

11262
12/1



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**Identificación de Partículas Contaminantes Atmosféricas
como Patógenos Pulmonares en México**

T E S I S

Que para obtener el Grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

P r e s e n t a

Alvaro Román Osornio Vargas

MEXICO, D. F.

CALLA DE ORIGEN

1985



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

	Pág.
INTRODUCCION	1
MATERIAL Y METODOS:	7
- Material Post-mortem para Identificación de CF.	7
- Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X.	9
- Microanálisis de Rayos-X en Biopsias con Patología Intersticial Pulmonar.	11
- Evaluación de Citotoxicidad por Polvo:	13
A) Actividad Hemolítica	14
B) Actividad Citotóxica en Células de Lavado Broncoalveolar de Rata.	17
- Lesión Pulmonar Experimental con Polvo de Mexicali.	18
- Estadística.	19
RESULTADOS:	20
- Identificación de CF en Casos de Autopsia.	20
- Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por - Fluorescencia de Rayos-X.	31
- Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares.	36
- Polvo de Mexicali:	55
A) Actividad Hemolítica	60
B) Actividad Citotóxica en Células de Lavado Broncoalveolar de Rata.	62
- Instilación Intratraqueal de Polvo de Mexicali a Ratas.	64

	Pág.
COMENTARIOS:	70
- Identificación de CF en Casos de Autopsia.	70
- Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X.	75
- Microanálisis de Rayos-X en Biopsias Pulmonares.	78
- Polvo de Mexicali:	81
- Actividad Hemolítica y Actividad Citotóxica en Lavado Broncoalveolar de Rata.	81
CONCLUSIONES	87
REFERENCIAS	89

INDICE DE FIGURAS

		Pág.
Fig. 1	Cuerpo Ferruginoso	4
Fig. 2	A) Alfa Cuarzo B) Asbesto Crisótilo	15
Fig. 3	A) Hierro Carbonilo B) Polvo del Laboratorio 103	16
Fig. 4	Microanálisis de Rayos-X sobre el portamuestras - de carbón.	42
Fig. 5	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Aluminio (\bar{x}).	44
Fig. 6	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Silicio (\bar{x}).	45
Fig. 7	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Magnesio.	48
Fig. 8	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Aluminio.	49
Fig. 9	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Silicio.	50
Fig.10	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Potasio.	51
Fig.11	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Aluminio (C).	52
Fig.12	Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares - con Lesión Intersticial. Silicio (G).	53
Fig.13	Neumonía Intersticial Granulomatosa con Partículas de Al y Si.	54
Fig.14	Polvo de Mexicali. Distribución por Tamaños.	57
Fig.15	Hemólisis por Polvos Inorgánicos.	61

		Pág.
Fig.16	Viability y Actividad de DHL en Células de - Lavado Broncoalveolar.	63
Fig.17	Polvo de Mexicali. Citotoxicidad y Actividad DHL %.	65
Fig.18	Polvo de Mexicali. Citotoxicidad y Actividad DHL U/I.	65
Fig.19	A y B) Lesión Pulmonar Experimental por Polvo de Mexicali. C) Lesión Pulmonar Experimental por Cuarzo. D) Pulmón de un animal control.	67
Fig.20	A) Microanálisis de Rayos-X de Lesiones Pulmonares producidas por Polvo de Mexicali. B) Microanálisis de Rayos-X de Lesiones Pulmonares producidas por Cuarzo.	68
Fig.21	A) Depósito Pulmonar de Fe Carbonilo B) Microanálisis de Rayos-X del Fe Carbonilo	69
Fig.22	A) Macrófagos Aislados de Rata, Control. B) Macrófagos Aislados de Rata. Expuestos a - Polvo de Mexicali.	85

INDICE DE CUADROS

		Pág.
Cuadro I	Cuerpos Ferruginosos en Casos de Autopsia I.N.C.I.Ch. Frecuencias y Concentración.	21
Cuadro II	Cuerpos Ferruginosos en Casos de Autopsia I.N.C.I.Ch. Localización por Lóbulos.	23
Cuadro III	Cuerpos Ferruginosos en Casos de Autopsia I.N.C.I.Ch. Frecuencias y Concentración por Residencia y Sexo.	23
Cuadro IV	Cuerpos Ferruginosos en Casos de Autopsia I.N.C.I.Ch. Medianas por Residencia y -- Sexo.	25
Cuadro V	Cuerpos Ferruginosos en Casos de Autopsia I.N.C.I.Ch. Ocupación.	27
Cuadro VI	Cuerpos Ferruginosos en Casos de Autopsia H.G.M.G.G. Frecuencias y Concentración.	29
Cuadro VII	Cuerpos Ferruginosos en Casos de Autopsia H.G.M.G.G. Medianas por Residencia y - - Sexo.	30
Cuadro VIII	Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X. Medias por Residencia y Sexo.	32
Cuadro IX	Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X. Descripción.	34
Cuadro X	Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X. CF vs ppm Si.	35
Cuadro XI	Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X. Controles.	37
Cuadro XII	Microanálisis de Rayos-X en Biopsias Pulmonares con Lesión Intersticial. Pruebas de Función Respiratoria.	38
Cuadro XIII	Microanálisis de Rayos-X en Biopsias Pulmonares con Lesión Intersticial. Biopsias -- I.N.C.I.Ch.	40

		Pág.
Cuadro XIV	Microanálisis de Rayos-X en Biopsias Pulm monares con Lesión Intersticial. Evoluac ción a Septiembre de 1984.	41
Cuadro XV	Microanálisis de Rayos-X en Biopsias Pulm monares con Lesión Intersticial. Al y Si P-B O.	46
Cuadro XVI	Polvo de Mexicali Tamizado y Análisis Gra vimétrico.	56
Cuadro XVII	Polvo de Mexicali. Análisis Individual de Partículas EDXA.	58
Cuadro XVIII	Polvos Inorgánicos. Tamaño $R \pm DE$	59

INTRODUCCION

El estudio de los efectos de la contaminación atmosférica sobre la salud, requiere cada día de mayor atención (1). En algunos países como Inglaterra, la contaminación atmosférica ya ha afectado a grandes poblaciones -- (2). Esta situación ha creado la necesidad de identificar aquellos agentes que afectan o deterioran la calidad del aire en áreas urbanas y -- otras, con el objeto de conocer los posibles riesgos y efectos patógenos asociados a ellos y de establecer las medidas de control necesarias.

Hasta la fecha, la experiencia mundial acumulada ha permitido identificar a un gran número de sustancias tóxicas como: monóxido de carbono, dióxido de azufre, óxidos de nitrógeno, formaldehído, hidrocarburos policíclicos, ozono, silicatos no asbestos, asbestos, diesel, plomo, berilio, cadmio, - arsénico, etc., (1,3). Estos contaminantes ejercen sus efectos nocivos - en forma individual o en combinación y pueden ser desde agentes fibrogénicos o citotóxicos, hasta mutagénicos y cancerígenos. Aunque muchos de -- ellos afectan al organismo a diversos niveles (4), el aparato respiratorio por razones obvias, resulta ser el más frecuentemente afectado.

Desde hace algún tiempo, el estudio de los efectos de la contaminación -- atmosférica sobre la salud, se había enfocado principalmente al papel de los gases contaminantes sobre el árbol traqueobronquial (5). Esto se explica parcialmente en base a la experiencia vivida en el mundo y a que el papel de las partículas se circunscribe a las enfermedades ocupacione- - les (6). Por otro lado el efecto de los gases resultó mas evidente por -

Los tiempos relativamente cortos de exposición necesarios para causar - - enfermedad (1). Situación que no ocurre con las partículas por requerirse de exposiciones más prolongadas. Por esta razón, el estudio del papel de las partículas ha cobrado gran interés en fechas recientes. Así sabemos que la contaminación atmosférica por asbestos representa un grave - - riesgo para los sujetos expuestos a ellos (7,8) y que las partículas fi--nas producto de la combustión de hidrocarburos, son vehículos para que -- algunos metales pesados penetren al organismo (9). De igual forma, se han reportado casos con patología intersticial pulmonar, en los que la conta--minación por polvos originados del suelo y suspendidos, juegan un papel -- muy importante en el desarrollo de la enfermedad (10,11,12,13,14,15).

Todas estas situaciones han demostrado que el monitoreo de la atmósfera, resulta indispensable para establecer los riesgos de la población expuesta en zonas contaminadas (1). Al mismo tiempo, sabemos del peligro que - representa la potenciación entre dos o más contaminantes y de la necesi--dad de adecuar nuestras normas de calidad del aire (3,13,14,16).

Desafortunadamente, el análisis de la problemática existente en las diver--sas zonas contaminadas del país, no ha recibido la atención necesaria - - (17). Existen reportes de los niveles de gases y partículas suspendidas en el aire de la Ciudad de México, algunos de los cuales buscan correla--ciones con su retención en el pulmón (18,19,20,21,22). También hay algu--nos datos en relación a los niveles de Plomo (21). Sin embargo, descono--cemos la repercusión de esta información; desconocemos la naturaleza de - la gran mayoría de los contaminantes y poco sabemos del papel que juegan algunas condiciones propias del país como las tolveneras, la altura sobre

el nivel del mar, la conjugación de contaminantes industriales con naturales o biológicos, etc., (16,23).

Por otro lado, existen informes nacionales recientes en los que se ha señalado un incremento de ciertos padecimientos pulmonares como la fibrosis y el cáncer, que pudieran estar relacionados con la contaminación atmosférica (24,25,26,27,28). No debemos olvidar que la contaminación atmosférica es un problema que lentamente va afectando al individuo y en consecuencia, el tiempo de exposición (sin tomar en cuenta susceptibilidad individual) es una variable de fundamental importancia (1). Por lo tanto, la contaminación en México ha permanecido el tiempo suficiente como para empezar a ver problemas de salud ligados a ella.

Todas estas situaciones nos estimularon a buscar correlaciones entre la contaminación atmosférica por partículas y la patología pulmonar que recibimos en el Instituto de Cardiología. Desafortunadamente, el desconocimiento casi total de los contaminantes a que estamos expuestos cotidianamente, nos obligó a iniciar una caracterización de las partículas retenidas en el pulmón humano y así poder valorar su potencial como patógenos. Nuestros objetivos se encaminaron en primer lugar, a la búsqueda de un contaminante conocido como patógeno, de fácil identificación y estudiado en diversas áreas del mundo: el cuerpo ferruginoso (CF) (7,8,29,30,31). Este contaminante representa un indicador de exposición a fibras inorgánicas fibrogénicas o cancerígenas (asbestos, silicatos no asbestos, fibra de vidrio, etc.), cuya morfología característica es el resultado de la interacción entre el contaminante y el tejido pulmonar (Fig.1).

En segundo lugar, se buscaron los elementos químicos presentes en tejido



Fig.1- Aspecto al microscopio electrónico de barrido de un cuerpo ferruginoso típico. Obsérvese la fibra central recta cubierta parcialmente por depósitos que contienen hierro. (1250x).

pulmonar humano, con el objeto de identificar elementos extraños y de cuantificar los niveles de Silicio para correlacionar con los niveles de CF (silicatos de aluminio o magnesio). En tercer lugar, se buscaron elementos indicadores de partículas inorgánicas (aluminio y silicio) atrapadas en pulmones con patología intersticial, con el objeto de establecer patrones de distribución que permitan contar con criterios de aplicación diagnóstica. Simultáneamente, se buscaron partículas exógenas que pudieran ser aisladas para su empleo en experimentos encaminados a buscar patogenicidad.

Estos objetivos se diseñaron en base a la siguiente triple hipótesis:

1°) Si dentro de las partículas contaminantes del aire de la Ciudad de México existe una alta proporción de partículas citotóxicas, fibrogénicas y cancerígenas; entonces podremos esperar una mayor incidencia de padecimientos pulmonares relacionados con ellos en la población de las áreas metropolitanas.

2°) Si los pulmones de los sujetos estudiados con o sin patología pulmonar presentan una fracción de contaminantes con las características de interés, entonces podremos establecer con claridad un grado de exposición a patógeno.

3°) Si los pacientes estudiados con patología pulmonar, cáncer y/o fibrosis intersticial, presentan una concentración mayor de partículas "patógenas" y estas están significativamente aumentadas en relación al grupo control, entonces podremos postular una relación directa entre Partículas y Padecimientos; si los mecanismos de - -

depuración pulmonar permanecen sin alteraciones.

Por lo tanto, en primer lugar debería identificarse el potencial patógeno de los contaminantes a que estamos expuestos. En segundo lugar, determinar un indicador de exposición de acuerdo a los contaminantes recolectados e identificados en pulmones humanos y en tercer lugar, buscar diferencias entre el contenido y composición de estos contaminantes en los sujetos con y sin patología pulmonar. Sin embargo la falta de muestras del aire de nuestras ciudades nos obliga a iniciar la caracterización de los contaminantes en material recolectado de pulmones.

De probarse ciertos nuestros planteamientos hipotéticos, se contará con la información y técnicas básicas para obtener resultados objetivos que nos permitan conocer y controlar mejor nuestra problemática de contaminación atmosférica.

