas.

El material de las placas aun cuando de gran transparencia, presenta cierta densidad óptica. Por ello Clausen sugiere que se haga un control de la calidad de las placas de titulación,

Se midió la densidad óptica de una placa de cada uno de 12 lotes y se encontró: Densidad óptica promedio total:0.0272

Desviación Estandar:+- 0.0116

Mínimo: 0.009

Máximo: 0.0422

Cada placa tiene suficiente espacio para analizar por duplicado 31 muestras, además de las curvas de calibración y el control de calidad; por lo tanto se prepararon entre 10 y 20 calculando las necesarias para un mes

1. Se descongeló a temperatura ambiente un vial que contenía la cantidad adecuada de IgA y se completo la dilución.

1.- En cada pozo de la placa se colocaron 50 μ L (microlitros) de una solución de IgA (concentración 50 μ g/100 μ l diluida en solución PBS. De esta manera en el pozo quedó fija una cantidad conocida de IgA.

2.- Se cubrió la placa con una lámina plástica o papel aluminio. Se Incubó 24 hs a 4°C)

3.- Se tiró a la tarja la solución que tenían los pozos, invirtiéndola y se limpió suavemente con papel absorbente, para quitar el líquido residual. Se lavó con PBS Twin 3 veces. Esto se hizo generalmente con el lavador automático. Por razones operativas algunas veces se hizo con la multipipeta

4.- Se depositaron 100 μ l de gelatina al 1 % en cada pozo, para rellenar los espacios que no estaban ocupados con la IgA.

5.- Se incubó a 37°C por 2 hrs.

6.- Se lavó 3 veces con PBS. Twin. Estas placas preparadas con la IgA se dice que están "sensibilizadas" para la reacción de ELISA; pueden prepararse varias de ellas, empacarse con película adherente hermética (parafilm) y guardarse en refrigeración. Se supone que persisten hasta 2 meses sin alterarse. Nosotros las preparamos y solamente las conservamos durante un mes.

VIII.7.3.3. Control de calidad del proceso.

En esta investigación se estudió una placa vacía de cada lote, haciendo la lectura de la densidad óptica. Se presentan los datos del análisis de 12 placas.

El control de calidad del procedimiento completo se efectuó en cada estudio. El Tabla 67 (anexo) es una hoja de registro de todas las maniobras y datos implicados para medir la IgA. Los cuadros representan los pozos de reacción de una placa de NUNC. Tiene 12 columnas enumeradas de 1 al 12 y 8 filas identificadas con las letras A hasta H. En las dos primeras columnas de la placa se colocaron los patrones de referencia. Las 4 primeras casillas, 1,2, A y B quedaron vacías, desde que se "sensibilizó" la placa; en ellas se detectó la transparencia de la placa. En las 4 siguientes se depositaron 50 µl de solución de IgA sin complemento. En las 4 casillas siguientes, denominadas controles negativos no se produciría reacción porque en ellas se agregó el complemento pero no IgA, y en las 4 últimas estaban los controles positivos en las que la reacción sería máxima por tener complemento y toda la IgA de la sensibilización. Con estas dos columnas se puede cuantificar la variabilidad de los resultados atribuibles a la calidad de las placas, de los reactivos y contar con un factor de corrección en las pruebas en blanco.

En la primera fila se depositaron por duplicado, las soluciones patrón, para hacer la curva de calibración alta. En este caso fueron de 2500, 2000, 1500, 1000 y 500 ng contenidas en 100 µl. En la última fila, se efectuó la curva de calibración baja construidas por soluciones de 500, 250, 125, 62.5 ng.

En las filas intermedias, desde B 3 y 4 hasta G 11 y 12 se depositaron por duplicado, generalmente 100 µl de las muestras problema.

Una vez preparada la placa se leyó en el Elisómetro que se había preparado previamente.

VIII.7.3.4. Preparación del aparato.

En esencia el denominado Elisómetro es un espectro fotómetro de absorción, con gran sensibilidad y velocidad de respuesta. Como todos tiene un emisor de luz policromática y un dispositivo que efectúa la difracción. Consta de filtros adecuados para seleccionar la luz con la longitud de onda pertinente para el color que se quiere medir. Para las reacciones de ELISA. Clausen sugiere hacer las lecturas con longitud de onda de 492 nm. En algunos laboratorios se hace curva de máxima absorción para adecuar la longitud de onda al color que presentan los reactivos específicos que se usan. En esta investigación se usó una longitud de onda de 450 nm y filtro de referencia de 630 nm.

El espectrofotómetro esta acoplado con un sistema de cómputo en el que se anotan el orden y tipo de las muestras el cual que en principio debe ser el antes mencionado.

El sistema consta además de un inscriptor que produce los datos que se muestran en la Hoja de Lecturas (Tabla 68. anexo), las curvas de calibración y los cálculos de la concentración de IgA. (figura 7 y 8 anexo)

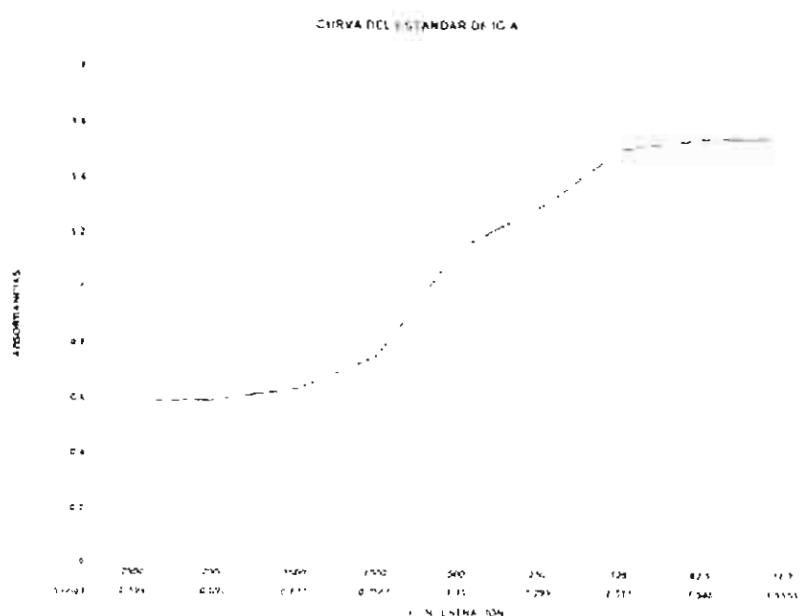
En la Hoja de lecturas, aparece una serie de números que indican la densidad óptica (DO) en todos los pozos de la placa. Las que aparecen en las primeras columnas corresponden al control. Puede apreciarse que A1 y 2 registraron una DO muy baja como corresponde a un pozo vacío. En las los pozos B la lectura es mayor lo cual refleja irregularidad en la placa. En los pozos C y D 1 y 2 las lecturas son congruentes y muy bajas como corresponde a una reacción que produce poco color dado que hay gran cantidad de IgA, por la dinámica de la reacción, que se discute con detalle más adelante. Por el contrario la DO registrada en los controles positivos es muy alta.

En la fila A se registran las lecturas correspondientes a la curva de calibración alta, las cuales en principio son de buena calidad especialmente si se toma en cuenta que el aparato construye las curvas tomando el promedio de las lecturas. La curva de concentración baja esta colocada en la fila H 3 a H8 y se aprecia también que los pares de lecturas para una misma concentración tienen una buena reproducibilidad.

El sistema esta programado para calcular la media de las lecturas y definir la relación con la concentración indicada; con estos datos construye las curvas de calibración para las que además calcula la ecuación de regresión. El sistema inscribe las graficas en las cuales incluye la Ecuación de Regresión. (Figuras 7 y 8)

Las medidas de la densidad óptica de las muestras nunca se repitieron pero hay algunas muy aproximadas. A partir de ellas, el aparato toma el promedio y con la ecuación de regresión de la curva calcula la concentración de inmunoglobulina que escribe en la hoja de resultados expresada en mg/l. En algunas lecturas que estaban fuera de la curva, anota que se calcularon extrapolando abajo del patrón más bajo o arriba del más alto.

FIGURA 9



VIII.7.3.5 CURVAS DE CALIBRACIÓN.

En cada ocasión que se mide la concentración de IgA con el método de ELISA, es indispensable hacer curvas de calibración porque la sensibilidad

del aparato varía. Por tanto la densidad óptica que se mide para una concentración dada, no es exactamente igual en diferentes días.

El rango de la curva de calibración sugerida por Sorensen se extiende de 30 a 2000 y la gráfica se hace colocando la densidad óptica (DO.) en las ordenadas y la concentración en las abscisas. El aparato usado por nosotros tiene un programa para hacer la gráfica de la curva de calibración para el cual requiere 5 puntos de calibración. Cada una de las soluciones se pone por duplicado con lo que se tiene una mejor idea de la reproducibilidad de las lecturas.

En este estudio se decidió hacer dos curvas: una con concentraciones altas de IgA: 2000, 1000, 500, 250 y 125 nano gramos y que se usó como referencia para estudiar las muestras que en la prueba piloto se había determinado que contenían IgA de ese orden de magnitud. Posteriormente se amplió esta curva y los puntos fueron 2500, 2000, 1500, 1000 y 500 ng como se aprecia en el registro que se analizó. Para las muestras que tenían baja cantidad de IgA la curva se construyó con patrones de referencia de: 500, 250, 125, 62.5 y 31.5 ng/ml.

VIII.7.4.Secuencia de las maniobras para medir IgA.

1. Cada una de las muestras se estudió por duplicado.
2. Cuando se hizo la determinación de IgA, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente, inmediatamente antes; se hicieron las anotaciones pertinentes para identificar el tipo de la muestra y el sujeto al que pertenecía. Con una pipeta automática se agitaron 4 veces antes de tomar las muestras; se observó el tubo y se tomaron 100 μ l de la muestra problema procurando que fueran de la parte más transparente, que no tuviese fragmentos de moco. Se colocaron en un tubo de 2 ml (viales) de capacidad, con 100 μ l del conjugado; se incubaron 30 minutos a 37°C. Los viales se colocaron en las gradillas especiales que tienen la disposición igual a las placas de NUNC y en la hoja control se anotaron los datos de la muestra que son las sílabas iniciales de los nombres y las letras que identifican la

muestra. Esto es fundamental porque el tamaño de los viales no permite hacer anotaciones en ellos.

El conjugado esta formado por anti IgA - enzima peróxidasa. Por tanto en esta etapa se unió con la IgA de la muestra problema.

Antes de colocar las muestras en las dos primeras filas de la placa se pusieron los reactivos para hacer las curvas de calibración en la forma descrita en el inciso anterior. También se prepararon los pozos testigo: uno en el que solamente se agregó conjugado y otro en el que no se agregó conjugado. Los tubos con las muestras se colocaron en gradillas, siguiendo el orden en el que se colocaron en la placa; su posición que debe registrarse en la Tabla 67, porque los viales son pequeños y no se puede hacer anotaciones en ellos. Los remanentes no se pueden usar para hacer una segunda determinación si fuera necesario, porque la muestra se deteriora. Si fracaza una determinación, utiliza el otro tubo.

3. Se sacaron de la incubadora los tubos con mezcla muestra – conjugado y con una pipeta automática, se colocaron dos volúmenes de 50 μ l/ pozo tomados del mismo tubo, en dos pozos contiguos de la placa de Nunc y se volvió a incubar una hora a 37°C.

En la etapa, en la que se mezcló la muestra con el conjugado, una parte de este, que es anti IgA se unió con la IgA de la muestra; la cantidad de conjugado que se unió fue proporcional a la cantidad de IgA en la muestra. Cuando se depositaron los 50 μ l de esa mezcla en el pozo de la placa, el conjugado que había sobrado se unió con la IgA que se había depositado previamente en la placa.

4. Se lavó 3 veces con PBS Tween.

Al lavar, se retiró la mezcla de muestra-conjugado y en el pozo solo quedó la IgA que estaba fija, unida a la anti IgA y enzima, o sea la parte del conjugado que no se había fijado con la IgA de la muestra.

- 5.- Se agregan 50 μ l del sustrato en cada pozo.

El sustrato es Peróxido de hidrogeno más ortofenilendiamina (OFD)

6.- Se incubó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos o hasta que apareció el color amarillo característico. Durante esa fase de incubación la enzima fija en la IgA de la placa reaccionó con el peróxido del sustrato y esta reacción actuó sobre la ortofenilendiamina induciendo la reacción colorida.

Si en la muestra no contuviera IgA habría "sobrado" todo el conjugado, que se habría fijado a la IgA del pozo, por lo que habría mucho complejo IgA-anti IgA-enzima peroxidasa. Al agregarle el peróxido la reacción sería muy intensa y daría un color intenso.

Por el contrario, si la muestra tuviera "mucho IgA" fijaría todo el conjugado y no habría remanente para unirse con la IgA con la que se sensibilizó el pozo. En esta situación al lavar la mezcla se desecharía la IgA en solución unida al conjugado y la IgA del pozo no estaría unida a conjugado, no habría enzima y por ende no habría reacción colorida al agregarle el sustrato.

Esto explica porque la intensidad del color es inversamente proporcional con la concentración de IgA en la muestra problema.

7. Se agregó solución de ácido sulfúrico al 4N para inhibir la reacción.

8. Se hizo inmediatamente la lectura en un espectrofotómetro de absorción a una longitud de onda de 492 nm como sugiere Clausen (1991). Mientras no se tienen los resultados, la placa se conserva en la oscuridad, porque la reacción colorida continúa en forma inespecífica. Esto debe evitarse, por si fuese necesario repetir las lecturas, aun cuando en realidad la nueva lectura no es confiable.

Preparación de la IgA como inmunoabsorbente: Los frascos comerciales contienen 1 mg del reactivo. Se hace una solución inicial en 10 ml y se continúa diluyendo de manera que quede ml de solución salina, el cual se diluye de manera que en cada 100µl queden solamente 50 ng

VIII.8.MATERIAL: APARATOS Y REACTIVOS

1. Placas para microtitulación. NUNC Immunoplate I. Código No. 2-39454, de poliestireno fondo plano. Contienen filas de 8 x 12 pozos que pueden contener 350 µl. InterMed.

2. Multipipetas automáticas Labsystems. de 8 canales ajustables de 50 a 150 μ volúmenes.
3. Sistema para lavado: NUNC Immuno Wash Código No. 447430 de ocho canales. (NUNC Kamstrup Denmark)
4. Micro ELISA Micro - Reader. MR 590. Danatech Products Ltd. Santa Monica Cal. USA.
5. Cámara húmeda oscura.
6. Refrigerador
7. Congelador Revco Modelo NU6511 Ultra Low Temperatura Freezer, con rango de -20 a -86°C con temperatura fija a - 40°C.

REACTIVOS.

IgA humana. Reactivo Sigma Frasco de 1.0 mg

Conjugado Anti IgA-Peroxidasa. Sigma. Frasco de 1.0 mg con antiglobulina humana de cabra.

El resto de los reactivos fueron de alta pureza marca Sigma.

Las recetas detalladas para la preparación, uso y conservación de estas soluciones están descritas por Clausen (1991)

VIII.9. RESULTADOS

Se estudiaron diversos grupos con diferentes objetivos, que se señalan a continuación

VIII.9.1. Grupo piloto.

Los objetivos del estudio del grupo piloto fueron: 1) determinar el rango de valores de la concentración de la IgA nasal en una muestra del universo de trabajo. 2). Calcular los valores de las curvas de calibración del aparato. 3) Definir las diluciones de las muestras más adecuadas para hacer las medidas dentro del rango de mayor sensibilidad del aparato. 4) Adquirir las destrezas para la preparación de reactivos y manejo de los aparatos.

Estuvo constituido por 45 sujetos que no fueron seleccionados al azar, sino por tener voluntad de participar; en 27 de ellos se efectuó el método del lavado nasal, y en 18 el método del raspado nasal. El criterio de inclusión fue que estuvieran clínicamente sanos en el momento del estudio y que no hubiesen presentado alguna enfermedad del aparato respiratorio en las dos últimas semanas. Se indagó haciendo las preguntas pertinentes; no se efectuaron CFV ni el cuestionario que se ha descrito.

TABLA 70

IgA NASAL OBTENIDA POR LAVADO		
	NARINA IZQUIERDA	NARINA DERECHA
L. Recuperado	1.89 (± 0.54)	2.09(± .566)
DO Muestra 1	0.520 (±.294)	0.415 (± 0.259)
DO Muestra 2	0.523 (± .293)	0.422 (± 0 .270)
PROMEDIO	0.521 (± 0.292)	0.418 (± 0.264)
R M1M2	0.993	0.987
IgA mg/l	124.6 (±73.4)	150 (± 66)
Rango	221 a 12	237.1 - 8.1
IgA TOTAL EN LA NARIZ 275 mg/l		

VIII.9.1.1. Método de lavado.

Con este método se estudiaron 27 sujetos, a los que se les tomaron 54 muestras, una de cada narina. Cada muestra se analizó por duplicado por tanto se efectuaron 108 análisis. Los resultados se presentan en la Tabla 70. Se observa que de los 3 ml de solución salina que se lanzaron se recuperó un promedio de 1.89 ml en la narina izquierda y 2.09 en la derecha, lo que representa el 63 y el 69 % respectivamente. El tiempo de permanencia del líquido en la nariz no se pudo controlar, porque se desplazaba hacia la nasofaringe y disminuía el volumen recuperable. Algunas veces la salida fue violenta por una tosadura o estornudo.

El método del lavado fue deficiente para coleccionar la muestra, porque el volumen líquido que se recuperó fue siempre inferior al introducido y por tanto la IgA que se puede medir es solamente la parte, contenida en el líquido recuperado.

El aumento del líquido de lavado de 2 a 3 ml si bien permitió coleccionar más líquido, en ocasiones produjo tosidas o estornudos que dispersaron el líquido y por tanto se frustró el estudio. No se efectuó registro de estos casos.

En la Tabla 70 se aprecia gran dispersión de valores con un rango de 12 a 221 mg/l (promedio 146 ± 73) en la narina izquierda y derecha el promedio fue de 150 mg/l (± 66) con un rango de 8 a 237 mg. La cantidad total recuperada de la nariz fue de 275 mg. Esta cifra es similar a la presentada por diversos autores, pero muy inferior a la encontrada por Sorensen, quien se considera que ha desarrollado la mejor técnica para coleccionar muestras de secreciones nasales.

En este grupo se observó con cuidado que las muestras, fueran homogéneas y sin moco. Este objetivo se considera cumplido y además que todo el procedimiento de lectura fue correcto, toda vez la densidad óptica de las dos muestras tuvo un índice de correlación de 0.993 para la narina izquierda y 0.987 para la derecha. Al respecto es pertinente considerar lo expresado por Vidriero y Col. quien señala que en la medida en que se hacen homogéneas las muestras, se alteran la relación y el estado de las sustancias y si bien se obtienen buenos resultados técnicos, estos se alejan de la situación real.

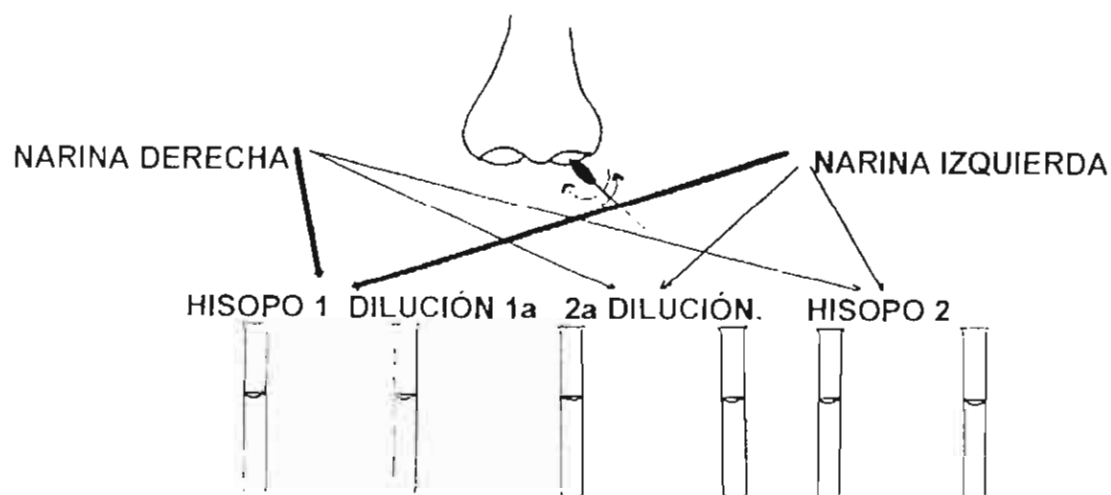
VIII.9.1.2 Método de raspado.

Se estudiaron 18 sujetos con el método de raspado (Fig. 10) a los que se les tomaron 2 muestras, una en cada narina. El método de raspado se había ensayado para los estudios de la flora bacteriana nasal. Como se ha descrito, se coleccionó la IgA con dos hisopos; el primero se lavó en dos tubos para coleccionar la mayor parte de la IgA que estuviera adherida a la superficie. Con el segundo se coleccionó la IgA que quedara en la narina. Se estudiaron 18 sujetos a quienes se tomaron dos muestras de cada narina y se practicaron

en total 6 determinaciones por sujeto cada una por duplicado. Por tanto en cada persona se hicieron 12 mediciones de la IgA y el total de las practicadas para este grupo fue de 216.

FIGURA 10

METODO DEL RASPADO.



TOTAL 3 MUESTRAS PARA NARINA: TOTAL 6 POR SUJETO.
EN CADA MUESTRA SE HACEN LAS MEDICIONES DUPLICADAS

CONSERVACIÓN: INMEDIATAMENTE EN HIELO Y O CONGELADOR..

En la Tabla 71 se muestran los resultados cantidad promedio colectada fue de 3759 mg ($\pm$ 525) y la dispersión de los datos fue menor. Las observaciones tuvieron un rango de 1414 a 2572 para la narina derecha y de 550 a 2338 para la izquierda.

Al igual que en el grupo anterior la toma de la muestra fue adecuada, muy posiblemente era homogénea puesto que las densidades ópticas registradas tuvieron un índice de correlación que varió en las distintas determinaciones de 0.83 a 0.927. También indica que todas las maniobras implícitas en la técnica, fueron efectuadas correctamente.

TABLA 71

IgA NASAL COLECTADA POR RASPADO			
	NARINA DERECHA		NARINA IZQUIERDA
Hisopo 1 Dil 1			
DO Muestra 1	0.391	(± 0.086)	0.380 ± 0.143
DO Muestra 2	0.385	(± 0.112)	0.387 (± 0.186)
DO Promedio	0.388	± 0.098	0.384 (± 0.161)
R M1 vs M2	0.803		0.916
Cantidad 1	1605	(± 0.228)	1591 (± 403)
IgA			
%H1D1/Tot N	84%		85%
Hisopo 1 Dil 2			
DO Muestra 1	0.462	(± 0.179)	0.527 0.149
DO Muestra 2	0.434	0.164	0.517 0.142
DO Promedio	0.397	0.241	0.522 0.143
R M1 vs M2	0.803		0.927
Cantidad 2			
IgA	156	(± 60)	125 (± 35)
Hisopo 2			
DO Muestra 1	0.451	0.255	0.496 0.225
DO Muestra 2	0.394	0.248	0.523 0.230
DO Promedio	0.397	0.241	0.510 0.226
R M1 vs M2	0.663		0.967
Cantidad 3	156	(± 60)	133 (± 55)
IgA			
CANTIDAD 4	NARINA DERECHA		NARINA IZQUIERDA
1 + 2 + 3	1911 mg/l (± 277)		1848 AU11mg/l (± 950)
% TotalNariz	51		49
18 sujetos	IgA TOTAL EN LA NARIZ		
4DER + 4 IZQ			
	3759 mg/l (± 525)		

La proporción de IgA en la primera dilución respecto al total, en la narina derecha fue de 84% y en la izquierda de 85%. Esto muestra que con esa técnica, la mayor parte de la IgA colectada, se recogió con el hisopo 1 en la primera dilución.

En la narina derecha se colectó 51% de la IgA total, en la narina derecha y 49% en la izquierda. No hubo diferencia significativa ni correlación entre la cantidad colectada de cada narina.

La observación fundamental de esta serie es la cantidad de IgA colectada que fue de 3759 mg/l con desviación estándar de 525, la cual es similar a la comunicada por Sorensen que fue de 1749 con rango de 920 a 3520.

VIII.9.2. VALIDACIÓN DEL MÉTODO Y VALORES “NORMALES” DE LA IgA (Grupo OTO96)

Los objetivos de los estudios en este grupo fueron:

1. Confirmar la validez del método y las técnicas usadas, en una muestra estadísticamente válida de la población de la que se había tomado el grupo Piloto.
2. Cuantificar la concentración de IgA en las muestras con el método de ELISA, aplicando técnica de sándwich competitiva para determinar la concentración de IgA en muestras de producto de la superficie nasal de sujetos clínicamente sanos, seleccionados al azar.
3. Definir las variaciones individuales, efectuando varias determinaciones en un sujeto. Se hicieron los análisis estadísticos pertinentes para describir las variaciones en un mismo individuo.
4. Conocer las características antropométricas, clínicas, y los antecedentes de sujetos clínicamente sanos e indagar la relación con la concentración de IgA nasal.
5. Indagar si hay las diferencias en la concentración de IgA nasal, entre los que presentaban curva flujo volumen normal y los que la presentaban anormal.

6. Identificar algunos factores que pueden influenciar la concentración de IgA nasal. Esto se logró mediante un cuestionario que consta de 57 preguntas.

VIII. 9.2.1. Variaciones del método respecto a la prueba Piloto.

La muestra se seleccionó por conglomerados aleatorios, por las razones expuestas en Métodos generales. Se incluyeron 3 grupos cuyos docentes estaban de acuerdo con participar en la investigación. Se aplicó el cuestionario clínico autocontestado, que se ha descrito previamente. Se efectuaron curvas flujo volumen con la técnica descrita.

Para la determinación de la IgA se usó la técnica del cepillado para colectar la muestra y las mediciones de IgA se efectuaron en la forma descrita. Se hicieron las curvas de calibración y diluciones que se habían encontrado adecuadas.

Se colectaron 6 muestras, tres de cada narina. Se calculó la cantidad de IgA obtenida en cada una de las muestras colectadas, la cantidad de cada narina y en la nariz. La suma de estas cantidades correspondió a la IgA que se colecto de una superficie definida de la mucosa nasal.

VIII.9.2.2. Resultados generales del grupo. De los grupos seleccionados para esta fase de la investigación (Oto96.IgA Metodo) unos se programaron para hacer solamente un estudio a cada sujeto, que permitiera ampliar el número de observaciones.

En otro grupo de 14 sujetos proyectó hacer 10 determinaciones a cada uno en diferentes días, para estudiar las variaciones individuales. Pero solamente 2 asistieron todas las veces por lo que de 140 estudios programados se realizaron 107. El estudio de cada sujeto comprendió la determinación de la IgA nasal y la practica de una curva flujo volumen.

El total de las determinaciones de IgA efectuadas a 167 sujetos fueron:

Narina Derecha: Hisopo 1 Dilución 1: 167

Hisopo 1 Dilución 2: 134

Hisopo 2: 148

Narina Izquierda: Hisopo 1 Dilucion 1: 167

Hisopo 1 Dilución 2: 126

Hisopo 2: 130.

Total de determinaciones 867

En algunos estudios en los que solamente se contaba son 1 o 2 determinaciones, pero dentro de ellos no estaba al menos uno de los 2 que contienen el 90% de la IgA nasal se eliminaron y no se presentan esos datos aislados, en ninguno de los grupos que se analizan a continuación

Los datos que se presentan corresponden a sujetos en quienes se logró cuantificar la IgA al menos en 2 de las 6 muestras; en todos los casos efectuó una curva flujo volumen en cada ocasión.

El análisis se hace de las 867 determinaciones de IgA y en ella se estudian los aspectos técnicos y las variaciones individuales. En otro el grupo en el que se tienen todas las muestras se hace el análisis de la trascendencia de cada una y del conjunto total.

VIII.9.2.3. Problemas operativos. Se planeó hacer 140 estudios a dos grupos pero en ambos por razones impredecibles faltaron 2 sujetos.

De los 167 estudios de la IgA nasal, se colectaron 6 muestras, 3 de cada narina, como se ha descrito. Así se obtuvo un total de 1002 muestras. De ellas solamente se logró tener resultados en 867 (86%). En 102 casos se logró analizar el total de las muestras.

Los problemas operativos por los que se tiene resultados de 86% son los siguientes; se señalan porque teniéndolos en mente se pueden superar.

Referentes al material y equipo:

- No se logró tener a tiempo la IgA indispensable.
- Las muestras se colectaron en el Laboratorio H.104 de la Universidad y se conservaron en congelación profunda (-40°C). Se trasladaron al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, donde se nos facilitó el equipo y todos los reactivos y material de consumo excepto la IgA y el conjugado marcado. El traslado se hizo en un recipiente con las características señaladas por la OPS. Allí se guardaron congelación profunda. En este proceso se presentaron dos accidentes: en una ocasión un problema de tránsito severo y, las muestras se descongelaron. En otra ocasión se descompuso el

congelador del INER y todo el material, incluyendo muestras y reactivos se perdió.

- El Elisómetro no funcionó y se descompusieron dos placas de NUNC
- Ruptura de algunos tubos en el congelador, pérdida de la identificación de los tubos.

Para disminuir el efecto de estos problemas impredecibles, se conservaron los 2 tubos de cada muestra por separado, cuidadosamente rotulados.

TABLA 72
DETERMINACIONES DE IgA NASAL Y CURVA FLUJO v

NUMERO SUJETOS	NUMERO ESTUDIOS POR SUJETO	TOTAL
60	1	60
1	5	5
7	7	49
3	8	24
1	9	9
2	10	20
73		167

TABLA 73 D

IgA COLECTADA EN NARINA DERECHA						
NARINA DERECHA HISOPO 1 TUBO 1						
	D.O.1	D.O.2	PROM	CANTIDAD		
Media	0.0532	0.0552	0.0541	1548		
D Es	0.0474	0.0482	0.0476	437		
Mínimo	0.472	0.0112	0.012	1548		
Máximo	0.551	0.573	0.568	437		
Cuenta	167					
	R: 0.98					
NARINA DERECHA HISOPO 1 TUBO 2						
	DO.1	D.O.2	PROM	CANT.T2D	%H1T1/H1T2	
Media	0.171	0.179	0.176	253	17	
D.St	0.083	0.085	0.084	138	10	
Mínimo	0.069	0.072	0.0705	9	0	
Máximo	0.969	0.934	0.9515	663	44	
Cuenta	134		R: 095			
NARINA DERECHA TUBO 2						
	D.O.1	D.O.2	PROM	CANTIDAD H2	%H2/H1T1	TOTAL ND
Media	0.176	0.178	0.177	204	14	1931
D ST	0.0324	0.320	0.031	128	10	518
Mínimo	0.098	0.101	0.104	2	0.2	874
Máximo	0.253	0.247	0.222	519	46	3835
Cuenta	148	R:0.94				

TABLA 73 I

IgA COLECTADA EN LA NARINA IZQUIERDA						
	HISOP01 TUBO 1					
	D.O.1H1T1	D.O.2	PROMEDIO	CANT.NIH1T1		
Media	0.306	0.317	0.312	1763		
DSt	0.156	0.163	0.157	395		
Mínimo	0.038	0.035	0.038	853		
Máximo	0.672	0.685	0.679	2477		
Cuenta	161					
	R= 0.94					
	NARINA IZQUIERDA HISOP01 TUBO 2					
	D.O.1H1T2	D.O.2	PROMEDIO	CANT.NIH1T1	%NIH1T1/T2	
Media	0.410	0.413	0.411	157	10	
DSt	0.208	0.212	0.208	51	4	
Mínimo	0.04	0.035	0.038	27	1.15	
Máximo	0.932	0.945	0.939	327	22	
	R: 0.98					Cuenta:124
	NARINA IZQUIERDA HISOP01 TUBO 2					
	NIH2D.O.1	D.O.2	Promed	CANTIDAD	%NIH1T1/H2	TOTAL NI
Media	0.457	0.465	0.461	201	9.5	1934
DSt	0.208	0.203	0.204	80	6	510
Mínimo	0.01	0.039	0.0245	7	0.3	118
Máximo	0.911	0.926	0.9185	795	63	2935
Cuenta	131		R: 0.97			165

VIII.9.2.4. Validación del método. Se realizó un número variable de estudios a 73 sujetos, como se muestra en la Tabla 73 I que corresponde a los datos de la narina izquierda y 73 D que presenta los datos de la narina derecha. Se basa en los datos de 167 estudios efectuados a 73 sujetos que incluyen un total de 867 determinaciones de IgA nasal. En el Hisopo1Dilución 1 de la narina derecha, se hicieron 167 determinaciones. Se aprecia que las densidades ópticas presentan valores menores, (promedio:0.566) que en las otras muestras(promedio 0.175 y 0.177); esto es congruente con lo que presupone el método, que a mayor cantidad de IgA es menor la intensidad de la reacción colorida. Las lecturas de DO en dos muestras tiene una R de 0.98, lo que indica que se tomaron muestras muy semejantes y que todas las otras maniobras se efectuaron correctamente. La cantidad de IgA colectada en el Hisopo1, es la más grande y constituye el 83 del total de la que se recuperó en esa narina.

Los valores tienen dispersión amplia pero menor que la observada en el Grupo piloto.

La Dilución 2 Hisopo 1 derecho, se estudió en 134 muestras; recuérdese que consistió en agitar el hisopo 1 en un segundo tubo para extraer la IgA que no se hubiera liberado en el primero. En cuanto a la DO. de las dos muestras tuvo una correlación de 0.95. Se constató que la cantidad de IgA recuperada en este tubo fue de 265 mg/l y en promedio constituyó el 17% del total de la narina. En estas muestras, la dispersión fue amplia, y en algún caso llegó a constituir el 44% del total. Esto puede explicarse por que en la segunda agitación del hisopo, se desprendieran fragmentos de moco que habían quedado adheridos.

Se analizaron 148 muestras del segundo Hisopo. La DO tuvo una correlación de 0.94. La cantidad de IgA obtenida fue en promedio de 204 mg que constituyó el 14% de la extraída de esa narina. También presentó dispersión amplia.

En cuanto a los datos de las muestras tomadas de la narina izquierda los datos obtenidos presentan cifras y proporciones similares a las observadas en la narina derecha. Se observa que con la Dilución 1 del Hisopo 1 se colectó el 91% de la IgA colectada en esa narina.

La diferencia entre la IgA colectada en la narina izquierda y la derecha no es significativa y obviamente guardan una proporción inversa en cuanto a la proporción de la IgA total que aporta cada una. Por consiguiente es posible que usando la misma técnica se tenga la probabilidad de colectar en un hisopo y con una dilución, el 43 % de la IgA nasal total.

Se considera que comparando estas cifras con las obtenidas por Sorensen, tienen una magnitud y una dispersión similares y por tanto se puede considerar válido el método y la técnica.

TABLA 74
IgA COLECTADA EN LA NARINA DERECHA

	HISOPO 1 DILUCION 1					
	H1T1D.O.1	D.O.2	PROM	CANT.H1D1		
Media	0.0562	0.0569	0.0566	1588		
DSt	0.066	0.067	0.066	472		
Mínimo	0.0112	0.0129	0.0124	733		
Máximo	0.562	0.573	0.5675	3170		
Cuenta	73					
R: 0.997						
	HISOPO 1 DILUCION 2					
	H1T2D.O.1	D.O.2	PROM	CANT.H1D2D	%H1T1/H1T2	
Media	0.169	0.179	0.175	228	15	
DSt	0.047	0.059	0.055	124	9	
Mínimo	0.069	0.072	0.071	9	0.4	
Máximo	0.451	0.509	0.480	663	35.5	
Cuenta	73					
R: 0.81						
	NARINA DERECHA HISOPO 2					TOTAL NARINA
	NIH2D.O.1	D.O.2	PROM	CANTIDADH2	%H2/H1D1	2013
Media	0.176	0.178	0.177	206	14	509
DSt	0.033	0.032	0.031	130	11	1105
Mínimo	0.118	0.114	0.116	2.2	0.15	3835
Máximo	0.253	0.226	0.223	465	46	73
Cuenta	73					
R: 0.80						
Grupo de 73 sujetos. OTO96METIgA Hoja EDSujUNIFinOU106						

TABLA 75
IgA COLECTADA en NARINA IZQUIERDA

HISOP0 1 DILUCION 1 IZQ					
	NIH1T1D.O.1	D.O.2	PROMEDIO	CANTIDAD	
Media	0.312	0.318	0.315	1744	
DSt	0.169	0.174	0.170	426	
Mínimo	0.04	0.035	0.038	853	
Máximo	0.672	0.685	0.679	2477	
Cuenta	73				
R: 0.97					
NARINA IZQUIERDA HISOP0 1 DILUCION 2					
	NIH1T2 D.O.1	D.O.2	PROMEDIO	CANTIDAD D1H1	%NIH1D2/D1+K109
Media	0.412	0.408	0.410	151	9.3
DSt	0.216	0.216	0.212	54	3.7
Mínimo	0.04	0.035	0.0375	24	1
Máximo	0.932	0.912	0.922	245	19.5
Cuenta	73				
R: 0.98					
NARINA IZQUIERDA HISOP0 2					
	NIH2D.O.1	D.O.2	PROMEDIO	CANTIDH2	%NIH1TD/H2
Media	0.415	0.421	0.418	167	11
DSt	0.212	0.203	0.206	96	8
Mínimo	0.01	0.039	0.0245	7	0.3
Máximo	0.911	0.92	0.9155	795	62
Cuenta	70				
R: 0.97					
Grupo de 73 sujetos. OTO96METIgA HOJAEDGSujUNIFin E-L 106					
					TOTAL NARINA
					2047
					503
					1093
					2933

VIII.9.2.5. VALORES "NORMALES" DE LA IgA NASAL.

La serie presentada en los Tablas 74 y 75; incluyen 73 estudios correspondientes al primero que se efectuó a los sujetos a quienes se les efectuaron varios.

Los datos referentes a las densidades ópticas y las cantidades recogidas en cada una de las determinaciones son similares a las observadas en el grupo total. Las cantidades colectadas en las diferentes muestras también son similares: 79% de la IgA total de la narina derecha y 86% en la izquierda. No se encontró correlación entre la cantidad de IgA colectada en una narina y la otra.

En todos ellos se había efectuado una curva flujo volumen en cada ocasión o sea que a cada estudio de IgA correspondía una CFV. Se relacionó la IgA total para indagar si había diferencia entre las ocasiones en las que el sujeto presentó CFV normal y aquellas en la que presentó anomalías, puesto que se encontró que en observaciones repetidas un mismo sujeto puede presentar una variancia muy amplia de las cifras de las CFV. Se observó que en los estudios analizados en forma aislada, había una diferencia significativa y que la IgA era significativamente menor en los sujetos que presentaban CFV anormal. Esta afirmación puede no aceptarse por el efecto de las repeticiones. Además de ellos solamente 73 tenían las muestras completas.

TABLA 76
SUJETOS CON CURVA FLUJO VOLUMEN NORMAL

IgA TOTAL COLECTADA DE LA NARIZ					
	TOTAL			PROPORCION	
	NARINA DER	NARINA IZQ	NARIZ	ND/TOT.NA	NI/TOT.NA
Media	2084	2119	4203	50	50
DSt	517	476	757	7.73	7.73
Mínimo	1155	1093	2660	36	37
Máximo	3875	2933	6317	63	64
R:	0.081			-1.0	
NUMERO	38	NORMALES			

TABLA 77
Sujetos con Curva Flujo Volumen ANORMAL

HISOPO 1 DILUCION 1					
	H1T1D.O.1	D.O.2	PROMEDIO	CANT.H1D	
Media	0.0341	0.3490	0.344	1660	
DSt	0.145	0.151	0.145	731	
Mínimo	0.041	0.038	0.049	1005	
Máximo	0.613	0.623	0.618	2450	
Cuenta	34				
HISOPO 1 DILUCION 2					
	H1T2D.O.1	D.O.2	PROMEDIO	CANT.H1D2D	%H1T1/H1T2
Media	0.428	0.419	0.424	148	9
DSt	0.21	0.208	0.208	52	4
Mínimo	0.04	0.035	0.037	26	1.14
Máximo	0.928	0.904	0.92	245	19.5
Cuenta	34				
NARINA DERECHA HISOPO 2					
	NIH2D.O.1	D.O.2	PROMEDIO	CANTIDAD H2	%NDH2/H1
Media	0.419	0.423	0.421	182	11
DSt	0.232	0.224	0.227	125	10
Minimo	0.032	0.084	0.047	50	4.1
Máximo	0.862	0.882	0.87	795	63
Cuenta					
				Hoja EDSujUNIXdXAP94	

Para elucidar sobre esta diferencia se comparó la IgA colectada con el primer hisopo, del cual se tenían las muestras de todos los sujetos y que como se ha mencionado aportan el 82 % de la IgA total.

Además se analizó otro grupo constituido solamente por el primer estudio de cada sujeto, que tuviera las muestras completas, para analizarlo sin ninguno de los sesgos mencionados. En este grupo 38 (52%) sujetos tenían CFV normal (Tabla 76) y 34 la presentaban anormal, con alteraciones obstructivas.(Tabla 77)

En estos casos se encontró que había una diferencia significativa entre los sujetos que tenían función respiratoria normal y los que presentaban anormalidades, manifestadas en las curvas flujo volumen.

VIII.9.3. Factores que influyen en la IgA nasal: ciclo menstrual.

Se han descrito variaciones de la IgA nasal y el ciclo menstrual (Ellegard E. 1994, Gilbert A. N. 1987). En consecuencia se decidió observar esta relación como una de las que pueden explicar la amplitud del rango observado en sujetos normales.

En un primer grupo de 21 mujeres (OTO96) se hicieron cuatro determinaciones, una cada semana, con el propósito de tener una observación en cada cuarto del ciclo menstrual. El grupo tenía una edad promedio de 24 años. Se efectuó un análisis estadístico para inquirir sobre la relación entre las cantidades de IgA en la fase foliculínica y en la fase luteínica del ciclo. El resumen de los análisis es el siguiente.

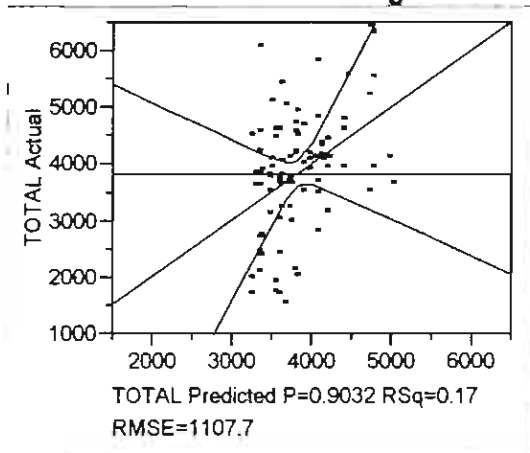
TABLA 78

Prueba de Shapiro-Wilk W t

W	Prob<W
0.981279	0.6286

Se presenta: Residuo total, Ajuste Normal y Bondad de Ajuste.

NO SE ENCONTRARON DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE EL PROMEDIO DE IgA EN FASE FOLICULAR Y LUTEÍNICA. Se tomaron en cuenta 21 mujeres con 4 observaciones cada una. Se presenta a continuación el modelo completo.

Relaciones de la IgA**Modelo completo.****Trazo de la relación entre la concentración de IgA en las fases menstruales.****Resumen del análisis.**

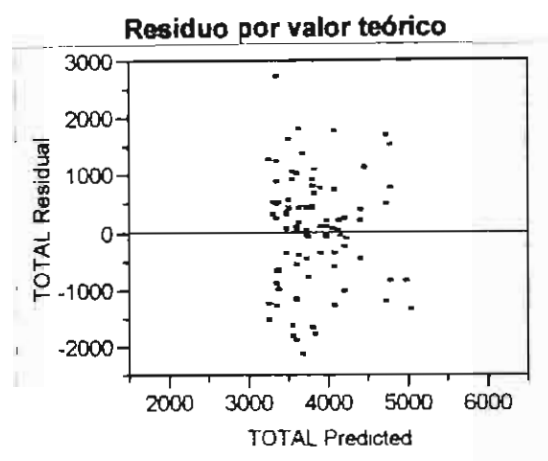
Rcuadrada.	0.17063
Media de las observaciones	3837.091
Número de observaciones	88

Análisis de Varianza

Fuente	DF	Suma de Cuadrados	Cuadrado medio	Relación de F
Modelo	22	16408074	745822	0.6079
Error	65	79753811	1226982	Prob > F
C. Total	87	96161885		0.9032

Resultado de las Pruebas

Fuente	Nparm	DF	Suma de Cuadrados	Relación de F	Prob > F
Fol/Lute	1	1	1191381	0.9710	0.3281
NOMBRE	21	21	15800919	0.6132	0.8941



FoLut

Tabla de las Medias de Cuadrados Mínimos.

Nivel	Media de Cuadrados mínimos	Error St	Media
F	3722.6601	165.61603	3759.51
L	3968.2677	177.94524	3926.02

Es evidente la ausencia de correlación entre las cifras observadas en la fase folicular y en la fase luteínica y la total dispersión de los valores. Esta observación si bien no corresponde a la señalada por Cravioto (1998) pero puede explicarse por la relación entre la tensión de la vida diaria sobre las concentraciones de IgA (Pendersen 1996) y la relación inversa que se ha observado entre las hormonas sexuales y los corticoides.; así, cuando estos aumentan las hormonas sexuales disminuyen e incluso desaparece el ciclo menstrual llegando a producirse amenorrea con ausencia de maduración de la célula germinal y del endometrio. Toda vez que las observaciones se hicieron durante un trimestre lectivo particularmente difícil, es factible que las estudiantes estuviesen sometidas a una tensión considerable, que explique la falta de variación menstrual de la IgA. La relación entre los estados de ansiedad y modificaciones del ciclo menstrual ha sido comunicada previamente, (Martínez J. M. 1996, Farne 1992, Agarwal A. K. 1997) En apoyo de esta explicación esta el que en 11 (52%) se presentó retraso en la menstruación.

Se analizó la relación entre el volumen espiratorio forzado, que como se ha visto es un parámetro sensible de la resistencia de las vías aéreas superiores, para investigar si había algún cambio que pudiera asociarse con las modificaciones hormonales. No se encontró ningún cambio en las observaciones efectuadas en los ciclos menstruales. Es decir no se encontraron diferencias significativas entre el promedio de fev1% en fases foliculares y luteínicas

TABLA 79

Prueba de Shapiro-Wilk W

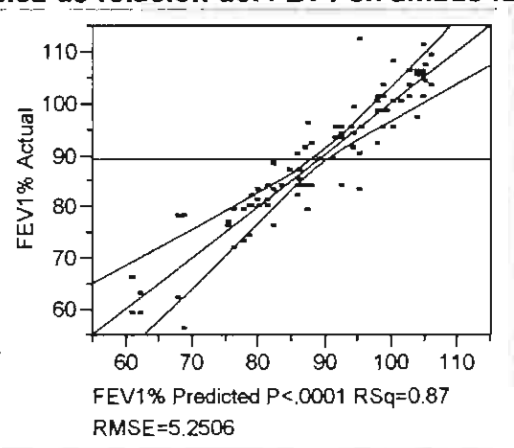
W	Prob<W
0.972881	0.2583

Analisis Residual FEV1%, Ajuste normal y Bondad de Ajuste.

Relación del FEV1% con el ciclo menstrual.

Modelo Completo

Grafica de relación del FEV1 en ambas fases.

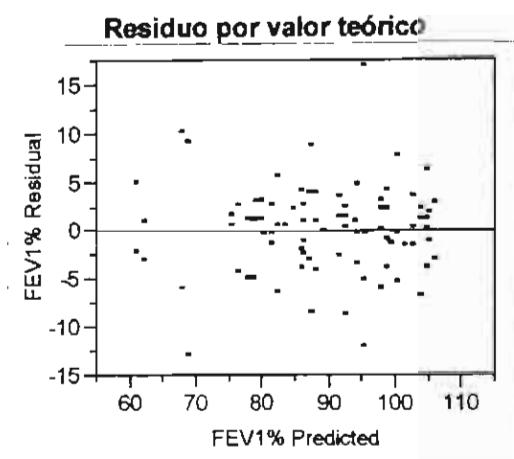


Efecto de la prueba

Fuente	Nparm	DF	Suma de Cuadrados	Relacion de F	Prob > F
NOMBRE	21	21	11868.723	20.5003	<.0001
Folicul-Lutei	1	1	20.253	0.7346	0.3945

Tabla de medias de Cuadrados Mínimos

Level	Least Sq Mean	Std Error	Mean
F	89.801352	0.78504630	90.5106
L	88.788694	0.84348873	87.9756



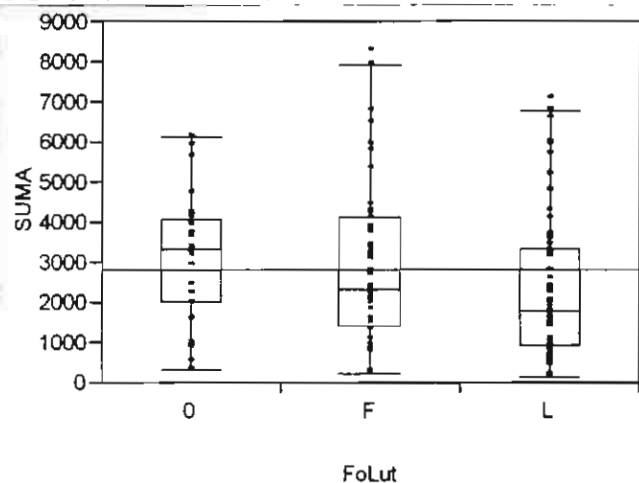
En el trimestre OTO 99 se efectuó otra investigación similar. En este se estudiaron 27 mujeres en edad fértil, no embarazadas, sin terapia hormonal de ningún tipo, formado por egresadas de la carrera de química de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco, con edad promedio de 26 años, peso 55 Kg y 156 cm de estatura. El resto de los datos del grupo se analizan y presentan con las otras muestras. Además se tuvo un grupo control constituido por 2 niños (niña de 9 años y niño 7 años), 2 mujeres menopáusicas sin terapia hormonal sustitutiva, de 43 y 51 años y 3 varones de 20, 23 y 27. En todos se hicieron 4 determinaciones de IgA, una cada semana, con la idea de que se tomara una muestra en cada una de los cuartos del ciclo menstrual en las mujeres en edad fértil y en el grupo control las equivalentes. A todos los sujetos se les practicaron curvas flujo volumen y cuestionario clínico.

Para el análisis estadístico de las variaciones de la IgA en las fases menstruales, se agruparon los datos por bloques y dado que el supuesto de un modelo lineal no se cumplía, se sugirió un análisis no paramétrico para detectar si las tres poblaciones muestrales, controles, fase luteínica y fase folicular, tenían su parte central al alrededor de un valor similar. Observando la prueba sobre la igualdad de medianas en las 3 poblaciones, se rechazó que éstas fueran así. En otras palabras eran significativamente diferentes tanto las concentraciones de las dos fases del ciclo, como la concentración

observada en los grupos control. La IgA de las mujeres fértiles era significativamente menor que la de los controles.

TABLA 80

Análisis Unidireccional de SUMA de Relación Folículo-Luteínica



Prueba de Medias (Número de Puntos Arriba de la Media)

Nivel	Cuenta	Suma	Media	(Media-Media0)/Std0
O	24	17	0.708333	2.310
F	46	23	0.500000	0.069
L	53	21	0.396226	-1.917

Prueba Unidireccional de aproximación de Chi Cuadrada.

Chi Cuadrada	DF	Pr<ChiSq
6.3896	2	0.0410

En la Tabla 80, se anexa una gráfica de bloques se aprecia un adecuado agrupamiento de las medidas individuales y una evidente diferencia que ilustra las cifras calculadas que se presentan en las tablas.

Esta observación apoya la interpretación dada a las observaciones en la primera serie. En este segundo grupo se estudió a una muestra de la misma población, con características somáticas similares. Eran alumnas y alumnos que habían terminado la carrera, pero estaban prestando su servicio social o sus prácticas profesionales. Acudieron como grupo atendiendo a la solicitud de 2 de ellos que formaban parte de él. Las mujeres mayores eran profesoras de la carrera; la frecuencia y tipo de alteraciones de la mecánica respiratoria también fue similar a la observada en otros grupos. Por tanto puede considerarse que la diferencia fundamental fue la condición de menor tensión emocional implícita en esta

parte de las actividades académicas e incluso probablemente que acudieron atendiendo a la solicitud de unos compañeros y no a la de un profesor.

VIII.10. CONCLUSIONES RELACIONADAS CON LA IgA NASAL.

Los datos mostrados permiten concluir:

1. El método y la técnica utilizados son adecuados porque los datos obtenidos son reproducibles con un elevado coeficiente de correlación con promedio de 0.98.
2. Las cantidades de IgA medidas son similares a las publicadas por otros autores, especialmente Sorensen, cuya técnica es rigurosa y bien fundada.
4. Las cifras identificadas con rango entre 1500 y 6000 mg/l por su reproducibilidad pueden considerarse patrones de referencia para sujetos normales habitantes de la Cd. de México.
3. Se ha identificado correlación entre el diagnóstico establecido por las curvas flujo volumen y la cantidad de IgA presente en la mucosa nasal, presentando una cantidad inferior aquellos sujetos que tenían anormalidades.

IX. MECANISMOS AGRESORES DEL APARATO RESPIRATORIO: MICROORGANISMOS.

La estructura y la función del aparato respiratorio, pueden ser agredidas y eventualmente alteradas por elementos externos e internos y que afecten directamente alguna de sus partes o que alteren a otros aparatos y sistemas lo cual repercuta en forma secundaria sobre el aparato respiratorio.

IX.1. MECANISMOS AGRESORES ENDOGENOS

Procesos patológicos de distintos aparatos sistemas suele alterar por mecanismos muy diversos entre si la función respiratoria tienen las más diferentes etiologías, como infecciosas, traumáticas, tumorales.

Los mecanismos indirectos que afectan al aparato respiratorio pueden ocurrir en distintos aparatos y sistemas. Así, los procesos patológicos que afectan al sistema nervioso interfieren con los procesos de regulación y control de la respiración; entre estas condiciones de disfunción respiratoria están comprendidas: las intoxicaciones, por alcohol, hipnóticos y numerosos tóxicos; los estados de coma por alteraciones metabólicas como la diabetes, los traumatismos y diversos procesos infecciosos y síndromes de etiología desconocida. En todos ellos el aparato respiratorio tiene su estructura normal pero los músculos no reciben los estímulos necesarios y en consecuencia no se contraen y por ende no se efectúa el intercambio gaseoso adecuado.

Las anormalidades del sistema cardiovascular pueden alterar la función respiratoria por las modificaciones hemodinámicas que alteran la circulación pulmonar, principalmente en el sector venoso. Ciertas enfermedades abdominales afectan al aparato respiratorio por disminuir la movilidad del diafragma y por diseminación hemática o por contigüidad de infecciones o de neoplasias. Los procesos patológicos periféricos principalmente los traumatismos óseos y las alteraciones venosas, dan origen a las embolias pulmonares que son una causa frecuente de muerte.

Los elementos agresores que afectan directamente al aparato respiratorio pueden alterar cualquiera de sus componentes: la pared, como

en los traumatismos y las enfermedades musculares, de la pleura, de los vasos pulmonares, de las vías aéreas y de los alvéolos.

La etiología de las alteraciones del aparato respiratorio, puede ser infecciosa, química, neoplásica, por radiaciones, por alteraciones inmunológicas y por combinaciones de los anteriores. El agente nocivo suele llegar al aparato respiratorio a través de la circulación, como sucede en las embolias, la invasión infecciosa, parasitaria, o neoplásica. También lo pueden invadir al aparato respiratorio, por contigüidad, tanto en las neoplasias como en las infecciones. Para cada una de dichas rutas de invasión existen mecanismos de defensa.

Debe notarse sin embargo, que la forma más frecuente de invasión al aparato respiratorio, de los agentes infecciosos, los agentes químicos, y los polvos, es a través de las vías respiratorias. De los agentes agresores mencionados, los más comunes son los inhalados, tanto partículas como gases. Por esto y dado el aumento de la contaminación en numerosas urbes y muy especialmente en la Ciudad de México se plantea estudiar la relación entre los contaminantes más frecuentemente detectados en aire ambiente y las características de la mecánica respiratoria.

El otro mecanismo agresor que se analizará es la flora endógena nasal, puesto que como se ha indicado la mayor parte de las enfermedades respiratorias son de tipo infeccioso, y los microorganismos patógenos penetran por las vías respiratorias las cuales se inician en la nariz. Estos agentes ingresan como partículas que pueden ser eliminadas o permanecer como flora endógena o patógena.

IX.2. MICROORGANISMOS COMO AGRESIÓN AL APARATO RESPIRATORIO.

El aire inspirado con sus contaminantes, ingresa al aparato respiratorio por la nariz. De acuerdo con las características químicas y aerodinámicas, estos penetran hasta diferentes niveles del aparato respiratorio. Dada su masa el número de microorganismos que se retienen en la nariz son aproximadamente 10% del total; esto implica que las que se cultivan

corresponden al criterio enunciado de flora endógena y además que un aumento en el número de gérmenes en las fosas nasales puede corresponder a un aumento en las vías respiratorias inferiores (Gleeson M. 1991). Por los factores que modifican su concentración, y la escasa información respecto a sus características cuantitativas, se considera trascendente y vigente incluir esta variable como uno de los mecanismos agresores del aparato respiratorio.

Como se ha indicado las enfermedades más frecuentes del aparato respiratorio, son las infecciosas. La infección, como en cualquier sistema se produce por un desbalance entre la capacidad patogénica de los microorganismos el cual predomina sobre la capacidad de defensa del huésped. El proceso infeccioso puede iniciarse por la inhalación de los microorganismos o por diseminación, hemática, linfática o por contigüidad. Las porciones inferiores del aparato respiratorio, habitualmente no tienen microorganismos. En contraste las vías respiratorias superiores, nariz, faringe y boca tienen una extensa flora que ha sido estudiada y respecto a la cual, hay importantes puntos que es necesario esclarecer. Se considera que la flora endógena o normal, esta constituida en 60 a 90% por gérmenes aerobios y de éstos los más comunes son los *Streptococos* y las *Neiserias* así como ciertos difteroides. Sin embargo en algunos estudios se han encontrado una amplia variedad de microorganismos.

La relación entre la flora nasal, las infecciones nasales y la invasión de la porción inferior del aparato respiratorio es un problema no esclarecido. El concepto habitual de la flora nasal en rinitis aguda y crónica, es que NO HAY gérmenes; con esto se quiere decir que no hay microorganismos de los considerados patógenos; sin embargo no se ha dado importancia a las variaciones en la cantidad de los gérmenes habituales. En otros sitios como en el sistema urinario, cuando hay cambios en el número de gérmenes aún que se trate de microorganismos de la flora habitual, no clasificados como patógenos, se considera que existe infección.

Con alguna frecuencia los gérmenes asociados con una enfermedad pulmonar se identifican en frotis de exudado faríngeo y de nariz; pero esto no ocurre siempre. Además se sabe que una vez que los agentes infecciosos

penetraron a la porción inferior, los procesos por los cuales se hace la invasión son muy diferentes.

Objetivos específicos de esta Sección.

Con base en estos datos se planteó en esta investigación hacer una determinación cuantitativa y cualitativa de la flora endógena nasal con los siguientes propósitos:

1. Seleccionar y diseñar en su caso, el método y las técnicas más adecuadas para el estudio cuantitativo de la flora endógena nasal
2. Definir las características cuantitativas y cualitativas de la flora endógena nasal de sujetos clínicamente sanos habitantes de la Cd. de México.
3. Analizar las diferencias entre los sujetos clínicamente sanos, que presentan curvas flujo normales y quienes las tienen anormales.
4. Identificar las relaciones entre esta y la flora de las porciones inferiores del aparato respiratorio y discutir porque una infección nasal suele complicarse con infecciones de la porción inferior del aparato respiratorio.

Los propósitos anteriores se enmarcan en los conceptos básicos de la relación huésped parásito.

IX.3. TIPOS DE INTERACCIONES ENTRE EL ANFITRION Y EL PARÁSITO.

La relación que se produce entre el huésped y el parásito en la cual ambos resultan beneficiados se denomina simbiosis. Cuando el parásito resulta beneficiado pero no produce daño al huésped se denomina comensalismo. La relación en la cual el microorganismo se beneficia a expensas del huésped se considera parasítica. Los factores que afectan al resultado de esta interacción determinan el estado de salud o enfermedad.

Las relaciones huésped parásito son dinámicas y es inadecuado considerar a un factor único aislado, como responsable de la evolución final de ella. El análisis correcto de la relación la enfoca como un proceso con diversos

estadios, en el que hay cambios constantes tanto en el micro organismo como en el huésped. En este contexto un organismo se considera parásito, cuando tiene el potencial para dañar a los tejidos del huésped.

La relación más adecuada para el huésped y el microorganismo es la de comensalismo y parece haber una selección poblacional en los gérmenes, en favor de los que producen menos daño. En efecto, desde el punto de vista del parásito, cuando el daño que produce al huésped es muy intenso y causa su muerte, simultáneamente produce su propia extinción.

El tipo de relación que se produce entre el huésped y el parásito y la forma en la que esta evoluciona, depende de algunas características del microorganismo y de otras propias del huésped, como su capacidad de defensa y de las circunstancias en las que se da la interacción.

Cuando las defensas están muy disminuidas, aún gérmenes con baja capacidad de agresión pueden producir una infección; a estos se les denomina oportunistas.

IX.3.1. PATOGENICIDAD: CAPACIDAD DE AGRESIÓN DEL PARÁSITO.

La patogenicidad de un parásito o sea su capacidad de producir daño al huésped, depende de las siguientes características:

La transmisibilidad o sea la facilidad con la que puede pasar una cantidad o "dosis" efectiva de gérmenes desde una fuente a un huésped; esta a su vez se relaciona con la labilidad del parásito frente distintos ambientes.

La virulencia que es la capacidad de un germen de producir daño al huésped; esta a su vez esta determinada por varias características como son:

La invasividad que es la capacidad del parásito para penetrar a diversos tejidos y órganos.

La toxigenicidad que es la capacidad del germen para sintetizar y liberar sustancias denominadas toxinas las cuales alteran directamente a las células o neutralizan sus mecanismos de defensa

IX.3.2. VÍA DE ENTRADA DE LA INFECCIÓN.

La vía de entrada de los gérmenes al organismo es determinante para que se desarrolle la enfermedad; algunas infecciones únicamente se producen cuando penetran por una vía específica. Por ejemplo el *Vibrio cholerae*, produce una infección capaz de matar al individuo cuando ingresa por vía digestiva, pero no tiene efecto si penetra por vía subcutánea. En cambio el bacilo tuberculoso, puede causar la enfermedad en cualquier forma de penetración: inhalado produce tuberculosis pulmonar, ingerida causa tuberculosis digestiva e inyectado puede causar tuberculosis cutánea, ganglionar o sistémica.

La explicación biológica para este hecho, es que las diferentes regiones del organismo tienen distintas características ambientales y diferentes mecanismos de defensa. En la medida en la que los requerimientos para la vida del germen en cuanto a temperatura, pH, presión parcial de oxígeno, humedad, osmolaridad y concentración de nutrientes, sean parecidos a los presentes en la región donde penetró, y con la cual entran en contacto, habrá mayor facilidad para que se establezca. Así, el bacilo tuberculoso que es aerobio estricto y requiere una presión parcial de oxígeno de 90 mm, pH de 7.4, es muy sensible a las radiaciones ultravioletas, y muere fácilmente en ambiente seco, tiene condiciones ideales de desarrollo en el aparato respiratorio, donde la presión parcial de oxígeno es la más alta del organismo y el pH más cercano a 7.4; por ello en estos órganos se presentan las formas más graves de la enfermedad.

La transmisión de las infecciones ocurre en diversas formas, unas son indirectas y otras directamente de una persona a otra.

La **transmisión congénita** se hace por el paso de gérmenes a través de la placenta como en la rubéola y en la sífilis. La infección puede adquirirse en el momento en el que el feto pasa por el canal pelvigenital de la madre, como en el caso de la gonorrea.

La **transmisión por contacto directo** se efectúa: de mano a mano, como en la *Salmonella thyphi*, la *Shigella spp* y los rinovirus. A través de las

secreciones respiratorias se puede transmitir el *Corynebacterium diphtherie*, y los virus de la influenza. Por contacto sexual se transmite el virus de la inmunodeficiencia adquirida, la sífilis, la gonorrea el herpes.

La transmisión indirecta se hace por objetos, como el dinero, catéteres, manuales de los cuartos de baño, como la Legionella. A través del agua y los alimentos se transmiten gran cantidad de infecciones gastrointestinales, y generales como la tifoidea, el cólera, parasitosis como la giardiasis, la amibiasis y demás. Otras formas de transmisión son a través de animales, como la rabia y de artrópodos como la malaria y el dengue.

La transmisión por vía respiratoria, se hace por la inhalación de partículas; es muy importante en el caso de la tuberculosis, el ántrax, y la hepatitis. Las micosis tanto respiratorias como sistémicas, como la histoplasmosis, coccidioido micosis, aspergilosis y otras, se producen por inhalación de polvo que contiene esporas u otras partes de los hongos.

IX.3.3. Dosis de reto de organismos infectantes.

La cantidad de gérmenes que ingresen al huésped, es decisiva para que se desarrolle la infección. Casi todos los tejidos tienen mecanismos capaces de superar el ataque de un número pequeño de gérmenes. La cantidad de gérmenes o dosis necesaria para producir una infección es menor cuando la vía de entrada es la adecuada. A medida que aumenta la cantidad de gérmenes que recibe el sujeto, las posibilidades de que se infecte y se enferme son mayores.

Tanto desde el punto de vista clínico como básico es trascendente determinar la dosis necesaria para producir una infección. Esto se ha hecho en experimentos con animales, que en principio deben ser razas con la mayor pureza genética, para que todos tengan mecanismos de defensa similares. También las cepas bacterianas deben ser homogéneas. En estas condiciones se inocula a grupos de animales con dosis progresivamente mayores. Cuando la cantidad aplicada logra producir la infecciosa en la mitad de los animales, se ha identificado la DOSIS INFECCIOSA 50: DI_{50} . Se define como DOSIS INFECCIOSA 50 al número de microorganismo que se requiere

administrar a un grupo de animales para que el 50% desarrollen la infección. Con experimentos similares se identifica la DOSIS LETAL 50: DL₅₀. Esta indica el número de gérmenes que se requiere administrar para que muera el 50% de los animales tratado. Algunos autores considera más adecuado determinar la DOSIS LETAL MÍNIMA 50.

Las dificultades para definir la dosis infecciosa 50 o la dosis letal 50 derivan de problemas técnicos y conceptuales. Entre los primeros esta el contar con cultivos completamente homogéneos y con razas puras. Además es difícil establecer criterios objetivos para determinar cuando un animal esta enfermo.

Por lo tanto cuando se señala una dosis infecciosa o letal, es necesario indicar la cepa del germen y clase del huésped. En el hombre la DI₅₀ para la *Salmonella typhi* TyVX, es de 10^7 , gérmenes, en tanto que la DI₅₀ para la *Salmonella dysenteriae* varia entre 10^1 y 10^3 . Para *Shigella* spp en el hombre la DI₅₀ es de 3.0 a 10^1 .

El conocimiento de las DI₅₀ es muy trascendente en epidemiología, en clínica y en inmunología. Por ejemplo, si disminuye se puede suponer que hay una disminución de la capacidad de defensa del organismo, Cuanto más pequeña la DI₅₀ más fácil es que se produzca una epidemia, y se eleve la mortalidad; Por otra parte cuando se produce infección con un germen que tenga una DI₅₀ muy elevada, es factible que exista una situación individual o social que disminuya la capacidad de defensa o que el ambiente este extremadamente contaminado.

IX.4. RELACIÓN ENTRE EL NÚMERO DE GÉRMENES, LA INFECCIÓN Y LA ENFERMEDAD.

La cantidad de gérmenes que penetren a un organismo, su patogenicidad y la efectividad de los mecanismos de defensa, van a determinar el tipo de reacción, que se presente. Suponiendo que la patogenicidad y la efectividad de los mecanismos de defensa permanezcan constantes se pueden observar diferente evolución de acuerdo con el tamaño del inóculo,

IX.4.1. DIFERENCIAS ENTRE INFECCIÓN Y ENFERMEDAD.

Cuando el número de gérmenes es muy pequeño no ocurre ningún cambio en el huésped. Esto se ha comprobado experimentalmente. En un estudio, se aplicó en la traquea, de ratones, una cantidad muy pequeña de inóculo de neumococos patógenos y se pudieron recuperar algunos en forma libre en las secreciones o dentro de macrófagos; no había alteraciones tisulares. En este tipo de interacción no se produjeron sustancias como anticuerpos que indicaran que el huésped había reconocido al germen.

Cuando el tamaño del inóculo fue un poco mayor, se encontraron lesiones generalmente localizadas, en el sitio de aplicación del inóculo y que evolucionaron a la cicatrización; no se apreciaron datos que sugieran que el animal estaba enfermo y aparecieron los anticuerpos, lo cual indica claramente que el huésped reconoció como ajenos a los microorganismos, y se produjo la respuesta inmune característica; Es decir una cantidad "pequeña" de gérmenes puede producir una infección localizada pero no la enfermedad.

Cuando el inóculo aumentó, se produjeron las alteraciones estructurales y funcionales que constituyen las características clínicas y estructurales de la enfermedad producida por el germen, que en el caso de experimento mencionado fue una neumonía generalizada. Cuando esto sucedió en la mitad de los animales esto indicó que se les aplicó una cantidad de microorganismos que correspondía la dosis infecciosa 50

Claramente se aprecia que la denominada dosis infecciosa en realidad produce la enfermedad. Una dosis menor a la DI_{50} , corresponde a un estadio en el que el organismo reconoce al germen pero sin que exista un daño o efecto deletéreo. El efecto de esta INFECCIÓN es trascendente toda vez que desencadena la respuesta de defensa inmunológica. Esta reacción puede producirse cuando se aplican organismos similares pero atenuados en su virulencia, lo cual constituye el principio de las vacunas, toda vez que los anticuerpos constituyen uno de los mecanismos de defensa más importantes. Su mecanismo de acción se describirá más adelante.