MATERIAL Y METODOS

Materiai post-mortem para identificación de CF:

Se estudiaron un total de 108 casos obtenidos al azar de dos hospitales y cuatro años diferentes. Todos los casos correspondieron a individuos mayores de 20 años. Las muestras fueron obtenidas en el Instituto Nacional de Cardiología "Ignacio Chávez" y en el Hospital General "Manuel Gea González". Del primer hospital se estudiaron 30 casos de los 102 adultos -- autopsiados en 1977 y 30 de los 100 adultos autopsiados en 1981 y del segundo, 18 de los 81 adultos autopsiados en 1981 y 30 de los 134 adultos - autopsiados en 1983. La edad, sexo, ocupación, hábito tabéulco, lugar de residencia, padecimiento principal y padecimientos pulmonares asociados de cada uno de los pacientes, fueron recolectados del expediente clínico y del protocolo de autopsia.

De los casos del I.N.C.I.Ch. se obtuvieron muestras de 5 gr por lóbulo de parénquima pulmonar periférico, perfundido por bronquios a capacidad total con formaldehído al 4% en amortiguador de fosfatos (pH 7.3). En aquellos casos en que no fue posible identificar los cinco lóbulos, se tomaron muestras independientes de 5 gr cada una. De los casos del H.G.H.G.G. únicamente se obtuvieron muestras de 3 gr del lóbulo superior derecho. - Estos casos fueron fijados de la misma manera que los otros. Adicionalmente, se obtuvieron otras 30 muestras con el propósito de llevarlas a peso seco, manteniéndolas a 60°C por 20 días y así poder expresar los resultados en relación a peso seco.

Todas las muestras fueron digeridas y analizadas de acuerdo a la técnica de Smith y Naylor (32). El tejido se digirió con blanqueador comercial - (hipoclorito de sodio 8%, 100 ml) durante 48-52 hrs. Una vez digerido el tejido, se separó y eliminó la fracción orgánica de la inorgánica, lavando con cloroformo y alcohol al 50% (1:1). La fracción inorgánica se re-suspendió en alcohol al 95% para su filtración. Esta se llevó a cabo empleando membranas de Millipore de 0.45 μ m de diámetro de poro, en un soporte para muestras múltiples (Millipore XX2702550) adaptado a una bomba de vacío. Al término de la filtración se dejaron secar los filtros y se estabilizaron con cloroformo. Para su observación al microscopio óptico se aclararon con xileno y se montaron y cubrieron con portaobjetos convencionales.

Se analizaron un total de 348 filtros en toda su extensión para cuantificar la presencia de CF, así como para determinar sus dimensiones. Para tal efecto, se empleó un microscopio óptico de campo claro a 200 aumentos y un objetivo graduado y calibrado. Las dimensiones de las fibras se expresaron en μ m y la concentración de CF en número por gramo de pulmón peso seco (CF/gr). No se intentó subdividir a los CF de acuerdo a sus tipos morfológicos.

Una vez determinadas las concentraciones, se investigaron sus posibles relaciones con edad, sexo, ocupación, residencia en provincia o en Ciudad de México, hábito tabáquico, existencia de bronquitis crónica y/o enfisema pulmonar y su distribución por lóbulos. Se consideraron como residentes de la Ciudad de México a aquellos pacientes que la habitaron por más de 20 años consecutivos. En cuanto al hábito tabáquico se consideró su -

presencia o ausencia y además, se calculó un índice de tabaquismo dado -- por el producto del número de cigarrillos fumados por día, multiplicado -- por la duración del tabaquismo y dividido entre la edad del paciente. El índice da un estimado de los cigarrillos fumados por día durante toda la vida del paciente.

En los casos del H.G.M.C.G. solo se tomaron muestras del lóbulo superior derecho pulmonar, ya que la distribución por lóbulos encontrada en los -- casos del I.N.C.I.Ch. demostró que éste lóbulo siguió la distribución general.

Con propósitos ilustrativos y demostrativos se procesaron algunas muestras para microscopía electrónica de barrido. Después de haberse secado los -- filtros, se montaron en portamuestras adecuadas y fueron recubiertas con -- oro (aprox. 10nm. con Sputter JFC-1100, JEOL). Las muestras fueron obser-- vadas y fotografiadas en un microscopio electrónico de barrido JEOL-35C, a un voltaje de aceleración de 15 kV y una distancia de trabajo de 15 mm.

Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X:

Se emplearon muestras periféricas de pulmón no fijado de 15 casos de -- autopsia de pacientes adultos, recolectados en forma consecutiva durante 1983 en el I.N.C.I.Ch. Estas muestras se llevaron a peso constante a -- 70°C por 10 días. Posteriormente se incineraron a 100°C en ambiente de oxí-- geno al 100%, a flujo constante (3 l/min). Una vez obtenidas las cenizas se molaron en un mortero de ágata durante 15 min y se registró su peso --

Inmediatamente después. De cada una de las muestras se tomaron 100 mg -- para análisis elemental por fluorescencia de rayos-x realizado en un espectrómetro de rayos-x (Phillips PW1420) equipado con un tubo anticátodo de Cromo. Se emplearon voltajes de excitación de 50kV, 50 mA, un detector de flujo Argón-Metano, un detector de centelleo, un cristal analizador LiF (200 y un PET 002), con un vacío de aproximadamente 0,25 torr. Con el objeto de hacer comparaciones semicuantitativas, se hizo un conteo por el método de tiempo fijo a 20 seg. Se registraron los máximos K alfa y las posiciones vecinas al pico para determinar el ruido de fondo para cada uno de los siguientes elementos: Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti, Fe, Cu, Zn, Br y Pb. Además se obtuvieron las cuentas de estos elementos, a partir del portamuestras vacío de lucita. Se calcularon los promedios de cuentas obtenidos del portamuestras y del ruido de fondo para ser sustraídos de los picos obtenidos de las muestras de pulmón. Se promediaron los valores y se calculó la desviación estandar para cada elemento y para cada caso de autopsia.

Se emplearon como controles positivos para Si muestras de pulmón de un paciente que falleció con silico-antracosis y otro con un mesotelioma y que recibimos como consultas en nuestro Departamento.

Con el objeto de hacer correlaciones cuantitativas en relación al contenido pulmonar de Si, se impregnaron muestras de celulosa con concentraciones conocidas de metasilicato de sodio y se elaboró una curva patrón.

Los resultados obtenidos se correlacionaron con edad, sexo, ocupación, lugar de residencia, hábito tabáquico y la patología principal y asociada.

Al mismo tiempo, se obtuvieron muestras de cada caso para la determinación de concentraciones de CF y correlacionar con el contenido pulmonar de Si.

Microanálisis de Rayos-X en Biopsias con Patología Intersticial Pulmonar:

Se estudiaron un total de 11 biopsias pulmonares, nueve de las cuales provienen de pacientes con patología intersticial pulmonar y dos (hipoplasia de arteria pulmonar y enfisema pulmonar) que fueron empleadas como controles. Las biopsias con patología intersticial representaron el 82% de las biopsias a cielo abierto obtenidas de pacientes con esta patología en 1983. Todas las biopsias fueron tomadas en inspiración y pinzadas para su fijación. La fijación se llevó a cabo por 24 hrs en formaldehído al 4% amortiguado con fosfatos (pH 7.3) con la pieza pinzada. Al término de la fijación, se despinzó la muestra y fue cortada longitudinalmente para su proceso histológico. Esto se llevó a cabo en la forma usual, deshidratando en alcohol e incluyendo en parafina. Se obtuvieron cortes histológicos de 7 µm de espesor para ser montados y teñidos con hematoxilina y eosina, tricrómico de Masson y tinción para fibras elásticas. Adicionalmente, se tomaron cortes adyacentes en discos de carbón, para ser analizados por energía dispersiva de rayos-x previa desparafinación con xileno.

Los cortes histológicos se emplearon para establecer un diagnóstico patológico y determinar el área de afección pulmonar y la presencia de partí-

culas extrañas bajo luz polarizada. Los cortes montados en carbón se emplearon para identificar Mg, Al, Si, P, S, K, Ca, Ti, Fe, Cu y Zn presentes en la biopsia. Esto se llevó a cabo empleando un microscopio electrónico de barrido JEOL 35-C acoplado con un detector de energía dispersiva para rayos-x (Kevex 7000). El análisis se efectuó en 30 septos engrosados y 10 "normales", por biopsia pulmonar. Se analizó un área de $100 \mu\text{m}^2$ en cada septo. Esto se logró manteniendo el aumento constante y usando un rastreador de 4 cm x 1.6 cm. También se obtuvieron 10 análisis del disco de carbón vecino a los septos estudiados.

El microanálisis se efectuó con un voltaje de aceleración de 20 kV, una distancia de trabajo de 39 mm, una distancia detector-muestra de 11 mm, a 45° y con una resolución de 158 eV.

Los resultados del microanálisis se expresaron en forma semicuantitativa empleando el área bajo la curva del elemento de interés previa sustracción del ruido de fondo colectado debajo del pico. Estos datos fueron transferidos y almacenados en una computadora Cromemco a través de un sistema de transferencia diseñado en el Instituto de Ingeniería de la U.N.A.M.

Estos resultados fueron probados con estadística paramétrica y no paramétrica, con fines críticos para establecer una rutina de análisis e interpretación futura.

El diagnóstico de las biopsias se hizo en forma descriptiva y se correlacionó con los siguientes datos obtenidos del expediente clínico: edad, --

sexo, ocupación, lugar de residencia, antecedentes de exposición a polvos, tiempo de evolución, sintomatología, lugar y fecha de la biopsia, respuesta al tratamiento y pruebas de función respiratoria.

También se emplearon los cortes histológicos para determinar el área estudiada y el porcentaje de esta área involucrada por fibrosis, inflamación o ambos. Esto último se realizó por el método de intersección de puntos (33) usando un ocular con una retícula de 25 puntos equidistantes y a un aumento de 500x. La medición del área total se hizo proyectando el corte y dibujando sus contornos, para ser medido en una computadora Apple II -- equipada con una tableta digitalizadora y un programa para áreas y longitudes elaborado en este instituto.

Evaluación de Citotoxicidad por Polvo:

Se empleó polvo doméstico de Mexicali, obtenido por barrido en la casa de una de las pacientes con patología intersticial pulmonar granulomatosa y que mostró niveles elevados de K, Al y Si en la biopsia.

Este polvo fue separado por tamaños con el objeto de obtener la fracción respirable (diámetro promedio de 3 μm), mediante tamizado en mallas 16, - 30, 50, 100, 200, 325 y 400, seguido de sedimentación en agua destilada - por 5 min. Una vez seco el polvo se estudió por microscopía electrónica de barrido, microanálisis de rayos-x, fluorescencia y difracción de rayos-x, para determinar su tamaño y composición. Estos estudios se hicieron de la manera ya descrita en la página no. 10 y 12.

A) Actividad Hemolítica: Se trabajó con sangre venosa humana, de la - -
cual se separó el paquete globular por centrifugación. Después de lavar
el paquete globular tres veces en solución salina amortiguada (PBS, pH 7.3)
se hizo una suspensión de eritrocitos al 1.5% en PBS para ser incubada --
con polvos control y problema. Se emplearon como polvos hemolíticos con-
trol alfa cuarzo y asbesto cristótilo (Fig. 2A y B) y como control negati-
vo hierro carbonillo (Fig. 3A). Estos polvos fueron donados por el Dr. --
Arnold R. Brody del National Institute of Environmental Health Sciences.
Como polvo problema se empleó el polvo de Mexicali y como control interno
el polvo del laboratorio en donde se realizaron los experimentos (L-103)
(Fig. 3B). Todos los polvos se manejaron estériles y fueron sometidos a
ultrasonido 5 min antes de la incubación. Los diámetros promedio y la --
distribución por tamaños para cuarzo, hierro carbonillo y polvo de L-103 -
fueron semejantes, de acuerdo a la medición por microscopía electrónica -
de barrido: 84% menor de 5 μ m, $3.4 \pm 2.2 \mu$ m; 100%, $1.5 \pm 0.6 \mu$ m y 100%, -
 2.5 ± 1.5 , respectivamente. El asbesto no fue evaluado por tratarse de -
fibras flexibles. El polvo de Mexicali se comentará en los resultados. -
Los polvos se probaron en concentraciones de 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, - -
1.0, 1.5 y 2.0 mg/ml. Las incubaciones se realizaron a 37°C por 1 hr. -
Paralelamente se corrieron muestras a las que no se agregó polvo y que --
sirvieron como blanco para la lectura espectrofotométrica. Una vez con-
cluida la incubación, se midió en el sobrenadante la hemoglobina liberada
con un espectrofotómetro (Pye Unicam SP 30 UV) a 540 nm. Los resultados
se expresaron como porcentaje en relación al 100% producto de la hemólisis
total de una suspensión de eritrocitos al 1.5% en agua destilada. To-
dos los experimentos se realizaron por cuadruplicado.