En el experimento mencionado, se trató a los animales con corticoides o se les hizo ingerir alcohol con azúcar, la dosis pequeña fue capaz de

producir la enfermedad. Esto apoya el concepto de que la relación huésped parásito es dinámica y puede modificarse por cambios en uno de los dos elementos que interactúan, el huésped o el parásito. (Drechsler-Parks D. M. 1990)

IX.5. CONCEPTO DE FLORA ENDÓGENA

La flora endógena o autóctona del organismo es la que reside y se desarrolla en forma permanente en los tejidos superficiales y las mucosas expuestas en forma más o menos directa al medio ambiente y en órganos como el intestino (Cario A. 1978) y la vejiga (Forland M. 1984). Esta flora en condiciones habituales no causa enfermedades o trastornos en la salud, sino que vive en una relación de comensalismo o simbiosis, es decir benéfica para el huésped y el hospedero. Ocasionalmente, cuando la resistencia general o local del hospedero, está deprimida, la puede actuar como oportunista y causar enfermedad. En casos excepcionales puede desaparecer y esto causar trastornos al hospedero, como cuando se administran antibióticos de amplio espectro durante tiempo prolongado o en los animales criados en condiciones experimentales de esterilidad. (Jawetz E. 1992)

IX.5.1. DESARROLLO DE LA FLORA ENDÓGENA.

El organismo de los vivíparos intraútero, es estéril y al nacer entra en contacto con microorganismos de los cuales algunos colonizan la superficie de la piel y las mucosas nasal y oral. Posteriormente otros organismos penetran, principalmente por contacto del individuo con su ambiente y por la ingestión de productos con gérmenes (Howard L. 1987). De los microorganismos que entran en contacto, con el cuerpo solo algunos persisten; esto lo determinan factores como la disponibilidad de nutrientes, especialmente en los gérmenes autótrofos; además la limitan la estructura de los tejidos (Mayer I. 1987, Mestecky J. 1987) y sus defensas fisiológicas como el movimiento ciliar y la capa mucosa (Bang G. 1977, Passaly D. 1990, Proctor D. 1986), factores mecánicos, bioquímicos, la capacidad de adherencia (Kurono Y. 1991) la asociación con virus (Lemanske R. F. 1989) y factores inmunológicos (Kanesaki 1984).

Por otra parte la implantación de la flora endógena esta influida por interacciones como el antagonismo bacteriano, que limita el desarrollo de ciertos gérmenes; esto ocurre por dos mecanismos fundamentales: uno es la competencia por nutrientes y el otro es el impedir activamente el crecimiento de otras bacterias ya sea por mecanismos inespecíficos como modificaciones en el pH o por mecanismos específicos como la síntesis de sustancias antibióticas.

En la flora endógena existen ciertos tipos de gérmenes que pueden considerarse saprofitos y otros clasificados como patógenos; entre ambos existe una distribución sin límites precisos; en esta situación la flora se califica como normal de acuerdo con un criterio estadístico, es decir la que predomine o de acuerdo con los efectos que manifieste en el hospedero. En muchos casos estos gérmenes se identifican en cultivos pero no producen síntomas por lo que se considera a quienes los tienen como portadores sanos; sin embargo en los cultivos de algunas especies como la *Pasteurella multocida* pueden encontrarse hasta catorce variedades, algunas de las cuales producen enfermedad (rinitis atrófica) en tanto que otras no se asocian con ninguna alteración clínica. En otros casos dichos microorganismos, pueden producir síntomas o alteraciones de las cuales el hospedero no es consciente, excepto si éstas desaparecen, se incrementan por la participación de un nuevo microorganismo francamente patógeno ó por el desbalance de la flora autóctona con los mecanismos de resistencia del ambiente o con el resto de la flora bacteriana autóctona.

La flora bacteriana autóctona, esta compuesta por especies que predominan en un sitio o locus determinado; es decir que hay un tipo y número más o menos característico de microorganismos en cada porción del organismo, pero en general no están estrictamente confinados. Por ende la biota microbiana endógena se puede considerar como una unidad característica para cada especie. Sin embargo, hay gérmenes que pueden vivir en varios ambientes muy diversos entre si, por ejemplo en organismos vivos y en la tierra; a éstos Rosebury (1962) propone denominarlos anfibios.

IX.5.2. CRITERIOS PARA DEFINIR LA FLORA ENDÓGENA.

No hay criterios bien definidos para establecer cuando un microorganismo específico, pertenece a la flora endógena y "normal" en un sitio del organismo del hombre. Los lugares en los normalmente existe flora bacteriana son: en el aparato respiratorio, en la nariz y la rinofaringe, en el aparato urinario en la vejiga y en la uretra, en el aparato genital en la vagina y genitales externos, y en el aparato digestivo, en la boca, la orofaringe, el yeyuno, el ileon y la totalidad del colon. No hay criterios definidos para calificar a una determinada especie como endógena comensal, simbiótica o patógena (Rosenbury 1962). Algunas de las dificultades derivan de los problemas técnicos para estudiarlos.

Se presentan a continuación, algunos conceptos para definir la flora endógena:

- ✓ Los gérmenes endógenos deben observarse en sujetos sanos, es decir que no presenten signos ni síntomas de enfermedad y cuyo desarrollo corresponda al considerado ideal para el género y la especie.
- ✓ La flora endógena en la mayoría de los casos esta constituida por dos, tres ó cuatro especies de microorganismos, si bien para la nariz, algunos autores comunican casos en los que hay un solo germen.

La flora endógena, coloniza al organismo, inclusive a los recién nacidos, sin causar enfermedad. En los adultos se han identificado numerosos microorganismos que habitualmente se consideran patógenos porque su presencia se asocia con síntomas y signos de enfermedad

En el caso de la flora endógena, ésta puede estar presente y aparecer en los cultivos, pero NO produce enfermedad. Así, la flora endógena identificada en el canal pelvigenital de la madre inocula al recién nacido, y puede identificarse en cultivos tanto de las heces fecales como en la nariz, pero la diferencia fundamental con la flora patógena, es que no produce enfermedad.

Otros criterios útiles para caracterizar la flora endógena, son los propuestos por Gall y Huhtanen (citados por Rosebury 1962) para la cavidad gástrica de los rumiantes. Para calificar como autóctonos los gérmenes proponen lo siguiente:

1. Que sean anaerobios.
 2. Que su concentración no sea menor de 6 millones por mililitro de líquido de la cavidad.
 3. Que se puedan aislar en la cavidad de los mismos animales en muestras tomadas en diferentes ocasiones, es decir que permanezcan en ella en forma permanente.
 4. Que se localicen por lo menos en dos poblaciones de animales en diferentes localizaciones geográficas.
 5. Que generen subproductos que deriven de sustancias contenidas en el rumen; en otras palabras que su metabolismo sea satisfecho con los productos alimenticios presentes en su hábitat.
- Estos criterios son útiles para clasificar la flora endógena en áreas del ser humano en las cuales aún no se ha definido.

IX.5.3. Flora transitoria y flora Endógena Nasal

Para complementar los criterios de la flora autóctona, es menester definir la flora transitoria, la cual esta constituida por microorganismos presentes en un sitio determinado del organismo, durante un corto periodo de tiempo, por diversas circunstancias tales como el contacto con un elemento contaminante o respirar cerca de un enfermo que los esta eliminando por la saliva y las secreciones; pero los gérmenes de la flora transitoria no se reproducen en ese sitio, ni están en forma permanente, ni en las concentraciones indicadas; tampoco se identifican en la mayoría de los individuos de una población. Esta flora transitoria puede en circunstancias especiales (Savitskaya K.I. 1986) , reproducirse e implicar un proceso patológico, manifestado por los signos y síntomas característicos de la enfermedad y desaparecer cuando ésta ha sido tratada. En otras ocasiones la flora transitoria aparece y desaparece sin que ocurra ningún síntoma, y su presencia se detecta en forma casual. Tal sería el caso de las bacteriemias asintomáticas o en el caso de la flora nasal, en la que se ha cultivado *Mycobacterium tuberculosis* V. *hominis* solo un día de la semana.

Para clasificar a los gérmenes como flora autóctona o transitoria, es importante definir si son aerobios o anaerobios porque en el hábitat se deben dar las condiciones adecuadas para su desarrollo; por ejemplo en la nariz, con dificultad se puede considerar la flora anaerobia estricta como endógena, dada la elevada presión parcial de oxígeno, tanto en la superficie como en el tejido. En cambio, en el intestino humano, hay flora estrictamente aerobia y flora anaerobia; esta última se localiza en la profundidad de los espacios intercelulares y entre las vellosidades intestinales, en cambio la aerobia se desarrolla en la luz intestinal. Sin embargo este criterio es difícil de establecer en cultivos. Cario (1978) plantea que cuando se toma una muestra y se coloca en diversos medios de cultivo específicos para ciertos tipos de gérmenes, es posible que las condiciones *in vitro* no reflejen el ambiente *in vivo* y en consecuencia que se desarrollen tipos de gérmenes que no proliferarían en la misma forma en su ambiente natural, en el cual podrían encontrarse como flora transitoria.

Por lo antes mencionado, este autor considera que el número de colonias en el hábitat, es un criterio adecuado para considerar que una especie es autóctona, si bien es difícil de establecer, cuando su presencia es puramente de comensal o se puede considerar patógeno. Así, se sabe que en la vejiga de individuos sanos, es habitual encontrar de 100 a 1000 colonias de *Echerichia coli*, por centímetro cúbico de orina, en muestras tomadas en condiciones adecuadas, y esto no indica que exista una infección. Pero cuando el número de colonias asciende a cifras de 100,000 se considera indudable que hay infección urinaria (Forland M. 1984).

Otro ejemplo en el que un cambio en el número de colonias de la flora endógena implica alteraciones patológicas, se observa en el yeyuno en sujetos que han sufrido procedimientos quirúrgicos o de otro tipo, que modifiquen el pH del estómago; en estos casos el número de

gérmenes cambia de 50 a 1000 por ciento, alcanzando cifras de 10 a 100 millones por centímetro cúbico.

Un ejemplo más son los cambios en el número de lactobacilos de la cavidad bucal, que se produce de acuerdo con el contenido de hidratos de carbono de la dieta.

Estas últimas observaciones limitan el criterio de permanencia y generalización en un género, para definir la flora endógena, porque debido a modificaciones fisiológicas, nutricionales o ambientales se puede alterar el tipo y número de microorganismos que proliferen en un sitio determinado del organismo.

IX.5.4. Características de la flora endógena nasal.

En la vida intrauterina los fetos son estériles. En el momento del nacimiento se ponen en contacto con el canal pelvigenital de la madre así como con el personal y los utensilios del servicio, por lo cual rápidamente se colonizan las fosas nasales y la boca del feto.

IX.5.5. Implantación de la flora endógena. Cvetni'c y Col. (1991) estudiaron la flora bacteriana nasal en el primer y tercer día de vida extrauterina, de 49 niños, 32 nacidos por parto natural y 17 mediante cesárea; tomaron muestras del exudado del cuello uterino de la madre después del parto, mediante raspados con hisopos y se cultivaron en medios enriquecidos; también hicieron frotis para identificar células inflamatorias y epiteliales. Además se usó la técnica de Gram como semicuantitativa. El primer día, tenían estériles las fosas nasales, el 51% de los niños nacidos por parto y el total de los nacidos por cesárea. En el segundo día había gérmenes nasales en todos los casos. En los nacidos por vía natural, los microorganismos encontrados fueron los mismos detectados en el cervix de la madre en el 50% de los casos, lo que indica que en el resto de los niños (50%) la contaminación se hizo por otra vía. Además encontraron que el número de gérmenes

identificados era proporcional con el número de células epiteliales y Granulocitos en los frotis del exudado uterino; estos datos citológicos sugieren a los autores la presencia de infección local o la fase inicial de la respuesta inmune.

La flora endógena nasal en general, esta formada por dos o tres variedades de gérmenes aerobios y se supone que existe igual número de variedades de anaerobios, aun cuando los estudios de este tipo de flora son escasos y dadas las condiciones fisiológicas de la nariz se supone que no es un hábitat adecuado para estos microorganismos anaerobios.

Savolainen (1986) estudió las 194 narinas de 97 adultos sanos y ninguno de los cultivos fue estéril; además se encontró que la mayoría tenían de 1 a 3 variedades de gérmenes. Linoli (1961) estudió 187 sujetos sanos; en 18 los cultivos fueron estériles; en 59 casos se identificó solo un tipo de microorganismo, en 23 casos 2 y en el resto 3. Ylikoski (1989) estudió la flora nasal de 86 jóvenes sanos; encontró que en 39 casos había solamente un tipo de microorganismos y en el resto 2 o más.

Por otra parte, Savitskaia (1986) estudió niños sanos y otros que habían padecido enfermedades del aparato respiratorio y que estaban recuperados al momento del estudio. En los dos grupos encontró que el tipo de gérmenes era similar, sin embargo los niños sanos presentaban de 2 a 4 especies en tanto que en los enfermos se identificaron de 4 a 6 variedades de microorganismos.

En el mismo contexto, Hess y Col (1991), estudiaron la flora endógena nasal de niños que no tenían signos ni síntomas de infección actual, pero con antecedentes de adenoiditis hipertrófica; para ello tomaron muestras de raspado de mucosa, de la porción anterior de la nariz y de la región nasofaringea. Encontraron que en la rinofaringe, es decir en el área donde se asentaba habitualmente el proceso infeccioso, había un mayor número de variedades de microorganismos. En ninguno de los estudios mencionados se hace énfasis en el número absoluto de colonias.

Todas estas investigaciones permiten afirmar que en la flora bacteriana nasal "normal", habitualmente existen de 1 a 3 variedades de microorganismos aerobios, en tanto que en sujetos que padecen o han

padecido infecciones respiratorias, ya sea nasofaríngeas, bronquiales o pulmonares, aumenta la variedad de microorganismos presentes.

En cuanto al número de colonias recuperadas de la nariz mediante técnica de lavado con 5 ml. de solución salina, Rosebury (1962) cita los hallazgos de Grubb y Puetzer quiénes encontraron de 70 a 38,000 con un promedio de 4,320 y los de Watson y Col (1962) quiénes encontraron de 30 a 1700 con un promedio de 3500; en cada uno de dichos estudios los datos provienen de 5 sujetos. En los datos de Savitskaya, el número de colonias en la nariz, obtenidos en 50 niños sanos, estuvieron en un rango de 1000 a 100,000 . En los datos de Linoli y Col (1981). el número de bacterias fue de 100 a un millón. Torres y Col. (1993) encontraron en 40 sujetos sanos y sin antecedentes de enfermedad respiratoria, un rango de 10,000 a 100,000 colonias. En 6 sujetos se efectuaron cultivos diariamente en dos series de 5 días y se observó que cada sujeto presentaba una variación de $\pm 10\%$ Puede apreciarse, una gran dispersión de los valores y es factible que en parte se deba a variaciones en la técnica y en parte a que algunos autores no se aseguraron de que los sujetos no hubiesen presentado enfermedades, de cualquier sistema, toda vez que se ha mostrado que una infección digestiva modifica la concentración de IgA secretoria nasal hasta por 20 días después su resolución y esto podría influir en la flora bacteriana nasal.

En relación con el tipo de gérmenes, los microorganismos más frecuentemente encontrados en la flora endógena nasal, estudiada en sujetos sanos se presenta en el Tabla 81.

Los números bajo el nombre de los autores indican la referencia en la bibliografía. Los números en las columnas indican la proporción en por ciento, de los sujetos en los cuales se encontró el germen indicado. Puede apreciarse que el microorganismo que se encontró con más frecuencia fue el *Staphilococo coagulasa negativo*. En segundo lugar en frecuencia se presentó en *Corynebacterium*.

TABLA 81
MICROORGANISMOS ENCONTRADOS EN FLORA ENDÓGENA NASAL DE
SUJETOS SANOS

AUTOR	ROSEBURY	SAVOLAINEN	LINOLI	YLIKOSKI	HESS	SAVITSKAYA	CVETNIE
GERMEN	%	%	%	%	%	%	%
REFERENCIA .No	30	33	22	44	13	32	6
STAPH.COAG.-	37 - 100	79	91	73	0	100	40
STAPH.COAG.+	22 . 85	0	0	0	0	-	0
STAPH.AUREU	0	34	14	38	18	+	22
STREP.MITIS	1	1	50	18	94	-	6
STREP.PIOG	2.5	4	0	0	8	-	0
DIPLOCOCO N.	5	0	5	0	0	+	5
CORYNE.BACT	86	41	67	44	26	+	0
HEMO.INFLUE	1 -25	5	6	3	53	+	0
ECH.COLI	1	1	7	1	3	+	17
KLEBSIELLA	0	4	6	1	3	+	0
BRANHAMELLA	0	3	0	2	0	+	0
MICROCO.CAT	0	0	35	0	0	-	0
ENTEROCOCO	0	0	35	0	0	-	0
ENTEROBACTER	0	0	10	0	0	-	0
NEISSERIA	0	0	10	0	0	-	0
CANDIDA	0	1	0	0	0	+	1

Fuente: Construida por la autora con los datos de las referencias (que se localizan en la lista total). Los nombres de los microorganismos se anotan de manera heterodoxa.; En columnas el número de casos de la serie en la que se aisló

IX.6. MATERIAL Y MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA FLORA NASAL.

IX.6.1. TÉCNICA GENERAL PARA LA TOMA DE LA MUESTRA.

Los estudios se iniciaron en el Laboratorio G-002. Posteriormente se efectuaron en otro laboratorio (H.104). Los principios de esterilidad del ambiente se observaron de igual manera.

2. Los observadores usaron bata, gorro y cubrebocas.
3. El sujeto usó gorro durante la toma de la muestra.
4. La muestra se tomó cerca de la campana de flujo laminar o en campo estéril entre dos mecheros a 60 cm de distancia. Para la siembra y lectura de las placas siempre se observaron estos principios.

Se ensayaron una serie de métodos para coleccionar y sembrar las muestras de secreción nasal. El objetivo de estos estudios fue:

- 1) determinar una técnica adecuada para coleccionar la mayor parte de la flora nasal endógena, puesto que el propósito era hacer un estudio cuantitativo de la misma.
- 2) Definir el número de colonias o Unidades Formadoras de Colonias y el rango de valores en muestras tomadas de un grupo de sujetos voluntarios, que fueran parte del universo de trabajo.
- 3) Definir las diluciones de las muestras más adecuadas para hacer las siembras que permitieran contar de la mejor manera el número de UFC.
- 4) Adquirir las destrezas para la preparación de reactivos y cuenta de las UFC con un error conocido intra e inter observador.

IX.6.1.1. Ensayo de técnicas para coleccionar y cultivar la flora nasal.

Se procedió por método de ensayo y error, porque en la literatura médica no se encontraron referencia para este tipo de cultivo en las secreciones nasales.

- a) Toma de muestras con hisopo seco y siembra en Caja de Petri.

El número de UFC fue muy escaso y se llegó a tener un cultivo negativo, es decir sin recuperar NINGUNA UFC. Esto puede considerarse como una

prueba control de que las maniobras eran correctas respecto a la esterilidad, al igual que la calidad de los hisopos.

b) Toma de la muestra con hisopo húmedo y siembra en medio líquido. Se sugirió esta técnica para enriquecer el cultivo, toda vez que el anterior había sido negativo y por hacerse así cuando el número de microorganismos es muy escaso. Se obtuvo una gran reproducción de microorganismos que hacían necesarias diluciones hasta de 10^{-9} para poder contarlas las UFC. Este método se desechó porque permitía identificar la flora, pero no se podía tener ninguna información respecto a la cantidad de UFC en la mucosa nasal.

c) Toma de la muestra con hisopo húmedo y siembra en Caja de Petri. Las siembras aparecieron con gruesas estrías de UFC aglomeradas en forma tal que no se podían contar.

d) Se procedió a diluir en 5 ml de caldo el material que se había recogido en el hisopo húmedo y luego se tomó una muestra con asa de platino calibrada. Las siembras no fueron muy homogéneas y fue difícil calcular el volumen que se había sembrado y en consecuencia calcular el número de UFC presentes en la mucosa nasal.

e) Se sembró una muestra de 0.1 ml del caldo en el que se había “lavado” el hisopo. La muestra se distendió con asa de platino. La siembra fue aceptablemente homogénea pero el número de UFC era muy grande y la cuenta difícil si no imposible.

IX.6.1.2.Técnica de raspado, dilución y siembra.

El material colectado raspando la superficie nasal con el hisopo húmedo se lavó en un tubo con caldo para “disolverlo”. Se efectuaron siembras con diferentes diluciones con objeto de identificar la más adecuada porque permitiera contar con relativa facilidad la UFC.

Los pasos que se siguieron fueron:

1). Preparación del material para cada sujeto, que consistió en:

6 tubos de ensayo con 5 ml de solución salina fisiológica

2 hisopos comerciales

Dos cajas de Petri grandes con medio BHI (Brain Heart Infusión)

Asa de Platino

Pipetas de precisión de 1 ml tipo TD

El equipo del que se dispuso fue:

Horno microbiológico a 37°C..

Dispositivo con cuadrícula para contar colonias.

Contador manual.

2. Toma de la muestra. Se humedeció el hisopo en la solución salina y se exprimó contra la pared del tubo. Se cambió a esta solución porque se tubo la sensación subjetiva de que se humedecía mejor la superficie nasal. Estando el sujeto sentado próximo a la campana o al campo estéril, se raspó la superficie nasal diez veces, primero en una narina y luego en la otra. Inmediatamente después de hacer el raspado nasal, el hisopo se colocó en el tubo en el que se había humedecido. Tomadas las muestras el sujeto salió y el observador continuó el procedimiento.

3) Preparación de las Diluciones.

3.1. Se lavó el hisopo en el tubo, que tomaba aspecto turbio con el material que se desprendía del hisopo. Se exprimó contra la pared del tubo y se desecho en el recipiente adecuado.

3.2. Se tomó 0.5 ml del líquido con una pipeta y se pasó al segundo tubo. Se agito y dos veces se aspiró para "lavar la luz". Se consideró que la dilución se había hecho 1:10.

3.3. Con una segunda pipeta se tomó 0.5 ml del segundo tubo y se pasó a otro tubo, logrando una dilución 1: 100.

3.4. Con otra pipeta se repitieron los pasos mencionados para obtener una dilución 1: 1000.

4) Siembra. Se tomó con esa pipeta 0.5 ml del líquido que se vertió en una caja de Petri grande y se extendió en una capa homogénea con asa de platino. No se hizo dispersión en estrías porque la idea era tener una distribución uniforme para identificar las características de las colonias y contarlas; para ello lo más adecuado fue distribuir en una capa fina y homogénea.

4.2. Se repitieron las mismas maniobras con la muestra de la otra narina.

4.3. Preparadas las placas se pusieron en la estufa, cuidando de que la temperatura y la humedad fueran correctos.

IX.6.2. LECTURA DE LAS SIEMBRAS: Técnicas y resultados.

Las cajas se leyeron a las 24 horas de haber sembrado.

Se colocaron en un dispositivo cuenta colonias y se procedió a contar de manera espontánea, acordando que cada caja sería leída por dos observadores

X.6.2.1. Determinación del error intra e inter observador.

Fue evidente la necesidad de definir el proceso de contar las colonias en las placas para obtener lecturas reproducibles.

Para ello se identificó una parte de la cuadrícula con 9 cuadros. Así cada observador leyó una vez cada cuadro del área seleccionada; lo mismo repitieron otros 3 observadores del equipo de trabajo.

TABLA 82
ERROR INTRA E INTEROBSERVADOR

	LECTURA 1			SUMA	LECTURA 2			SUMA	
Observador 1	10	11	9	30	9	11	10	30	93.5 ± 0.5
	3	11	11	25	5	10	13	28	
	13	13	12	38	13	13	10	36	
Observador 2				93				94	89.5 ± 10
	10	8	11	29	9	8	9	26	
	6	10	13	29	6	10	14	30	
Observador 3	10								83.5 ± 1.5
	5	7	11	23	6	9	10	25	
	7	18	16	41	9	15	13	37	
				91				88	
				93.5±10.7				89.7± 2.6	
Comparación de dos lecturas hechas por cada uno de tres observadores									
Efecto de la técnica de lectura.									

Terminada la primera lectura efectuaron una segunda lectura de la misma área. Todos dictaron su cuenta otro miembro del equipo quien las anotó en un esquema preparado para ello, con el propósito de que la lectura tuviera en cierta forma modalidad de doble ciego; en la Tabla 82, se muestra un ejemplo

de la práctica descrita, en una etapa en la que se había obtenido cierto entrenamiento y las diferencias no eran muy notables, sin embargo algunas discrepancias se consideraron no aceptables como la del observador 3 que tiene consigo mismo una diferencia de 20 unidades y la de este observador con el 4 que presenta una diferencia de 20 unidades. De manera arbitraria se consideraron aceptables para esta etapa discrepancias menores de 10%. Se discutieron problemas tales como el contar y en que cuadro las unidades que se proyectaran sobre la línea de la cuadrícula y otros detalles similares. Se repitió esta práctica hasta lograr el error indicado.

IX.6.2.2. Lectura de la placa completa.

La práctica mostró que para el propósito de hacer la determinación cuantitativa de la flora endógena era indispensable contar todas las colonias en la caja. Para esto se diseñó el hacer la lectura en segmentos paralelos horizontales que permitieran efectuarla en forma sistematizada. Los observadores contaron y oprimieron un cuenta glóbulos y dictaron su lectura al terminar cada segmento de la placa. Cada observador leyó dos veces la placa. La Tabla 83 muestra los resultados obtenidos de la lectura de 8 placas completas. Este ejercicio permitió tener una idea del rango en el que se encontraba el número de UFC. Se aprecia que es amplio.

TABLA 83
SUMA DE LAS COLONIAS CONTADAS
EN LOS CUATRO SEGMENTOS DE UNA PLACA

	CUADRANTE 1	CUADRANTE 2	CUADRANTE 3	CUADRANTE 4	PROMEDIO
PLACA 1	250	256	248	247	1001
PLACA 2	161	164	143	156	624
PLACA 3	78	85	98	88	349
PLACA 4	410	440	441	423	1714
PLACA 5	189	184	218	204	795
PLACA 6	225	198	238	248	909
PLACA 7	325	336	348	335	1344
PLACA 8	384	363	382	396	1525

Número de Unidades formadoras de colonia contadas en toda la placa.
Se observaron en secciones paralelas horizontales.
Cada cifra es el promedio de 2 lecturas hechas por dos observadores

Se detectó además que la placa tenía una distribución heterogénea de las colonias; por ello que no se consideró válido tomar un área como representativa y multiplicar la cuenta por la superficie total de la placa.

IX.6.2.3. Efecto de la dilución.

Se consideró en forma empírica, que la dilución 1: 100 era la adecuada para hacer las cuentas. Sin embargo se decidió corroborar que las soluciones diluyeran proporcionalmente el número de UFC.

Se procedió a hacer cultivos de cada uno de los tubos que se preparaban según se ha descrito. Los resultados se presentan en la TABLA 84. Se esperaba que en la dilución 1: 100 hubiera 10 veces menos colonias y que al multiplicar se obtuviera un número aproximadamente igual. Puede apreciarse que la discrepancia entre las cuentas esperadas y las observadas de acuerdo con las diluciones, fue completamente diferente y aleatoria. En algunos casos la dilución 1:10 no se pudo leer porque aparecía un número incontable de unidades. También se notó que en la dilución a1000 en 3 siembras no apareció ninguna colonia.

En esta etapa de la investigación se tenía un error intra e inter observador aceptable según el criterio expuesto. Por tanto esto se atribuyó principalmente a la presencia de moco que hace heterogénea la distribución de las UFC. Además se observó una gran variabilidad en la cuenta de un mismo sujeto y entre los sujetos. Para superar este problema se decidió agitar cuidadosamente las diluciones y tomar la muestra de la parte que no presentara partículas de moco evidentes.

TABLA 84
EFFECTO DE LA DILUCIÓN Y DE LA ALTERNANCIA

		DILUCIONES			NARINA	NARIZ TOTAL
Observador	A	#X10	# x 100	# x 1000	PROMEDIO	
16 Hele	NI	13520	18000	3000	11507	18503
	X ND	5290	11700	4000	6997	
18 Hele	NI	3320	2700	8000	4673	7320
	X ND	3540	2400	2000	2647	
23 Hele	NI	2360	24500	23000	16620	72870
	X ND		58500	54000	56250	
16 Luisma	I	1960	900	2000	1620	11530
	X D	9230	10500	10000	9910	
18 Luisma	I	2230	3000	3000	2743	4133
	X D	1770	1400	1000	1390	
23 Luisma	I	1100	300	1000	800	967
	X D	300	200	0	167	
16 Elvia	I	1190	12400	11000	8197	9370
	X D	1320	1200	1000	1173	
18 Elvia	I	14800	1500	1000	5767	9577
	x D	8830	600	2000	3810	
23 Elvia	X I	3930	9500	7000	6810	10330
	D	3760	4800	2000	3520	
16Antonio	I	5620	5400	3000	4673	20607
	X D	10200	19600	18000	15933	
18 Antonio	I	7800	1300	0	3033	8833
	X D	8200	1200	8000	5800	
23 Antonio	X I	1630	15700	16000	11110	18417
	D	5520	12400	4000	7307	
16 Javier	I	15380	15900	16000	15760	38967
	D	13520	28100	28000	23207	
18 Javier	I		20300	13000	16650	51300
	D		48300	21000	34650	
23 Javier	I	1650	17700	18000	12450	20673
	D	8070	9600	7000	8223	
16 Bris	I	3330	3500	3000	3277	7243
	D	3900	4000	4000	3967	
18 Bris	I	10710	12100	10000	10937	65237
	x D		41600	67000	54300	
23 Bris	I	1760	1800	2000	1853	5217
	x D	3690	3400	3000	3363	
MEDIA		5607	11833	10444	10586	21172
		4413	13916	14368	13087	21461

Desde el punto de vista técnico esta resolución puede considerarse satisfactoria, pero Teresa López Vidriero (1977) investigadora dedicada largo tiempo al estudio de las secreciones respiratorias, advierte que un mejor resultado técnico quizá no sea una mejor representación de la realidad.

IX.6.2.4. MUESTRAS HOMOGÉNEAS. En vista de los resultados observados en las primeras pruebas de dilución se efectuaron tomas estandarizadas a partir de la parte homogénea de la solución de secreciones. Las lecturas se efectuaron por duplicado. Los resultados se muestran en la TABLA 85 en la cual las cifras y sus desviaciones muestran una mayor homogeneidad de las soluciones y por tanto una mejor congruencia de las cuentas.

TABLA 85.
MUESTRAS HOMOGÉNEAS

CALCULO DEL ERROR INTRA E INTER OBSERVADOR								
	Cultivo 1		Cultivo 2		Cultivo 3		Cultivo 4	
OBSERVADOR	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 1	Lectura 1
1	92	84	130	139	165	160	116	136
2	94	90	110	126	173	169	117	110
3	78	86	142	130	178	166	127	151
4	69	85	133	139	124	158	127	128
5	83	83	127	126	173	185	127	129
6	81	87	123	133	161	164		
Media y DSt	83	86	128	132±	162	167±	123	130
	± 9.2	±2.5	±10.7	5.9	± 20	9.7	±5.2	±5.1
Lecturas efectuados por 6 observadores en 4 cultivos en muestras homogneas								

IX.6.2.5. VARIACIONES DIARIAS Y EFECTO DE LA ALTERNANCIA

Las TABLAS X5 y X.6 presentan los resultados del experimento hecho para comprobar: A) el número de UFC en seis individuos en dos cultivos hechos con la misma muestra en 5 días sucesivos. B) El rango del número de colonias. C) La relación del número de colonias entre ambas narinas. D) El efecto de la alternancia.

TABLA 86
NÚMERO TOTAL DE COLONIAS DE LA NARIZ

DIAS						SUJETO	
SUJETO	1	2	3	4	5	MEDIA	DSt
1	5000	6688	6000	7000	4910	5920	772
2	1881	1989	1403	1545	1775	1719	196
3	2461	1676	1967	1669	1435	1842	298
4	1119	868	670	772	901	866	116
5	723	653	621	1552	1553	1020	426
6	1582	1063	2368	1927	1802	1748	341
MEDIA/DIA	2128	2156	2172	2411	2063	1711	
DSt	916	1295	1150	1311	814	117	
Observaciones efectuadas durante 5 días consecutivos(D1 a D5) en 6 sujetos							

En la TABLA 86 se presenta el número de UFC en seis individuos estudiados durante 5 días consecutivos. Se hicieron dos cultivos de cada muestra. Cada cifra se obtuvo como el promedio de 2 lecturas de la misma placa. Las diluciones de las siembras fueron de 1:100 y la técnica que se siguió fue la de leer la placa en secciones horizontales y sumar el total de las cuentas, como se muestra en la TABLA 86. En esta tabla se presenta el promedio de las lecturas de los dos observadores. Se puede apreciar que cada sujeto tuvo una cantidad de UFC media con una desviación estándar que da un índice de dispersión relativamente bajo. En cambio entre sujetos la desviación estándar fue casi el 50% de la media, es decir se presentó una dispersión de valores muy amplia. Estos sujetos trabajaron el en mismo laboratorio durante toda la jornada de trabajo y durante toda la semana, sin embargo cada uno presentó un número y tipo de UFC diferente a los demás.

Toda vez que cada uno de los sujetos conservó un número similar de UFC el promedio entre los días no fue significativamente diferente.

Respecto a la relación entre el número de colonias detectadas no fue significativamente diferente cuando se compararon derecha con izquierda sin tomar en cuenta otros factores.

Se sabe que los sujetos clínicamente sanos, en el transcurso del día, respiran con diferente intensidad en cada narina e incluso con frecuencia no

respiran por una de ellas (Gilbert AN. 1987, Hallen HG. 1996); en ausencia de alteraciones nasales la alternancia se hace en forma aleatoria cuando el sujeto esta de pié; cuando esta es decúbito de preferencia respira con la narina de arriba de acuerdo con el plano gravitacional. En la TABLA 87 se presentan los datos agrupados de acuerdo con la narina que tenía alternancia, es decir por la que en el momento del estudio respiraba el sujeto. Se encontró que el número de UFC era significativamente diferente, siendo mayor en la narina con alternancia, es decir que respiraba.

TABLA 87
TOTAL DE COLONIAS DE RASPADO NASAL OBTENIDAS

EN 6 SUJETOS EN 5 DIAS CONSECUTIVOS							
NARINA CON ALTERNANCIA						SUJETO	
SUJETO	D1	D2	D3	D4	D5	MEDIA	DSt
S1	4000	4000	4000	5000	2070	3814	1300
S2	529	1129	1177	1176	1541	1110	365
S3	1350	1386	1182	1293	1225	1287	85
S4	923	536	354	662	381	571	233
S5	390	475	514	1000	680	612	241
S6Alt	1020	1070	888	1120	1218	1063	122
MEDIA DIA	1369	1433	1353	1709	1186	1410	
NARINA SIN ALTERNANCIA							
DIA	D1	D2	D3	D4	D5	MEDIA	DSt.
S1NOalt	1000	2688	2000	2000	2840	2106	729
S2NOal	1352	860	226	369	234	608	490
S3NOal	1538	290	785	376	210	640	549
S4NOal	196	332	316	110	520	549	155
S5NOal	333	178	107	552	873	409	311
S6NOal	562	223	1480	807	584	731	468
MEDIA DIA	830	762	819	702	877	840	
30 estudios							

Dada la posibilidad de interacción entre los días y las variaciones entre sujetos se hizo el análisis estadístico con una transformación de Box-Cox y se confirmó independencia entre los días y asociación altamente significativa entre la alternancia y el número de UFC. También fue significativa la diferencia entre sujetos.

No se tiene explicación para este hallazgo. Se sabe que la flora bacteriana nasal es fundamentalmente aerobia, y en la narina sin alternancia disminuye ligeramente la presión parcial de O_2 aproximadamente de 113 mmHg en la inspiración y que corresponde al aire inspirado en la Cd. México y 78 mmHg de O_2 y 24 mmHg de CO_2 en la espiración, a una presión constante aproximadamente de 76 mmHg de O_2 y 30 mmHg de CO_2 . Estas cifras son compatibles con las requeridas para el cultivo de la mayor parte de los microorganismos nasales.

En 5 sujetos se tomaron muestras en forma consecutiva con cinco hisopos; se encontró que en el primero se colectaba del 85 al 98 % del total que se recuperó con el de ellos; en el tercero y cuarto hisopos no se colectaron nunca más de 1% del total y en el quinto hisopo no se colectó ninguno.

Con base en esta experiencia se decidió hacer el raspado nasal con dos hisopos.

Posteriormente se cuestionó que porción del material de la superficie nasal, raspado con el hisopo quedaba disuelto en el tubo. Se procedió entonces a lavar el hisopo en un segundo tubo. Con esta técnica consideramos que se colecta aproximadamente el 98% del total de las UFC presentes en la superficie nasal. La cantidad total de UFC se calculó sumando la cantidad recuperada en:

Hisopo 1 en la Dilución 1

Hisopo 1 en la dilución 2

Hisopo 2. , la cantidad total en la nariz resultó de sumar la cantidad detectada en cada narina

IX.7. CANTIDAD "NORMAL" DE UFC EN LA NARIZ.

En la Tabla 88, se presentan los datos obtenidos en los grupos PRI 94 Y OTO 94 referentes a cada una de las muestras y de los modos de recuperar la flora. Estan agrupados de acuerdo con el diagnóstico de las curvas flujo volumen. En la primera dilución en ambas narinas se colectó siempre más de los 99% del total de las UFC recuperadas. La cantidad de UFC colectadas en la segunda dilución y con el segundo

hisopo fue insignificante. No se observa diferencia significativa en la cantidad de UFC colectadas en cada narina se aprecia la dispersión de los valores entre los diferentes sujetos.

El total de los estudios de la flora bacteriana se presenta en la TABLA 88. La primera serie del trimestre PRI93 se efectuó una vez que se habían terminado los estudios para el diseño y validación del método.

TABLA 88
NÚMERO DE COLONIAS POR HISOPO Y DILUCION

PRI 94				NDH1D1	NDH1D2	NDH2	%NDH1/TN	TOTAL ND	TOTAL NARIZ
	NORMALES	N D	MEDIA	162037	452	413	99.5	162902	
	27		DES EST	135447	314	224	1	135438	
			RANGO	438000	894	655	5	438698	
				NIH1D1	NIH1D2	NIH2	%NIH1/TN	TOTAL NI	
	NORMALES	N I	MEDIA	175704	409	292	99.6	176405	339307
	27		DES EST	140227	274	227	2	140253	216308
			RANGO	536000	842	951	8	536343	767363
				NDH1D1	NDH1D2	NDH2	%NDH1/TN	TOTAL ND	
	ANORMALES	N D	MEDIA	455692	264	249	99.9	456205	
	13		DES EST	216496	200	155	0.1	216473	
			RANGO	605000	680	484	0.4	604108	
				NIH1D1	NIH1D2	NIH2	%NIH1/TN	TOTAL NI	
	ANORMALES	N I	MEDIA	386846	273	434	99.8	387553	843758
	13		DES EST	215374	214	300	0.4	215232	156809
			RANGO	617000	650	860	1	615869	530306
OTO 94				NDH1D1	NDH1D2	NDH2	%NDH1/TN	TOTAL ND	TOTAL NARIZ
	NORMALES	N D	MEDIA	673214	560	356	99.9	674130	
	28		DES EST	197599	197	213	0.03	197891	
			RANGO	833000	752	886	0.1	834464	
				NIH1D1	NIH1D2	NIH2	%NIH1/TN	TOTAL NI	
	NORMALES	N I	MEDIA	572514	438	262	99.9	573215	1247345
	28		DES EST	176701	227	161	0.2	176875	327848
			RANGO	712600	854	511	1	712709	1445843
				NDH1D1	NDH1D2	NDH2	%NDH1/TN	TOTAL ND	
	ANORMALES	N D	MEDIA	861368	424	362	99.9	862154	
	19		DES EST	105285	239	247	0.05	105175	
			RANGO	396000	709	884	0.2	395340	
				NIH1D1	NIH1D2	NIH2	%NIH1/TN	TOTAL NI	
	ANORMALES	N I	MEDIA	872789	432	221	99.9	873443	1735597
	19		DES EST	66503	177	130	0.03	66512	139342
			RANGO	206000	672	384	0.1	205987	502284

Los 15 sujetos fueron personas interesadas en la investigación que trabajaban cerca del laboratorio; no se seleccionaron al azar. Las cifras obtenidas en este grupo no fueron significativamente diferentes de las de otros grupos.

TABLA 89
NÚMERO DE UNIDADES FORMADORAS DE COLONIAS X 1000

		SUJETOS	ND	NI	TOTAL
PRI 93	15	MEDIA	225.3	244.8	470.0
		D St	165.2	172.6	288.0
PRI 94	NORMALES 27	MEDIA	158.5	176.4	334.9
		D St	132.9	140.3	212.6
		TIP COL	1.6 (2)	1.8 (2)	
40	ANORMALES 13	MEDIA	456.2	387.6	373.9
		D St	216.5	215.2	156.8
		TIP COL	1.6 (3)	1.6 (2)	
OTO 94	NORMALES 28	MEDIA	674.1	573.2	1247.3
		DES EST	197.9	176.9	327.8
		TIP COL	1.6 (1)	1.6 (1)	
47	ANORMALES 19	MEDIA	862.2	873.4	1735.6
		D St	105.2	66.5	139.3
		TIP COL	2.2 (3)	1.4 (1)	
INV 97	NORMALES 21	MEDIA	484.5	407.2	891.7
		DSt	291.7	223.6	371.0
		TIP COL	2.5 (4)	2.3 (3)	
50	ANORMALES 39	MEDIA	625.7	602.9	1228.5
		D St	651.5	527.5	942.8
		TIP COL	2.6 (5)	3.3 (4)	
PRI 97	NORMALES 20	MEDIA	343.6	364.2	708
		D St	167.0	249.6	324.2
		TIP COL	2.8 (4)	2.7 (3)	
71	ANORMALES 51	MEDIA	662.9	623.2	1286
		DES EST	376.1	467.2	600.2
		TIP COL	2.1 (3)	2.2 (3)	
OTO 97	NORMALES 4	MEDIA	344.1	520.3	864.4
		D St	191.2	316.9	428.0
		TIP COL	2 (2)	2.6 (3)	
20	ANORMALES 16	MEDIA	622.7	579.0	1201.7
		D St	312.0	387.6	478.9
		TIP COL	2.2 (3)	2.1 (3)	
PRI 99	NORMALES 8	MEDIA	847.6	766.6	1614.2
		D St	493.1	330.7	850.8
34	ANORMALES 26	MEDIA	515.6	490.6	1006.2
		DSt	435.6	418.2	812.9

Se presentan también las cifras promedio observadas en los grupos PRI 94, OTO 94, PRI 97, OTO 97 Y PRI 99. No hay diferencia significativa entre la UFC colectadas en las narinas; es de notarse que no se tomó en cuenta el efecto de la alternancia. Los datos se presentan agrupados de acuerdo con el diagnóstico de las curvas flujo volumen. Los sujetos que tenían curva flujo volumen normal tuvieron un número significativamente menor en todos los grupos excepto en el de PRI 99.

Se ha planteado en esta investigación, que los sujetos con curva flujo volumen anormal, tendrían mayor número de UFC que los que la tuvieran normal. Estas UFC serían la flora endógena habitual, que habría proliferado como oportunista, favorecida por cualesquiera que fueran los fenómenos que desencadenan las alteraciones obstructivas de los bronquios. Esta hipótesis en parte se ha corroborado pero no el mecanismo. Así se plantó que se produciría un proceso de rinitis y por los mecanismos que se han discutido, desencadenaría la hiper reactividad bronquial. Pero la relación entre rinitis, flora bacteriana y alteraciones de la curva flujo volumen en esta serie tuvo una baja correlación.

IX.7.1. Cambios cuantitativos de la flora nasal con cambio de ambiente.

En el grupo OTO 97 se investigó la existencia de cambios entre las CFV, la flora endógena y los síntomas respiratorios al inicio del trimestre lectivo, cuando los estudiantes tenían sus actividades en el campus de la Universidad y cuando regresaran después de trabajar durante un mes en el área clínica en un servicio de perinatología.

TABLA 90
OTO 97 ETAPAS 1 Y 2

			NUMERO DE COLONIAS			TIPO COL	
OTO 97	CFV	# SUJETOS	ND	NI	TOTAL	ND	NI
ETAPA 1	NORMAL	4	259.8	420.8	680.5	2.2 (1)	2 (2)
	ANORMAL	16	591.6	407.9	999.5	2.3 (3)	1.7 (2)
ETAPA 2	NORMAL	4	428.5	619.8	1048.3	1.7 (1)	3.2 (1)
	ANORMAL	14	658.2	774.6	1432.8	2 (2)	2.7 (2)

Se planteó la posibilidad de que quienes tuvieran alteraciones obstructivas relacionadas con la composición del aire, mejorarían al estar en un ambiente limpio.

Se encontró (Tabla 90) que no hubo mejoría en las alteraciones de la curva flujo volumen. En cuanto a la flora bacteriana aumentó en todos los sujetos en número de UFC. Este cambio sugiere que el ambiente hospitalario está muy contaminado y las defensas son insuficientes para impedir la proliferación bacteriana.

IX.8. MATERIAL Y MÉTODO PARA LOS ESTUDIOS CUALITATIVOS DE LA FLORA ENDÓGENA NASAL

La segunda parte de la hipótesis, plantea que el tipo de gérmenes de la flora endógena sería el mismo que constituye la flora endógena nasal y que el cambio sería únicamente en el número de cada tipo de UFC. Para investigar este aspecto se estudió la morfología de las colonias, la clasificación con Técnica de Gram y finalmente las reacciones bioquímicas que permitieran la identificación completa.

IX.8.1. OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA Y TINCIÓN DE GRAM.

La identificación cualitativa se inició identificando el tipo de UFC de acuerdo con su morfología; se describieron las características macroscópicas: forma, tamaño, bordes, color y superficie y presencia de hemólisis. De cada diferente tipo de colonia se hizo un frotis que se tiñó con técnica de Gram.

Se anotó el número de tipos de colonias presentes en cada sujeto.

Todas las maniobras descritas hasta aquí se usaron para iniciar la identificación de las familias y géneros mediante un sistema automatizado.

IX.8.1.1. TÉCNICA GENERAL PARA COLECTAR MUESTRAS Y SIEMBRA INICIAL.

La técnica general para el estudio cualitativo de la flora endógena fue similar al descrito para los estudios cualitativos: ambiente estéril, observador con bata, gorro y cubrebocas. Lecturas y manejo de las cajas siempre en estas condiciones.

El material y la técnica para coleccionar las muestras fue igual que para la determinación cuantitativa: hisopo húmedo en solución salina y raspado nasal. Después se lavó el hisopo en la misma forma descrita en la técnica para medir IgA Nasal. Las diluciones se hicieron de la misma forma que se ha descrito y se sembró la de 1:100. No se colocaron los tubos en gradilla sino en un recipiente con hielo.

El medio de cultivo para estas siembras fue agar sangre en cajas de Petri descartables adecuadamente controladas en cuanto a esterilidad. Fueron de tamaño normal. La primera siembra se hizo en agar sangre porque es un medio favorable para el crecimiento de gran cantidad de microorganismos. Además por su color, facilita apreciar las características de las colonias y la presencia de hemólisis.

Para estas series de estudios se contó con una pipeta automática de un canal; para cada estudio se usaron 6 puntas diferentes. Con el asa de platino, se distendió la muestra en la caja de Petri.

La secuencia de las acciones para la determinación cualitativa fue:

Se coleccionaron las muestras por raspado, siguiendo la técnica que se ha descrito para los estudios cuantitativos. Se lavó el hisopo en el tubo de ensayo. Se efectuó la dilución y siembra inmediata en cajas de Petri con Agar sangre. Incubación a 37°C. En cada sujeto se efectuaron 2 cultivos primarios en placa con agar-sangre. Como se ha descrito se identificaron las colonias y de cada tipo se hizo un frotis y una resiembra de medio BHI. De cada una de esas resiembras se hizo un cultivo automatizado. Se guardaron las siembras en condiciones adecuadas hasta que se tuviera el número suficiente para llenar una gradilla.

La observación y la lectura se hicieron a las 24 y las 48 horas. La cuenta se hizo también con la técnica descrita y la repitieron dos observadores.

En algunas placas había demasiadas colonias y no era factible contarlas visualmente; en esas ocasiones, la cuenta se difirió hasta haber hecho las resiembras y cuando se observó que se habían desarrollado adecuadamente se hizo la cuenta puncionándolas con una aguja de disección. Las placas se leyeron a las 24 y 48 horas.; se siguió la técnica validada con los estudios

antes mencionados. Siempre se trató de hacer la cuenta visual porque se consideró importante conservar las placas originales dada la elevada frecuencia con las que se presentó pleomorfismo de las colonias y aparecieron colonias de crecimiento lento, después de 48 hs.

IX.8.2. Identificación y resiembra. Después de contar e identificar las colonias, se hizo un frotis de cada tipo de colonias y se tiñó con técnica de Gram. La identificación adecuada de los frotis es indispensable para relacionar los datos microscópicos con las características de la colonia y para En cada frotis se observó la morfología y el agrupamiento de los microorganismos. En las interpretaciones de los primeros frotis fue supervisada por el asesor (Dr. Ángel Horacio Sandoval); posteriormente solo se consultaron los casos de dudas.

Una vez que estudió la siembra original en la placa de agar sangre, se hizo una resiembra de cada uno de los tipos de colonias identificados. Para ello se tomó con el asa una colonia que estuviera perfectamente aislada. Con técnica de estrias no cruzadas se sembró en cajas con medio enriquecido BHI (Brain Heart Infusion) .

Estas siembras se conservaron en el refrigerador dentro de bolsas de plástico con cierre hermético y con una torunda húmeda para evitar la deshidratación, de manera que estuvieran en buenas condiciones hasta que se hiciera el estudio automatizado. Sobre la caja se anotaron los datos de identificación, la clasificación de Gram y los de las reacciones bioquímicas complementarias.

Se hicieron las reacciones bioquímicas de catalasa, peroxidasa. Se conservaron estos cultivos hasta coleccionar el número adecuado para llenar la gradilla de lectura y efectuar el estudio cualitativo. El estudio cualitativo se efectuó en un sistema automatizado BioMerrieux. Para ello se hicieron resiembras en agar sangre que tuvieron de 18 a 24 horas de edad al momento de efectuar el estudio. Se prepararon las tarjetas pertinentes, con la concentración medida por la densidad óptica determinada en el nefelómetro, anotando la información requerida referente al tipo de reacciones y características tintoriales, previamente determinadas.

IX.8.3.PREPARACIÓN PARA EL SISTEMA AUTOMATIZADO.

Las reacciones que se describen a continuación son básicas para iniciar la clasificación de los géneros fundamentales de los microorganismos. En esta investigación se hicieron como un paso preliminar para la identificación automatizada

A. REACCIÓN DE LA CATALASA. En todas las siembras donde se identificaron gérmenes Gram positivos, específicamente con aspecto de *Staphylococcus* que era necesario diferenciar de *Streptococcus* se hizo la reacción de la catalasa. Para ella se usó reactivo de peróxido de hidrógeno al 30%. De éste se prepararon pequeñas cantidades a partir de un peróxido concentrado; tanto el reactivo concentrado como la solución se conservaron en refrigeración en su caja para que no estuvieran expuestos a la luz. Se puso el peróxido con una pipeta Pasteur en un portaobjetos limpio y con un aplicador de madera se tomó una pequeña porción de la colonia que se deseaba identificar y se mezcló con el reactivo. De inmediato aparecieron muchas burbujas que dieron a la gota un color blanco.

En los estudios ulteriores no se detectó que hubiésemos tenido reacciones falsas positivas a pesar que invertimos el orden de la mezcla y no tomamos el centro de la colonia, de acuerdo con Mac Faddin sino un segmento desde la periferia hasta el centro.

B. SIEMBRAS EN MEDIO MAC CONKEY. Cuando se observaron microorganismos Gram Negativos en el frotis, se resembró en medio de agar Mac Conkey que es selectivo para ellos. Si no hay crecimiento generalmente se descarta que se trate de un bacilo Gram negativo. Cuando si hay crecimiento se confirma el diagnóstico de bacilo Gram negativo y se procede a efectuar la reacción de la oxidasa.

C. REACCIÓN DE LA OXIDASA. Se efectuó de todos los casos en los que se identificaron organismos Gram negativos que en su mayoría presentan la enzima oxidasa y por tanto la dan positiva. En contraste los Gram positivos dan negativa la reacción.

El método que se usó fue el indirecto en portaobjetos con discos BBL: Discos Taxo N³. Con una pinza de plástico (tipo pinza de disección) se sacó el disco del frasco en el que vienen empacadas y se colocó en un vidrio de reloj estéril. Con una pipeta de Pasteur se le agregó agua destilada estéril. Después con un fragmento de aplicador de madera se tomó una colonia bien aislada del cultivo en medio BHI y se distribuyó en la superficie del disco. La reacción apareció en uno o dos minutos un cambio de color del disco que es gris pálido se torna morado oscuro.

REACCIÓN DE LA COAGULASA.

Esta prueba sirve en general de manera específica para la diferenciación de especies del género *Staphylococcus* que son el *aureus* y el *epidermidis*.

Nosotros la realizamos porque es una de las pruebas cuyo resultado se debe anotar en las tarjetas Vitek, para hacer las reacciones automatizadas, como se explicará más adelante.

La técnica que se usó fue la de portaobjetos. Se usó plasma humano que se nos proporcionó en el banco de sangre. Se conservó en viales con capacidad de 0.5 ml de los cuales sacamos uno que se guarda en el refrigerador.

Se tomó con el asa de platino una colonia pura y se mezcló con una gota de solución salina de manera que resultara una suspensión de gérmenes ligeramente opaca; para determinar la opacidad y por tanto la cantidad de microorganismos se tomó como referencia la de las soluciones que se ponen en las tarjetas Vitek con una concentración aproximadamente de 2 unidades Mc Farland 2. Después se puso una gota de plasma con una pipeta Pasteur. Apareció de inmediato un coágulo, no solamente precipitados. Cuando esto no sucedió, que fue lo más frecuente, se dejaron incubando durante 4 hs en la estufa a 37°C. Si no se formó el coágulo en ese tiempo se considera definitivamente que la reacción es negativa.

IX.9. ESTUDIO AUTOMATIZADO DE LAS REACCIONES BIOQUÍMICAS DE LOS MICROORGANISMOS.

La posibilidad de efectuar estudios automatizados mediante sistemas altamente desarrollados, como el Vitrek Bio-Merieux, facilita el diagnóstico y

la orientación terapéutica en clínica. Además es una herramienta poderosa en la investigación. Se describe el sistema y su operación.

IX.9.1. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA VITREK SYSTEM BIO MERIEUX.

La clasificación de los microorganismos de acuerdo con su género y especie se basa en la identificación de un conjunto de reacciones bioquímicas que traducen funciones biológicas de los microorganismos las cuales comparten con todos los miembros de la especie.

Ahora bien diversas especies comparten entre si similitudes metabólicas y morfológicas que permiten clasificarlos como un género. La identificación de la flora bacteriana idealmente debe incluir el género y la especie, lo cual tiene interés por sus aplicaciones prácticas, por ejemplo su sensibilidad a los antibióticos, toda vez por que dicha sensibilidad indica la presencia de una reacción metabólica o una característica estructural al nivel de la cual actúa el antibiótico.

El proceso de diagnóstico "manual" tradicional, implica un árbol de decisiones en el cual a partir del diagnóstico inicial que divide a los microorganismos como Gram positivos o negativos, y en cocos o bacterias, se efectúan pruebas y reacciones de van definiendo las probabilidades de que un microorganismo pertenezca a determinado género. Así, los resultados de cada reacción o conjunto de ellas presentan un rango de posibilidades diagnósticas y habrá que seleccionar las nuevas reacciones de acuerdo con la información previa. Así se procede hasta lograr la identificación del género y la especie.

El sistema automatizado la identificación de los gérmenes se basa en efectuar un gran número, 29 específicamente, pruebas bioquímicas de cuyos resultados se puede derivar la fórmula de las características de los microorganismos. Las reacciones están seleccionadas previamente para microorganismos Gram positivos o negativos para los cuales hay "tarjetas específicas". Dentro de estos grupos la interpretación se hace de acuerdo con la otra información que se proporciona al sistema; se aprecia que el árbol de decisiones existe y las primeras se ofrecen al sistema. Se describe a continuación el sistema que se usó.

Las 29 reacciones bioquímicas son diferentes para el diagnóstico in vitro de microorganismos Gram positivos, Gram negativos y otros así como pruebas de sensibilidad a los antibióticos. Consta de las siguientes partes:

El sistema entrega los resultados indicando las probabilidades de certeza del diagnóstico y acepta los resultados cuando esta es de 85% o más. Cuando es inferior sugiere que se hagan reacciones complementarias, encaminadas a ratificar o rectificar el diagnóstico. En otras ocasiones sugiere que se haga una nueva prueba y finalmente en otras indica microorganismos imposibles de identificar.

Al respecto los manuales de instrucción, advierten estos límites e indican que el aparato tiene una elevada capacidad para el diagnóstico microbiológico, que ayuda pero no sustituye al personal especializado en microbiología. Señala que estos conocimientos son indispensables para orientar la interpretación de los resultados con certeza limitada o las fallas.

IX.9.1.1. CÁMARA DE INCUBACIÓN Y DE LECTURA.

Es un espacio que sugiere por su aspecto una estufa que cierra herméticamente. En el fondo tiene un dispositivo que básicamente es un espectrofotómetro de absorción altamente sensible, que lee los cambios en la Densidad Óptica (DO) producidos por las reacciones que presentan los microorganismos en los pozos de las tarjetas de reacción.

En frente del elemento sensor hay un soporte como tornamesa, que sostiene los dispositivos donde se colocan las tarjetas; este tiene dos caras, una que da hacia la puerta y otra que da al fondo.

En cada cara tiene conjuntos de gradillas con espacios horizontales dispuestos en dos columnas con 15 espacios cada una; en ellos se colocan las tarjetas, una en cada espacio y por tanto el sistema es capaz de leer 60 tarjetas simultáneamente. El elemento que sostiene las gradillas gira automáticamente cada dos horas, cuando el aparato está trabajando de manera que se exponen al espectrofotómetro en forma alterna. Cuando el aparato está haciendo lecturas no se puede abrir, pero en el tiempo intermedio sí, lo que permite introducir nuevas tarjetas en los espacios

vacantes. En otras palabras el aparato puede funcionar sin tener los 60 espacios llenos, y recibir nuevas tarjetas a medida que se requiere. La temperatura de la cámara es de 37°C, toda vez que funciona como incubadora.

IX.9.1.2. Sistema y programa de cómputo.

El elemento sensor esta conectado a un sistema de cómputo que tiene un aspecto similar a cualquier computadora. A este sistema se le envían las señales de las lecturas de cada uno de los pozos de las tarjetas y de cada una de las tarjetas. Registra la posición de la tarjeta y los números que la identifican; también anota la hora en que se colocó y la de las lecturas. La primera lectura la hace dos horas después de que se colocó la tarjeta, y así continúa durante 12 a 24 horas. En el momento en el que, de acuerdo con programa se ha finalizado la identificación, así lo indica. El diagnóstico lo expresa indicando en por ciento las probabilidades de que sea correcto. Cuando estas probabilidades son del orden de 96 a 99 % no da otra opción. Cuando son inferiores a 95% da una segunda opción indicando las reacciones que es necesario efectuar para confirmar el diagnóstico. Cuando las probabilidades son inferiores a 90% puede dar tres opciones diagnósticas.

En ocasiones indica que el microorganismo no se puede identificar porque su patrón de reacciones bioquímicas no coincide con ninguno de los que tiene el programa. En esas condiciones debe revisarse todo el proceso de preparación de las tarjetas.

En el informe se aprecian los resultados para cada una de las reacciones, el bionúmero y el diagnóstico.

IX.9.1.3. CÁMARA DE LLENADO Y SELLADO DE LAS TARJETAS.

Es una cámara de aproximadamente 16 cm de alto por 16 cm de ancho y 35 cm de profundidad, que cierra herméticamente. Cuando el sistema indica que esta listo, se introduce la gradilla especial que sostiene las tarjetas, los tubos que contienen la suspensión de gérmenes y el tubo de transferencia que los une. Se cierra y se presiona el botón para activar el sistema; que

produce en el interior una presión que llena las tarjetas. Terminado el proceso lo indica mediante una luz. Entonces se abre y se saca la gradilla.

Al lado de la cámara de llenado hay una hendidura de dimensiones adecuadas para contener la tarjeta. Se introduce manualmente haciendo presión lo que activa a un mecanismo que secciona y sella el tubo de transferencia.

A continuación se introducen las tarjetas a la cámara de incubación y lectura.

X.9.1.4. Descripción de las tarjetas de reacción

La tarjeta es una placa de plástico rectangular, transparente de 7 cm de ancho, 9 cm de largo y 7 mm de espesor (Figura 11) Las hay para identificar microorganismos Gram positivos, Gram negativos, levaduras y para determinar sensibilidad a los antibióticos. La compañía Vitrek suministra con las cajas un instructivo especial para cada tipo de tarjeta. En ellos señala las reacciones que se incluyen en la tarjeta y el tipo de microorganismos para cuya identificación las recomiendan.

En su interior se pueden apreciar unos espacios ovalados, unidos entre sí. Estos son los pozos de reacción. Están dispuestos en filas de 5 y hay 6 filas, lo que da un total de 30. En la superficie frontal a la izquierda, se aprecian seis conjuntos de surcos en forma de cuadros adjuntos. Deslizándolos en ellos el plumón especial quedan inscritos los números que identifican la placa con caracteres lineales.

Para números menores de 10 se utiliza el surco superior. Se dispone de 6 lugares solo para números que estarán correctamente definidos llenando todo el surco y únicamente surcos, porque de lo contrario el sistema rechaza la tarjeta. No es posible anotar letras. Hay otro surco en la porción superior para otro número si es necesario. Finalmente se aprecian dos depresiones, una con contorno circular y otra ovalada.

En las tarjetas para identificar gérmenes Gram positivos, (Vitek GPI) la depresión circular se colorea con plumín negro o azul oscuro (No. V5204) cuando los gérmenes presentan reacción positiva a la catalasa; cuando es negativa se deja sin llenar.

Cuando los gérmenes son catalasa negativos, la depresión ovalada, se colorea si los organismos presentan hemólisis beta y se deja sin pintar cuando no hay hemólisis.

Cuando los gérmenes son catalasa positivos debe hacerse la reacción de la coagulasa y el resultado se anota en la depresión ovalada; si la coagulasa es positiva se colorea con el plumín especial.

Si la coagulasa es negativa la depresión se deja sin colorear. Como en el caso de los números la marca debe ser firme y limitada al espacio de la depresión.

En el lado opuesto de la tarjeta se aprecia un hueco cilíndrico en el cual se conecta el tubo de transferencia.

IX.9.1.5. PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR LA SUSPENSIÓN DE GÉRMENES Y LLENAR LAS TARJETAS.

La suspensión de microorganismos la hicimos, como lo indica el manual, a partir de cultivos de 18 a 24 Hs. hechos a partir de las resiembras que se hicieron en agar BIH de la placa original. En cada sujeto se hicieron tantos cultivos como colonias se identificaron y se usaron tantas tarjetas como cultivos.

El cultivo se hizo en placas con agar sangre lo que permitió reafirmar el diagnóstico referente a la hemólisis. Se puso cuidado especial en que no fuera de más de 24 hs. toda vez que los productores del equipo Vitek, en su manual de instrucciones hacen énfasis en que los cultivos de mayor edad no son adecuados y pueden dar resultados falsos en el sentido de reportar que el microorganismo no es identificable. En la mayoría de los casos fue de 18 a 20 horas. En general las reacciones de la catalasa, la oxidasa y la coagulasa se hicieron a partir de colonias tomadas del cultivo en medio BHI en el momento en el que se hizo la siembra. En el agar sangre. Esta información la anotamos en la placa del cultivo para que estuviera disponible en el momento en el que se prepara la solución y se llenan las tarjetas.

El suspensión de colonias se hizo en tubos de ensayo estériles, de 5 ml de capacidad a los que se puso 1.8 ml de solución salina normal también estéril. El manual indica que se usen siempre tubos nuevos para que la superficie

sea perfectamente transparente, que no tenga zonas despulidas que por si mismas den una densidad óptica que no corresponde a la suspensión de microorganismos.

Como esto no es económicamente factible se observaron los tubos seleccionando los mejores y en caso de duda se les midió la densidad óptica antes de hacer la suspensión.

La suspensión se hizo tomando una colonia perfectamente aislada o dos si eran muy pequeñas. Se agitó la suspensión rápidamente con el aparato Vortex o manualmente, hasta ver que la opacidad era homogénea. En ocasiones los microorganismos estaban muy adheridos entre si y fue difícil lograr la homogeneidad la cual no se logró en forma perfecta. En esos casos de acuerdo con el Manual Vitek, no estaba indicado usar el sistema automatizado, y tal vez por ello en algunos cultivos el aparato indicó que no era posible identificar el microorganismo.

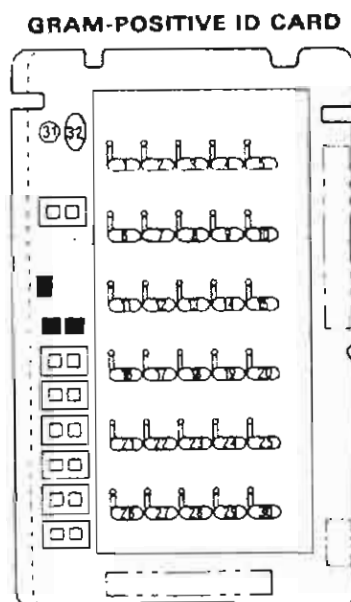
Una vez que se tuvo una suspensión adecuada, se midió su densidad óptica en unidades Mc Farland, en un Nefelómetro o Vitek Colorimeter, que tiene marcado el rango de densidad para diferentes tipos de cultivos.

Al iniciar el trabajo se calibraran los extremos de la escala. En los microorganismos más comunes la DO. de la suspensión se ajustó a 1.0; si era menor se le agregó otra colonia. Si por el contrario la DO. fue superior a 1, se agregó más solución salina o se repitió.

Una vez que los tubos tenían la DO adecuada, se abrió la bolsa que contiene los tubos de transferencia, con la técnica correcta para mantener la esterilidad del conjunto. Se extrajo uno y se procedió a colocarlo. El tubo tiene una forma de L muy alargada; el brazo corto se inserta en el orificio que presentan las tarjetas en la cara lateral, teniendo el otro brazo dirigido hacia arriba; una vez que se insertó, sin dejar de hacer presión se rotó 180°, de manera que el tubo quedó paralelo a la cara lateral de la tarjeta.

FIGURA 11

FIGURA 1
TARJETA PARA IDENTIFICACION DE GRAM POSITIVOS



Español 50

CONTENIDOS DEL POSILLO

1. PEPTONA BASE	16. MANITOL
2. BACITRACINA	17. PATINOSA
3. OPTOQUINA	18. SALICINLA
4. HEMICELLULASA	19. SORBITOL
5. NA ₂ CO ₃ 6%	20. SACAROSA
6. BILIS 10%	21. TREALOSA
7. BILIS 40%	22. ARABINOSA
8. ESCULINA	23. PIRUVATO
9. CONTROL NEGATIVO DE ARGININA	24. PULLULAN
10. ARGININA	25. INULINA
11. UREA	26. MELOBIOSA
12. ROJO DE TETRAZOLIO	27. MELECITOSA
13. NOVOBIOCINA	28. CELOBIOSA
14. GLUCOSA	29. RIBOSA
15. LACTOSA	30. XILOSA

31. CODIGO PARA INDICAR EL RESULTADO DE LA CATALASA. UNA MARCA NEGRA EN LA DEPRESION CIRCULAR (VER 31 EN FIG. 1). INDICA REACCION POSITIVA DE LA CATALASA, Y NINGUNA MARCA, INDICA QUE LA REACCION DE LA CATALASA ES NEGATIVA.

• = CATALASA POSITIVA

O = CATALASA NEGATIVA

Se coloca el conjunto tarjeta - tubo en el soporte especial para ello y en el cual previamente se había colocado el tubo con la suspensión bacteriana.

Al colocarlo el brazo largo del tubo de transferencia quedó dentro del tubo con la suspensión. Una vez que se han preparado las tarjetas que se van a estudiar, se introduce el soporte con los conjuntos tarjeta - tubo de transferencia y tubo de ensayo a el módulo de llenado y sellado. Después se colocan en la unidad de sellado y luego a la cámara de incubación y lectura. El procedimiento siguiente ya se describió.

Los autores del manual de instrucciones hacen gran énfasis en que no deben transcurrir más de 20 minutos entre el llenado de la tarjeta y su colocación en la cámara de lectura y llenado, puesto que pueden iniciarse las reacciones sin que esa parte sea captada por el sistema.

IX.9.1.6. Control de calidad de los procedimientos.

En cada una de las etapas debe hacerse un control de calidad, desde la preparación de los medios de cultivo hasta la exactitud de las tarjetas y el lector.

Todos los medios de cultivo se prepararon personalmente en las instalaciones de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco; En un principio solamente se controló su esterilidad observando dos placas de cada lote preparado, durante 72 horas.

En los últimos estudios también se controló su capacidad para que en ellos crecieran las cepas de referencia de las cuales recibimos unas muestras.

En el Laboratorio de Microbiología clínica del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) la mayoría de los medios se compran previamente preparados y con garantía de esterilidad; sin embargo esporádicamente se hace un control de esterilidad, especialmente cuando se reciben lotes nuevos.

En la actualidad controla la calidad de todos los procedimientos por medio de las siguientes cepas de referencia del American Type Staphyl Collection: *Escherichia coli* ATCC # 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC # 27853, □ *Staphylococcus aureus* # y *Enterococcus faecalis* # 29212.

Se conservan en medio de cultivo caldo soya tripticasa al 50% con glicerol, contenidos en viales congelados a -70°C . Cuando se hacen los controles se descongela un vial y se hacen cultivos que se cosechan con lo cual se repone la cepa.