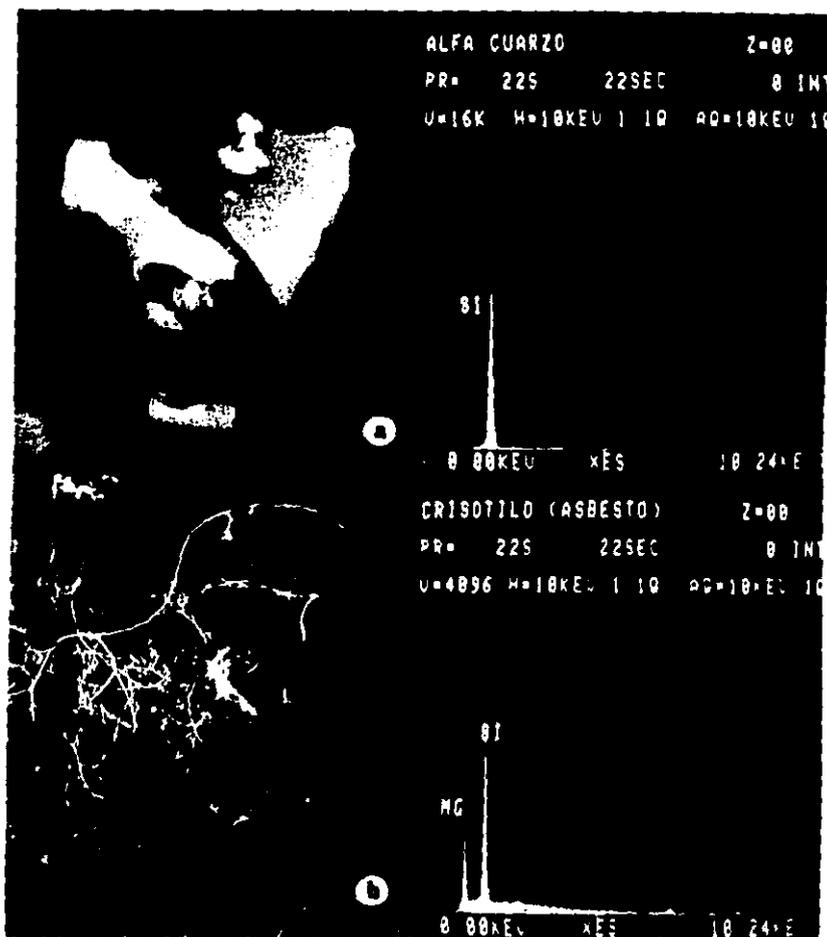


Fig.2 En estos estudios se emplearon como polvos controles positivos: A) alfa cuarzo compuesto fundamentalmente de silicio y B) crisólilo -- (asbesto) que es un silicato de magnesio. Imágenes al microscopio electrónico de barrido y espectro de rayos-x. (A:800x; B:700x).

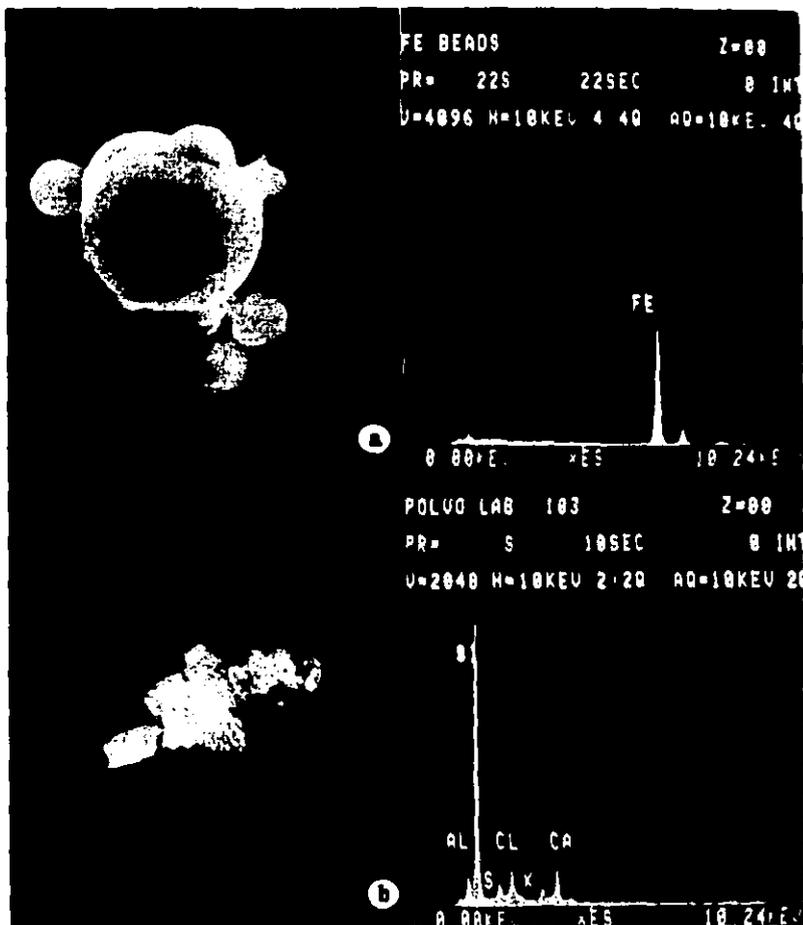


Fig.3 El estudio contempló el uso de un control negativo como el Fe carbonilo (A) y el polvo del laboratorio donde se realizaron los experimentos (B). Este polvo es muy rico en materia orgánica. Microscopía electrónica de barrido y espectro de rayos-x. (A: 10000x - B: 8000x).

B) Actividad Citotóxica en Células de Lavado Broncoalveolar de Rata:

Se obtuvieron células broncoalveolares de rata Wistar macho (250-300 gr) por lavado bronquial suave con PBS. El lavado consistió en la introducción intratraqueal de un catéter calibre 15, en ratas previamente anestesiadas con pentobarbital sódico intraperitoneal (50 mg/kg) y por el cual se pasan 10 ml de PBS (37°C) a una presión de 10 cm de agua. El líquido se recolectó en un recipiente localizado 10 cm por debajo del animal.

El procedimiento se repitió seis veces para coleccionar aproximadamente 2×10^6 células mononucleares. Estas células se repartieron en cuatro alícuotas por ser resuspendidas en alícuotas con 3 ml de PBS. Se midió la actividad de deshidrogenasa láctica en el sobrenadante a los tiempos 0, 1 y 2 horas en presencia y ausencia de polvo previamente sonicado (5 min). La cuarta alícuota fue empleada para obtener un 100% de liberación enzimática después de sonicar a las células por una hora (LAR Transistor Ultrasonic T-7). Los polvos empleados fueron: El polvo de Mexico II y el hierro carbonilo a una concentración de 1 mg/ml. Las determinaciones enzimáticas se hicieron en el sobrenadante con equipos comerciales (Merck-1-test) que emplean como sustrato NADH_2 . La actividad enzimática se mide cada minuto durante 5 min a 340 nm (Spectrophotometer Pye Unicam SP30 UV). Los resultados se reportaron como actividad total y como porcentaje en relación a las células sonicadas, ajustando a 333 333 células. Todos los experimentos se hicieron por triplicado y se valoró viabilidad por medio de la exclusión del azul de Tripán (0.5% en PBS).

En algunos casos se fijaron las células con una mezcla de glutaraldehído al 1% y formaldehído al 4% en amortiguador de fosfatos 0.1 M, pH 7.3, pa-

ra su observación al microscopio electrónico de barrido. Después de la fijación fueron deshidratadas en alcoholes de concentración creciente, -- secadas al punto crítico (Critical Point Apparatus Technics GPA) y cubiertas con oro (Ion Sputter JEOL JFC-1100, aprox. 10 nm).

Lesión Pulmonar Experimental con Polvo de Mexicali:

Se emplearon 20 ratas macho Wistar (250-300 gr) anestesiadas con éter, en las que se expuso la tráquea para la instilación de polvos control y problema en PBS y del vehículo (PBS). Los polvos empleados fueron: Polvo de Mexicali, alfa cuarzo y hierro carbonilo a una dosis de 50 mg/0.3 ml de PBS estéril. Una vez hecha la instilación se suturó piel y se dejó -- sobrevivir a los animales por 30 días. En el caso del polvo de Mexicali, se emplearon dos muestras diferentes, una de 3 µm de diámetro promedio y otra de 10 µm de diámetro promedio. Se usaron cuatro ratas por grupo. -- Al tiempo de sacrificio se anestesiaron los animales con éter, se cánula la tráquea (aguja calibre 15 roma) y se insufla los pulmones con aire -- ambiente a 10 cm de agua. Los pulmones se fijaron por vía vascular a través del ventrículo derecho con una cánula calibre 21, a 20 cm de agua. -- Una vez obtenidas las muestras se fijan adicionalmente por 24 hrs, al término de las cuales, se hacen cortes parasagitales de los pulmones y se -- incluyen para microscopía de luz y microanálisis de rayos-x. Los cortes se obtuvieron y analizan de la misma manera que las biopsias pulmonares.

Estadística:

En todos los casos se emplearon medidas de tendencia central y de dispersión. En aquellos resultados con distribuciones anormales se recurrió a la mediana y al rango y en el caso contrario, a la media y a la desviación estandar y el error estandar. De tal suerte que las distribuciones anormales fueron probadas con métodos no paramétricos como: prueba "U", - chi cuadrada y coeficiente de correlación de Pearson; y las normales, con: prueba "t" y coeficiente de correlación de Spearman. Se consideraron como significativas aquellas diferencias con valores de $p < 0.05$ para una o dos colas según el caso. Las pruebas estadísticas fueron realizadas siguiendo las fórmulas reportadas por Zar (34) y ayudados por una calculadora (Casio fx-8100), una micro-computadora (Apple II) con tableta digitalizadora y programas apropiados (AIDA, Estadísticas Descriptivas, Medición de Áreas y Perímetros), un graficador (Hewlett-Packard 9872-B) y una micro-computadora (Comenco 22H) con memoria de disco duro (11 megabytes) y programas especialmente diseñados para el microanálisis de rayos-x elaborado por Peralta y cols., (35,36) del Departamento de Micromecánica de Suelos - del Instituto de Ingeniería, U.N.A.M.

RESULTADOS

Identificación de CF en Casos de Autopsia:

Como se ilustra en el Cuadro 1, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al número de casos con CF y concentración de los mismos entre la muestra de 1977 y 1981. Con base en estos resultados, ambas -- muestras fueron consideradas juntas.

La distribución de concentración encontrada fue eslmétrica, por lo que - predominantemente se empleó como índice de tendencia central a la media- na y pruebas estadísticas no paramétricas. La relación promedio entre - el peso húmedo y el peso seco de las muestras fue de 17.

En el número total de casos la edad promedio fue de 51 años, la relación mujer-hombre fue de 1:1, 42 de los 60 casos (70%) fueron residentes de - la Ciudad de México y el resto de distintas partes del interior de la Rg pública y 25 de los 60 (42%) fueron fumadores (17 hombres y 8 mujeres). Ochenta por ciento de los pacientes tuvieron como padecimiento principal una cardiopatía, 10% una neumopatía, 5% alguna nefropatía y el 5% restan te padecimientos varios (pancreatitis, septicemia y esclerosis sistémica progresiva). Todos los casos tuvieron grados diversos de congestión pul monar.

El 93% de la población estudiada tuvo por lo menos un CF. La mediana de la concentración correspondió a 7.48 CF/gr (amplitud 0-993 CF/gr) y las dimensiones de los cuerpos variaron en largo de 16-280 μ m y en ancho de

CUADRO 1
 CUERPOS FERRUGINOSOS EN CASOS DE
 AUTOPSIA
 I. N. C. I. Ch.

Distribución comparativa de frecuencias y de concentración
 entre 1977 y 1981

CF/gr	1977	1981
0	3	1
0 - 10	13	15
10,1 - 25	5	4
25,1 - 50	4	5
50,1 - 100	3	1
100,1 - 500	1	3
500,1 - 1000	<u>1</u>	<u>1</u>
TOTAL	30	30
Mediana	8.16 CF/gr	7.14 CF/gr

P > 0.05

1-10 μm , con un promedio de $71 \times 4 \mu\text{m}$.

En 41 casos fue posible identificar los cinco l6bulos pulmonares, en los cuales la distribuci6n de CF result6 ser heterog6nea (Cuadro II). El l6bulo superior derecho present6 una frecuencia y concentraci6n m6s parecida a la que se encontr6 en la muestra total.

La distribuci6n de frecuencia para la concentraci6n de CF se present6 en forma comparativa para lugar de residencia y sexo en el Cuadro III. No se demostraron diferencias significativas en relaci6n al lugar de residencia, sin embargo, esta diferencia si existi6 entre hombres y mujeres. Estas 6ltimas tuvieron una concentraci6n menor (Cuadro IV). Comparando a las mujeres en relaci6n al lugar de residencia, result6 que las mujeres de provincia tuvieron concentraciones a6n menores (1.7 CF/gr) que las encontradas en las de la ciudad de M6xico (6.46 CF/gr) ($p < 0.005$). Esta diferencia no se di6 en el grupo de los hombres.