IX.10. RESULTADOS DEL ESTUDIO CUALITATIVO DE LA FLORA BACTERIANA NASAL

Se estudiaron dos grupos PRI 97 y OTO 98; estos, se seleccionaron con los criterios mencionados; se les efectuó la curva flujo volumen, el estudio clínico y los estudios de la flora endógena. En otro grupo, además se determinó la cantidad de IgA en la mucosa nasal.

Se efectuó el estudio cuantitativo que se ha descrito en la sección anterior. En esta sección se describen los resultados del estudio cualitativo macroscópico, del efectuado mediante frotis y los obtenidos mediante el Sistema Vitrek Bio Merieux.

Además se presentan los datos de dos grupos que se estudiaron para comparar el tipo de gérmenes que se identifican; uno es el de un conjunto de enfermos a los que se les hicieron cultivos de expectoración y otro al que se le hicieron estudios de aspirado bronquial.

Con el propósito de comparar las caracteróstocps de la flora observada en los sujetos estudiados en la Universidad se estudió un conjunto de trabajadores de tres hospitales de la Cd. de Saltillo a los que se les hicieron cultivos de raspado nasal.

IX.10.1. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS.

En los cultivos iniciales, se identificó el número de colonias con características distintas y se hizo una resiembra de cada tipo. Se encontró que el promedio de colonias diferentes era de 3 con un rango de 2 a 5.

Se hizo un frotis teñido con la técnica de Gram, de cada uno de los tipos de colonias identificadas. Como se mencionó, en la mayor parte de los casos se hizo en la resiembra en medio BHI por tanto todos fueron de microorganismos puros. En la TABLA 91 se presentan los resultados. En cada caso los portaobjetos se guardaron en sobres especiales donde se

anotó el aspecto macroscópico inicial de la colonia de la cual se tomó. La interpretación de los frotis fue supervisada por el especialista (Dr. Horacio Sandoval Trujillo)

Las formas básicas que se observaron fueron las siguientes:

TABLA 91.
FORMAS BÁSICAS DE LOS MICROORGANISMOS

	PRI 94	INV 97
Estapilococos Gram positivos en panal	100%	78%
Estapilococos Gram positivos en diseminados	96%	73%
Estreptococos Gram positivos	20%	58%
Bacilos Gram positivos largos	10%	5%
Bacilos Gram positivos cortos		26%
Bacilos Gram negativos		2%
Formas raras		18%

TABLA 92
FORMAS RARAS

	PRI	INV
Esquizomicetos: formas alargadas, filamentosas	6	2
Formas típicas de: <i>Pneumocystis Carinii</i>	2	1
Rodococos	1	2
Candida albicans	2	2

Se dio gran énfasis a la interpretación correcta de los frotis especialmente porque de ella depende la información que se anota a la tarjeta del sistema Vitek y en consecuencia que el proceso sea correcto.

Un hallazgo de interés fue el que aproximadamente en el 10% de los cultivos se presentó pleomorfismo, apreciable tanto en las características de las colonias como de los microorganismos, que se estudian en el frotis. Esto ocurrió principalmente en las colonias de bacilos Gram + los cuales perdieron el color brillante que presentaban en la siembra original; esto se apreció

primeramente en el medio BIH pero persistió cuando se resembraron en agar sangre, en el cultivo previo al estudio automatizado.

Los microorganismos no tenían las mismas características tintoriales que se observaron en el primer frotis. Esta observación que la primera vez fue fortuita, condujo a la necesidad de hacer un nuevo frotis, antes de hacer la resiembra en agar sangre de la que se prepararía la placa Bio Merriex.

Se investigó si este pleomorfismo se debía al medio de cultivo, pero fue similar si la siembra se hacía en agar sangre o en BHI. Se estudió si se debía a la técnica, toda vez que en algunos cultivos había un gran acúmulo de microorganismos por lo que en algunas regiones de la caja se producía conjunción de las mismas; sin embargo cuando se presentó el pleomorfismo se revisaron los frotis iniciales y fueron homogéneos, es decir no había mezcla de colonias. Por otra parte ningún cultivo requirió repetirse porque todos tenían colonias iguales y perfectamente aisladas como se necesitan para el estudio automatizado. Además para profundizar en este aspecto se repitieron algunos cultivos por personas de amplia experiencia y habilidad, lo que no modificó esta observación.

IX.10.2. RESULTADOS DE CULTIVOS AUTOMATIZADOS EN EL SISTEMA BIO MERRIEUX.

TABLA 93

	PRI94	INV97
Número de Sujetos	56	71
Número de Cultivos primarios	112	142
Resiembras en BIH Promedio por sujeto	4	4
Resiembras en BIH TOTAL	300	426

En el trimestre PRI94 se estudiaron 56 sujetos. A ellos se les practicaron 112 cultivos primarios, en cajas de Petri con agar sangre, uno de cada narina. En el trimestre INV 97 se estudiaron 71 sujetos. En estos cultivos se contaron las colonias y se hicieron los frotis, uno por cada tipo de colonia.

Después se hicieron 276 cultivos o resiembras en medio BHI forma en la que se conservaron en condiciones aparentemente adecuada cuando se les efectuaron las reacciones requeridas para la aplicación sistema automatizado.

Se presentan los datos de los cualitativos de la flora endógena nasal de 72 sujetos de PRI94 e INV97

El manual del sistema Vitek sugiere que para las tarjetas usadas para identificar bacterias de crecimiento lento y escaso, se haga la suspensión de los microorganismos con una cantidad mayor de manera que se tenga una lectura en el nefelómetro, de dos unidades Mc Farland en vez de una como se hace en forma habitual. Sin embargo ni así lograron identificarse.

En 14 placas se apreció el desarrollo de hongos, que por su morfología semejabán ser del género penicilum. Se hizo un frotis con azul de algodón para apreciar las formaciones No se profundizó en este problema. En dos casos aparecieron en la observación hecha a las 24 horas y otras su aparición fue tardía.

Los resultados generales del Análisis automatizado con el sistema **VITREK SYSTEM BIO MERIEUX**. Fueron los siguientes:

TABLA 94

	PRI 94	INV97
Total de Estudios (Tarjetas usadas)	319	284
Total de Diagnósticos	262	209

Los diagnósticos específicos se presentan en las siguientes tablas:

TABLA 95
ESPECIES DE STAPHYLOCOCCUS IDENTIFICADOS
COMO FLORA ENDÓGENA NASAL

		PRI 94	INV 97
1	<i>Staphylococcus auricularis</i>	19	33
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	125	90
3	<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	60	23
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	3	3
5	<i>Staphylococcus coarnieri</i>	1	1
6	<i>Staphylococcus capitis</i>	10	4
7	<i>Staphylococcus hominis</i>	3	5
8	<i>Staphylococcus sciuri</i>	4	3
9	<i>Staphylococcus warneri</i>	1	2
10	<i>Staphylococcus simulans</i>	6	10
11	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	1
12	<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	0
Total		235	175

TABLA 96
OTROS TIPOS DE MICROORGANISMOS
IDENTIFICADOS EN LA FLORA NASAL

MICROORGANISMO		PRI 94	INV 97
1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	1
2	<i>Corynebacterium</i> sp	2	2
3	<i>Corynebacterium verasis</i>	1	1
4	<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	1	0
5	Enterococo	2	2
6	<i>Escherichia coli</i>	10	9
7	<i>Candida albicans</i>	1	0
8	<i>Enterobacter aerogenes</i>	2	1
9	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	1	1
10	<i>Pseudomona fluorescens</i>	1	1
11	<i>Pseudomona pútrida mendozina</i>	1	3
12	<i>Proteus mirabilis</i>	7	3
13	<i>Moraxella</i> sp	1	2
14	<i>Morganella</i>	3	2
15	<i>Micrococcus catarrhalis</i>	2	1
16	<i>Flavobacterium kosai</i>	3	1
17	<i>Flavobacterium indologenus</i>	2	2
18	<i>Critobacter kosieri</i>	7	2
19	No identificados	20	38
20	No crecieron	15	37
20	TOTAL DE ESTUDIOS	84	109
TOTAL DE DIAGNÓSTICOS		49	34

IX.10.3. INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS DE LOS ESTUDIOS CUALITATIVOS.

En primer lugar se observa que los géneros de microorganismos que se observaron son similares a los encontrados por los diversos autores que se citan en la Tabla 81. En nuestro grupo no se identificaron *Diplococo N.* *Braahamella* ni *Neisseria*. Por otra parte en las series estudiadas no se comunica la identificación de: *Pseudomona aeruginosa*, *Pseudomona fluorescens*, *Pseudomona pútrida mendozina*, *Proteus mirabilis*, *Moraxella* sp *Morganella* *Flavobacterium kosai* *Flavobacterium indologenus* *Critobacter*

kosieri. En ambas series la flora es similar y corresponde a la que se considera no patógena. Pero también se identificaron géneros que se clasifican como patógenos.

En esta serie se encontraron 11 variedades del género *Staphylococcus*; el más frecuentemente encontrado fue el *Staphylococcus epidermidis* que se identificó en 125 cultivos; nótese que hay más cultivos de éste microorganismo que sujetos en el estudio; esto se explica porque algunos presentaron más de una especie; se dio la situación de una persona que tuvo 4 variedades diferentes de *S. epidermidis* cada uno con distinto bionúmero.

Se identificó *Escherichia coli* en 21 casos. En 3 casos se tomó otra muestra y se repitió el cultivo. Esto sugiere que este microorganismo sea parte de la flora endógena, pero es necesario repetir los estudios necesarios para excluir que se trate de flora transitoria muy frecuente.

También se puede apreciar en el cuadro anterior que dentro de la flora endógena existen bacterias que habitualmente se clasifican como patógenas. En estos casos habría lugar para hacer cultivos en serie y decidir si tal germen es parte de la flora endógena, si vive en la nariz en forma permanente o si es flora transitoria que desaparece.

Se observaron casos en los que se cultivaron gérmenes que, como la *Cándida* o el *Pneumocystis*, viven como saprofitos en el organismo. Pero cuando se da la oportunidad, como en la disminución de las defensas, inmunológicas o hay un desequilibrio en la flora, proliferan, invaden y producen enfermedad. Por ello se llaman oportunistas. El *Pneumocystis Carinii*, es una etiología frecuente en las neumonías de los individuos con SIDA. La *Cándida albicans* que también habita como saprofito en la flora intestinal suele producir enfermedad cuando se administra una gran cantidad de antibióticos de amplio espectro que destruye la flora bacteriana intestinal.

IX.10.4. ESTUDIO CONTROL EN EXPECTORACIÓN Y LAVADO BRONQUIAL DE ENFERMOS.

En la hipótesis de esta investigación se planteó que es probable que algunas enfermedades infecciosas, la causa sea el crecimiento de la flora normal, que

se desarrolla en forma exagerada cuando acontece disminución de los procesos de defensa.

Los datos que se presentan muestran una diferencia significativa en el número de IFC entre los sujetos que presentaban curva flujo volumen normal y los que la presentaban anormal. Esta observación se considera que apoya la hipótesis planteada.

Sin embargo en la identificación de las especies no se encontró correlación en cuanto a que los sujetos que presentaron microorganismos patógenos, tuvieran diferencia en las CFV con los que no las tenían.

Por consiguiente se consideró importante investigar la flora bacteriana en sujetos clínicamente enfermos y compararla con la de los sujetos clínicamente sanos.

La clasificación de Millar y Jones, que se ha descrito en una sección anterior, relaciona el aspecto de la expectoración y su contenido de células inflamatorias y de microorganismos. El método tiene importantes limitaciones porque se basa en una percepción subjetiva del aspecto de la expectoración, pero su validez ha sido confirmada por López Vidriero y Col. (1979) quienes han encontrado diferencias significativas en diversos aspectos de la composición química en expectoraciones clasificadas con ese criterio. Por tanto con estas bases se analizaron los datos de un conjunto de cultivos en expectoración con clasificación de Jones P2 a P3 es decir dos tercios o todo el volumen constituido por pus y en el que el número de UFC era incontable. De esta manera que aún cuando no fue posible hacer el diagnóstico cuantitativo, se postuló que correspondería a las secreciones con número elevado de colonias. El problema que se postuló fue analizar si los microorganismos eran de los habitualmente considerados patógenos o de acuerdo con nuestra hipótesis eran flora endógena normal actuando como oportunista.

En la Tabla 97 se presentan los resultados obtenidos de 536 cultivos efectuados a igual número de enfermos, durante los meses de abril a septiembre de 1997. Puede observarse que los microorganismos identificados son los mismos que se encontraron en las secreciones nasales

de sujetos sanos. Cabe cuestionar si los microorganismos patógenos, en cierta forma pudiesen ser también oportunistas.

De estos datos es de interés observar que solamente el 59% de los casos presentaban un agente patógeno, y que en el 41 % solo se encontró la flora endógena común; cabe la posibilidad de que en esos sujetos el agente causante de la infección sea "flora normal" desarrollada en grandes cantidades, que produzcan los síntomas y den el aspecto purulento a la expectoración. Esta interpretación apoya nuestra hipótesis,

TABLA 97
CUTIVOS DE EXPECTORACIÓN

	TIPO DE MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS							
MICROORGANISMO	FECHA						TOTAL	%
	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOST	SEPT		
Pseudomonas aeruginosa	17	12	14	18	5	10	76	14
Enterobacterias	11	18	11	17	4	5	66	12
Staphylococcus aureus	8	14	6	9	5	3	45	8
Haemophilus parainfluenzae	5	10	11	6	2	0	34	6.3
Streptococcus pneumoniae	5	12	4	5	0	1	27	5
Haemophilus influenzae	7	4	5	6	1	3	26	4.8
Branhamanella catarrhalis	0	3	3	2	0	0	8	1.4
Candida specie	6	0	3	6	3	1	19	3.5
No fermentadores	5	4	2	0	1	0	12	2.2
Streptococcus agalactiae	1	1	0	4	0	2	8	1.4
TOTAL PATÓGENOS	65	78	59	73	21	25	321	59%
NO PATOGENOS	50	42	30	24	42	27	215	41%
TOTAL DE CULTIVOS	115	120	89	97	63	52	536	100%

Fuente: Libros de Registro del Laboratorio de Microbiología. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Se completó esta fase de la investigación con el análisis de los cultivos efectuados en secreciones bronquiales obtenidas por lavado bronquial.

Se analizaron los datos de 564 cultivos. Solamente en 222 casos que constituyen el 39% se identificó un microorganismo de los considerados patógenos. (Tabla 98); estos son similares a los encontrados en la expectoración de enfermos y en las secreciones de sujetos clínicamente sanos.

Estas observaciones apoyan el planteamiento inicial de esta investigación en el cual se postula que en todos los casos el proceso patológico se produce por un desbalance entre los mecanismos de agresión y los de defensa. Sugiere además que el balance se da por la interacción de diferentes factores, que en este caso se han señalado como elementos fisiológicos, inmunológicos, bacteriológicos y ambientales.

TABLA 98

TIPO DE MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS EN LAVADOS BRONQUIALES

	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOST	SEPT	TOTAL	%
TIPO DE MICROORGANISMOS								
Haemophilus influenzae	2	1	1	0	2	0	6	1.1
Haemophilus parainfluenzae	1	3	2	2	4	5	17	3.0
Pseudomonas aeruginosa	12	17	10	14	15	12	80	14.2
Enterobacterias	16	17	15	10	8	10	76	13.5
Streptococcus pneumoniae	1	0	0	0	0	1	2	0.4
Branhamanella catarrhalis	2	3	1	1	0	0	7	1.2
Staphylococcus aureus	2	1	2	1	0	1	7	1.2
Staphylococcus haemolyticus	0	0	0	0	2	0	2	0.4
No fermentadores	2	0	0	0	5	2	9	1.5
Streptococcus agalactiae	0	0	1	1	0	0	2	1.2
Candida specie	4	5	2	2	1	0	14	2.4
TOTAL PATÓGENOS	42	47	34	31	37	31	222	39
NO PATÓGENOS	25	33	28	45	22	31	184	33
NEGATIVOS	24	17	29	23	30	35	158	28
NO DIAGNÓSTICO								61
TOTAL DE CULTIVOS	91	97	91	99	89	97	564	

FUENTE: Libro de Registro del Laboratorio Clínico Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

IX.10.5. MODIFICACIONES AMBIENTALES DE LA FLORA ENDÓGENA NASAL.

Se estudió la flora endógena nasal en tres grupos de trabajadores de diferentes hospitales de la Ciudad de Saltillo, que participaron voluntariamente, con la aquiescencia de las autoridades del hospital y las del sindicato. El trabajo fue efectuado personalmente por uno de los miembros del equipo (J. Osorio) que participó desde las primeras fases del mismo, con el apoyo y supervisión de la responsable de esta investigación. Las muestras

se tomaron con la técnica de hisopo húmedo, raspado y dilución. La identificación de los microorganismos se hizo con un sistema automatizado en el Hospital del Seguro Social, sin la participación directa de los responsables de esta investigación.

Puede observarse que los microorganismos observados en principio son similares a los comunicados en los estudios efectuados en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Es fundamental sin embargo que en dos casos se identificaron *Mycobacterium tuberculosis*, y correspondieron a personal de enfermería que esta en contacto con enfermos tuberculosos. Se consideró un hallazgo muy importante y que debía explorarse para descartar la posibilidad de contagio.

TABLA 99
PORCENTAJES DE LAS PRINCIPALES BACTERIAS ENCONTRADAS EN 50
MUESTRAS DE SECRECIÓN NASAL

PROCEDENCIA DE LA MUESTRA								
	HOSPITAL I.M.S.S		CLÍNICA SALTILLO		HOSPITAL DE NEUMOLOGÍA		TOTAL	
	No	%	No	%	No	%	No	%
Muestras tomadas	22		10		18		50	
MICROORGANISMOS IDENTIFICADOS								
Staphylococcus saprophyticus	9	40.9	2	20	3	16.7	14	28
Streptococcus pyogenes	17	77.3	9	90	18	100	44	88
Micrococcus catarrhalis	18	81.8	9	90	14	77.8	41	82
NO PATÓGENOS.	10	45.5	3	30	6	33.3	19	38
Proteus Mirabilis	8	36.4	4	40	12	66.6	24	48
Corynebacterium sp	7	31.8	3	30	3	16.7	13	26
Mycobacterium Tuberculosis	0	0	0	0	2	11.1	2	4

Se nos comunicó que el lunes de la semana siguiente no se identificaron nuevamente esos microorganismos. En la medida en que pueda considerarse válido un dato indirecto, este sería valioso por ser un ejemplo de flora transitoria y no flora endógena.

IX.11. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO DE LA FLORA ENDÓGENA NASAL.

Los datos presentados muestran los detalles técnicos implícitos en la determinación cuantitativa de la flora endógena nasal, dadas las características reológicas de las secreciones que producen soluciones

heterogéneas. Se presentan los resultados de diversas maniobras que se efectuaron a fin de lograr soluciones homogéneas. Sin embargo la dispersión de los datos en un mismo sujeto es amplia.

La dispersión entre varios sujetos es aún más amplia, encontrándose variaciones en un mismo grupo hasta de 10 veces.

Los datos observados en 7 trimestres, son similares en cuanto a tipo de microorganismos, pero hay una dispersión amplia y diferencia entre el número de UFC identificadas.

Se encontró en todos los grupos una diferencia significativa en el número de UFC de los sujetos que tenían curva flujo normal y los que la tenían anormal. En cuanto a las características cualitativas se identificaron microorganismos similares a los que se han comunicado por otros autores.

Un hallazgo importante es que el tipo de microorganismos observados en cultivos de expectoración y de lavado bronquial de enfermos con diversas neuropatías, también es similar al observado en los sujetos clínicamente sanos estudiados en esta investigación.

Las alteraciones fisiológicas de tipo obstructiva tienen una correlación baja pero con el signo adecuado, es decir, mientras más bajo es el número de microorganismos más altos son los valores de las pruebas funcionales respiratorias. En todo caso se requiere de un análisis de multivariantes para valorar el conjunto de los factores que intervienen en el tono del músculo bronquial y el papel que en ese conjunto juega cada elemento y que intervenciones se potencian entre sí.

X. MECANISMOS AGRESORES DEL APARATO RESPIRATORIO: AIRE AMBIENTE

Se ha mencionado que la estructura y la función del aparato respiratorio, pueden ser agredidas y eventualmente alteradas por elementos externos e internos y que afecten directamente alguna de sus partes o que alteren a otros aparatos y sistemas lo cual repercuta en forma secundaria sobre el aparato respiratorio.

Ingresan y salen del aparato respiratorio un promedio de 7.5 litros de aire por minuto, o sea 450 litros por hora, y 10,800 litros por día. Esto explica porque la forma más frecuente de invasión al aparato respiratorio, por agentes infecciosos, los agentes químicos, y los polvos, es a través de las vías respiratorias. Por esto y dado el aumento de la contaminación en numerosas urbes y muy especialmente en la Ciudad de México se plantea estudiar la relación entre los contaminantes más frecuentemente detectados en el aire ambiente y las características de la mecánica respiratoria.

X.1. CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA Y RESPUESTA BIOLÓGICA-

La contaminación atmosférica es un problema que desde el punto de vista epidemiológico se ha mostrado que tiene gran trascendencia para la salud y hay muy diversos enfoques del mismo: político, económico, geográfico y ecológico. (Strong 1972). Respecto a contaminación se consideró necesario explorarla dado que diversos autores señalan que existe una correlación directa entre la cantidad de contaminantes, especialmente el ozono y la presencia de alteraciones clínicas y funcionales respiratorias. (Golden, J.A. 1978, Drechsler-Parks D.M. 1990, Higgins I.T.T, 1990, Hosrstman D.H. 1989, Hazucha M.J.1989). Esta afirmación simplista se puede cuestionar con base en el análisis del comportamiento químico del ozono y en las observaciones clínicas y experimentales. El ozono es un gas altamente reactivo que en presencia de vapor de agua reacciona, se inactiva y hay pocas probabilidades de que lleguen concentraciones considerables a los bronquios. Sin embargo otros autores no encuentran correlación significativa y sugieren que los efectos se deben a la combinación de contaminantes, cuya

asociación no se percibe (Guggenbichler M.W 1990). Esto ocurre tanto en los fenómenos agudos (Rees H.1996, Janet Allan 1989)) como en los crónicos (Hnizado E. 1990)). La profilaxis y la terapéutica con base racional requieren superar la ecuación simplista: ozono igual a alteraciones obstructivas de las vías respiratorias, planteada por múltiples estudios empíricos.

En esta investigación se postula que la patogénia de las alteraciones respiratorias detectada mediante curvas flujo volumen en una población de sujetos clínicamente sanos, es multifactorial y su análisis requiere un enfoque interdisciplinario y multivariado.

Se analizan los datos de la concentración de contaminantes correspondientes al área la Universidad Autónoma Metropolitana donde permanece la población estudiada una porción considerable de su jornada, por ser el lugar donde efectúan sus estudios o trabajan. Se considera muy probable que influya sobre el aparato respiratorio de estas personas la composición del aire ambiente y habitacional de otros sitios donde se encuentren durante el día y no necesariamente solo el del sitio del estudio o de trabajo.

En esta investigación fue necesario tomar como referencia los datos de la composición del aire comunicados por el Instituto de Ecología para la región Sur Este de la Ciudad de México. Se menciona que las técnicas que se describen fueron practicadas en los laboratorios del Instituto Nacional de ecología (situadas en Rio Lerma 36, con la autorización de quien era Director en la etapa de la investigación efectuada en 1996, el Físico Sergio Reyes Lujan). Pero esta preparación no se utilizó porque no fue posible conseguir el equipo.

En las secciones siguientes se procede a analizar las bases teóricas requeridas para analizar el problema de la relación entre el aire ambiente y el aparato respiratorio.

X.2. CONCEPTO DE AIRE AMBIENTE Y SUS COMPARTIMENTOS.

Dado el gran volumen de aire que penetra al aparato respiratorio, los cambios en su composición pueden ser importantes, en especial cuando el sujeto efectúa ejercicio durante el cual, aumenta el volumen de aire respirado hasta 20 veces el que respiraría en reposo.

Por lo tanto el estudio de los mecanismos de agresión del aparato respiratorio debe incluir un análisis de las alteraciones naturales y artificiales del aire ambiente, que pueden ser óptimas, compatibles o deletéreas para la vida. Por lo tanto el estudio de los mecanismos de agresión del aparato respiratorio debe incluir un análisis de las alteraciones naturales y artificiales del aire ambiente, que pueden ser óptimas, compatibles o deletéreas para la vida.

X.2.1. COMPOSICIÓN DEL AIRE AMBIENTE.

El aire es una mezcla de gases que rodean a la tierra. De esta capa que mide aproximadamente 60 Km., los intercambios de la biosfera con el aire se efectúan casi únicamente en los 3 k. más próximos a la tierra. Tiene una composición básica y los elementos que la constituyen (Tabla 100) proceden en unos casos de fuentes naturales y otras de fuentes antropogénicas.

TABLA 100
COMPOSICIÓN DEL AIRE SECO EN LA PORCIÓN INFERIOR DE LA
TROPOSFERA

Nombre	Símbolo	Concentración en %	Tiempo Residencia
GASES PRINCIPALES			
Nitrógeno	N ₂	73.0	Continuo
Oxígeno	O ₂	20.9	Continuo
Argón	Ar	0.93	Continuo
Bióxido de Carbono	CO ₂	0.032	20 años
GASES RAROS	p.p.m (cm ³ /m ³)		
a)NO REACTIVOS			
Helio	He	5.2	Continuo
Neón	Ne	18.0	Continuo
Kriptón	Kr	1.1	Continuo
Xenón e Hidrógeno	Xe , H	0.086 y 0.5	Continuos
Óxido Nitroso	N ₂ O	0.25	8 a 10 años
b)GASES REACTIVOS			
Monóxido Carbono	CO	0.1	0.3 años
Metano			
Oxido Nítrico	NO y NO ₂	0.2 a 2.0 y 0.5 a 4.0 x 10 ⁻³	2 a 8 días
Dióxido de N ₂			
Dióxido de azufre	SO ₂	0.3 a 1.2	1 a 6 días
Ozono	O ₃	0 a 0.05	?

NOTAS. Estas concentraciones se midieron en áreas contaminadas y lejanas a los centros de población.(FUENTE: Strauss W. y S.J. Mainwaring.1990)

En la tabla 100 se anotan las concentraciones en el aire ambiente no comunitario y se anota el tiempo de residencia calculado. Puede apreciarse que los gases no reactivos no han mostrado cambios en sus concentraciones a través del tiempo, es decir su permanencia es continua.

Se consideran contaminantes los gases reactivos producidos por el hombre. La composición del aire depende de la relación entre la tasa de producción de contaminantes y la tasa de desaparición de los mismos.

X.2.2. AIRE EXTERIOR

Para analizar el efecto que ejerza sobre la salud, la composición del aire ambiente debe tomarse en cuenta que el aire respirado tiene dos compartimentos. El exterior y el domiciliario.

El aire exterior puede ser marítimo y rural los cuales son muy limpios y hay poca información detallada de su composición. La emisión de contaminantes al aire exterior proviene de la vegetación, de erupciones volcánicas, de incendios forestales y de las actividades humanas. La composición de la atmósfera ha permanecido constante y es casi igual en todas las regiones de la tierra, y excepto en ciertas regiones la capacidad amortiguadora de los cambios es suficiente para mantener su composición. Los procesos naturales para mantener la composición de los contaminantes son: la migración atmosférica, la captación biológica por microorganismos terrestres y marinos y por las plantas, la absorción en los océanos y lagos y la adsorción en las superficies.

El aire exterior comunitario se caracteriza por la contaminación originada por el hombre y su composición varía de acuerdo con la densidad de la población, la mecanización y la industrialización. El tipo de contaminantes del aire comunitario varía en distintas poblaciones en su composición, horarios, tasas de intercambios y origen de los mismos.

TABLA 101
CARACTERÍSTICAS DE DOS TIPOS DE CONTAMINACIÓN ATMOSFÉRICA
GENERAL

CARACTERÍSTICAS	TIPO LOS ÁNGELES	TIPO LONDRES
TEMPERATURA Fº	75 '–80	30 – 40
Humedad Relativa	70	80 + niebla
TIPO DE INVERSIÓN	Retardada	Radiación
Tiempo del año	Agosto Septiembre	Noviembre – Enero
Hora de Contaminación Máxima	Medio día	Noche y madrugada
FUENTES	Hidrocarburos de automóviles y industrias	Industria, Combustión de carbón en casas y locomotoras
COMPONENTES	Peróxidos orgánicos, Ozono óxidos de nitrógeno, aldehidos, y cetonas.	Bióxido de azufre SO ₂ Ácido sulfúrico, cenizas negro de humo.
Cantidades de ceniza	20 - 30	120 – 180
Químico	Oxidante	Reductora

Fuente: Ferris B.G. y N.R. Frank. (1964)

Además de la concentración de los contaminantes habituales, es importante la presencia de algunas otras sustancias que aun cuando tengan concentraciones muy pequeñas interaccionan con otras acelerando reacciones que favorecen la producción de sustancias que por si mismas pueden ser poco dañinas pero que se combinan con otras dando compuestos muy perjudiciales.

Unos ejemplos muy notables fueron las crisis observadas 1948 y 1952 en Londres y los de Meuse Valley en Los Ángeles. Nótese que el aire tipo Londres, contiene concentraciones elevadas de dióxido de sulfuro, partículas de alquitrán y de hollín provenientes principalmente de la combustión de carbón. Otro tipo de aire comunitario es el de Los Ángeles, donde los contaminantes provienen de la gasolina utilizada por los automóviles.

Este tipo también se encuentra en ciudades donde hay calefacción doméstica con gasolina. La combustión imperfecta del butano puede producir ozono y causar contaminación domiciliar importante. En las ciudades donde hay intensa luz solar y vientos escasos, los productos del escape de automóviles presentan reacciones fotoquímicas y se producen oxidantes como el ozono, el peroxiacetil nitrato y otras.

XI.2.3. Aire interior o habitacional.

El aire habitacional o interior tiene dos subcompartimentos, el doméstico y el del trabajo. Además en ciertos grupos poblacionales existe también subcompartimento vehicular, en el cual los motores de combustión producen contaminación tanto en ese espacio como en el aire comunitario; este subcompartimento es importante porque en él pueden permanecer las personas de 1 a 4 hs.

La importancia de los subcompartimentos varía de acuerdo con el desarrollo socioeconómico, toda vez que éste determina el grado y tipo de urbanización, industrialización y el número de vehículos. La latitud determina el tiempo que las personas permanecen en el interior de las habitaciones; se sabe que en los Estados Unidos y la parte norte de Europa, la población en promedio pasa 2 hs al día en el exterior y el resto en el interior; de estas horas, 8 por lo menos permanece en sitio de trabajo, de 1 a 2 horas en el medio de transporte y el resto en su domicilio. En contraste, en los países con clima cálido, subdesarrollados, y agrícolas, la mayor parte del tiempo la población permanece en el exterior.

La composición del aire habitacional, ha sido poco estudiada; depende la relación entre las emisiones internas, la penetración de contaminantes y los mecanismos de eliminación. La producción la determina el uso del inmueble ya sea vivienda o de trabajo. En los ambientes de trabajo, la composición depende de su tipo y se han identificado numerosos procesos patológicos característicos de algunas de ellas como las minas o algunas fábricas, que son parte del objeto de estudio de la medicina del trabajo. Por otra parte existen estudios amplios y criterios que han dado lugar a normas

que definen las concentraciones legalmente permitida de ciertos contaminantes en los ambientes de trabajo. (Parkes W.R. 1983)

El aire de las casas se modifica de acuerdo con emisiones de los materiales de construcción, los muebles, las telas, las pinturas y barnices. Factores muy importantes para determinar la composición del aire domiciliario son los medios que se usen para calentar el ambiente y para cocinar, los materiales de limpieza, el manejo y almacenamiento de los alimentos, la basura, la presencia de animales domésticos, el uso y mantenimiento de aparatos de aire acondicionado.

Los humanos emiten calor, olores, vapor de agua, partículas como gotas de saliva y células descamadas; su magnitud depende de la actividad, vestuario, higiene personal y hábito tabáquico. De éstas emisiones, las gotas de saliva, el humo de cigarrillo y el humo de las estufas de gas y especialmente de leña, se ha demostrado que tienen efectos deletéreos en la salud de personas ya sea que tengan reacciones alérgicas (Tachikawa 1991) aún cuando no tengan alteraciones en su nivel de salud ni reacciones alérgicas. (Morgan S.M. 1977)

La ventilación domiciliaria, es otro factor que modifica la composición del aire. Esta se efectúa por corrientes y por cambios térmicos; el aire caliente interior tiende a salir y el frío a entrar. También puede producirse por aparatos de aire acondicionado, los cuales, cuando no tienen un mantenimiento adecuado, suelen empeorar la calidad del aire. El intercambio con el ambiente permite que los contaminantes externos también penetren al compartimiento domiciliario.

En estudios sobre la concentración de dióxido de azufre, ozono y partículas suspendidas, se ha encontrado que sus concentraciones son inferiores en las casa, que en el aire exterior que las rodea. Esto se explica por que las superficies de muebles y otras como las cortinas, tienen capacidad de absorber el SO_2 ; en cuanto a las partículas se considera a que en el interior los procesos de sedimentación, difusión y coagulación son más intensos. También el monóxido de carbono se absorbe fácilmente por las paredes. Estos datos sugieren que en las habitaciones existe cierta

protección contra algunos contaminantes del aire, hecho que puede ser importante para la salud especialmente en personas con problemas respiratorios. Este concepto ha sido poco difundido.

X. 3. CONCEPTO DE CALIDAD DEL AIRE.

La calidad del aire esta dada por su composición y sus características físicas como son la temperatura, la humedad, la velocidad de desplazamiento y la concentración de gases, vapores, partículas, iones y sustancias radioactivas. Todas estas, modifican la función respiratoria en general y de manera directa a la nariz.

XI.3.1. Temperatura e inversiones térmicas.

Este es un parámetro importante porque modifica la tasa de los procesos químicos, físicos y biológicos. En las vías respiratorias superiores, se produce el acondicionamiento del aire inspirado por el cual adquiere la temperatura, la humedad y la limpieza adecuadas y hay múltiples mecanismos para eliminar las partículas que penetran al aparato respiratorio. (Morrow P.E. 1977). La temperatura se modifica por calentamiento o enfriamiento de manera que llegue a las vías inferiores a 37°C y saturado con vapor de agua con presión de 47 mmHg. La humidificación del aire consume agua y calor de la mucosa nasal que se relaciona con la temperatura y humedad del aire ambiente; el intercambio en la nariz, faringe y laringe, logra que en las vías respiratoria inferiores siempre este saturado con vapor de agua correspondiente a 37°C. De esta manera que si el aire esta muy frío, se requiere abundante agua y calor para acondicionarlo y esto afecta el balance calórico e hídrico del cuerpo e incluso la actividad mental.

El aire absorbe poca energía solar, de manera que la temperatura de la superficie terrestre depende de la de la tierra. La temperatura se modifica de acuerdo con la latitud y tiende a disminuir desde el ecuador hasta los polos. La altura sobre el nivel del mar también determina la temperatura del aire y en promedio disminuye un grado por cada 100 metros de incremento en altitud. La tierra se calienta o enfría más rápidamente que la superficie de los cuerpos de agua, lo cual se refleja en los cambios de temperatura del aire y

en desplazamiento de masas de aire de la tierra al mar cuando ésta se enfría y viceversa cuando se calienta.