De los habitantes de la Ciudad de M6xico el 67% (28 de 42 casos) residfa en el sur de la ciudad en el momento de su muerte, mientras que el 33% restante en el norte. Las medianas de concentraci6n, 12.24 CF/gr y 9.48 CF/gr, respectivamente, no resultaron ser significativamente diferentes ($p > 0.2$). Dada la dispersi6n de los habitantes de provincia (Edo. de M6x. 3, Hgo. 3, Z6c. 3, Gto. 2, BCS 1, Chih. 1, Jal. 1, Mor. 1, Sin. 1, SLP 1 y Yuc. 1), no se intent6 buscar diferencias entre ellos. De los cuatro pacientes que no presentaron CF, uno residfa al norte y otro al sur de la ciudad, otro en el Estado de Hidalgo y el cuarto en Baja California Sur. Dos fueron mujeres y dos hombres. En aquellos ca-

CUADRO II
CUERPOS FERRUGINOSOS EN CASOS DE
AUTOPSIA

I.N.C.I.Ch.

Localización por lóbulos
(41 casos)

<u>Lóbulo</u>	<u>Casos (%)</u>	<u>Mediana CF/gr</u>
LSD	31 (76)	10.2
LMD	31 (76)	3.4
LID	27 (66)	10.2
LSI	27 (66)	14.0
LII	23 (56)	37.4

CUADRO III
 CUERPOS FERRUGINOSOS EN CASOS DE AUTOPSIA

I.N.C.I.Ch.

Distribución comparativa de frecuencias y de concentraciones
 para lugar de residencia y sexo

CF/gr	Cd. México		Provincia	
	M	F	M	F
0	1	1	1	1
0 - 10	7	11	3	7
10,1 - 25	4	5	0	0
25,1 - 50	3	3	3	0
50,1 - 100	2	1	1	0
100,1 - 500	1	1	2	0
500,1 - 1000	<u>2</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>
TOTAL	20	22	10	8

M = masculino

F = femenino

CUADRO IV
CUERPOS FERRUGINOSOS EN CASOS DE AUTOPSIA

I.N.C.I.Ch.

Diferencias de medianas por lugar de residencia y sexo

Lugar de residencia

Lugar	Casos (%)	Mediana CF/gr
Cd. México	42 (70)	11.18
Provincia	18 (30)	2.42
$p > 0.05$		

Sexo

Sexo	Casos (%)	Mediana CF/gr
Masculino	30 (50)	21.42
Femenino	30 (50)	3.23
$p < 0.01$		

sos con más de 200 CF/gr, uno vivió al norte y otro al sur de la ciudad - y el tercero en Zacatecas. Todos ellos fueron hombres.

No se encontró correlación alguna entre la edad y concentración de - - - CF ($r=0.03$).

El Cuadro V agrupa a los pacientes de acuerdo a su ocupación. En aquellos casos con concentraciones ≤ 7.48 el 65% fueron mujeres y el 55% del total fueron mujeres dedicadas al hogar, mientras que en el grupo con concentraciones > 7.48 CF/gr, el 34% fueron mujeres y el 28% del total - mujeres dedicadas a las labores del hogar. Estas diferencias fueron significativas para un valor de $p < 0.05$. La gran diversidad de ocupaciones masculinas no permitieron hacer un análisis estadístico. Aquellos casos con concentraciones > 200 CF/gr correspondieron a un tlapalero, un tapicero y un ingeniero metalurgista empleado de una mina de Zacatecas.

Todos los pacientes con hábito tabáquico fumaban cigarrillos. El 39% de los casos con concentraciones < 7.48 CF/gr fueron fumadores, así como - el 45% de los que tenían concentraciones mayores de 7.48 CF/gr no encontrándose significancia estadística en esta diferencia ($p > 0.5$). En los pacientes fumadores se estableció su índice de tabaquismo con el objeto - de correlacionarlo con concentraciones de CF, encontrándose un coeficiente de correlación (r) = -0.05. El índice de tabaquismo promedio fue de - 10 cigarrillos ± 8 .

En 27 pacientes (45%) el estudio necrópsico reveló la existencia de alteraciones bronquiales compatibles con bronquitis crónica (37) y/o enfisema pulmonar, en seis de los cuales ésta patología existía como padecimiento

CUADRO V

CUERPOS FERRUGINOSOS EN CASOS DE AUTOPSIA

I. N. C. I. Ch.

Ocupación ≤ 7.48 CF/gr > 7.48 CF/gr

Ocupación	No. casos	Femenino	No. casos	Femenino
Hogar	17	17	8	8
Comerciante	3	1	2	1
Campeño	3	0	1	0
Agente de ventas	-	-	2	0
Profesor	2	1	1	0
Chofer	1	0	2	0
Electricista	1	0	-	-
Ing. Metalurgista	-	-	1*	0
Estudiante	1	0	-	-
Hojalatero	-	-	1	0
Oficinista	-	-	1	0
Secretaria	1	1	-	-
Fotógrafo	-	-	1	0
Machetero	-	-	1	0
Peluquero	-	-	1	0
Tlapalero	-	-	1*	0
Trillador	-	-	1	0
Cocinero	-	-	1	0
Ebanista	1	0	-	-
Tapicero	-	-	1*	0
Tejedora	-	-	1	1
Abogado	1	0	1	0
Mesero	-	-	1	0
	<u>31</u>	<u>20</u>	<u>29</u>	<u>10</u>

* 200 CF/gr o más

principal. Doce de ellos se encontraban en el grupo de 31 pacientes con concentraciones menores o iguales a 7.48 CF/gr (39%) y 15 en el grupo de 29 con más de 7.48 CF/gr (52%). Esta diferencia se mantuvo, independientemente del lugar de residencia.

En el caso de los pacientes del H.G.M.G.G. los resultados se obtuvieron únicamente del lóbulo pulmonar superior derecho, en base a la distribución por lóbulo encontrado en los casos del I.N.C.I.Ch.

De la misma manera que sucedió con el grupo del I.N.C.I.Ch., la falta de diferencias en la distribución de CF entre los pacientes autopsiados en 1981 y 1983, permitió agrupar los resultados de ambos años en un solo big que de datos (Cuadro VI). La edad promedio de todos los casos fue de 52.5 años, la relación mujer-hombre fue de 1:1.17, 34 casos correspondieron a habitantes de la Ciudad de México (83%) y el resto (17%) a diversas partes no especificadas de la República. En todos estos pacientes no se pudo obtener información en relación a antecedentes ocupacionales, hábito tabáquico y padecimientos pulmonares. Ninguno de estos casos tuvo como padecimiento principal alguna afección pulmonar.

El 85% de los casos estudiados tuvieron por lo menos un CF. La mediana de concentración correspondió a 14 CF/gr (amplitud 0-368), con unas dimensiones promedio de $69.3 \times 6 \mu\text{m}$. La distribución por lugar de residencia se presenta en el Cuadro VII y no mostró diferencias significativas entre los habitantes de la Ciudad de México y del interior de la República. A diferencia de lo encontrado en la muestra del I.N.C.I.Ch., en relación al sexo, ésta muestra no presentó diferencias de concentraciones de CF --

CUADRO VI
 CUERPOS FERRUGINOSOS EN CASOS DE
 AUTOPSIA
 H. G. M. G. G.

Distribución comparativa de frecuencias y de concentración
 entre 1981 y 1983

CF/gr	1981	1983
0	3	4
1 - 10	2	7
10,1 - 25	6	7
25,1 - 50	3	5
50,1 - 100	1	3
100,1 - 500	<u>3</u>	<u>4</u>
TOTAL	18	30
Mediana	19,83 CF/gr	11,33 CF/gr

$p > 0,10$

CUADRO VII
CUERPOS FERRUGINOSOS EN CASOS DE AUTOPSIA

H. G. M. G. G.

Diferencias de medianas por lugar de residencia y sexo

Lugar de residencia

Lugar	Casos (%)	Mediana CF/gr
Cd. México	34 (83)	11.0
Provincia	7 (17)	17.0
		p > 0.05

Sexo

Sexo	Casos (%)	Mediana CF/gr
Masculino	26 (54.2)	17.00
Femenino	22 (45.8)	11.33
		p > 0.05

entre hombres (54.2%; 17 CF/gr) y mujeres (45.8%; 11.3 CF/gr) ($p > 0.05$). (Cuadro VII).

No se encontró correlación alguna entre la edad y la concentración de CF. Los resultados obtenidos únicamente del lóbulo superior derecho en los casos del I.N.C.I.Ch., se presentan a continuación: El 76% (32 de 42 casos) tuvieron por lo menos un CF. La mediana de concentración fue de 10 CF/gr y no resultó ser significativamente diferente a la encontrada en el - - H.G.M.G.G. ($p > 0.05$). 52.4% fueron mujeres y tuvieron una concentración -- significativamente menor que la encontrada en los hombres (5 CF/gr vs. - 26 CF/gr) ($p < 0.01$). Aquí tampoco se encontró correlación entre la edad y la concentración de CF.

Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X:

Este estudio permitió identificar la presencia de Al, Si, P, S, Cl, K, -- Ca, Ti, Fe, Cu, Zn, Br y Pb en los pulmones de casos de autopsia del - - I.N.C.I.Ch. Los niveles de P, S, Cl, Ca y Fe fueron comparables en los 15 casos y su presencia se pudo relacionar con la composición natural de la materia orgánica (no se muestran los datos) (36).

En el caso de Cu, Zn y Br, su presencia puede representar indicios de con taminantes industriales atrapados en pulmones humanos (38). Sin embargo, su papel y relevancia no serán analizados en esta tesis.

Los resultados se centrarán en los niveles de Al y Si (Cuadro VIII), por

CUADRO VIII

ANALISIS ELEMENTAL DE PULMONES DE AUTOPSIAS POR
FLUORESCENCIA DE RAYOS X

	Al		Si	
	Ctas. /20seg	No.	Ctas. /20 seg	No.
Cd. México (n=10)	458 ± 569	6	3391 ± 2601	10
Otras (n=5)	278 ± 602	3	2875 ± 3003	5
Masculino (n=6)	510 ± 567	4	3173 ± 2276	6
Femenino (n=9)	323 ± 585	5	3269 ± 2990	9
			$\bar{x} \pm D.E.$	

ser los elementos que permiten hacer correlaciones con las concentraciones de CF. Como se puede observar, solamente 9 casos tuvieron concentraciones detectables de Al, mientras que el Si se encontró en todos los pulmones estudiados. Sin embargo, dada la gran heterogeneidad en los niveles obtenidos, se intentó buscar algún patrón de distribución en relación al lugar de residencia y sexo de los pacientes.

La edad promedio en esta muestra fue de 49.9 ± 19 años, 60% de los casos correspondieron al sexo femenino, 67% fueron habitantes de la Ciudad de México en los últimos 20 años, 40% fueron fumadores y 20% tuvieron alteraciones compatibles con bronquitis crónica y enfisema. Todos los pacientes fallecieron por enfermedades cardiovasculares.

Como se puede observar en los Cuadros IX y X, los niveles de Al y Si no tienen correlación significativa con la edad, sexo, lugar de residencia, tabaquismo, enfisema y bronquitis crónica.

La búsqueda de CF en estos pacientes permitió encontrar por lo menos un CF en el 79% de los casos. El número de CF encontrados varió de 0 a 172/gr, con una mediana de 2.5 CF/gr. La falta de correlación entre estas concentraciones y las de Si ($\bar{x} = 0.608 \pm 0.495$ ppm) (Cuadro X), indican que el contenido pulmonar total de Si no depende del número de CF identificados.

Interesantemente, solo cuatro pacientes tuvieron niveles detectables de Ti. De estos, el que tuvo las cuentas más altas, fue una paciente que también tuvo niveles altos de Si (1 ppm) y que vivió en el puerto de Veracruz (caso 7 Ti: $40\ 258 + 280$ ctas/20seg). Los otros tres pacientes --

CUADRO IX
ANALISIS ELEMENTAL DE PULMONES DE AUTOPSIAS POR
FLUORESCENCIA DE RAYOS X

Caso	Edad	Sexo	Residencia	Al (Ctas./20 seg)	Si (Ctas./20 seg)
1*	81	F	Cd. México	170 _± 246	2819 _± 111
2*	50	M	Cd. México	1303 _± 210	4311 _± 99
3	27	M	Cd. México	894 _± 99	5551 _± 98
4	28	F	Puebla	1355 _± 172	6669 _± 148
5*	66	M	Guanajuato	---	182 _± 161
6	69	F	Cd. México	---	642 _± 138
7*	54	F	Veracruz	36 _± 59	5366 _± 57
8	61	F	Cd. México	1345 _± 192	8610 _± 677
9*	65	M	Cd. México	47 _± 75	782 _± 191
10*	25	F	Cd. México	---	339 _± 112
11	38	F	Edo. México	1 _± 2	139 _± 107
12	15	F	Michoacán	---	2201 _± 131
13	60	F	Oaxaca	---	2640 _± 97
14	51	M	Cd. México	---	2980 _± 140
15	58	M	Cd. México	818 _± 95	5232 _± 147

* Tabaquismo

CUADRO X

ANALISIS ELEMENTAL DE PULMONES DE AUTOPSIAS POR
FLUORESCENCIA DE RAYOS X

Caso	CF/gr	Si (ppm)
1*	172	0.533
2	10	0.800
3	7	1.060
4	16	1.260
5	2	0.066
6	0	0.133
7	2	1.000
8	0	1.630
9*	3	0.130
10	27	0.60
11	2	0.030
12	15	0.400
13	--	0.500
14	0	0.560
15*	2	0.960

$$\bar{x} = 0.608 \pm 0.495$$

$$r = -0.065$$

* Bronquitis crónica y enfisema

CUADRO X

ANALISIS ELEMENTAL DE PULMONES DE AUTOPSIAS POR
FLUORESCENCIA DE RAYOS X

Caso	CF/gr	Si (ppm)
1*	172	0.533
2	10	0.800
3	7	1.060
4	16	1.260
5	2	0.066
6	0	0.133
7	2	1.000
8	0	1.630
9*	3	0.130
10	27	0.60
11	2	0.030
12	15	0.400
13	—	0.500
14	0	0.560
15*	2	0.960

$$\bar{x} = 0.608 \pm 0.495$$

$$r = -0.065$$

* Bronquitis crónica y enfisema

con Tl en sus pulmones fueron habitantes de la Ciudad de México (caso 1 - Tl:299 \pm 171 ctas/20 seg; caso 2 Tl: 6770 + 137 ctas/seg; caso 3 Tl:5206 \pm 108 ctas/20 seg). Solamente se detectó Pb en tres pacientes, todos - ellos habitantes de la Ciudad de México: el caso 8 con 188 \pm 139 ctas/20 seg.

El estudio de los pulmones empleados como controles positivos se ilustran en el Cuadro XI. Como se pueda observar el caso de silicosis tiene niveles pulmonares de Si hasta 8 veces más altos que los encontrados en los - casos de autopsia. Por otro lado, el caso de mesotelioma tuvo niveles - similares a los encontrados en los 15 casos del I.N.C.I.Ch., a pesar de - que el número de CF aislados de estos pulmones correspondió a 11679 CF/gr.

Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares:

Los casos incluidos en esta parte de la tesis, correspondieron a pacien-- tes biopsiados por presentar patología intersticial pulmonar. Con la - - excepción de un paciente, todos fueron del sexo femenino y la edad prome-- dio correspondió a 38 años. El cuadro clínico de estos pacientes se ca-- racterizó por la presencia de tos productiva, disnea progresiva, cianosis ungueal y labial progresiva y en tres pacientes dolor torácico. Los ha-- llazgos de las pruebas funcionales respiratorias e intercambio gaseoso -- demostraron: restricción y broncoobstrucción de moderada a severa e hipoxe-- mia de moderada a severa en todos los pacientes (Cuadro XII). El patrón radiológico fue reticulonodular en seis casos y micronodular en tres. El tiempo promedio de evolución antes de la biopsia fue de 14.5 meses.

CUADRO XI

ANALISIS ELEMENTAL DE PULMONES DE AUTOPSIAS POR
FLUORESCENCIA DE RAYOS X

Caso	A1	Si	Si (ppm)
	Ctas. /20 seg	Ctas. /20 seg	
Silicosis	8818±200	71404±415	12.6
Mesotelioma	11±23	4941±27	0.9

CUADRO XII
MICROANÁLISIS DE RAYOS-X EN BIOPSIAS PULMONARES
CON LESIÓN INTERSTICIAL
PRUEBAS DE FUNCIÓN RESPIRATORIA

No. Caso	CV		FME		paO ₂		paCO ₂	
	i	f	i	f	i	f	i	f
1	60	-	137	-	53	-	33	-
2	19	-	9	-	30	-	40.3	-
3	59	68	50	90	47	-	45	-
4	46	44	24	15	64	38	32	36.8
5	36	42	52	72	32	40	44.5	39.5
6	17	21	52	23	44	37	30.5	33
8	35	45	31	73	46	59	30.8	33.4
9	40	57	26	50	33	53	32.2	30
11	43	41	40	26	57	52	32.5	35.2

i = inicial

f = final

CV = Capacidad vital %

FME = flujo mesoespiratorio 25% - 75%

paO₂ (mmHg)

paCO₂ (mmHg)

El tiempo de seguimiento mas largo hasta septiembre de 1984 fue de 19 meses. Para esta fecha habían fallecido 2 pacientes y se perdieron 3 de la consulta. Los cortes de las biopsias pulmonares tuvieron un área promedio de 0.82 cm^2 , de la cual el 38.9% correspondió a septos alveolares, en contraste con lo obtenido de los casos controles de 1.06 cm^2 con 18% del área ocupada por septos. Los diagnósticos histopatológicos obtenidos fueron: 3 neumonitis intersticiales granulomatosas (dos con antecedentes de exposición a palomas y precipitinas positivas), 2 neumonías intersticiales usuales, 2 neumonitis intersticiales, una neumonía linfocítica y un caso de daño alveolar difuso (único hombre del grupo) (Cuadro XIII y XIV). La determinación cuantitativa del porcentaje de septos engrosados por fibrosis dió un promedio de 30.1%, 25.7% para los septos inflamados y del 34.6% para los septos con lesión mixta (inflamados y fibrosos). La correlación de estos parámetros con las pruebas de función respiratoria solo dió un coeficiente de correlación aceptable, cuando se correlacionó capacidad vital con el porcentaje de septos fibrosos ($r = -0.6$).

En los casos controles no se identificaron alteraciones intersticiales de ninguna naturaleza.

El microanálisis de rayos-x evidenció que los soportes de carbón empleados para el análisis de las biopsias pulmonares contenía Mg, Al, Si y K (Fig.4). Mientras que el tejido pulmonar, emitió señales de Mg, Al, Si, P, S, Cl, K, Ca, Ti y Fe. No obstante, los resultados discutidos aquí se centrarán sobre Al, Si, Mg y K, principales componentes de las partículas inorgánicas en que se enfoca nuestro estudio.

Los resultados obtenidos tuvieron una gran dispersión y una distribución -

CUADRO XIII
MICROANÁLISIS DE RAYOS-X EN BIOPSIAS PULMONARES
CON PATOLOGÍA INTERSTICIAL

BIOPSIAS INCICH

<u>Casos</u>	<u>Edad</u>	<u>Sexo</u>	<u>Evolución</u>	<u>Patología</u>
1	57a	F*	6 años	NIU
2	23a	F	9 meses	NIG
3	63a	F	3 meses	NIG
4	42a	F	6 meses	NIU
5	50a	F*	3 años	NI
6	14a	F	9 meses	NIL
7	9a	M	15 días	DAD
8	32a	F	6 meses	NIG
9	50a	F	4 años	NI
\bar{X}	38a		21 meses	
10	17a	M	---	Fallos
11	39a	F	---	Enfisema Pulmonar

* Tabaquismo +

NIU = Neumonía intersticial usual

NIG = Neumonía intersticial granulomatosa

NI = Neumonitis intersticial

NIL = Neumonía intersticial linfóide

DAD = Daño alveolar difuso

CUADRO XIV
 MICROANÁLISIS DE RAYOS-X EN BIOPSIAS PULMONARES
 CON LESION INTERSTICIAL

EVOLUCION A SEPTIEMBRE 1984

Caso	Dx	Evolución	Sintomatología	PFR	% Fibrosis
** 1	NIU	13 meses	mejoró	---	9
2	NIG*	19 meses	mejoró	---	55
** 3	NIG	6 meses	asintomática	mejoró	21
4	NIU	4 meses	falleció	empeoró	62
5	NI	15 meses	asintomática	mejoró	12
6	NIL	8 meses	deterioró	empeoró	48
7	DAD	días	falleció	---	0
8	NIG	12 meses	asintomática	igual	31
** 9	NI*	5 meses	mejoró	mejoró	40
** 11	Enfisema	6 meses	igual	igual	0

* Biopsia con SI

** Perdido

NIU = Neumonía intersticial usual

NIG = Neumonía intersticial granulomatosa

NI = Neumonitis intersticial

NIL = Neumonía intersticial linfóide

DAD = Daño alveolar difuso

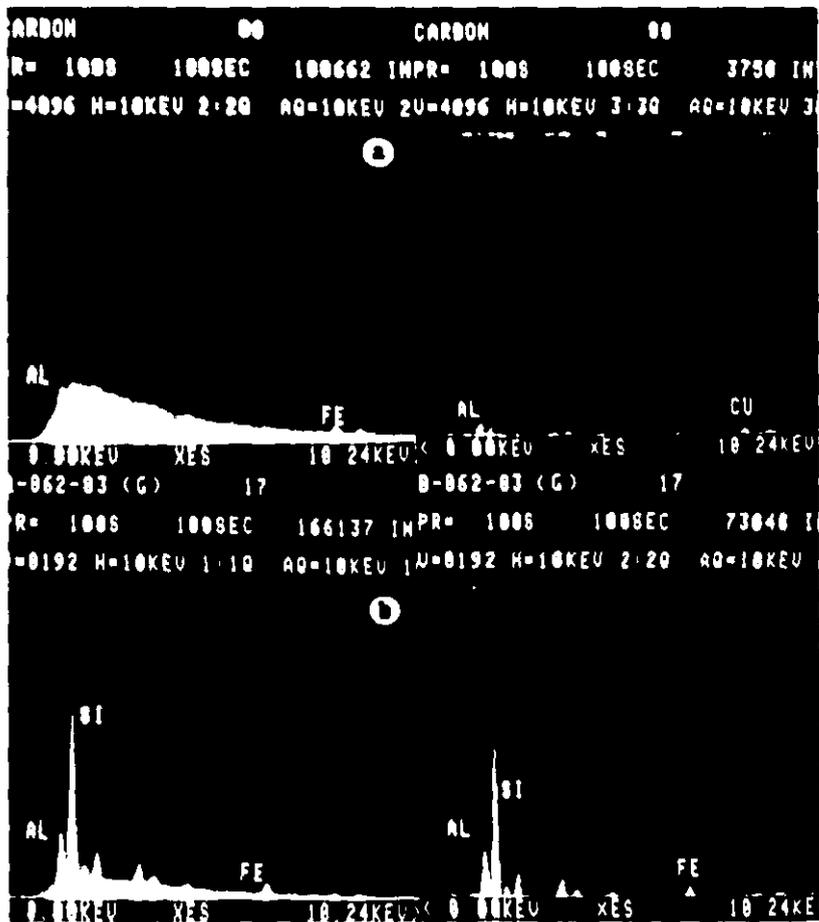


Fig.4 El microanálisis de rayos-x de los portamuestras de carbón reveló la presencia de algunos elementos como aluminio. La presencia de hierro y cobre representa radiaciones espurias (A). Este espectro se obtuvo -- del caso 9 y demuestra la manera en que fué sustraído el ruido de fondo (B).

anormal. Por esta razón se intentaron dos procedimientos estadísticos -- para el análisis de resultados. En primer lugar se analizaron los resultados de acuerdo a lo tradicionalmente reportado en la literatura para -- este tipo de estudios y que es, la estadística paramétrica. Para tal -- efecto, una vez sustraído el ruido de fondo de los picos de interés (P-B), se restó el valor promedio para A1 y S1 obtenidos del carbón (P-B 1565.7 para A1 y 988.7 para S1). Todos aquellos integrales menores de 360 fueron considerados como 0. Estos cálculos se efectuaron para los valores -- colectados de los septos "normales" y engrosados. A pesar de que este -- procedimiento redujo el número de análisis útiles por caso, se procedió a calcular promedios y desviaciones estandar para comparar por medio de la prueba "t", los valores obtenidos en los septos "normales" y gruesos dentro de cada biopsia. Estas comparaciones permitieron identificar dos casos (no.2 y 9) con niveles de A1 y S1 en los septos gruesos, significativamente mayores a los encontrados en los septos "normales" y en el resto de los casos (Fig. 5 y 6).

Con este mismo grupo de casos se trató de investigar la distribución de -- aquellos valores mayores de 0 en los septos "normales" y gruesos. Para -- nuestra sorpresa, en la gran mayoría de los casos, los septos "normales" tuvieron mas valores mayores de cero que los septos engrosados (Cuadro XV), a pesar de que los promedios fueron menores.