Este calentamiento diferencial de las capas de aire, modifica el desplazamiento del aire y sus contaminantes hacia la porción superior de la troposfera, esto tiene importancia especial en las ciudades que como se ha indicado tienen una temperatura superior a las zonas rurales que las rodean. Así, el aire caliente que esta en contacto con la tierra, tiende a subir y las masas de aire frío que lo rodean se desplazan y se calientan. Las masas que ascienden a medida que lo hacen se hacen más ligeras pero a la vez se enfrían y por ello disminuye la velocidad de ascenso. La disminución de temperatura se denomina tasa de declinación adiabática y es de 1° C por 100 metros de elevación. A la inversa cuando el aire que desciende se comprime su temperatura aumenta. La relación entre la temperatura de las diferentes masas de gas influyen en su movilidad y en la eventual estabilización del sistema.

Estos movimientos acordes con principios físicos, se verifican de muy diferentes maneras por la presencia de otras características como son la presencia de vientos, la intensidad de la luz solar y la topografía. Por ejemplo, cuando el sol se oculta y la tierra se enfría, es posible que se desplace aire frío desde el mar o lago hacia la tierra desplazando el aire caliente hacia arriba, a este fenómeno se le denomina inversión térmica. En valles rodeados de montañas, como en la Cd. de México, en la mañana los rayos del sol calientan las capas de aire superiores, mientras que en el fondo permanece el aire frío; esto se incrementa por la altura. Cuando la capa superior se ha calentado a una temperatura crítica, se desplaza y favorece que las capas inferiores frías se movilicen. Si se toma en cuenta que durante las horas de la noche se acumulan los contaminantes, se explica la trascendencia de las inversiones térmicas en la salud.

En México se han observado inversiones térmicas en más de 25 días del mes, desde octubre hasta mayo, y de 3 a 15 días por mes desde junio hasta septiembre, La hora de ruptura de las inversiones térmicas de abril a agosto ocurre cerca de las 8 de la mañana; en contrasten en invierno, esto

ocurre entre las 9 y las 11 de la mañana, lo que implica un número mayor de horas en los que la capa contaminada persiste en el nivel de la tierra.

En las ciudades la temperatura es de 1 a 2 grados mayor que en las zonas rurales que las rodean. Esto se explica porque los materiales de construcción de las casas y calles absorben mayor cantidad de calor por lo que actúan como depósitos del mismo y lo liberan al aire. La lluvia desaparece de la superficie urbana más rápidamente que en el campo y esto influye sobre el balance calórico.

La temperatura en las construcciones depende de la del ambiente, pero además la influye el sitio, su orientación, el diseño y los materiales de construcción. La radiación solar sobre un edificio, puede absorberse, principalmente los rayos de baja longitud de onda. Una vez que se absorbe puede transmitirse a los muebles y otros objetos que elevan su temperatura; los objetos calientes pueden irradiar ondas de longitud de 10 nm las cuales no se pueden transmitir al exterior a través del vidrio; este efecto se denomina de invernadero.

En general se considera que la temperatura óptima de las habitaciones para comodidad y conservación de la salud es de 18 a 24 grados C. La vida humana existe en lugares con temperaturas comprendidas entre -79 a + 58 grados y la nariz es capaz de calentar o enfriar el aire inspirado llevándolo cerca de 37°C de temperatura.

X.3.2. HUMEDAD.

La cantidad de vapor de agua en el aire es importante porque dado que es la forma principal que intervine en diversos intercambios y afecta la magnitud y la velocidad de diversos procesos físicos, químicos y biológicos. La humedad del aire se expresa habitualmente de acuerdo con la presión parcial que ejerce y se expresa en milímetros de mercurio. También se puede calificar como la relación entre la masa de agua contenida en determinada masa de aire y se expresa como Gr. de agua por kilos de aire. Finalmente la humedad del aire se puede expresar como la proporción en por ciento del agua que a una determinada temperatura puede contener el aire en forma de vapor; cuanto mayor es la temperatura mayor es su capacidad para contener vapor

de agua. Cuando el aire contiene toda el agua que puede contener a una determinada temperatura se dice que esta 100% saturada. Cuando la cantidad de agua sobrepasa la necesaria para producir el 100% de saturación, ésta se condensa y cuando contiene menos, favorece la evaporación de agua en estado líquido,

El agua contenida en el aire proviene de la evaporación de los cuerpos de agua, grandes o pequeños y de los vegetales. La concentración del agua en el aire varía desde 0.000002% a casi 5%. Estas variaciones dependen de la disponibilidad de agua que se evapore y de la temperatura. Los lugares secos y fríos serán los que tengan el aire con menor proporción de agua y por el contrario la mayor humedad se encontrará en las zonas ecuatoriales, calientes y con lluvias y depósitos abundantes de agua.

En las ciudades la humedad del aire es inferior que en las áreas rurales que las rodean; esto se explica porque el agua de la lluvias va al drenaje y las superficies quedan secas rápidamente, limitando el proceso de evaporación; además hay menos precipitaciones pluviales. La humedad en el verano puede ser hasta de 18% y en invierno de 6%.

La humedad relativa más adecuada para la salud esta entre 30 y 60%. La disminución produce aumento de la pérdida de agua en la nariz donde se efectúa el proceso de calentamiento y humidificación del aire; esto seca la superficie y eventualmente altera el epitelio nasal. Por otra parte, el aumento exagerado de la humedad también es deletéreo, porque disminuye el proceso de evaporación de agua en la superficie corporal y en consecuencia se limita el proceso de sudoración y evaporación del sudor que es el mecanismo más importante de pérdida de calor del organismo y sin el cual tiende a producir hipertermia denominada fiebre de calor o golpe de calor.

X.3.3. VELOCIDAD DEL AIRE.

La velocidad del aire modifica el tamaño predominante de las partículas suspendidas desplazando las más grandes, mayores de 100 micras, que por su masa se desplazan con las fuerzas de la gravedad. También influye la dilución de los contaminantes y el balance calórico ambiental, incluyendo el de los cuerpos humanos y animales, porque produce

pérdida de calor por convección. En los climas muy fríos, esta característica puede ser muy trascendente porque produce pérdida de calor por irradiación, es decir el calor del cuerpo se desplaza hacia el ambiente que tiene menor temperatura. Las corrientes de aire desde las zonas rurales a las urbanas pueden participar en la dispersión de los contaminantes, pero la presencia de los edificios limita esta acción.

Es importante considerar las modificaciones de la composición del aire producida por los vientos, porque limita la validez de las medidas de la composición en un área con respecto a otra. En condiciones de viento mínimo la composición se considera válida, en un área plana en una circunferencia con radio de 1.25 Km.

X.3.4. GASES Y VAPORES.

Además de los gases descritos en el Tabla 100., existen un conjunto de otros gases que se denominan contaminantes porque aun cuando muchos de ellos se producen en fuentes naturales, también se generan en fuentes antropogénicas y llegan a tener concentraciones elevadas que causan daños a la estructura y función de los seres vivos. En el Tabla 102. se presenta la lista de algunos de los contaminantes del aire y es evidente que la cantidad producida de fuentes naturales es mayor que la producida en las fuentes antropogénicas.

X.4. EFECTOS DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE.

Los efectos de la contaminación del aire son muy diversos y afectan a la piel, las mucosas y al organismo en general. La penetración de los contaminantes se hace en forma muy importante por el aparato respiratorio; pero los efectos de algunos, que pasan la membrana alveolo capilar, son transportados por la sangre a diversos órganos y se manifiestan por sus acciones sobre ellos. Así una intoxicación muy grave ha sido la producida por plomo que afecta al sistema nervioso. Otra sustancia que penetra a la circulación es el monóxido de carbono que se fija a la hemoglobina e impide la unión con el oxígeno. En este trabajo, se da atención a las sustancias que afectan al aparato respiratorio y que pueden participar en la producción de

las alteraciones de las vías respiratorias que modifican las curvas flujo volumen.

Los efectos de los contaminantes del aire han estudiado en laboratorios, exponiendo a individuos y animales a respirar mezclas gaseosas con determinadas concentraciones del gas que se desea estudiar y manteniendo constantes todas las demás variables. Estos estudios son importantes porque permiten definir la relación causa efecto, los mecanismos de acción de las sustancias, el tipo de lesiones producidas, la relación dosis – efecto y las concentraciones toleradas en forma crónica.

Sin embargo los resultados no pueden extrapolarse para explicar las alteraciones observadas en el ambiente urbano, en parte por razones éticas toda vez que no se puede exponer a los sujetos a respirar por tiempo prolongado gases dañinos ni en dosis tóxicas, aún por tiempo limitado. En consecuencia no se puede afirmar la relación causa efecto, de manera terminante y solamente se puede afirmar la correlación entre dos hechos. Por otra parte el aire ambiente contiene muchas sustancias, algunas de las cuales se desconocen, otras se neutralizan entre si y otras se potencian.

Por lo tanto para estudiar los efectos de una sustancia contaminante se han utilizado los experimentos accidentales, en los que en una industria o una población se derrama una sustancia de manera que la población se ve expuesta a un agente químico único o predominante en un grado muy alto.

TABLA 102
ORIGEN DE LOS CONTAMINANTES

GAS	FUENTE ANTROPOGENA	FUENTE NATURAL	CANTIDAD	
			CONTAMINACIÓN	NATURAL
SO ₂	Combustión carbón petróleo cocido mineral sulfatado	Volcanes	146	6-12
Ácido sulfídrico	Pro. Químicos Trata. aguas Negras.	Volcanes Producción. en Pantanos	3	30-100
Monóxido de C	Combustión automóviles	Reacciones de terpenos en incendios	300	+ 3000
Óxidos de NO _x	Combustión	Acción bacteriana en suelos	50	60 -270
Amoniaco NH ₃	Tratamiento de desechos	Descomposición biológica	4	100 - 200
Óxido nitroso N ₂ O	Uso de fertilizantes nitrogenados	Acción bacteriana en suelos	+ 17	100 a 450
Hidrocarburos	Combustión, escapes Procesos. Químicos	Procesos Biológicos	88	CH ₄ 300-1600 TERPENOS:200
Bióxido de Carbono	Combustión	Descomposición biológica. Liberación de océanos	1.5 x 10 ⁴	15 x 10 ⁴

Fuente: Strauss y S.J. Mainwaring (1977)

En estos casos la relación causa efecto puede establecerse con mucha mayor probabilidad.

Otros estudios importantes son los relacionados con la exposición industrial, que ocurre durante tiempo prolongado, con duración conocida, agentes determinados y muchas veces con concentración conocida.

X.4.1. Efectos del smog clásico y el smog fotoquímico.

Este término se refiere al observado en Londres que en 1952 en la semana del 5 al 11 de diciembre y que produjo un aumento aproximado de 5000 muertes más que el promedio esperado para esa época del año. Sus características se describen en la Tabla 101.

En ese desastre, no se pudo atribuir los daños a un solo contaminante, porque en forma aislada se habían observado en concentraciones mayores a cada uno de ellos y sin embargo no habían tenido resultados similares. Por consiguiente los efectos se explicaron con base en una combinación sinérgica entre el dióxido de azufre y las partículas de carbón, que produjeron ácido sulfúrico como resultante de la disolución de trióxido de azufre en agua; esta reacción estaría catalizada por el carbono o iones metálicos como hierro, magnesio y vanadio. La inspiración del ácido sulfúrico con las partículas puede producir en forma directa y aguda los daños observados. Este efecto fue mucho más grave y con frecuencia normal en personas con lesiones pulmonares previas.

X.4.2. El smog fotoquímico.

Este es el que produjo la elevada mortalidad observada en Los Ángeles en 1943. Se forma a partir de la interacción de la luz solar con el monóxido de nitrógeno (NO) y con los hidrocarburos procedentes de la combustión de la gasolina en los automóviles. También participan el dióxido de azufre, y las partículas.

Su formación se produce cuando las condiciones del sistema permanecen constantes y la inversión térmica continúa estable durante varios días, lo que permite una elevada concentración de los contaminantes. En estas condiciones se producen reacciones de oxidación de las cuales se desprende ozono y peroxiacetil nitrato. La dinámica de estas reacciones es compleja y no es igual en todos los lugares. Se requiere definir en los

distintos sitios de acuerdo con su orografía, la cantidad de luz solar y otros factores químicos. Solamente así es posible diseñar campañas adecuadas para prevenir los daños y evitar su formación. Existen datos de medidas mal orientadas que empeoraron la situación.

En las secciones anteriores se han discutido los factores que determinan la calidad del aire y es claro que la interacción entre ellos así como con las características del lugar, dan origen a sistemas complejos. Por esto los datos epidemiológicos indican que la contaminación del aire se relaciona con un incremento de las enfermedades respiratorias, pero definir a una sustancia o sustancias como desencadenantes de las alteraciones orgánicas que terminan en el desarrollo de una enfermedad, requiere un mayor número de estudios, más controlados y tomando en cuenta la interacción de otros mecanismos de agresión así como los de defensa.

X.5. EFECTO DE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE EN SUJETOS CLÍNICAMENTE SANOS.

Es evidente que a pesar de los problemas implícitos en coleccionar los datos de la composición del aire ambiente y de interpretarlos, es un factor que es necesario analizar, de acuerdo con los objetivos de la presente investigación. Las formas en las que se obtuvieron los datos para esta investigación se han mencionado. Los datos que se considera adecuados establecer una correlación se presentan en la sección de métodos y discusión.

X.6. MEDICIÓN DE LOS CONTAMINANTES DEL AIRE

Se planeó hacer la determinación de los contaminantes atmosféricos y para ello se investigaron las técnicas y se practicaron. Por no haber conseguido el equipo para hacerlo se solicitaron al Instituto de Ecología. Se nos proporcionaron las de 1990 y 1991 referentes a los datos de la concentración en partes por millón de: ozono, dióxido de nitrógeno, óxidos de azufre y monóxido de carbono. En esa época no se medían las partículas suspendidas totales y concentración de las de 10 micras o menos o sea la denominada fracción respirable. Posteriormente no se tuvo esta colaboración y las registradas corresponden a las que se dan a

conocer en el sitio correspondiente en Internet. Los principios físicos en los que se basa la medición de los contaminantes es diferente para cada uno de ellos.

ÓXIDOS DE NITRÓGENO. La medición de los óxidos de nitrógeno se basa en que en presencia de ozono los óxidos se transforman en NO_2 ; en estas condiciones se le somete a presión negativa con lo cual se ioniza y emite luz morada cuya intensidad es proporcional a la concentración del gas; ésta se hace pasar por un filtro que absorbe la radiaciones luminosas de otra longitud de onda y la que pasa se capta con una celda fotoeléctrica que la traduce a un equivalente eléctrico.

El aparato consta de una cámara con presión negativa donde se genera el ozono por un sistema de chispa.

DIÓXIDO DE AZUFRE. Se mide "exitándolo" al hacerlo pasar por una flama o por una haz de luz ultravioleta con una longitud de onda comprendida entre 230 y 190 nm.

El SO_2 pasa a S_2 el cual se ioniza y emite luz de 375 nm de longitud de onda, cuya intensidad es proporcional a la concentración del gas; la energía luminosa se transforma en eléctrica en una celda. El método no distingue la presencia de otros compuestos como el ácido sulfídrico H_2S , el mercaptometilo (CH_3SH) o el disulfuro de metilo ($\text{CH}_3)_2\text{S}$. Para hacer la diferenciación los otros compuestos se miden por cromatografía de gases.

MEDICIÓN DE OZONO. El O_3 también se mide por un método fotoquímico. Se le hace reaccionar con etileno y en la reacción produce luz de 435 nm de longitud de onda que se mide con una celda fotoeléctrica. La sensibilidad del método es de 1 parte por billón.

PARTICULAS SUSPENDIDAS. La medición de partículas se hace pasando un volumen determinado de aire por filtros con poros de diferentes tamaños; básicamente uno retiene las partículas mayores de 10 micras y otro las de menor tamaño. La diferencia en el peso antes y después de la

exposición al aire indica la masa de las partículas retenidas. Es importante recordar que el diámetro aerodinámico se modifica con la velocidad del aire, la temperatura y la humedad y por tanto las calibraciones deberán hacerse ajustando la medición a las condiciones ambientales. Algunos sistemas las hacen en condiciones constantes de humedad y temperatura pero esta medición altera el comportamiento aerodinámico de las partículas y no representa el aire inspirado. Nosotros trataremos de ajustar el sistema para que se hagan las mediciones a 37°C y en un ambiente saturado con agua. Las mediciones reflejarán las partículas que entran al aparato respiratorio que mediante la función principalmente de la nariz, que acondiciona el aire a esa temperatura y humedad (Strauss 1990)

X.6.1. REGISTRO DE LA CONCENTRACIÓN DE LOS CONTAMINANTES COMUNES.

Se registraron las concentraciones de SO₂, NO_x, O₃, CO, comunicadas por el Instituto de Ecología para el área sureste de la Cd. México, para el día en el que se hicieron los estudios. En la época en las que se hicieron estos estudios, no se comunicaba la concentración de partículas. Estos datos son los más cercanos a los el aire ambiente de la Universidad Autónoma Metropolitana. El análisis presentado en este capítulo, hace evidente que la relación con la composición del aire en el área de la Universidad y del Laboratorio donde se hicieron los estudios sea aproximada.

X.7. RELACIÓN ENTRE LA CONTAMINACIÓN DEL AIRE Y LAS CURVAS FLUJO VOLUMEN,

Como se ha mencionado, desde que se inició esta investigación se consideró que la primera explicación causal de las alteraciones de la mecánica respiratoria que se manifiestan en las curvas flujo volumen era la contaminación atmosférica. Se ha mencionado la causa de que las cifras que se utilizan correspondan a las publicadas por el Instituto Nacional de Ecología.

La cifra que se anota corresponde a la del promedio del día reportado a las 24 horas anteriores, y comunicada a las 18 hs. Toda vez que los estudios se hicieron desde las 9 a.m. habitualmente hasta las 115 hs y en

raras ocasiones a las 18 horas, se decidió que la medida más representativa de la composición del aire era la comunicada para ese día.

X. 7.1. RESULTADOS DE LAS OBSERVACIONES EFECTUADAS

En la Tabla 103 se presentan los datos de los grupos OTO 91. PRI 92 y PRI 99. Como en tablas anteriores, los sujetos estudiados se presentan agrupados como normales o anormales de acuerdo con el diagnostico establecido en la curva flujo volumen

TABLA 103
CONTAMINACIÓN

GRUPO	Dx CFV	SUJETOS		OZONOPPM	O3 IMECA	SO2 PPM	NO2 PPM	CO PPM	SUMAPPM
OTO 91	N	60	MEDIA	0.17	149.07	0.08	0.11	5.14	5.50
			DSt	0.04	30.12	0.01	0.02	1.09	1.07
			Min	0.11	99.00	0.05	0.06	4.20	4.52
			Max	0.21	185.00	0.09	0.13	8.10	8.44
	A	36	MEDIA	0.17	148.31	0.08	0.11	5.21	5.57
			DSt	0.04	30.56	0.01	0.02	1.43	1.42
			Min	0.11	99.00	0.07	0.06	4.20	4.52
			Max	0.21	185.00	0.09	0.13	12.00	12.38
PRI 92	N	56	MEDIA	0.16	127.64	0.04	0.07	7.28	7.55
			DSt	0.11	45.82	0.06	0.02	1.77	1.82
			Min	0.05	45.00	0.02	0.03	3.70	3.84
			Max	0.86	205.00	0.35	0.11	10.00	10.22
	A	57	MEDIA	0.13	113.18	0.05	0.06	7.03	7.26
			DSt	0.05	43.90	0.07	0.02	2.23	2.27
			Min	0.06	56.00	0.02	0.03	3.70	3.84
			Max	0.22	188.00	0.35	0.11	10.00	10.22
PRI 99	N	8	MEDIA	0.03		0.01	0.03	2.76	2.84
			DSt	0.02		0.00	0.01	0.45	0.46
			Min	0.05		0.01	0.02	1.00	2.24
			Max	0.01		0.01	0.02	2.20	3.29
	A	26	MEDIA	0.03		0.01	0.03	2.58	2.65
			DSt	0.01		0.00	0.01	0.44	0.45
			Min	0.01		0.01	0.02	1.80	1.84
			Max	0.06		0.02	0.04	3.20	3.29

Se buscó la correlación con el resultado global de la curva flujo volumen y no se encontró para el grupo global. Las razones para esta falta de correlación son evidentes dadas las limitaciones para que una cifra

registrada en la estación Sureste del instituto Nacional de Ecología represente en forma fidedigna la composición del aire ambiente en el área de la Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco.

Por otra parte es posible que la composición del aire en el sitio y momento del estudio, produzca un efecto agudo y no necesariamente sea responsable de cambios tan grandes como los que se observaron en los grupos estudiados.

Para indagar sobre este punto, se estudiaron los datos de sujetos que tenían tres o más determinaciones de las curvas flujo volumen y se relacionaron con la composición del aire en cada una de las determinaciones. Se utilizó un modelo lineal, calculado la relación en partes por millón de ozono, nitratos, sulfatos y monóxido de carbono. Se encontró que la relación era altamente significativa con excepción de los sulfatos.

Estos datos permiten concluir que el efecto de los gases contaminantes de la atmósfera no puede afirmarse en una medida aislada de la mecánica respiratoria. Pero en medidas repetidas en las cuales hay variaciones de los índices de contaminación si se puede demostrar una relación.

Otra observación del que se derivan conclusiones diferentes fue la que se realizó en el grupo OTO 97 en el que se estudió a los sujetos antes y después de cambiar de ambiente asistiendo al área clínica. Se observó disminución de los valores observados del FEV1, de la FVC del FEF50 y FEF25, es decir que aumentó la resistencia de las vías respiratorias. En este grupo no se observó correlación con la contaminación atmosférica registrada el día en que se efectuó el estudio. Además durante ese tiempo los sujetos respiraron probablemente un aire de mejor calidad porque estuvieron en un sitio "limpio" donde atendieron a recién nacidos y usaron cubrebocas la mayor parte del tiempo.

Este hallazgo refuerza la opinión de que es indudable que la contaminación atmosférica ejerce efectos deletreos sobre la salud y especialmente en el aparato respiratorio, pero los mecanismos implicados son muy diversos e incluyen factores personales de diversas índoles, y la asociación de otros factores como la flora bacteriana nasal y la respuesta inmune.

XI. CONCLUSIONES GENERALES.

Se puede concluir que se comprobó la hipótesis planteada:

1. Existe una elevada proporción de sujetos clínicamente sanos que presentan en las curvas flujo volumen alteraciones de tipo obstructivo, mediante el estudio de 917 sujetos, a lo largo de 10 años en diversas estaciones. Se encontró además que hay una tendencia al aumento de la proporción de sujetos con alteraciones de las curvas flujo volumen.

2. Se comprobó que los sujetos con curvas flujo volumen anormales comparados con los que tienen normal la mecánica respiratoria, presentan diferente perfil clínico: menor práctica deportiva, mayor frecuencia de nacimiento anormal, menor frecuencia de lactancia materna y mayor frecuencia de disnea. Se observó correlación significativa entre el tipo de expectoración y las alteraciones de las curvas flujo volumen. No hubo diferencia en otros síntomas respiratorios ni en los antecedentes de tabaquismo.

Se encontró que los sujetos con anomalías de la curva flujo volumen presentan menor peso y estatura; se discute la trascendencia de esta diferencia que sugiere una predisposición genética a desarrollar alteraciones obstructivas de las vías respiratorias.

3. Se diseñó y validó una técnica para hacer estudios cuantitativos de la flora endógena nasal. Se describen las diversas etapas, del proceso para validar el método: cálculo del error inter e intra observador para efectuar la cuenta de UFC, efecto de las diluciones, homogenización de las muestras, variaciones entre individuos y en un mismo individuo estudiado en días consecutivos. Se encontró efecto significativo de la alternancia nasal sobre el número de UFC en la nariz. Se presentan cifras encontradas en estos sujetos que se pueden considerar como referencia de la cantidad de UFC en sujetos clínicamente sanos; estas cifras tienen un rango muy amplio que va de 10^5 a 10^6 .

Se encontró un número significativamente mayor de UFC en sujetos con CFV anormal; esto apoya la hipótesis de que en los procesos inflamatorios relacionados con el aumento de la resistencia de las vías respiratorias, no necesariamente existen microorganismos de los clasificados como patógenos sino que se presenta un aumento del número de microorganismos de la flora bacteriana habitual que se desarrolla en exceso como un oportunista. Esta conclusión la apoya la observación de que en enfermos con distintos padecimientos respiratorios, casi la mitad presentan expectoración purulenta lo que indica junto con los síntomas que existe infección pero en el cultivo solamente se encontró flora "normal". En cuanto al tipo de microorganismos, se encontraron las mismas familias géneros y especies comunicados por diversos autores "como normales".

También se encontró este fenómeno en los cultivos de expectoración y secreciones bronquiales de enfermos.

Se comprobó que el ambiente influye en el número y tipo de microorganismos presentes. En un grupo que se estudió antes y después de asistir al área clínica se presentó un aumento del número de UFC que se asoció con un deterioro de la mecánica respiratoria. No se tiene explicación para este fenómeno.

También se demostró que en un grupo de trabajadores de diferentes hospitales que la flora endógena era similar a la observada en el grupo de sujetos estudiados en esta investigación; sin embargo se encontró una diferencia que se considera de gran importancia que fue la presencia de *Micobacterium tuberculosis* en enfermeras que trabajan con enfermos tuberculosos. Se tiene conocimiento que estas personas están sanas clínica y tienen radiografías normales; además se comunicó que en un nuevo estudio no se detectaron dichos microorganismos. Esto sería un ejemplo de flora transitoria. La observación mencionada señala que en nuestros estudios se puede decir que se caracterizó la flora endógena pero no se distingue de la flora transitoria.

4. Se diseñó un método para tomar las muestras de secreciones nasales para la determinación de IgA. Se hace énfasis en los detalles del método que son indispensables para que los datos tengan validez, con énfasis en las curvas de calibración para cada placa de NUNC, la calibración de las propias placas y la de cada una de las etapas del proceso. Se caracterizó la cantidad de IgA de la superficie nasal que es de 1500 a 6000 mg/l. Este rango es amplio pero es similar al comunicado por otros autores.

La cantidad de IgA en la superficie de la nariz de los sujetos con curvas flujo volumen normales fue mayor que en los que tienen alteraciones pero fue bajo el nivel de significancia de la diferencia. Se estudiaron las variaciones en la cantidad de IgA nasal, relacionadas con el ciclo menstrual. Se encontró en un grupo que no había modificaciones. En otro grupo si se detectaron cambios similares a los comunicados por otros autores. Se analizan las características de los grupos estudiados y se considera que fue el factor de tensión emocional en un grupo lo que explica la ausencia de modificaciones menstruales de la IgA. Se analizan los diversos factores que modifican la concentración de IgA, los cuales explican el amplio rango de las cifras observadas. Esto podría estar relacionado con el rango amplio de UFC.

Se confirmó la hipótesis de que habría una baja correlación entre las alteraciones mecánicas y los niveles de contaminación comunicados para la zona urbana donde se localiza la Universidad. Se explica la poca validez de las cifras registradas en un sitio relativamente lejano del lugar donde se hicieron los estudios. Se hace énfasis en la necesidad de hacer estudios repetidos para diferenciar los efectos agudos de los efectos crónicos de la contaminación atmosférica y valorar su relación con los factores ya identificados como capaces de modificar la resistencia de las vías respiratorias, detectada mediante curvas flujo volumen.

Puede concluirse que se cumplieron todos los objetivos señalados:

1. Efectuar curvas flujo volumen.

2. Definir características clínicas y su relación con los cambios de la mecánica respiratoria. .
3. Identificar el número y tipo de microorganismos en la nariz.
- 4- Medir la concentración de inmunoglobulina A secretoria
5. Analizar los datos para investigar correlación entre esas variables.
6. Registrar las concentraciones de los contaminantes frecuentes.

Además se aplicó el procedimiento estadístico pertinente para validar las conclusiones.

En todas las maniobras efectuadas se señala como algo fundamental la definición de las técnicas y procedimientos, su observancia estricta y el juicio crítico para analizar los resultados, teniendo como referencia las experiencias publicadas.

En relación al mecanismo por el que se producen las alteraciones de la mecánica respiratoria que se detectan mediante las curvas flujo volumen puede concluirse que es multifactorial y que es menester un análisis de multivariantes cuidadosamente planeado para cuantificar la participación de los diferentes factores.

Finalmente existen otros mecanismos que sería pertinente explorar como es la participación de un componente de alergia que podría investigarse midiendo los componentes celulares de las secreciones nasales, especialmente determinando la cantidad de eosinófilos y la IgE.

FORMATOS ANEXOS.

Carta de consentimiento informado.

Hoja clínica.

Carta de informe de resultados y sugerencias al sujeto.

Tabla 67 Hoja de llenado. Técnica de ELISA

Tabla 68 DO placa de NUNC

Tabla 69 DO placa de NUNC

Figura 7 Curva

Figura 8 Curva

TEXTOS ANEXOS

Inmunidad Bases teóricas. Impreso en forma independiente. Pag 1-133.

XII. BIBLIOGRAFIA

1. Abbas K. Abul, Andrew H. Lichtman y Jordan S. Pober. Cellular and Molecular Immunology. W.B. Saunders Co. Philadelphia. 1994; (pp. 1-457).
2. Abraham E. Intranasal immunization with bacterial polysaccharide containing liposomes enhances antigen-specific pulmonary secretory antibody response. *Vaccine*. 1992; 10(7) 461-8.
3. Abraham F., Robinson A. Oral Immunization with bacterial polysaccharide and adjuvant enhances antigen-specific pulmonary secretory antibody response and resistance to pneumonia. *Vaccine* 1991; 9(10):757-64.
4. Abraham F., Shah Sangita. Intranasal immunization with liposomes containing TL-2 enhances bacterial polysaccharide antigen-specific pulmonary secretory antibody response. *Journal of Immunology*. 1992; 149 (11): 3719 - 26.
5. Abraham R. y Ogra P.L. Mucosal microenvironment and mucosal response. *Am. J. Tropical Medicine and Hygiene*. 1994; 50(5) Suppl. 3-9.
6. Agarwal AK. Shah A. Menstrual-linked asthma. *Journal of Asthma*. 1997; 34(0):539-45.
7. Aggarwal AN, Gupta D, et 'al, Diurnal variation in peak expiratory flow in healthy yaoung adults. *Indian J Chest Dis Allied Sci*. 2000 Jan-Mar;42(1):15-9.
8. Akbar-Khanzadeh F, Mlynek JS. Changes in respiratory function after one and three hours of exposure to formaldehyde in non-smoking subjects. *Occup Environ Med*. 1997 May;54(5):296-300.

9. Albanese C.T., Smith S.D. Watkins S., Kurkchubasche A. Effect of secretory IgA on transepithelial passage of bacteria across the intact ileum in vitro. *Journal of the American College of Surgeons*. 1994; 179(6): 679 - 88.
10. Alois Ralph. *Principles of Immunology and Immunodiagnosis*. Lea Febiger. Philadelphia. 1988.
11. American Thoracic Society. Medical Section of the American Lung Association. Future Directions for Research on diseases of the Lung. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 1713.
12. American Thoracic Society. Medical Section of the American Lung Association. ATS Statement: Snowbird Workshop on Standardization of Spirometry. *Am Rev Respir Dis* 1979; 119: 831.
13. Andersen Ib. The Ambient Air. En: Brain D.J., Proctor D.F. y Lynne M. Reid. (Editores). *Respiratory Defense Mechanisms*. Marcel Dekker, Inc. New York. 1977; (pp 25 -56).
14. Anthonisen N.R. Tests Of Mechanical Function. In: *Handbook of Physiology. The respiratory system. V. III. Mechanics of breathing*. De.: Fishman Alfred P., P.T. Macklem and Jere Mead. Washington D.C. 1986 Sec 3- vol. III., Chapt.44: 753 -784.
15. Anthonisen RN. Test of Mechanical function. In: Fishman A, Ed. *The Respiratory System. III:-2 Mechanics of Respiration*. Bethesda Maryland. American Physiological Society 1983:753.
16. Área Educación y Salud. Boletín del Taller de Información Periodística en Salud. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. No. 93 Enero/93 a No. 106 Marzo/94.
17. Arkins JA, Glasser RM, Trettel JR.. The maximal expiratory flow rate of normal individuals. *Dis Chest* 1960; 37: 496-498
18. Aufricht C., Tenner W., Salzer H.R., Khoss A.E. Wurst F., Herkner K. Salivary IgA concentration is influenced by the saliva collection method. *European Journal of Clinical Chemistry & Clinical Biochemistry*. 1992; 30(2): 81-3.

19. Baldwin, E-F., Cournand A. y Richards D.W. Pulmonary Insufficiency .1. Physiological Classification, clinical methods of analysis, standard values in normal subjects. *Medicine* 1948; 27: 243.
20. Balfour-Lynn T.M., Valman R., Silvernab M., Webster A.D. Nasal IgA response in wheezy infants. *Archives of Disease in Childhood* 68(4):472-6,
21. Bang G. Betsy y Frederik B . Mucous Membrane injury and repair. En : Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms*. Marcel Dekker, Inc. New York. 1993 Apr ;(pp 453- 481) 1977.
22. Bang G. Betsy y Frederik B. Bang. Nasal Mucociliary Systems. En: Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York.(pp 405- 423) 1977.
23. Baraniuk N.J., Kimihiro Ohkubo, O.J. Kwon. Judith Mak et al. Identification of neutral endopentidase mRNA in human nasal mucosa. *J. Appl.Physiol.* 1993; 74(1): 272-279.
24. Bass H. The Flow Volume Loop: Normal Standards and Abnormalities in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. *Chest* 1973; 63: 171.
25. Ben.Ahmeida ETS., C.W. Potter, G. Gregoriadis, C. Adithan y R. Jennings . IgG subclass response and protection against challenge following immunization of mice with various influenza A vaccines. *J. Med. Microbiol.* 1994; 40 (261-269).
26. Béné M.C., G. Faure y Wayoff. Specific Antibacterial Antibody-Producing Cells in Human Nasal Mucosa. En: Mestecky Jiri, McGhee J.R., Bienenstock y Pearay L. Oga De. *Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Cellular Interactions*.Advances in Experimental Medicine and Biology. 1987; Vol. 216 A.(369-373).
27. Benjamini Eli y Sidney Leskowitz. *Immunology: a short Course*. 2th Ed. Wiley - Liss New York. 1993 ; (pp 1- 459)
28. Bernstein M. Joel, Yamanaka N. y Nadal D. Immunobiology of the Tonsils and Adenoids. En: Ogra P.L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober

- W. McGhee J.R. Bienenstock Editores . Handbook of Mucosal Immunology. Academic Press Inc. California. 1994; (pp. 625- 640).
29. Bienenstock John. Bronchus Associated Lymphoid Tissue. En: Bienenstock John (Editor) . Immunology of the Lung and Upper Respiratory Tract. Mc. Graw - Hill Book Co. New York. 1984; (pp 28'-95).
 30. Black, L.F., K. Ogford, and R.E. Hyatt. Variability in the maximal flow - volume curves in asymptomatic smokers and non smokers. Am.Rev.Respir.Dis. 1974;110: 282 - 292.
 31. Bland P.W. Antigen presentation bt Gut epithelial Cells: Secretion by Rat enterocytes of a factor with IL-1-like activity. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Cellular Interactions. Plenum Press. New York. 1986 ; (pp 219- 303).
 32. Boezen HM, Schouten JP, Postma DS, Rijcken B.Distribution of peak expiratory flow variability by age, gender and smoking habits in a random population sample aged 20-70 yrs.Eur Respir J. 1994 Oct;7(10):1814-20.
 33. Boots F., Reuter G., Giebel W., Galic M. Mucociliary activity of free transplanted respiratory epithelium. HNO 1992. Aug ; 40(8): 300-5.
 34. Bowersock T.I., Walker R.D., Samuels M.L. Moore R.N. Pulmonary immunity in calves following stimulation of the gut-associated lymphatic tissue by bacterial exotoxin Can,J.Ver.res 1992; 1992 56:142-147.
 35. Brain D. Joseph, J.J. Godleski, Sergei P. Sorokin. Quantification, origin and fate of Pulmonary Macrophages. En : Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. Respiratory Defense Mechanisms . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977; (pp 849- 892).
 36. Brand PL, Gooijer A, Postma SD. Changes in peak expiratory flow in healthy subjects and in patients with obstructive lung disease. Eur Respir J 1997; 10: 69s.

37. Brandtzaeg P. Humoral immune response patterns of human mucosae and relation to bacterial respiratory infections. *Journal of Infectious Diseases*. 1992; 165(suppl) 1:167 '76.
38. Brandtzaeg Per. Immune Functions of human Nasal Mucosa and Tonsils in Health and Disease. En: Bienenstock John (Editor) . *Immunology of the Lung and Upper Respiratory Tract*. Mc. Graw - Hill Book Co. New York. 1984; (pp 28'- 95).
39. Brandtzaeg, P. human Secretory Immunoglobulins. Salivary secretions from individuals with normal or slow levels of serum immunoglobulins. *Scand J Haematol*. 1970; (suppl) 12 , I.
40. Britton J. Measurement of peak flow variability in community populations: methodology. *Eur Respir J* 1997; 10: 42s.
41. Brown KL, Miller A, Pilipski M, Lau S. Forced Midexpiratory Time: Reference Values and the Effect of Cigarette Smoking. *Lung* 1995; 173: 35.
42. Brown LK. Miller A. Pilipski M. Lau TS. Forced midexpiratory time: reference values and the effect of cigarette smoking. *Lung*. 173(1):35-46, 1995
43. Bruce, E.N. and A.C. Carlson . Smoothing MEFV curves by digital filtering of flow as a function of volume. *J. Appl. Physiol: Respirat. Environ. Exercise Physiol*. 1980; 48:202 - 206.
44. Bruce, Temporal variations in the pattern of breathing. *J Appl Physiol*. 1996 Apr;80(4):1079-87. Review.
45. Bubis JM, Sigurdson M, Mc Carthy SD, et al. Differences between slow and fast vital capacity in patients with obstructive disease. *Chest* 1980; 77: 626.
46. Burge PS, Sherwood P. The relationship between peak expiratory flow and respiratory symptoms. *Eur Respir J* 1997; 10: 67s.
47. Burgio, G.R. Lanzavecchia Ontogeny of secretory immunity: Levels of secretory IgA and natural antibody in saliva. *Pediatr res* . 1980;14, 1111.

58. Clement J, Woestijne KP. Variability of Maximum Expiratory Flow Volume Curves and Effort Independency. *J Appl Physiol* 1971; 31: 55-62.
59. Comisión Nacional de Ecología. Informe de la Situación General en Materia de Equilibrio Ecológico y Protección al Ambiente. Editores: Chirinos C. P. y S. Reyes Luján. 1991; pp. 69 - 81.
60. Comisión Nacional de Ecología. Informe de la situación general en materia de: Equilibrio Ecológico y Protección Ambiental. Impresión: Libros a la Medida, México. 1992 (pp 1-260).
61. Connolly CK, Chan NS. Relationship between different measurements of respiratory function in asthma. *Respiration* 1987; 52:22.
62. Contran, Ramsi S., Kumar, Vinay y Robbins Stanley L. Patología estructural y funcional. 4a Ed. Interamericana. Madrid. 1990 (pp 39 - 86)
63. Cook RN, Hebert RP, Satterfield S, et al. Height, Lung Function, and Mortality from Cardiovascular Disease among the Elderly. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 1066.
64. Cooper, J. Allen D., William W. Merrill J.A. Rankin, Ives Sibille y Marion G. Buck. Bronchoalveolar cell activation after inhalation of a bronchoconstricting agent. *J. Appl. Physiol* 64(4): 1615 - 1623. 1988
65. Cortesina G., Carlevato M.T., Bussi M., Baldi C., Majore L., Rufino C. Mucosal Immunity in allergic rhinitis. *Acta Oto-laryngologica*. 1993 May ;113 (3): 397-9.
66. Cortez F.A.A., Navarro O.F. Montaña, M.E. Robledo F.D. Pruebas de función respiratoria en individuos sanos expuestos a la contaminación atmosférica de la Ciudad de México. *Memorias del XXV Congreso Internacional de la Sociedad Mexicana de Neumología*.
67. Cotes J.E. Exercise Testing. En: Hans Weill Editor: *Occupational Lung Diseases. Research approaches and methods*. Mercei Dekker Inc. New York 1981. (pp 99-123).
68. Crabtree J.E. y R.A. Wilson. Pulmonary Cellular Reactions to *Schistosoma Mansoni*, *Schistosomula* in normal and vaccinated Mice. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary.

- Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Cellular Interactions. Plenum Press. New York. 1986; (pp 701- 707).
69. Crapo OR, Morris HA, Gardner MR. Reference Spirometric Values Using Techniques and Equipment that Meet ATS Recommendations. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123: 659-664
 70. Cravioto A., Tello A., Villafan H., Ruiz J., del Vedovo S. Neeser J.R Inhibition of localized adhesion on enteropathogenic *Escherichia coli* to Hep-2 cells by immunoglobulin and oligosaccharide fraction of human calostrum and breast milk. *Journal of Infectious Diseases*. 163(6): 1247-55.
 71. Cullina M.T., Greally J.F. A novel lectin - based enzyme-linked immunoabsorbent assay for the measurement of IgA1 in serum and secretory IgA1 in secretions. *Clinica Chimica Acta* 1993. Jul; 216(1-2): 23-38.
 72. Cunningham R, Dockery WD, Speizer EF. Maternal Smoking during Pregnancy as a Predictor of Lung Function in Children. *Am J Epidemiol* 1994; 139: 1139.
 73. Cvetni'c V., Kucisec-Tepes, Nastja, Seper Ivanka y Sips Durdica: Bacteriological nasal flora in newborns indicating health and/or development of infection. *International J. Pediat. Otorhinolaryngology*:22 (1991):151-160.
 74. Czinn S.J., J. Robinsony M.E. Lamm. Chemotaxis as a Mechanism for Recruitment of Mucosal Plasma Cell Precursors. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Cellular Interactions. Plenum Press. New York. 1987. (pp 305- 311).
 75. Chan -Yeung M, y Lam S. Evidence for mucosal Inflammation in Occupational Asthma. *J. Clin Exp Allergy* 1990.20:1-5.
 76. Cherniack, R.M. and M.B. Raber. Normal Standards for ventilatory function using an automated wedge spirometer. *Am. Rev. Respir..Dis*. 1972; 106: 38 - 46.

77. Darne M., Roni P., Gnugnoli D., Corallo A. The effect of daily hassles on salivary IgA: experimental evidence. *Bollettino- Societa Italiana Biologia Sperimentale* 1992; 68(6): 409-12.
78. Darowski M. Gottlieb-Inacio G. Ludwigs U. Hedenstierna G. Institution Assessment of respiratory system compliance by a flow recording method. *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*. 1995 May ; 39(4):462-6.
79. Davis.D.Bernard, Dulbeco R., H. Eisen, H.S. Ginsberg y W.Barry Wood. *Microbiology*. Harper and Raw. Maryland 1973.
80. Davis Martha. *Scientific Papers and Presentations*. Academic Press. 1997. New York. (1-292)
81. Davlin R,B., McDonnell WF., Mann R., Becker S., House DE. et al. Exposure of humans to ambient levels of ozone for 6.6 hours causes cellular and biochemical changes in the lung. *Am.J.Reso.Cell.Mol.Biol*. 1991,4(1):72-81.
82. Deschenes MR, Sharma JV, Brittingham KT, Casa DJ, Armstrong LE, Maresh CM. Chronobiological effects on exercise performance and selected physiological responses. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*. 1998 Feb;77(3):249-56.
83. Despas, P.J. , M. Leroux, and P.T. Macklem. Site of airway obstruction in asthma as determines by measuring maximal expiratory flow breathing air and a helium - oxygen ,mixture. *J. Clin. Invest*. 1972; 51: 3235- 2242.
84. Dickman LM, Schmidt DC, Gardner MR, et al. On-line computerized spirometry in 738 normal adults. *Am Rev Resp Dis* 1969; 100: 780.
85. Dirección General de Epidemiología. Secretaría de Salubridad y Asistencia. *Informe Semanal*. 11, 1,(1) Enero 1994.
86. Dosman, J.A., A.F.Bode, J. Urbanetti, M. Martin and P.T.Macklem. The use of oxygen - helium mixture during maximun expiratory flow to demostrare obstruction in small airays in smokers. *J.Clin.Invest*. 1975 ; 55:clin.Invest. 55: 1090 - 1099.

87. Drazen JM, Gaston B, Shore SA. Cheemical regulation of pulmonary airway tone; Review. *An.Rev.Physiol* 1995;57:70.
88. Drechsler-Parks D.M., Horvath S.M., Bedi J.F. The "Effective Dose" Concept in Older Adults Exposed To Ozone. *Exp. Gerontol.* 1990; 25: 107-115.
89. Dubois René. El hombre y su Ambiente. Organización Panamericana de la Salud. Publicación Científica No. 131. Washington. 1966; (pp 1-20).
90. Eisen H.N. Two Immunological worlds: Antibody Molecules and Lymphoid cell - Surfaces. An overview of the Mosbach Colloquium. Melchers F. y Rajewsky K. *The Immune System. 27th Colloquiun Mosbach .* Spring Berlag Berlin-New York. 1976;(282-290)
91. Ellegard E, Karlsson G. Nasal congestion during the menstrual cycle. *Clin Otolaryngol.* 1994 Oct;19(5):400-3.
92. Ellis HJ, Perera PS, Levin CD. A Computer Program for Calculation and Interpretation of Pulmonary Function Studies. *Chest* 1975; 62: 209.
93. Empey, D.W., Laitenen, L.A., Jacobs, L., Gold, W.M. y Nadel J.A. Mechanisms of bronchial hyperrectivity in normal subjects after upper respiratory tract infection. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1976; 113, (131-138)
94. Enright P.L., Johnson LR., Connett JE., VoelkermH., Builst A.S. Spirometry en the Lung Health Study.,1. Methods and quality control. *Am.Rev.Resp.Dis.* 1991.Jun; 143(6): 1215 - 23.
95. Ernst P.B., A,M, Stanisz, R. Scicchiano, F. Paraskevas D. Payan y J. Bienenstock. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. *Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions.* Plenum Press. New York. 1986 ;(pp 57 -67).
96. Fahey, Quantitative determination of serum immunoglobulin in antibody-agar plate. *J. Inmunol.*1968;94:84-90.
97. Farne M., Boni P., Gnugnoli D., Corallo A. The effecto of daily hassles on salivary IgA. *Bollettino. Societa Italiana Biologia Sperimentale.* 1992; 68 (6) 409-12.

98. Ferris B.G. y N.R. Frank. Air Polution and Disease. *Anesthesiology*. 1964; 25(4): 470 - 478.
99. Fine Jonathan M. T. Gordon, D. Sheppard. Epithelium removal alters responsiveness of guinea pig trachea to substance P. *J. Appl. Physiol*. 1989; 66 (1): 232 - 237.
100. Fishman PA. Chronic Cor Pulmonale: According to antecedent disorders. In: Fishman PA, Ed. *Pulmonary Diseases and disorders*. New York, NY: McGraw - Hill; 1980: 44
101. Fishman PA. Manifestations of Respiratory Disorders. In: Fishman PA, Ed. *Pulmonary Diseases and disorders*. New York, NY: McGraw - Hill; 1980: 44
102. Folinsbee L.J., J.F. Bedi, y S.M. Horvath. Pulmonary response to threshold levels of sulfur dioxide (1.0 ppm) and ozone (0.3 ppm). *J. Appl. Physiol*. 1985; 58(6): 1783 - 1785.
103. Forland Marvin. Infecciones de las vías Urinarias. En: Stein J.H. *Nefrología*. El Ateneo. Buenos Aires, Argentina. 1984 (pp 238- 251)
104. Forte VA Jr. Leith DE. Muza SR. Fulco CS. Cymerman A. Ventilatory capacities at sea level and high altitude. *Aviation Space & Environmental Medicine*. 1997 Jun; 68(6):488-93.
105. Fox D.L., R. Karmens, H.E. Feffries . Fotochemical Smog Systems: Effect of Dilution on Ozone Formation. *Science* 1975; 188 (4193):1113 - 1114.
106. Fox, S.P., Elueback, C.C. *Epidemiología: El hombre y la enfermedad*. La Prensa Médica Mexicana. México. 1975. (pp)
107. Framakova I.G. Kudriavtseva V.T. Kuznetsov AT., Popova AT., Sviridov VA. The assessment of a state of tension in a pilot by bloodless biochemical and immunological study methods . *Voenno-Meditsinskii Zhurnal*. 1993; 80 (11):58-60.
108. G. Ahlstedt S. T Cell-driven appearance of mononuclear Cells, mast cells and goblet Cells in the Respiratory Tract. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editors. *Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions*. Plenum Press. New York. 1986 (pp 505- 509).

109. Gannon PF, Burge PS. Serial peak expiratory flow measurement in the diagnosis of occupational asthma. *Eur Respir J Suppl.* 1997 Feb;24:57S-63S. Review.
110. Ganong William. *Fisiología Médica. De. Manual Moderno .México* . 1999; (pp. 1-580).
111. Gardner RM., Carpo DG., Nelson SB. Spirometry and Flow Volume Curves. *Clin.Chest.Med.* 1989; 10(2):145-54..
112. Garner Alec. The Immune Response En: Scadding J.G. y Cumming., *Scientific Foundations of Respiratory Medicine.* Philadelphia. W.B. Saunders. 1981 ;(pp 430 - 440)..
113. Garred P., Brygge K., Sorensen CH., Madsen H.O., Thiel S., Svejgaard A. Mannan -binding protein- levels in plasma and upper airways secretions and frequency of genotypes in children with recurrence of otitis media. *Clinical & Experimental Immunology.* 1993; 94(1): 99-104,
114. Gautier H, Peslin A, Grassino J, et al. Mechanical properties of the lungs during acclimatization to altitude. *J Appl Physiol* 1982; 52: 1407-1415
115. Giacomoni M, Bernard T, Gavarry O, Altare S, Falgairette G. Diurnal variations in ventilatory and cardiorespiratory responses to submaximal treadmill exercise in females. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol.* 1999 Nov-Dec;80(6):591-7.
116. Gibson JG, Pride BN, O'Cain C. Sex and age differences in pulmonary mechanics in normal non-smoking subjects. *J Appl Physiol* 1979; 41: 20-25
117. Gilbert AN, Rosenwasser AM. Biological rhythmicity of nasal airway patency: a re-examination of the 'nasal cycle'. *Acta Otolaryngol.* 1987 Jul-Aug;104(1-2):180-6.
118. Ginel P.T., Novales M., Lozano M.D. Molleda J.M. Lopez R. Local Secretory IgA in dogs with low systemic IgA levels .*Veterinary Record* 1993 Mar ; 132(13): 321-3.
119. Gleeson M., Dobson A.T., Firman D.W., Cripps A.W., Clancy RL., Wlodarczyk TH, Hensley MT. The variability of immunoglobulin and

- albumin in salivary secretions of children *Scandinavian Journal of Immunology* 1991.May ; 33(5):533-41.
120. Gleich G.T. Ragweed-specific IgA in nasal lavage fluids of ragweed -sensitive allergic rhinitis patients: increase during the pollen season..*International Archives of Allergy & applied Immunology*. 1991;94(1-4): 275-7.
 121. Golden JA, Nadel JA, Boushey HA. Bronchial Hyperirritability in Healthy Subjects after Exposure to Ozone. *Am Rev Resp Dis* 1978; 118:287.
 122. Goldman H.I. and M.R. Becklake. Respiratory function tests: normal values of median altitudes and the prediction of normal results. *Am. Rev.Tuberc.* 1959; 1959 79: 457 - 467.
 123. Goldstein D, Mead J. Use of Magnetometers to volumes reference flow curves. *J Appl Physiol* 1980; 48: 731.
 124. Gomez F.E., Villegas J., Rouges H. An enzyme- linked immunosorbent assay for human secretory immunoglobulin A in parotid saliva. *Revista de Investigación Clínica*. 1991. Oct. Dec ; 1991. Oct. Dec ;43(4): 351-8.
 125. Green M, Mead J, Hoppin F, et al. Analysis of the forced expiration maneuver. *Chest* 1973; 63: 335-365
 126. Green M, Mead J, Turner MJ. Variability of maximum expiratory flow-volume curves. *J Appl Physiol* 1974; 37: 67-74
 127. Groer MW., Humenich S., Hill PD. Characterizations and psychoneuroimmunologic implications of secretory immunoglobulin A and cortisol in preterm and term breast milk. *Journal of Perinatal & Neonatal Nursing*. 1994-Mar; 7(4): 42-51.
 128. Grundbacher. F. J. Variation in levels of immunoglobulin A, G and E in Human saliva. *Arch Oral. Biol* 1988; 198833,121.
 129. Guggenbichler J.P. m Krall M., Schmitzberger T., Pack I.,Schonegger J. Relationship between pseudocroup and air pollutant burden of the linhaled air and wether. *Wien.Med.Wochenschr.* 1990;140 (16):431-6.

130. Guillemi S, Wright LJ, Hogg CJ, et al. Density dependence of pulmonary resistance: correlation with small airway pathology. *Eur Respir J* 1995; 8: 789.
131. Guthrie AJ. Beadle RE. Bateman RD. White CE. The effects of three models of airway disease on tidal breathing flow-volume loops of thoroughbred horses. *Veterinary Research Communications*. 1995;19(6):517-27.
132. Guyatt RA, Alpers HJ. Factors affecting airway conductance: a study of 752 working men. *J Appl Physiol* 1968; 24: 310.
133. Guyatt RA, Siddorn AJ, Brash MH, et al. Reproducibility of dynamic compliance and flow-volume curves in normal men. *J Appl Physiol* 1975; 39: 341-348
134. Hall, C.B., Walsh e.e., Long, c.e. and Schnabel K.C. Immunity to and frequency of reinfection with respiratory syncytial virus. *J. Infect. Dis.* 1991 Apr ; 163(4): 693 -8.
135. Hall, Caroline.B., Douglas, R.G.,Jr. and Geiman J.M. Respiratory syncytial virus infection in infants: quantitation and degradation of shedding. *J. Pediatr.* 1976; 89, 11-15.
136. Hallen H, Geisler C, Haeggstrom A, Graf P. Variations in congestion of the nasal mucosa in man. *Clin Otolaryngol.* 1996 Oct;21(5):396-9.
137. Harabuchi Y., Faden H., Yamanaka N., Duffy Y. Wolf J. Human milk secretory IgA to nontypeable *Haemophilus influenzae*: possible protective effects against nasopharyngeal colonizations. *Journal of Pediatrics* 1994; 134(2) :193-8..
138. Harada N. Ruth y John E. Repine. Pulmonary Host Defense Mechanisms. *Chest* 1985; 87(2) pp: 247- 252.
139. Haworth , Concentration of A globulin in serum, saliva and nasopharyngeal secretions of infants and children. *J. Lab Clin . Med.* 1981; 198167,922 .
140. Hazucha M.J., Bates D.V., Bromberg P.A. Mechanisms of Action of Ozone on the Human Lung. *J. Appl.Physiol* 1989; 67: 1535-1541.

141. Heiner D, Douglas. Significance of Immunoglobulin G Subclasses. *A. J. Med.* 1984; 60 (3): 1-6.
142. Hernández Garduño E., Martha Munguía Castro, y J. Perez Neria. El ozono en la zona metropolitana de la ciudad de México en 1994. *Rev.Inst.Nal.Enf Resp Mex.* 1995; 8(2): 104 -111.
143. Hess M. Kuger J. Haake D., Lamprecht J. Reduced concentration of secretory IgA indicates changes of local immunity in children with adenoid hyperplasia and secretory otitis media. *Journal of Oto.Rhino-Laryngology & related Specialties* 1991;53(6): 339-41.
144. Hess, M., Haake, D., Baginski B., Hell, W. y Lamprecht J: A simple method to Determine the Bacterial Spectrum in the Nasal Cavities and in the Nasopharynx of children with adenoid Hypertrophy in an Infection free Interval.(German) *Laryngo.Rhino.Otol.* 1990;69: 554-557.
145. Higgins B. Peak expiratory flow variability in the general population. *Eur Respir J* 1997; 10: 45s.
146. Higgins I.T.T., D Arcy J.B., Gibbons D.I. y Gross K.B. Effect of Exposures to Ambient Ozone on Ventilatory Lung Function in Children. *Am. Rev. Respir.Dis.* 1990;141: 1136- 1146.
147. Higgins MW, Keller JB. Seven measures of ventilatory lung function. *Am Rev Rspir Dis* 1973; 108:258.
148. Hirncir E. Flow Resistance of Airways under Hyperbaric Conditions. *Physiol Res* 1996; 45: 153.
149. Hnizado E. y Sluis-Kremer G.K. Silica Exposure, silicosis and lung cancer: a Mortality Study of Souh African gold miners. *Br. J. Ind. Med.* 1991; 48 (1) 53 - 60.
150. Hnizado E., Baskind E., Sluis-Kremer G.K-. Combined Effect of silica dust exposure and tobacco smoking on the prevalence of respiratory impairment among gold miners. *Scand. J. Work Environ. Health.* 1990;16 (6) 411-22.
151. Horstman D.H., L.J. Polinsbee, P.J. Ives, S, Abdul-Salaam, W.F. McDonnel. Ozone concentration and pulmonary responde relationships

- for 6.6 hour exposures with five hours of moderate exercise to 0.08, 0.10, and 0.12 ppm. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1990; 142(5) 1158 - 63.
152. Hounam R.F. y Arthur Morgan. Particule Deposition. En : Brain D.J., Proctor F.Donald, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms*. Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 125 - 152).
 153. Housh T.T., Johnson G.O., Housh D.T., Evans S.L., Tharp G.D. The effect of exercise at various temperatures on salivary levels of immunoglobulin A. *International Journal of Sports Medicine* 1991;12(5): 498-500.
 154. Howard J. Barbara y Rees C.J. Host Parasite Interactions: Mechanisms of Pathogenicity. En: Howard J. Barbara, Klaas J., Weissfeld, S. Alice, Rubin J. Sally y Tilton, C.R. Ed. *Clinical and pathogenic Microbiology*. C.V. Mosby Compant Washington D.C. 1987 (pp 9-34)
 155. Howard L. Barbara., , Klaas John II., Sally Jo Rubin, Alice S. Weissfeld and R.C. Tilton. *Microbiology: clinical and Pathogenic*. Mosby. 1987 ;(PP 1-229).
 156. Hunninghake W. Gary, J.I. Gallin, A.S. Fauci. Immunologic Reactivity of the Lung. *American Review of Respiratory Disease*. 1978;117. pp 15-23.
 157. Huot A.E., Schiffeleers E., H. Kruszyna, R.Kruszyna, Smith R.P. y M.P.Hacker . Altered hemoglobin in erythrocytes exposed to nitric oxide- secreting alveolar Macrophages. En: Moncada S, Marletta M.A., Hibbas J.B. y Higgs E.A. :The biology of nitric Oxide. *Enzymology, Biochemistry and Immunology*. Portland Press. London. (159-164).
 158. Hutchinson , J. On the capacity of the Lungs, and on the respiratory functions with view of establishing a precise and easy method of detecting disease by the spirometer. *Med. Chir. Soc. Trans.* (London).29: 137-252. 1846. Reproducido en Comroe H.Julius. *Pulmonary and respiratory Physiology. Benchmark Papers in Human Physiology*. Dowden, Hutchinson & Ross,. Pennsylvania. 1974 ;(pp 179-198)

159. Hyatt RE, Black LF. The Flow-Volume Curve. *Am Rev Respir Dis* 1973;107: 191-199.
160. Hyatt RE. Forced Expiration. In: Fishman A, Ed. *The Respiratory System. III: 1 Mechanics of Respiration*. Bethesda Maryland. Am Physiol Soc 1983;295.
161. Hyatt RE. The interrelationships of pressure, flow and volume during various respiratory maneuvers in normal and emphysematous subjects. *Am Rev Respir Dis* 1961; 83: 676-683.
162. Instituto Mexicano del Seguro Social Subdirección General Médica, Jefatura de Salud Pública. *Boletín Epidemiológico Anual*. 1991.
163. Instituto Mexicano del Seguro Social. Subdirección General Médica, Jefatura de Salud Pública. *Boletín Estadístico Anual de Mortalidad*. 1990 y 1991 (Cuadros 20, hoja 3)
164. Iwasaki Y, Kubota Y, Yokomura I, Ueda M, Hashimoto S, et'al, Timing of lowest and highest peak expiratory flow in patients with asthma: influence of anti-inflammatory treatment. *Respir Med*. 2000 Apr;94(4):385-90.
165. Jacoby, D.B., J. Tamaoki, D.B. Borson y Jay Nadel. Influenza infection causes airway hyperresposiveness by decreasing enkephalinase. *J.Appl.Physiol*. 1988;64: 2653-2658.
166. Jacquot J., Hayem A., Galabert C. Functions of proteins and lipids in airway secretions *European Respiratory Journal*. 1992; 5(3): 343-58.
167. Janet A. J.H. Ware, J.D. Spengler, D.W. Dockery, y B.G. Ferris.. Short-term pulmonary function and its association with ozone levels. *A. Rev. Respir.Dis*. 1989;139 (4).
168. Janoff Aaron y Harvey Carp. Proteases and antiproteases in the Lung. En : Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms*. Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ; (pp 289 - 346)
169. Jawetz Ernest, J.L. Melnick y E.A.Adelberg. *Microbiología Médica*. El Manual Moderno S.A. de C.V. México. 1992 ;(pp. 1 - 700).

170. Jean D, Vrins A, Lavoie JP. Monthly, daily, and circadian variations of mea
171. Measurements of pulmonary mechanics in horses with chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Vet Res.* 1999 Nov;60(11):1341-6.
172. Johanson WG, Pierce AK, Sanford JP. Pulmonary function in Uncomplicated Influenza. *Am Rev Respir Dis* 1969; 100: 141.
173. Johonspn J. Kent, W.R. Chapman y Peter A Ward. Immunopathology of the lung. *Am. Journal of Pathology.* 1979; 95(3) pp 795 - 839.
174. Jonson J.L. Classification. En. Howard J. Barbara, Klaas J., Weissfeld, S. Alice, Rubin J. Sally y Tilton, C.R. Ed. *Clinical and pathogenic Microbiology.* C.V. Mosby Company Washington D.C. 1987 (pp 3-7)
175. Kaltreider H. Benfer, Local Immunity. En: Bienenstock John (Editor) . *Immunology of the Lung and Upper Respiratory Tract.* Mc. Graw - Hill Book Co. New York. 1984 ;(pp 191 -215).
176. Kanesaki T., Murphy B.R., Collins P.L., Ogra P.L. Effectiveness of enteric immunization in the development of secretory immunoglobulin A response and the outcome of infection with respiratory syncytial virus. *Journal of Virology* 1991; 65(2):657-63..
177. Kao, R.C., Wehner N.G., Skubitz KM., Gray BH., Hoidal JR. Proteinase 3: a distinct human polymorphonuclear leukocyte proteinase that produces emphysema in hamsters. *J.Clin.Invest.* 1988; 198882: 1963-1973.
178. Kaul T.N., Welliver C. R., Wong, D.T. ...and Ogra, P.L. Secretory antibody response to respiratory syncytial virus infection. *Am.J.Dis.Child.* 1981;135, 1013-1016.
179. Keitel W.A., Couch R.R., Cate T.R., Hess K.R. Baxter B. et all. Highj doses of purified influenza A virus hemagglutinin significantly augment serum and nasal secretion antibody responses in healthy young adults. *Journal of Clinical Microbiology* 32(10) 2468 -73. 1994

180. Kifuji K. McCullough J. Ownby D.R..Relationship between dust mite allergen and human IgA in house dust samples. *Annals of Allergy*. 1993 Mar ;70(3):219-24.
181. Kim S. Ch., G.A. Lewis y M.A. Saackner. Measurement of total lung aerosol deposition as an index of lung anormalitu. *J. Appl.Physiol*. 1988; 64 (4): 1527 -1536.
182. Kimball W. John. *Introduction to Immunology*. 3th De. Macmillan Publishing Co. New York 1990 ;(1- 523).
183. Kleeberger S.R., Bassett D.J.P., Jakab G.L. y Levitt R.C.: A Genetic Model for Evaluation of Susceptibility to Ozone-Induced Inflammation. *Am.J.Physiol* 1990; 258: I313-I320.
184. Knight LC, Eccles R, Reilly M. Cyclical changes in nasal airway resistance and middle ear pressures. *Acta Otolaryngol*. 1991;111(4):769-75.
185. Knutson RJ, Slatin RC, Lebowitz MD, Burrows B. Normal Standards, Variability, and Effects of Age. *Am Rev Respir Dis* 1976; 3: 587-600.
186. Koenig J.Q., Covert D.S., Hanley Q.S., Van Belle G., y Pierson W.E. Prior Exposure to Ozone Potentiates Subsequent Response to Sulfur Dioxide in Adolescent Asthmatic Subjects. *Am.Rev.Respir.Dis*. 1990;141: 377- 380.
187. Kondo S, Ito M. Reevaluation of the relationship between within-day bronchial variability and bronchial responsiveness in asthmatic children. *Chronobiol Int*. 1997 Jan;14(1):61-9.
188. Kory R.C. Callahan R. y Boren H.G.: The veterans administration army cooperative study of pulmonary function. I. Clinical spirometry in normal men. *Am. J.Med*. 1961;30 (2): 243-258..
189. Krauchi K, Wirz-Justice A.Circadian rhythm of heat production, heart rate, and skin and core temperature under unmasking conditions in men. *Am J Physiol*. 1994 Sep;267(3 Pt 2):R819-29.
190. Krinzman SJ. De Sanctis GT. Cernadas M. Mark D. Wang Y. Listman J. Kobzik L. Donovan C. Nassr K. Katona I. Christiani DC. Perkins DL. Finn PW. Inhibition of T cell costimulation abrogates airway

- hyperresponsiveness in a murine model. *Journal of Clinical Investigation*. 1996 Dec 15; 98(12):2693-9.
191. Kugler T., Hess M., Haake D. What accounts for the interindividual variability of IgA concentration in saliva? *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1993 Sep ;694: 296-8.
 192. Kurono,Y., Shimada,K. and Mogi,G. . Inhibition of nasopharyngeal colonization with *Hemophilus influenzae*. *Laryngol*. 1991;101(Suppl. 157) 11-15.
 193. Kurono,Y., Shimamura,K.,Shigemi H. and Mogi,G. . Inhibition of bacterial adherence by nasopharyngeal secretions. *Ann.Otol.Rhinol.Laryngol*. 1991;100, 455- 458.
 194. Laitenen, L.A. and Kava, T. Bronchial reactivity following uncomplicated influenza A infection in healthy subjects and in asthmatic Patients. *Eur. J. Resp. Dis*. 61, 51-58. 1980
 195. Langman E. Rodney. *The Immune System* Academic Press Inc. 1989 (1- 209)
 196. Le Souef NP. Paediatric prediction equations for PEF (growth, ageing, gender, race and health). *Eur Respir J* 1997; 10: 75s.
 197. Lebowitz MD, Kaltenborn WS, Burrows B. Peak expiratory flow from maximum expiratory flow volume curves in a community population: cross-sectional and longitudinal analyses. *Eur Respir J* 1997; 10: 29s.
 198. Lebowitz MD, Krzyzanowski M, Quackenboss JJ, O'Rourke MK. Diurnal variation of PEF and its use in epidemiological studies. *Eur Respir J Suppl*. 1997 Feb;24:49S-56S.
 199. Lebowitz MD, Quanjer PH. ERS statement on peak expiratory flow: introduction. *Eur Respir J* 1997; 24: 1s.
 200. Leith E. David. Cough. En : Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 545 - 585).
 201. Lemanske, R.F.Jr., E.C.Dick, C:A: Swenson, R.F. Vrtis y W.W. Busse. Rhinovirus upper respiratory infection increases airway hyper reactivity and late asthmatic reactions. *J. Clin.Ivest*. 1989; 83:1 - 10.

202. Lewis, D.W. Quantitation of secretory immunoglobulin A in chronic pulmonary disease. *Am, Rev, Respir. Dis.* 1970;101,55,.
203. Li Y. The relationship between SIgA and chronic granular pharyngitis. *Journal of Laryngology & otology* 1993.Jun ;107(6): 532-4.
204. Libby MD, Briscoe BW, King KT. Relief of hipoxia related bronchoconstriction by breathing 30% oxygen. *Am Rev Respir Dis* 1981; 123: 171.
205. Linoli Oddardo, Marconi Silvana y Garaffa Mariantonieta. Ecologia Batterica Quantitativa della Mucosa Nasale Normale. *Ann.Sclavo.* 23(2): 151-161. 1981.
206. Lisboa C, Roos DW, Jardim J, Macklem TP. Pulmonary pressure-flow curves |measured by a data-averaging circuit. *J Appl Physiol* 1979; 47: 621-627.
207. Lisboa C, Wood HD, Jardim J, et al. Relation between flow, curvilinearity and density dependence of pulmonary pressure-flow curves. *J Appl Physiol* 1980; 48: 878-885.
208. Little, J.W., Hall W.J., Douglas, R.G. et all. Airway hiperreactivity and perifereal airway dysfunction in influenza A infection. *Am. Rev. Resp. Dis.* 1978; 1978118, 295-303.
209. López Vidriero Maria Teresa, Indrajit Das y Lynne M. Reid. Airwat Secretion : Source, Biochemical and Rheological Properties. En : Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms . Marcel Dekker, Inc. New York.* 1977 ;(pp 289 - 346).
210. Lutsko MT. Tseluiko ss, Savenko T.A. Type II alveolocyte a subsidiary cell of the pulmonary immune response . *Arkhiv Anatomii, Gistologii y Embriologii.* 1991; 100 (7-8) 62-7.
211. Lynch, S.S. Mellor L., Métodos de Laboratorio. 2a Ed. Interamericana. México. 1985.
212. Mackay TW, Hulks G, Douglas NJ. Non-adrenergic, non-cholinergic function in the human airway. *Respir Med.* 1998 Mar;92(3):461-6.
213. Mackinnon L.T., T.W. Chick, A. van As y T.B. Tomasi. The effect of excercise on Secretory and Natural immunity. En: Mestecky J.,

- McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions. Plenum Press. New York. 1986 ;(pp 869- 876).
214. Macklem PT. The Physiology of Small Airways. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: s181.
 215. Mansell LA, Bryan CA, Levison H. Relationship of lung recoil to lung volume and maximum expiratory in normal children. J Appl Physiol 1977; 42: 817-823.
 216. Mansell, A.L., A. Powles and J. Sutton. Change in pulmonary PV characteristic of human subjects at an altitude of 5,366 m. J. Appl.Physiol.: Respirat. Environ. Excercise Physiol. 1980;47: 79 – 83.
 217. Marcotte H., Lavoine M.C. Evaluation of mouse salivary IgA directed against indigenous oral bacteria. Journal of Immunoassay. 1993. Mar-Jun;15(1-2):63-81.
 218. Martin RJ.Location of airway inflammation in asthma and the relationship to circadian change in lung function. Chronobiol Int. 1999 Sep;16(5):623-30. Review.
 219. Martinez JM, Papp LA, Coplan JD, Anderson DE, Mueller CM, Klein DF, Gorman JM. Ambulatory monitoring of respiration in anxiety. Anxiety. 1996;2(6):296-302.
 220. Mason R.J. Metabolism of Alveolar Macrophages. En : Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. Respiratory Defense Mechanisms . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 893 - 926)
 221. Mathur A. B. Van Ness y R.G. Lynch. Fc- Specific Suppresor T Cells. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions. Plenum Press. New York. 1987 ;(pp 69 - 73).
 222. Mayer I.The role of epithelial cells as accessory Cells. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions. Plenum Press. New York. 1987 ;(pp 209 -21 7).