Preocupados por este hallazgo y el hecho de que los resultados se distribuyeron anormalmente, decidimos emplear procedimientos estadísticos no -- paramétricos. Este tipo de análisis nos demostró claramente que el comportamiento de los septos llamados "normales" era muy diferente al de --

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

ALUMINIO

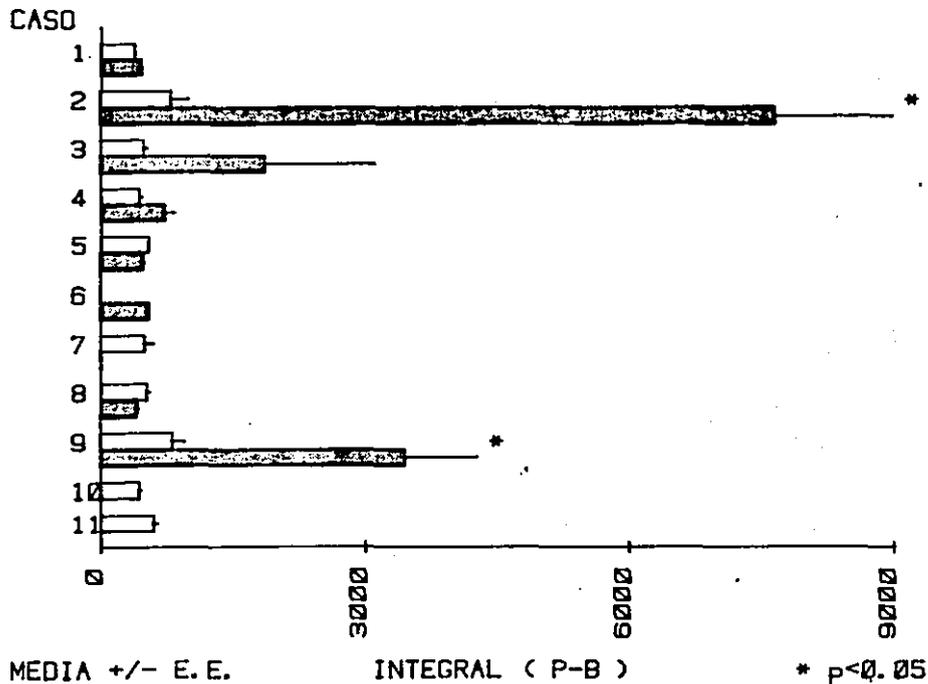


Fig. 5

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

ALUMINIO

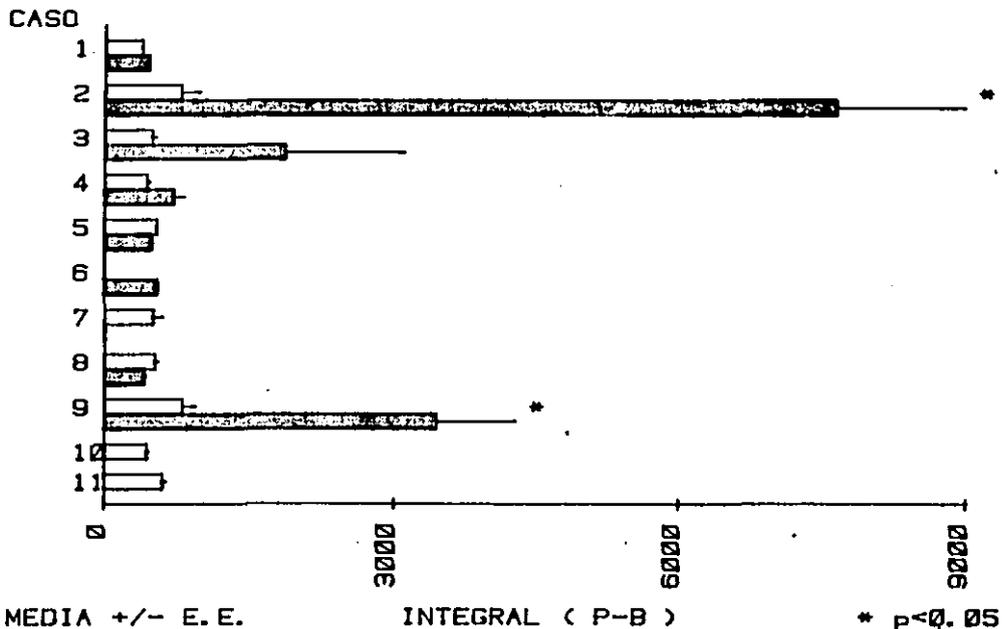


Fig. 5

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

SILICIO

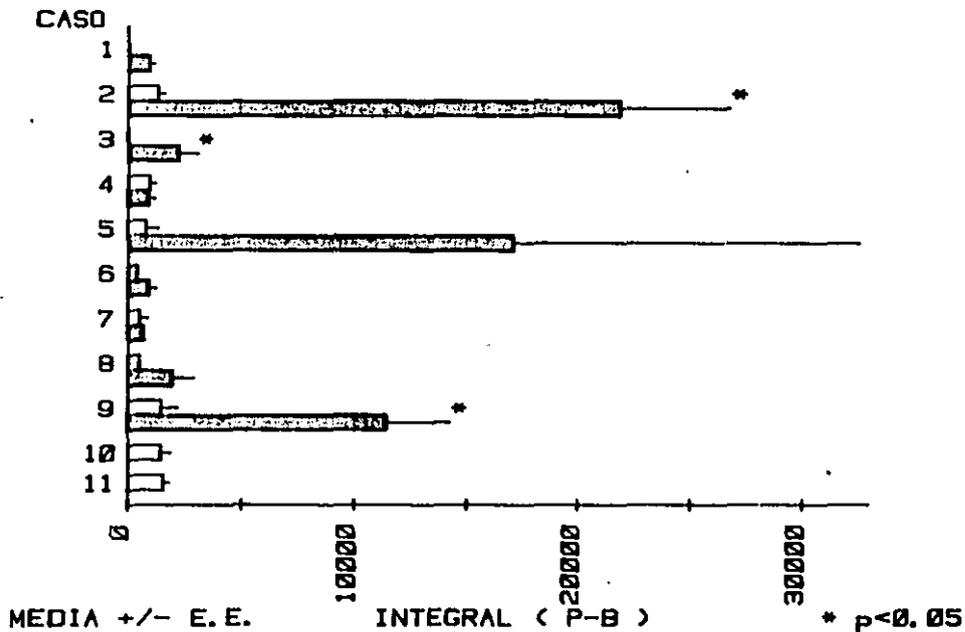


Fig. 6

CUADRO XV
 MICROANALISIS DE RAYOS-X EN BIOPSIAS PULMONARES
 CON LESION INTERSTICIAL

Al y Si

% P-B > 0

Caso	Al		Si	
	N	G	N	G
1	10	3	0	13
2	30	37	90	53
3	30	10	0	30*
4	30	13	40	13
5	10	3	20	13
6	0	3	20	13
7	30	0	20	3
8	50	10	10	13
9	60	50	30	63
10	10	-	17	-
11	40	-	73	-

N = normal

G = grueso

* p < 0,05

chi²

los engrosados, tanto para Mg, como para Al, Si y K (Fig. 7, 8, 9 y 10). Las medianas resultaron mayores en los "normales" que en los gruesos, -- con significancia estadística en muchos casos (prueba de "U"). El ejemplo concreto del Al, demostró una heterogeneidad en los valores muy semejante a la encontrada en los substratos de carbón, lo cual sugirió que -- las señales provenientes de los septos "normales" estaban contaminados -- con señales del carbón (Fig. 11). El siguiente paso fue comparar las zonas engrosadas entre caso y caso. Para tal efecto se empleó como control la biopsia del paciente no.7 por tratarse de un caso de daño alveolar difuso asociado a fiebre reumática activa y en el que no sospechamos de la participación de ningún agente inorgánico. Esta comparación permitió identificar sin problemas dos casos con niveles significativamente -- mayores de Si (caso no.2 y 9) (Fig. 12). El Al no demostró diferencias entre caso y caso. El Mg fue significativamente mayor en el caso no. 9 ($p < 0.05$) (Fig. 7) y el K en el caso no.2 ($p < 0.05$) (Fig. 10). En el caso no.2 fue posible identificar por luz polarizada la presencia de partículas extrañas, en el seno de reacciones granulomatosas. Estas partículas analizadas por microanálisis de rayos-x, mostraron una composición -- de Al, Si y K. Composición muy similar a la encontrada en el polvo doméstico de la paciente, enviado desde Mexicali B.C.N. La relación Al/Si fue 0.355 en ambos casos (Fig. 13).

El caso no.9 correspondió a una paciente del D.F. con una neumonitis intersticial, en la cual se pudieron polarizar algunas partículas. El microanálisis de rayos-x evidenció la presencia de Mg y Si. Desgraciadamente este paciente se perdió y no se pudo estudiar el polvo de su ambiente vital.

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

MAGNESIO

CASO

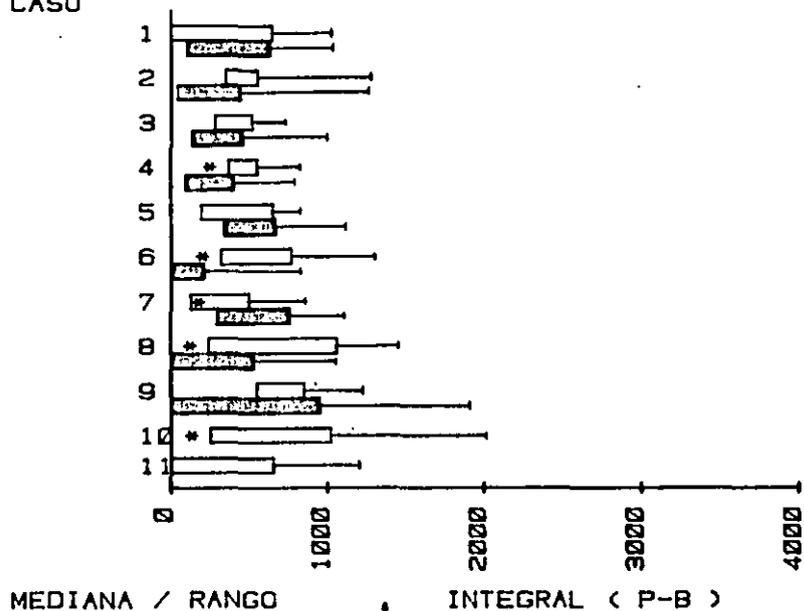


Fig. 7

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

ALUMINIO

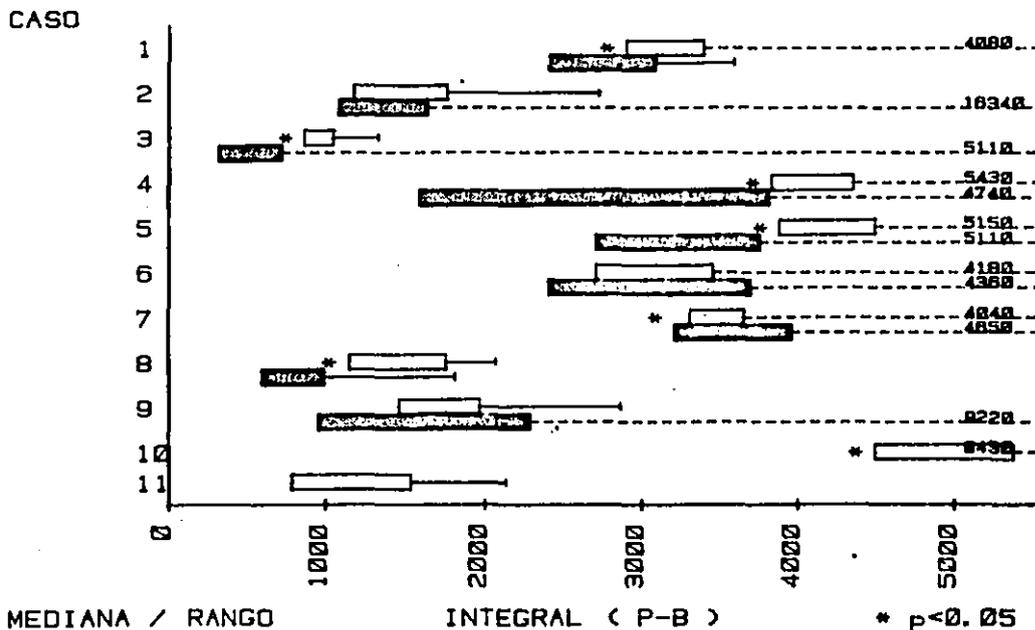
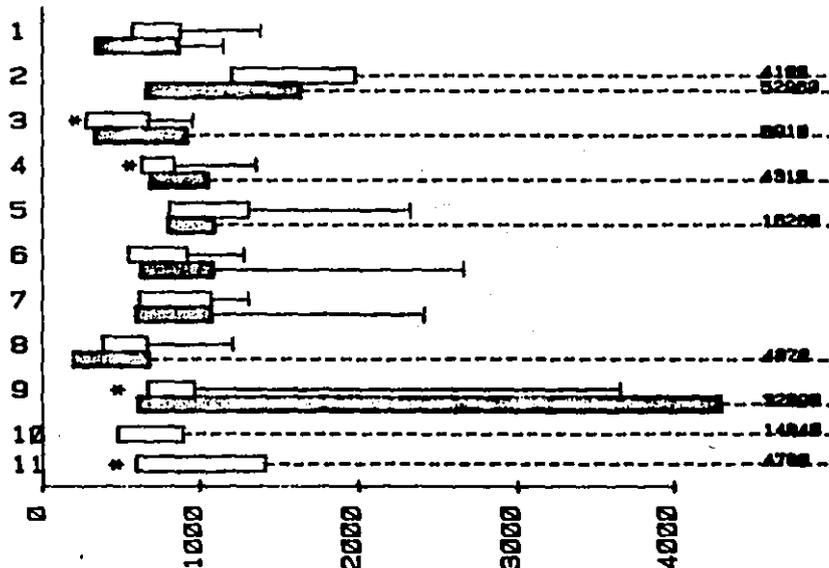