223. Mc Donald, D.M. Respiratory tract infections increase susceptibility to neurogenic inflammation in the rat trachea. *A. Rev.Resp.Dis.* 1988;137: 1432-1440.
224. Mc Donnal W.F. H.R. Kehrl, S, Abdul-Salaam, P.J. Ives, L.J. Polinsbee, P.J. Ives, Respiratory response of human exposed to low levels of ozone for 6.6 hours, *Arch.Environ.* 1991;46(3) 145-50.
225. Mc Dowell S.I., Huges R.L., Housh T.Y., Johnson G.O. The effect of exercise training on salivary immunoglobulin A and cortisol response to maximal exercise. *International Journal of Sports Medicine.* 1992.nov ;13(8): 577-8.
226. Mc Dowell S.I., Chaloa K. Housh TT., Tharp G.D. , Johnson G.O. The effect of exercise intensity and duration on salivary immunoglobulin A. *European Journal of Applied Physiology & Occupational Physiology.* 1991;63(2): 108-11.
227. Mc Naughton PJ. Portable peak flow meters. *Eur Respir J* 1997; 9: 26s.
228. McIntosh, K., McQuillin J. and Gardner, P.S. Cell-free and cell-bound antibody in nasal secretions from infants with respiratory syncytial virus infection. *Infect.Immun.* 1979;23, 276-281.
229. McSharry C y P.C. Wilkinson. Serun IgG and IgE aigainst Aerosolised Antigens from Nephrops.Norvegicu among seafood process workers. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. *Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions.* Plenum Press. New York. 1987 ;(pp 209 -21 7).
230. Mead J. Analysis of the configuration of maximum expiratory flow-volume curves. *J Appl Physiol* 1978; 44: 156-165.
231. Mead J, Turner MJ, Macklem TP, et al. Significance of the relationship between lung recoil and maximum expiratory flow. *J Appl Physiol* 1967; 22: 95-108.
232. Mead, J. Dysanapsis in normal lungs assessed by the relationship between maximum flow, stastic recoil and vital capacity. *Am. Rev. Respir. Dis.* 1980; 121: 339 – 342.

233. Meguro T. y Ogata M. Maximal expiratory flow - volume types in young subjects with past history of nasal allergy and bronchial asthma. *Acta Médica Okayama*. 1991;45(1):29 - 35.
234. Meitin A. Caroline, Bradley S. Bender y Parker A. Small Jr. Enteric immunization of mice against influenza with recombinant vaccinia, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1994;91: 11187- 11191.
235. Melissant CF. Lammers JW. Demedts M. Rigid external resistances cause effort dependent maximal expiratory and inspiratory flows. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*. 1995 Nov ;152(5 Pt 1):1709-12.
236. Méndez Ramírez Ignacio., Delia Namihira Guerrero, Laura Moreno Altamirano y Cristina Sosa de Martinez. El protocolo de la investigación Científica. Lineamientos para su elaboración y análisis. Trillas. México.1993 (pp 1-208)
237. Mensing T, Marek W, Baur X. Modulation of Airway Responsiveness to Acetylcholine by Nitric Oxide in a Rabbit Model. *Lung* 1997; 175: 367.
238. Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. *Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions*. Plenum Press. New York. 1987; (pp 209 -21 7).
239. Metzger FL, Altose DM, Fishman PA. Evaluation of Pulmonary Performance. In:Fishman PA, Ed. *Pulmonary Diseases and disorders*. New York, NY: McGraw - Hill;1980: 44.
240. Miller MR, Pedersen OF. The Peak Flow Working Group: the characteristics and calibration of devices for recording peak expiratory flow. *Eur Respir J* 1997;10: 17s.
241. Mirmiran M, Kok JH, de Kleine MJ, Koppe JG, Overdijk J, Witting W. Circadian rhythms in preterm infants: a preliminary study. *Early Hum Dev*. 1990 Aug;23(2):139-46.
242. Morgan S. Michael y Robert Frank. Uptake of Pollutant Gases by the Respiratory System. En : Brain D.J., Proctor F.Donald, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977;(pp 157- 186).

243. Morris JF, Kosky A, Johnson LC. Spirometric Standards for Healthy Nonsmoking Adults. Am Rev Resp Dis 1971; 103: 57-67.
244. Morrow P.E. Clearance kinetics of inhaled Particules. En : Brain D.J., Proctor F.Donald, y Lynne M. Reid. Respiratory Defense Mechanisms . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 491 - 535).
245. Mouton, R.P., Stoop, J.W., Ballieux.R.E. and Mul, N.A. Pneumococcal antibodies in IgA serum and external secretions. Clin.Exp.Immunol. 1970;7, 201-210.
246. Mulks M.H., S.J. Kornfeld, A.G. Plaut. Specific Proteolysis of Human IgA by *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*. The Journal of Infectious Diseases. 1980;141(4) pp. 450-455.
247. Nadel A.Jay, J.H. Widdicombe y A.C. Peatfield. Regulation of airways secretions, ion transport and water movement. En Op. Cit. Ref. 59. 1986 (pp 419-446).
248. Nathar S.P., M.D. Leboitz and R.J. Knudson. Spirometric testing: number of tests required and selection of data .Chest 1979; 76: 384 - 388.
249. Navey, H.S., Bermstein I.L., Mihalas L.S., Terr, A.L. y Yunginger, J.W. Guidelines for the Clinical Evaluation of Ocupational Asthma Due to High Molecular Weight (HMW) allergens: Report of the Subcommittee on the Clinical Evaluation of Occupational Asthma Due to HME Allergens. J. Allergy Clin Immunol 1989;84: 829-833.
250. Newhouse TM, Becklake MR, Macklem TP, et al. Effect of alterations of end tidal CO2 tension on flow resistance. J Appl Phisiol 1974; 19: 745-749.
251. Nicklaus MT, Burgin WW, Taylor RJ. Spirometric tests to diagnose suspected asthma. Am Rev Resp Dis 1969; 100: 153.
252. Nielsen T.M. and O.F. Pendersen. The effect of oxygen on perifereal airways. Acta Physio.Scand 1977; 99: 267 – 260.
253. Ogra Pearay L. Strober W., Mestecky J., Mc Ghee J., Lamm M. y Bienenstock J. Handbook of Mucosal Immunology. Academic Press, Inc. New York. 1994 (pp 1-766)

254. Organización Panamericana de la Salud. Oficina Sanitaria Panamericana. Organización Mundial de la Salud. Curso sobre gerencia y planificación de programas de CED. Introducción. Folleto 2 (pp 6-19) Washington D.C. 1981.
255. Ortiz Librado. Inmunología, Interamericana México 1987.(pp 180 - 238)
256. Packe GE, Freeman W, Cayton RM. Rates of change in peak expiratory flow and in diurnal variation in peak flow in patients recovering from acute severe asthma. Clin Sci (Colch). 1994 Jan;86(1):59-65.
257. Paggiaro LP, Moscato G, Giannini D, et al. Relationship between peak expiratory flow (PEF) and FEV1. Eur Respir J 1997; 10: 39s.
258. Paoletti P, Paggiaro LP, Lebowitz DM. Environmental factors in PEF variability. Eur Respir J 1997; 10: 64s.
259. Parkes W. Raymond. Occupational Lung Disorders. 2th De. Butterworths. London. 1983 ;(pp 1 -511)
260. Passali D, Bellussi L, Lauriello M. [Cyclic activity of the nasal mucosa: relationship between muco-ciliary transport and local production of secretory immunoglobulin]. Acta Otorhinolaryngol Ital. 1990 Mar-Apr;10(2):161-71.
261. Patel,J., Faden,H., Sharma Sanjay y P.L. Ogra. Effect of respiratory syncytial virus on adherence, colonization and immuunity of non - typable Haemoiphilus influenzae: implications.
262. Paz C. Some Consequences of Ozone Exposure on Health. Arch Med Res 1997; 28: 163.
263. Pedersen FO, Miller RM. The Peak Flow Working Group: test of portable peak flow meters by explosive decompression. Eur Respir J 1997; 10: 23s.
264. Pedersen FO, Miller RM. The Peak Flow Working Group: the characteristics and calibration of devices for recording peak expiratory flow. Eur Respir J 1997; 10: 17s.
265. Pedersen FO, Miller RM. The Peak Flow Working Group: the definition of peak expiratory flow. Eur Respir J 1997; 10: 9s.

266. Pedersen FO. The Peak Flow Working Group: physiological determinants of peak expiratory flow. *Eur Resp J* 1997; 10: 11s.
267. Pedersen SS., Moller H., Espersen F., Sorensen CH., Jensen T., Hoiby . Mucosal Immunity to *Pseudomonas aeruginosa* alectinate in cystic fibrosis. *APMTS*, 1992;100(4) :326-34.
268. Phillips-Quagliata J.M. y A.A. Maghazachi. T cell clone help IgA Responses. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. *Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions*. Plenum Press. New York. 1987 ;(pp 101-117).
269. Playfair J. *Infection and Immunity*. Oxford Univeersity Press. Northon Avon. 1995 ;(pp 1 - 154).
270. Popovic RM. White DP. Upper airway muscle activity in normal women: influence of hormonal. *Journal of Applied Physiology*. 1998 Mar 84(3):1055-62.
271. Pride N.B., S.Prermutt, R.L., and B. Bromberger-Barnea . Determinants of the maximun expiratory flow from the lungs. *J. Appl. Physiol*. 1967; 23: 643 - 642.
272. Proctor F Donald y David L. Swift- Temperature and Water Vapor Adjustment. En : Brain D.J., Proctor F.Donald, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 95 -125).
273. Proctor Donald. Form and function of the upper airways and larynx. *Op.Cit. Ref. 1*. 1986 (pp 63-74).
274. Proctor F. Donald y David L. Swift. Access of Air to the Respiratory Tract. En : Brain D.J., Proctor F.Donal, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York 1977 ;(pp 63 - 91)
275. Proctor F. Donald, Ib Andersen y Gunnar Lundqvist. Nasal Mucociliary Function in Humans. En : Brain D.J., Proctor F.Donald, y Lynne M. Reid. *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 427 - 449).

276. Qiao Y.L., Taylor P.R., Yao S.X., Schatzkin A., Mao,a.l. et All.
Relation of rando Exposure and Tobacco Use to lung cancer Among Tin
Miners in Yunnan province, China. *Acad.Ind.Med.* 1989;16: 511-521.
277. Quanjer PH, Lebowitz MD, Gregg I, Miller MR, Pedersen OF.
Peak expiratory flow: conclusions and recommendations of a Working
Party of the European Respiratory Society. *Eur Respir J* 1997; 10: 2s.
278. Racineux JL, Peslin R, Hannhart B. Sensitivity of forced
expiration indices to induced changes in peripheral airway resistance.
Unite de Recherché de Physiopathologie Respiratoire, U14 Institute
National de la Santé et de la Recherché, 54500 Vandœuvre-les- Nancy,
France 1982; 1407.
279. Racineux,J.L.,, R. Ppeslin and B. Hannhart. Sensitivity of forced
expirato indices to induced changes in perifereal airway resistance. *J.*
Appl.Physiol.: Respirat. Environ. Excercise Physiol. 1981; 50: 15 - 20.
280. Ramsay A.T., Kohonen -Corish M. Interleukin -5 expressed by a
recombinant virus vector enhances specific mucosal IgA response in
vivo. *European Journal of Immunology* 1989;23) 12):3141-5.
281. Ramsdale EH, Morris MM, Roberts RS, Hargreave FE.
Asymptomatic bronchial hyperresponsiveness in rhinitis. *J Allergy Clin*
Immunol. 1985 May;75(5):573-7.
282. Randell JT, Salonen RO, Pekkarinen H, Tukiainen H. Short-term
variations in oscillatory and spirometric lung function parameters of
non-asthmaticadults. *Clin Physiol.* 1999 Jul;19(4):329-37.
283. Raschke F. [Chronobiological viewpoints of respiratory
regulation]. [Review] [16refs] [German]. *Wiener Medizinische*
Wochenschrift. 1995;145(17-18):435-9.
284. Raymond Parkes W. Occupational lung disorders. 2th edition.
Butterworths o. London. 1982. 1-511.
285. Redington A.E., Jones D.B., Holgate S.T. Mucosal Immune
Function in Asthma. En Ogra P.L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober
W. Mc Ghee J.R. Bienenstock Editores *Handbook of Mucosal*
Immunology. Academic Press Inc. California. 1994;(pp. 539- 550) .

286. Reid M. Lynne. .Cilia and Airways Secretions. Introductory Statment. En: Brain D..J., Proctor D.F. y Lynne M. Reid. (Editores). Respiratory Defense Mechanisms . Marcel Dekker, Inc. New York.(pp 191-193) 1977.
287. Reinberg A, Motohashi Y, Bourdeleau P, Andlauer P, Levi F, Bicakova-Rocher A. Alteration of period and amplitude of circadian rhythms in shift workers. With special reference to temperature, right and left hand grip strength. Eur J Appl Physiol Occup Physiol. 1988;57(1):15-25.
288. Ren Almeida F.T., Potter C.W., Gregoriadis G. Adithan C., Jennings. IgG subclass response and protection against challenge following immunisation of mice with various influenza A vaccines. Journal of Medical Microbiology 1994;40(4):261-9.
289. Revsbech P, Andersen G. Diurnal variation in peak expiratory flow rate among grain elevator workers. Br J Ind Med. 1989 Aug;46(8):566-9.
290. Rico-Mendez F.G., Massey-Reaynaud LF, RendonRivera L., Ochoa J. LG., Mígica H. JJ, Alvarez B. L., Gómez C. FA. Cuantificación de la SIgA en Población Sana. Neumol Cir Tórax Mex 1996;55(1) 18.
291. Rich-Edwards WJ, Manson EJ, Stampfer JM, et al. Height and the Risk of Cardiovascular Disease in Women. Am J Epidemiol 1995; 142: 909.
292. Riedler J., Hofstotter H., Huttegger T., Golser A. Secretory immunoglobulin A in childhood: does the saliva values reflect the bronchial value?. Klinische Padiatrie 1993 Mar ;205(2): 92-8.
293. Rimm EB, Stampfer JM, Giovannucci E, et al. Body Size and Fat Distribution as Predictors of Coronary Heart Disease among Middle-aged and Older US Men. Am J Epidemiol 1995; 141: 1117.
294. Robinson A., Abraham F. Effects of haemorrhage on bacterial antigen specific pulmonary plasma cell funclon. Clinical & Experimental Immunology. 1992;88(1): 124-8.

295. Roger, L.J., Kehrl, H.R., Hazucha, M. y Hostsman, D.H.: Broncoconstriction in asthmatics exposed to sulfur dioxide, during repeated exercise. *J. Appl.Physiol.* 1985;58 (1): 290-299.
296. Rojas Ramos Margarita, Naoa O. H., Perez Neria J., Villarba C.J. Efecto sobre la Función Pulmonar en personas expuestas a cenizas del Volcan Popocatepetl. en Diciembre 1994-enero 1995. *Rev. Inst. Enf. Resp Mex.* 8(2) 112- 118.
297. Rosebury Theodor. *Microorganisms indigenous to man.* Mc Graw Hill. New York. 1962 (pp 1 - 435)
298. Rosenow Edward .C. y Brian T. Hurley, *Disorders of The Thymus.* *Arch,Inter Med* 1984;144 (4) 763-770.
299. Rubin J. Sally. *Specimen Collection and its Processing.* en *Op.Cit. Ref.* (pp 207- 230).
300. Sack, R.A., Tan K.O. Tan A..Diurnal tear cycle: evidence for a nocturnal inflammatory constitutive tear fluid.*Investigative Ophthalmology & Visual Science.* 1992;33(3): 626-40.
301. Salvaggio, J. C. Salivary, nasal wash and sputum IgA concentrations in atopic and non atopic individuals. *J. Allergy Clin Immunol.* 1973;51,335.
302. Sánchez España J. Determinación de los valores normales de la capacidad vital, capacidad respiratoria máxima y capacidad vital cronometrada en la ciudad de México. Tesis para obtener el título de Médico Cirujano, dirigida por Dra. Gloria Eugenia Torres. Universidad Nacional Autónoma de México. México D.F. 1964.
303. Satir Peter y Ellen Roter Dirksen. *Function, Structure correlations in cilia fron mammalian respiratory tract.* En: Fishman A.P. y Aron B. Fisher. *The Respiratory System. Circulation and non respiratory functions.* Am. Physio-logical Society. Bethesda Maryland. 1986 (pp473-494)
304. Saunders AN, Betts FM, Pengelly DL, et al. Changes in lung mechanical induced by acute isocapnic hipoxia. *J Appl Physiol* 1977; 42: 413-419.

305. Savitskaya, K.I., Vorobyev A.A. y Sinitsina G.G.: Microflora of the upper respiratory tract in young children in health and in diseases of respiratory organs Microbial count of the upper respiratory tract in healthy children and in children with pneumonia (Russian). Journal Mikrobiologii, Epidemiologii I Immunobiologii 1986; [JC:y9o] 12: 24-31,.
306. Savolainen, S., Ylikoski Jukka y Jousimies-Somer Hannele: The bacterial flora of the nasal cavity in healthy young men. Rhinology, 1986;24: 249-255.
307. Schindler C, Ackermann-Liebrich U, Leuenberger P, Monn C, Rapp R, et al.. Associations between lung function and estimated average exposure to NO₂ in eight areas of Switzerland. Epidemiol 1998; 405.
308. Schwartz D.A., Fuortes L.J., Galvin J.R., Burmeister L.E. et al. Asbestos Induced Fibrosis and Impaired Lung Function. Am. Rev. Respir. Dis: 1990;141: 321-326.
309. Schwartz J, Marcus A. Mortality and air pollution in London: a time series analysis. Am J Epidemiol 1990; 131: 185.
310. Schwartz J.: Lung Function and Chronic Exposure to Air Pollution: A Cross-Sectional Analysis of NHANES. Environ. Res. 50: 309-321. 1989.
311. Sears MR. Use of peak expiratory flow meters in adults: practical aspects. Eur Respir J 1997; 10: 72s.
312. Sears W. Francis, M.W. Zemansky y H.D. Young. Física Universitaria, 6a Ed. Addison Westley Iberoamericana. Wilmington, Delaware. 1986 (pp 134-329).
313. Secretaria de Salud. <http://www.salud.gob.mx>
314. Selby VJ, Friedman DG, Quesenberry PC. Precursors of essential hypertension: pulmonary function, heart rate, uric acid, serum cholesterol, and other serum chemistries. Am J Epidemiol 1990; 131: 1017.
315. Sestini P. L. Nencioni, L. Villa, D. Boraschi y A. Tagliabue. Antimicrobial activity against Streptococcus Pneumoniae by mouse Lung Lymphocytes. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J, y

- Ogra L. Peary. Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions. Plenum Press. New York. 1987;(pp 517-525).
316. Shimamura,K.,Shigemi H., Surono, Y. and Mogi,G. . The role of bacterial adherence in otitis media with effusion. Otolaryngol. Head Neck Surg. 1990;116, 1143-1123.
 317. Sibille Y., B. Chatelain, Oh, Satauet, Rits M. y J.V. Vaerman. Presence of FC receptors for IgA on rat macrophages but not Peritoneal Macrophages. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary. Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions. Plenum Press. New York. 1987;(pp 581-585).
 318. Simola M. Malmberg H. Sensation of nasal airflow compared with nasal airway resistance in patients with rhinitis. Clinical Otolaryngology. 1997 Jun ;22(3):260-2.
 319. Sistema Nacional de Salud. Norma Técnica número 34 para la prevención y control de las enfermedades respiratorias agudas en la atención primaria a la salud. Diario Oficial. 7 de julio de 1986.
 320. Sleigh A. Michael. The Nature and Action of the Respiratory Cilia. En: Brain D..J., Proctor D.F. y Lynne M. Reid. (Editores). Respiratory Defense Mechanisms . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977;(pp 247 - 284)
 321. Sly PD. Relationship between change in PEF and symptoms: questions to ask in pediatric clinics. Eur Respir J 1997; 10: 80s.
 322. Smith A-B., Castellan R.M., Leis D. Matte. Guideline for Epidemiologic assesment of ocupational asthma. Report of the Subcommite of the Epidemiologic assesment of ocupational asthma. Ocupational Lung disease Committee. J. Alleergy Immunol. 1989;84: 794- 805.
 323. Snobird workshop on standarization of spirometry: a statement by the American Thoracic Society. Am.Rev.Respir. Dis. 1979; 119: 831-838.

324. Sommer B, Montano LM, Chavez J, Gustin P, Vargas MH. Guinea pig lung resistance shows circadian rhythmicity not influenced by ozone. *Respir Physiol*. 1998 Sep;113(3):223-9.
325. Sonnenwirth A.C., Gibbons R. y Socransky S. Bacteria Indigenous to Man. En: Davis B.D., Dulbecco R., Eisen H.N., Ginsberg H.S., Wood W.B. y Mc Carty M. *Microbiology*. 2a Ed. Harper & Row Publishers. Hagerstown Maryland. 1973 (pp 954-963)
326. Sorell L. Schwartz y Joseph A. Bellanti. The relationship of the alveolar Macrophage to the Immunologic Responses of the Lung. En: Brain D..J., Proctor D.F. y Lynne M. Reid. (Editores). *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 247 - 284)
327. Sorensen ,C.H. Quantitative aspects of the mucosal immunity and bacteriology of the nasopharynx and middle ear cavity. Studies on children with different forms of otitis media. *Acta Pathol.Microbiol.Immunol.Scand*. 1990;98, (Suppl. 16) 1-41.
328. Sorokin P. Sergei. Phagocytes in the Lungs. Incidence, General Behavior and Phylogeny. En Brain D..J., Proctor D.F. y Lynne M. Reid. (Editores). *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp 711 - 848)
329. South, M. A. The IgA system. III IgA levels in serum and saliva of pediatric patients. *J. Pediatr* 1967; 71, (5),645,.
330. Spengler CM, Czeisler CA, Shea SA. An endogenous circadian rhythm of respiratory control in humans. *J Physiol*. 2000 Aug 1;526 Pt 3:683-94.
331. Sreeffen M.T., Ebersole H. Secretory immune response to *Mycoplasma pulmonis*. *Infection & Immunity*. 1992 Feb ;60(2): 337-44.
332. Steffen M.T., Ebersole J.I. Effects of aging on exocrine immune responses to *Mycoplasma pulmonis*. *Mechanisms of Ageing & Development* 1992.Nov ;66(2): 131-47.
333. Steffen M.T., Ebersole J.I. Secretory immune response to *Mycoplasma pulmonis*. *Infection & Immunity* 1992; 60(2) 337-44.

334. Stenfors I.F. Raisanen S. Secretory AgA- and IgA-coated bacteria in the nasopharynx of children. An immunofluorescence study. *Acta Oto-laryngologica*. 1991;111 (6) :1139-45.
335. Stenfors,L.E. and Raisanen S. Occurrence of middle ear pathogens en the nasopharynx of youns individuals - A quantitative study in four grups.. *Acta Otolaryngol. (Stockh.)* 1990;109, 142 - 148.
336. Stephenson R, Mohan RM, Duffin J, Jarsky TM.Circadian rhythms in the chemoreflex control of breathing.*Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2000 Jan;278(1):R282-6.
337. Stites P. Daniel, Stobo J.D., Fundenberg H.H, y Vivian J. Wells. *Inmunología Básica Clínica. El Manual Moderno. México*. 1985 ;(pp 1-842).
338. Straauss W. y S.J. Mainwaring. Contaminación del aire.. Causas, efectos y soluciones.Trillas. México 1990 ;(1-177).
339. Suman EO, Babcock AM, Pegelow FD, et al. Airway Obstruction During Exercise in Asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 1996; 152: 24.
340. Suman OE. Babcock MA. Pegelow DF. Jarjour NN. Reddan WG. Airway obstruction during exercise in asthma. *American Journal of Respiratory & Critical Care Medicine*. 152(1):24-31, 1995 Jul.
341. Svartengren K, Lindestad P, Svartengren M, Et al. Added External resistance Reduces Oropharyngeal Deposition and Increases Lung Deposition of Aerosol Particles in Asthmatics. *Am J Respir Crit Care Med* 1995; 152: 32.
342. Swift L. David y Donald F. Proctor. Access of Air to The Respiratory Tract. En: Brain D..J., Proctor D.F. y Lynne M. Reid. (Editores). *Respiratory Defense Mechanisms* . Marcel Dekker, Inc. New York. 1977 ;(pp. 63 -91) .
343. Tachikawa K., Okuda M., Naka F., Yago H..The sources of chemical substances in allergic nasal fluid. *Rhinology* 1991. Jun;29(2): 143-9.
344. Tagliabue A., Nencioni L., M. Romano, L. Villa, M.T. De Magistris y D. Boraschi. Antibacteriaal activity of lymphocytes armed with IgA. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary.

- Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions. Plenum Press. New York. 1987 ;(pp 511-117).
345. Takata S, Aizawa H, Inoue H, Koto H, Hara N. Ozone Exposure Suppresses Epithelium-Dependent Relaxation in Feline Airway. *Lung* 1995; 173: 47.
 346. Takishima, G., G. Grimby, W., Graham, R.Knudson, P.T. Macklem and J. Mead. Flow - Volume Curves during quiet breathing maximum voluntary ventilation, and forced vital capacities in patients with obstructive lung disease. *Scand.J.Respir.Dis.* 1967; 48:384 - 393.
 347. Tgarashi Y., Skoner D.P., Doyle W.T., White M.V. Fireman P. Analysis of Nasal secretions during experimental rhinovirus upper respiratory infections. *Journal Of Allergy & Clinical Immunology.* 1993;95(5) 722-31.
 348. Tien Y.K. E.A. Elliott, and J. Mead. Variability of the configuration of the maximum expiratory flow volume curves. *J. Appl.Physiol.: Respirat. Environ. Excercise Physiol.* 1979; 46:575: 570.
 349. Tomasi B. Thomas. An overview of the mucosal System. En: Ogra P.L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober W. Mc Ghee J.R. Bienenstock Editores. *Handbook of Mucosal Immunology.* Academic Press Inc. California. 1994;(pp. 539- 550)
 350. Torres Gloria Eugenia. Insuficiencia Respiratoria. 2a Edición. La Prensa Médica Mexicana, S:A: de C.V. México . 1991 ;(pp 1- 914).
 351. Torres GE, Emerson P. The Effects of Intermittent Positive Pressure Breathing on The Intrapulmonary Distribution of Inspired Air. *Am J Med* 1960; 6: 949.
 352. Torres GE. Tipos y Mecanismos Productores de la Insuficiencia Respiratoria. Frecuencia en la Ciudad de México. *Arch Ins Cardiol Mex* 1968;36: 200.
 353. Torres Gloria-Eugenia. Bioestrategias: Enfoque interdisciplinario de los mecanismos de agresión defensa. Universidad Autonoma Metropolitana Xochimilco. 1989 ;(pp 1- 283).

354. Torres Ramírez G.E. y Ramírez Zapata Sonia: Alteraciones de las Curvas Flujo Volumen en Jóvenes sanos de la Cd. de México. Memorias del IV Congreso de Investigación Modular. 1998
355. Torres Ramírez Gloria Eugenia. Insuficiencia respiratoria: bases fisiológicas y aplicaciones Clínicas. La Prensa Médica Mexicana. México 1991 ;(pp. 5-925)
356. Torres, Gloria Eugenia, Sainz Teresita, Rodriguez S. L.M., Gonzalez G.L.A., Gonzalez Ch. Briseida. Diseño de una técnica Cuantitativa para el estudio de la Flora Bacteriana endógena en fosas nasales. Memorias de la IV Semana de la Investigación Científica. Universidad Autónoma Metropolitana Xochimilco. Marzo. 1993.
357. Torres, Gloria Eugenia, Tapia M. Fabiola, Espinosa M.J.J., Hernandez A. J.M. y Vallarta Beatriz. Efectos de la Contaminación atmosférica en la Cd. de México: Correlación Clínico funcional estudiada con curvas flujo volumen. Memorias del XXV Congreso Nacional de la Sociedad de Neumología y Cirugía de Tórax A.C. Ixtapa-Zihuantanejo. Marzo 1993.
358. Troyer André de y Stephen L... Action of the respiratory muscles. En Op.Cit. Ref. 1. 1986 (pp 443 -462)
359. Validity of peak expiratory flow rate variability for the diagnosis of asthma. Clin Sci (Colch). 1994 May;86(5):645-6. No abstract available.
360. Van Bree L., Liroy P.J., Rombaout P.J.A., Lippman M. A More Stringent and Longer- Term Standard for Tropospheric Ozone: Emerging New Data on Health Effects and Potential Exposure. Toxicol. Appl.Pharmacol. 1990;103: 377-382.
361. Van de Graaf F.A., Out T.A., Kobesen A. Jansen H.M. Lactoferrin and secretory IgA in the bronchoalveolar lavage Fluid from patients with stable asthma. Lung. 1991;169(5): 275-83.
362. Voller, A., Bidwell D.E. y Bartlett A. The Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) A guide wirh abstracts of Microplates Applications. Dynatech Laboratories, Inc. Alexandria Virginia. 1979.

363. Ward T.T. Comparison of In Vitro Adherence of Methicillin-Sensitive and Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* to Nasal Epithelial Cells. J.Inf.Dis. 1992;166: 400-404..
364. Warheit B.David, M.A. Hartsky y Mary S. Stefaniak. Comparative physiology of rodent pulmonary macrophages: in vitro functional responses, J. Appl.Physio. 1988;64(5):1953 - 1959.
365. Waris M., Meurman O., Mufson M.A., Ruuskanen O., Halonen P. Shedding of infectious virus antigen during acute infection with respiratory syncytial virus. Journal of Medical Virology. 1992. Oct ;38(2): 111-6.
366. Watanabe, N., Kato, H. and Mogi, G. Induction of antigen-specific IgA-forming cells in the upper respiratory mucosa. Otol.Rhino.Laryngol. 1989;98, 523 - 529.
367. Watts C. Effect of dexamethasone therapy on fibronectin and albumin levels in lung secretions of infants with bronchopulmonary dysplasia. Journal of Pediatrics 1992. Oct ;121(4): 597-607.
368. Weissfeld S. Alice y Bartlett C.R. Quality Control. Op. Cit.Ref. (pp 35 - 65)
369. Welman J.J., R. Bron, R.H. Ingram, and J. Mead. Effect of volume history on successive partial expiratory volume flow maneuvers .J. Appl. Physiol. 1976; 41: 153 - 158.
370. Weltzin R. Hsu S.A., Mittler F.S., Georgakopoulos K., Monath T.P. Intranasal monoclonal immunoglobulin A against respiratory syncytial virus protects against respiratory tract infections in mice. Antimicrobial Agents & Chemotherapy 1994;38(12) 2785-91.
371. Welliver C. R. Kaul, T.N. and Ogra, P.L. The appearance of cell-bound IgE in respiratory tract epithelium after respiratory syncytial virus infection. N. Engl. J.Med. 1980;303, 1198-1202.
372. Welliver C. R. Wong, D.T., Sun, M.,...and Ogra, P.L. The development of respiratory syncytial virus - specific IgE after infection. N. Engl. J.Med. 1981;305, 841-846.
373. Welliver C. Robert. Respiratory Infections. En: Ogra P.L., Mestecky J., Lamm M.E., Strober W. Mc Ghee J.R. Bienenstock

- Editores . Handbook of Mucosal Immunology. Academic Press Inc. California. 1994;(pp. 551- 560) .
374. Widerstrom Y., Bratthall D., Hamberg K. Immunoglobulin A antibodies to mutants streptococci in human saliva and serum comparing fresh and sub cultivated strains and activity in repeated salivary samples. Oral Microbiology & Immunology 1994;9(5): 278-83.
 375. Wilde D. Cook JA. Jones AS. The nasal response to axillary pressure in non-eosinophilic intrinsic rhinitis. Clinical Otolaryngology. 1997 Jun ;22(3):219-21.
 376. Wilson R, Read, R. y Cole P. Interaction of *Haemophilus influenzae* with Mucus, cilia and Respiratory Epithelium. J.Inf.Dis. 1992; 1992165(Supl 1) s100-102.
 377. Williams, D.E., R.E., Miller and W.F., Taylor. Pulmonary function studies in healthy Pakistani adults. Thorax 1978; 37: 248-249.
 378. Willoughby William y Judith Willoughby. Antigen Handling. En: Bienenstock John (Editor). Immunology of the Lung and Upper Respiratory Tract. Mc. Graw - Hill Book Co. New York. 1984; (pp 28'-95).
 379. Wolf L. Jaqueline y W,A, Bye. The membranous Epithelial (M) cell and the Mucosal immune System. Ann.Rev.Med. 1984;35:95-112..
 380. Woolcock, Ann J. y Solbert Permut. Bronchial Hiperresponsiveness. En: Brain D. J., Proctor D.F. y Lynne M. Reid. (Editores). Respiratory Defense Mechanisms . Marcel Dekker, Inc. New York. (pp 25 -56) . 1977Op. Cit. Ref. 1. 1986 (pp 727 -736)
 381. Wright LJ, Sun PJ, Vedal S. Long Term Cigarette Smoke Exposure Does Not Increase Airway Responsiveness in Rats. Lung 1998; 176: 289.
 382. Ylikoski Jukka, Savoolainen Seppo, Joisimies-Somer Hannele. Bacterial Flora en the Nasopharynx and Nasal Cavity of Healthy Young Men. ORL1989; 51. 50-55..
 383. Yodoi J., Takami M., T.Doi, T. Tawabe, K. Yasuda, M. Adachi y N. Noro. Isotype - Specific immunoglobulins binding factors of IgA and IgE. En: Mestecky J., McGhee R.J., Bienenstock J. y Ogra L. Peary.

- Editores. Recent Advances in Mucosal Immunology. Part A: Celular Interactions. Plenum Press. New York. 1987; (pp 75-80).
384. Yoshihara S, Nadel AJ, Figini M, et al. Endogenous Nitric Oxide Inhibits Bronchoconstriction Induced by Cold-Air Inhalation in Guinea Pigs. Am J Respir Crit Care Med 1998; 157: 547.

AH00500
84219