Fig. 8

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

SILICIO

CASO



MEDIANA / RANGO

INTEGRAL (P-B)

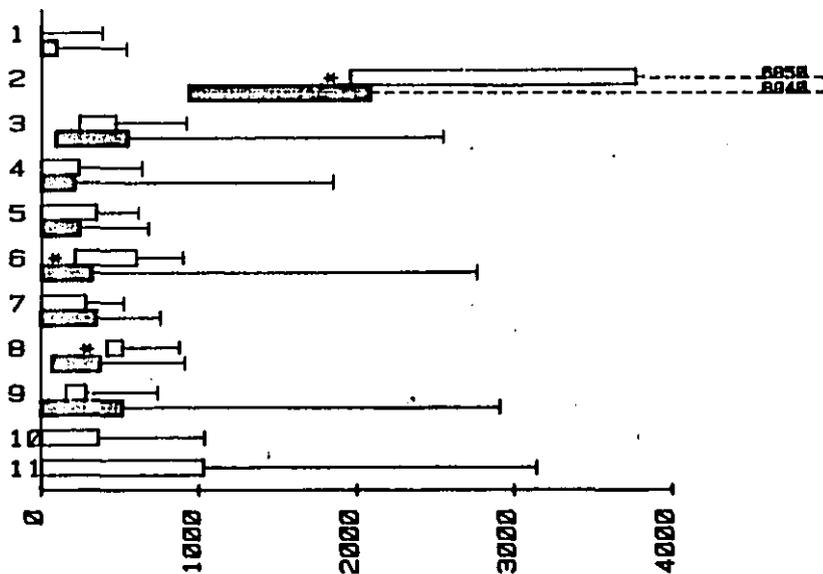
* p < 0.05

Fig. 9

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

POTASIO

CASO



MEDIANA / RANGO

INTEGRAL (P-B)

* P < 0.05

Fig. 10

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

ALUMINIO (C)

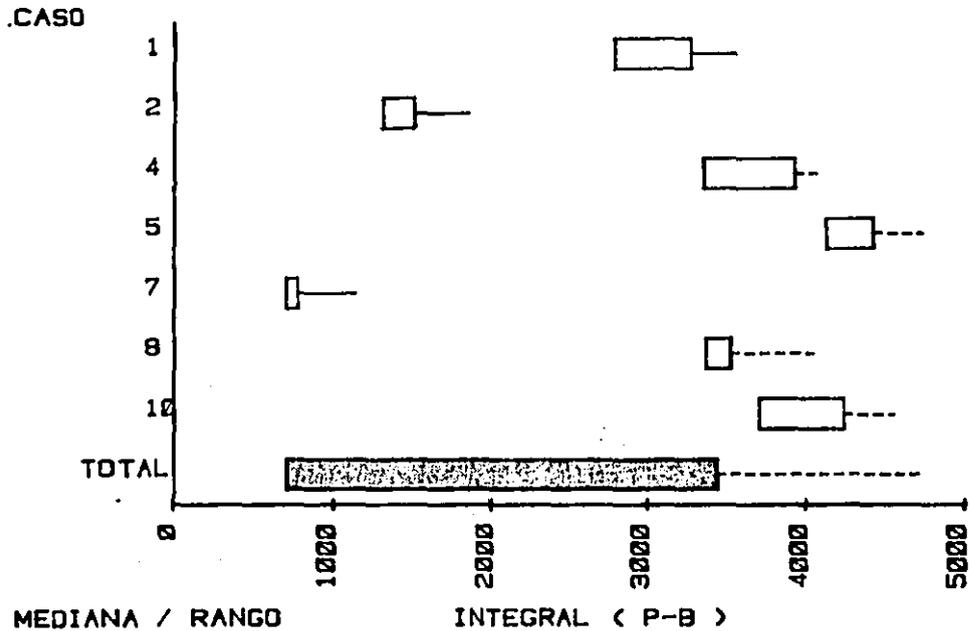


Fig. 11

MICROANÁLISIS DE RAYOS-X DE BIOPSIAS PULMONARES
CON LESION INTERSTICIAL

SILICIO (G)

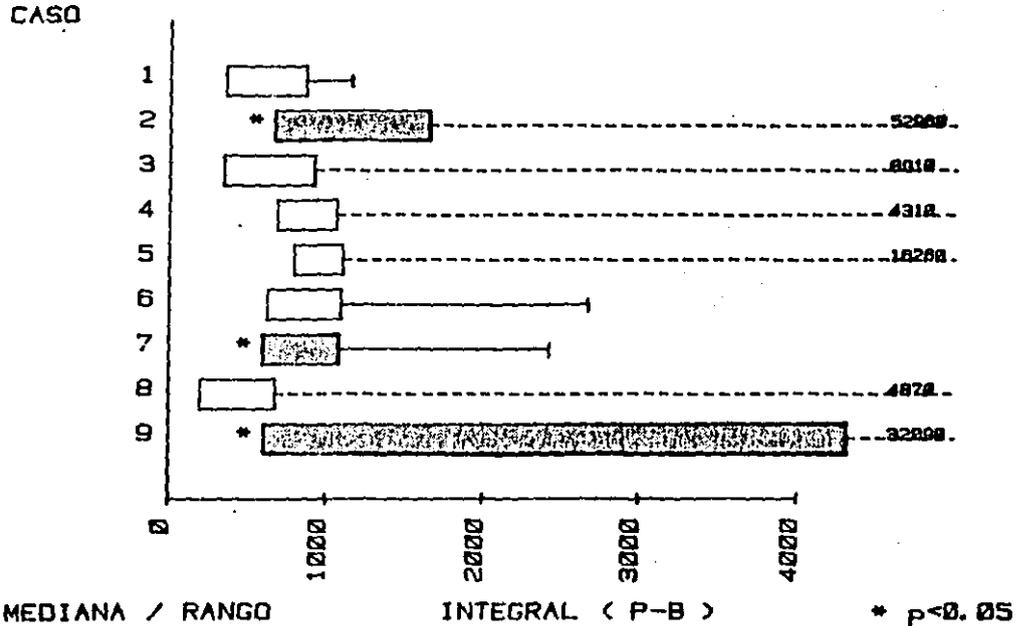


Fig. 12



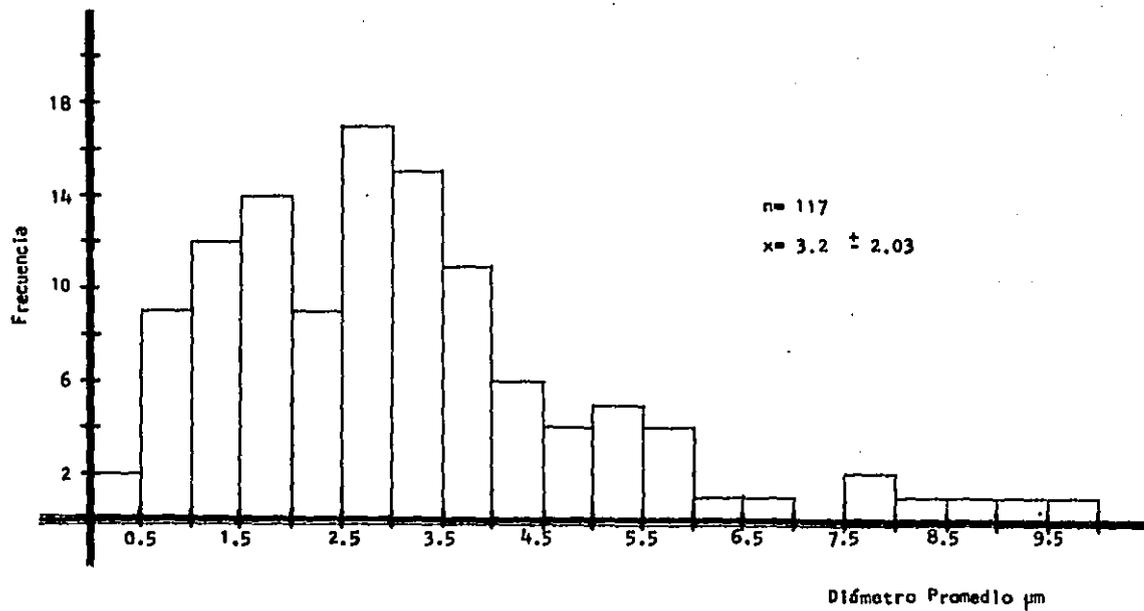
Fig.13 El estudio histológico de una de las biopsias con niveles altos de silicio, demostró una neumonía intersticial granulomatosa con reacción a cuerpo extraño (A) (150x, H&E). Este material extraño correspondió a partículas compuestas por Al, Si y K (D) que se observan como puntos blancos intracelulares en la imagen de electrones retrodispersos (B) (1200x). -- Estas partículas resultaron idénticas en composición a las del polvo recolectado en el hogar de la paciente de Mexicali. (4500x).

CUADRO XVI
POLVO DE MEXICALI
TAMIZADO Y ANALISIS GRAVIMETRICO

	%
Malla 16	
Malla 30	26,4
Malla 50	
Malla 100	25,1
Malla 200	36,0
Malla 325	10,3
Malla 400	0,2
Malla +400	2,0
Sedimentado	0,1

Fig.14

Polvo de Mexicali
Distribución por Tamaños



CUADRO XVII
POLVO DE MEXICALI
ANALISIS INDIVIDUAL DE PARTICULAS
EDXA

Elemento	%
Si	3
Si+Ca	3
Al+Si	11
Al+Si+ "x "	83

"X " = Mg, K, Ca, Ti, Fe

CUADRO XVIII
POLVOS INORGANICOS

TAMAÑO $\bar{x} \pm DE$

Polvo	S/Sonicar μm	% < 5 μm	Sonicado μm	% < 5 μm
Mexicali	3.2 ± 2.0	87	1.8 ± 0.9	97
Cuarzo	2.6 ± 1.6	87	3.4 ± 2.2	84
Fe Carbonilo	1.6 ± 0.7	100	1.5 ± 0.6	100
Lab. 103	4.1 ± 3.4	72	2.5 ± 1.5	100

A) Actividad Hemolítica: La hemólisis espontánea durante la incubación de eritrocitos por una hora, fue mínima. Sin embargo, se tomó en consideración y se empleó como blanco el sobrenadante de soluciones de eritrocitos no expuestos a polvo e incubados simultáneamente con las suspensiones problema.

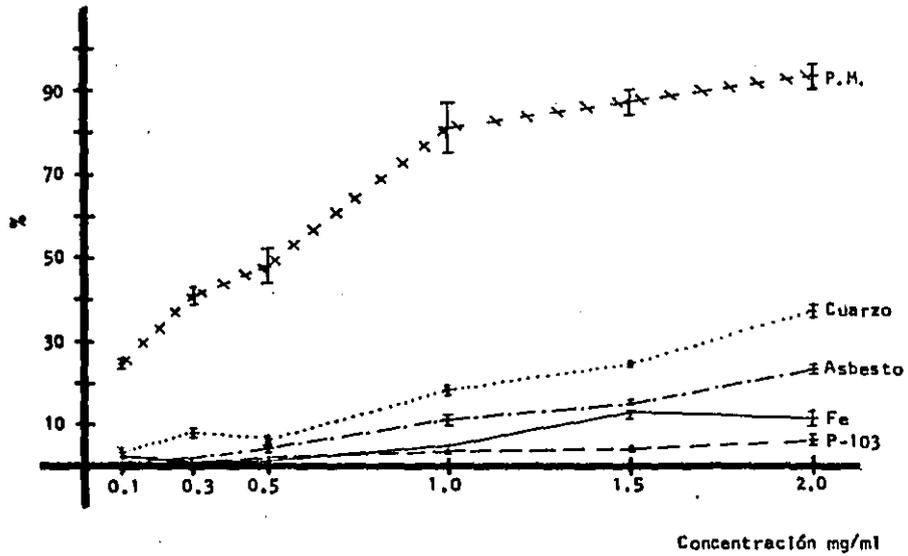
El empleo de partículas inertes como las de Hierro Carbonilo, produjeron una ligera y sostenida liberación de hemoglobina a partir de concentraciones de 1.0 mg/ml, no llegando a ser mayores del $9.6\% \pm 6.4\%$.

Los polvos empleados como controles positivos indujeron liberación de hemoglobina desde concentraciones de 0.1 mg/ml. Esta liberación fue creciente y mas notable a partir de 1 mg/ml, llegando a ser de aproximadamente al 10%. A concentraciones de 2 mg/ml se llegó a niveles de hemólisis del $36.8\% \pm 6.2\%$ y del $23.2\% \pm 4.6\%$ para el α cuarzo y asbesto crisótilo respectivamente. La hemólisis producida por el asbesto siempre fue menor y paralela a la producida por el cuarzo.

El polvo del laboratorio (L-103) se comportó como un polvo inerte a juzgar por los resultados obtenidos con el hierro carbonilo.

El polvo de Mexicell resultó ser mas hemolítico que los controles positivos, desde concentraciones de 0.1 mg/ml. La hemólisis producida por este polvo alcanzó niveles del $93\% \pm 12.8\%$ a concentraciones de 2.0 mg/ml. A partir de concentraciones de 1.0 mg/ml la liberación de hemoglobina tendió a estabilizarse en comparación con la respuesta rápida obtenida con concentraciones menores (Fig. 15).

Fig.15 Hemólisis por Polvos Inorgánicos



B) Actividad Citotóxica en Células de Lavado Broncoalveolar de Rata:

El lavado bronquial suave en las ratas permitió obtener un promedio de -- macrófagos por animal de $1,934,722 \pm 712,710$, lo que representa el 82.3% de todas las células recolectadas. El estudio citológico de estos lava-- dos permitió identificar la presencia de eritrocitos (15%) y linfocitos - (2.7%).

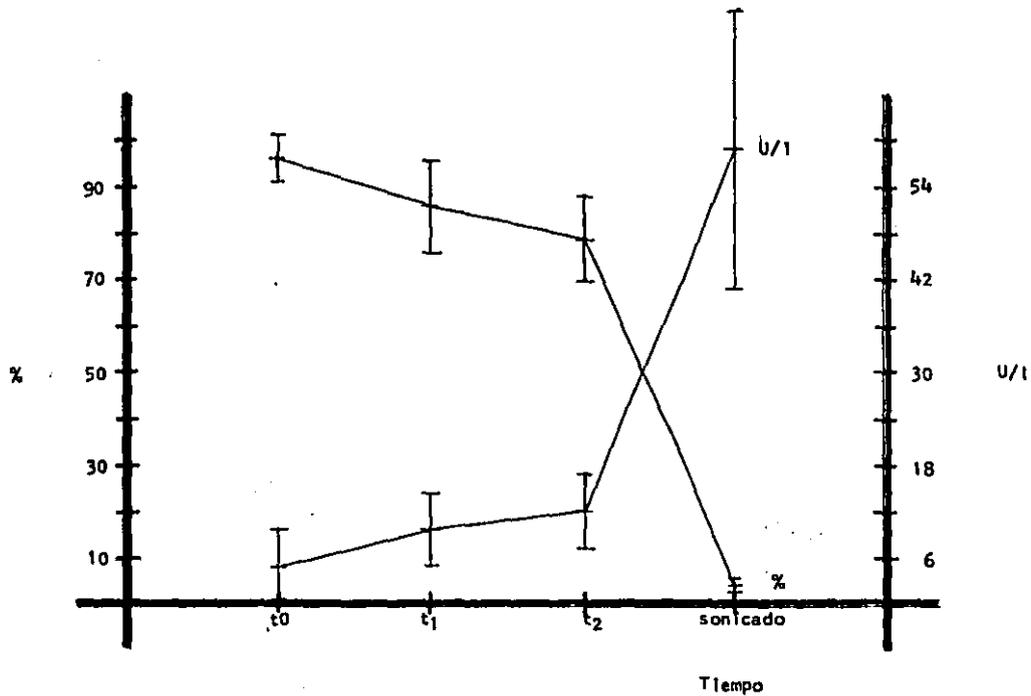
Los resultados de viabilidad por medio de la exclusión del azul Tripán, - permitieron obtener una buena correlación con la actividad de DHL liberada al medio por las células (Fig.16). El coeficiente de correlación fue: $r = -0.911$ ($p < 0.0001$). Esta correlación solo pudo efectuarse con las -- células control, ya que la concentración de polvo empleado en los otros - experimentos enmascaró la celularidad al momento de evaluar su viabilidad.

La incubación de células broncoalveolares en PBS en ausencia de polvo, demostró actividad de DHL inmediatamente después de su obtención. Esta liberación fue progresiva a partir de 4.9 ± 4.9 U/l al tiempo 0, hasta llegar a 12.4 ± 4.9 U/l después de dos horas de incubación. Estas concentraciones correspondieron al $7.5 \pm 7.1\%$ y al $21.5 \pm 10\%$ del total de enzima liberada por el mismo número de células después de haber sido sometidas a -- ultrasonido por una hora.

El Fe carbonillo produjo una ligera liberación constante de enzima al medio la cual se encontró por debajo de los niveles control, sin que esto fuera estadísticamente significativo ($p > 0.05$).

El polvo de Mexicali indujo una gran liberación de DHL a partir de la primera hora de incubación. Los niveles de enzima en este momento fueron de

Fig.16 Viabilidad y Actividad de DHL de Células Broncoalveolares



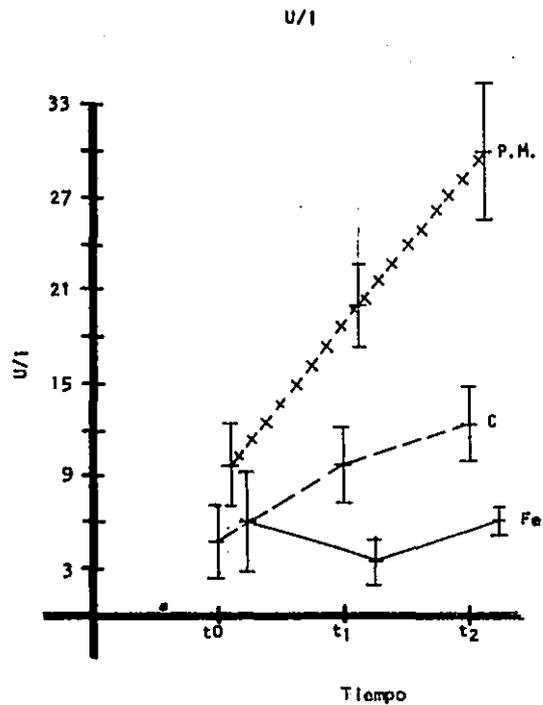
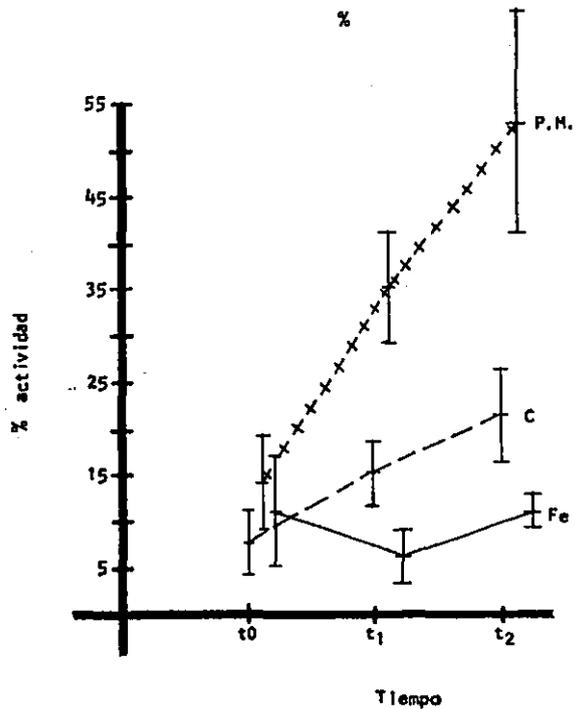
20 ± 4.9 U/l y alcanzaron 30 ± 9.8 U/l a las dos horas, representando el $35 \pm 10\%$ y el $55 \pm 3\%$ del total, respectivamente.

Como se puede observar en las figuras 17 y 18, al tiempo 0 los niveles de DHL no se incrementaron al simple contacto de los macrófago con el polvo.

C) Instilación Intratraqueal de Polvo de Mexicali a Ratas: La instilación única de 50 mg/0.3 ml de polvo de Mexicali en PBS, produjo lesiones pulmonares periféricas multifocales y rojizas. El aspecto microscópico de éstas lesiones se caracterizó por la presencia de granulomas pobremente formados, sin necrosis y con partículas inorgánicas irregulares no refringentes; cuando se emplearon partículas de 10 μ m de diámetro promedio. Acompañando a los granulomas, se identificaron septos engrosados por proliferación celular y depósitos de colágena. Las células involucradas en este proceso intersticial fueron histiocitos y linfocitos. La fibrosis intersticial resultó ser incipiente. En el caso de las ratas expuestas a partículas de 3 μ m de diámetro promedio, nunca se identificaron granulomas. La lesión existente consistió en engrosamientos focales mas o menos extensos de septos alveolares, por la presencia de histiocitos, linfocitos y colágena (Fig. 19 A). En ambos casos las lesiones se localizaron predominantemente alrededor de vías aéreas menores, especialmente bronquios terminales y conductos alveolares. Los bronquios y bronquiolos de mayor calibre llegaron a presentar datos de inflamación aguda y ulceración de la mucosa con cambios reparativos focales y proliferación del -

Fig.17 y 18

Polvo de Mexicali
Citotoxicidad y Actividad DHL



tejido linfoide asociado a ellos. En el caso de la exposición a partículas pequeñas, también se observaron manguitos perivasculares (arterias -- pequeñas) de histiocitos y linfocitos (Fig. 19 B). El estudio de estos pulmones por microanálisis de rayos-x demostró la presencia de partículas de silicato de aluminio atrapadas en el intersticio y macrófagos pulmonares (Fig. 20 A).

La instilación de partículas de cuarzo de diámetro promedio de $3\frac{1}{2}$ μ m resultó en una lesión pulmonar mas aparente y difusa. Esta se caracterizó por la presencia de granulomas blanquecinos de aproximadamente 1 mm de diámetro dispersos en todo el parénquima pulmonar. La imagen histológica de estos granulomas correspondió al clásico nódulo silicótico en una fase celular tardía y en el que se identificaron cristales birrefringentes de bordes agudos y zonas pequeñas de necrosis. La distribución predominante de estas lesiones fue alrededor de bronquiolos terminales y conductos alveolares (Fig. 19 C). El microanálisis de rayos-x demostró la presencia de silicio en el seno de los nódulos (Fig. 20 B).

La instilación de Fe carbonillo (1,5 μ m de diámetro promedio) no produjo lesión alguna (Fig. 21 A). Sin embargo fue posible identificar algunos alveolos llenos de esferitas compuestas de Fe en la vecindad de las vías aéreas menores (Fig. 21 B).

Los animales instilados únicamente con el vehículo tuvieron una arquitectura pulmonar normal (Fig. 19 D).



Fig.19 Aspecto al microscopio de luz del parénquima pulmonar periférico de ratas expuestas al polvo de Mexicali. Obsérvese la infiltración intersticial (A, 150x) que se extiende al espacio perivascular (B, 150x). C) lesión granulomatosa inducida por cuarzo y localizada en la bifurcación de un bronquiólo terminal (150x) y (D) aspecto histológico normal de un animal control (120x). (H&E).

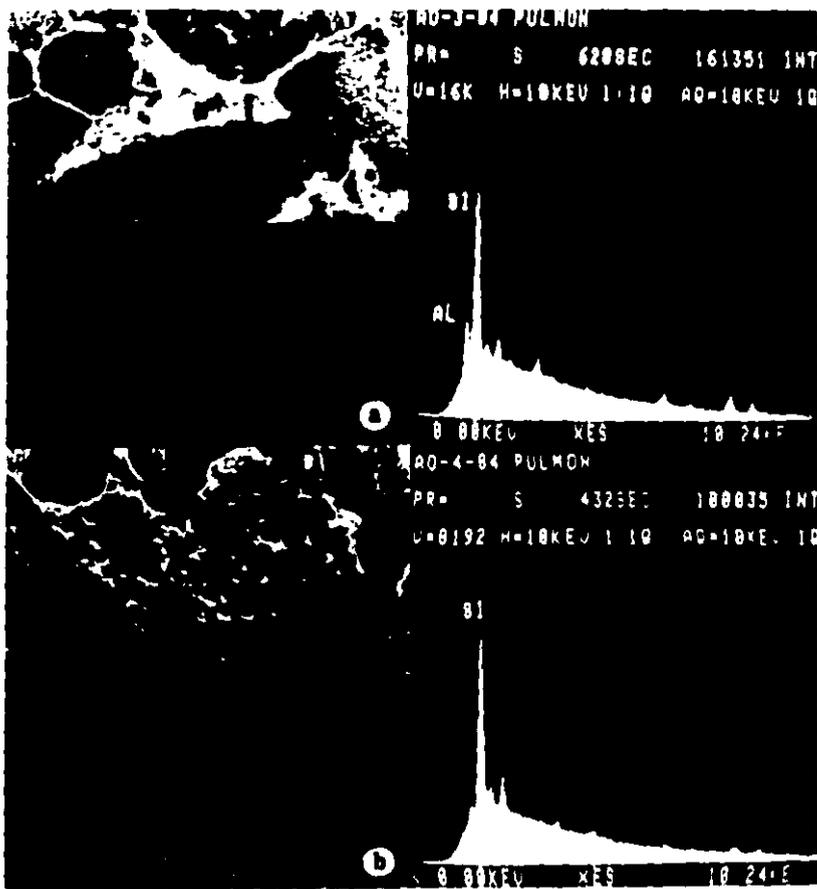


Fig.20 El microanálisis de rayos-x de los pulmones expuestos a feldespatos (A, 200x) y cuarzo (B, 100x), reveló la presencia de estos compuestos en el seno de las lesiones intersticiales. Microscopía electrónica de barrido y mapeo de rayos-x.

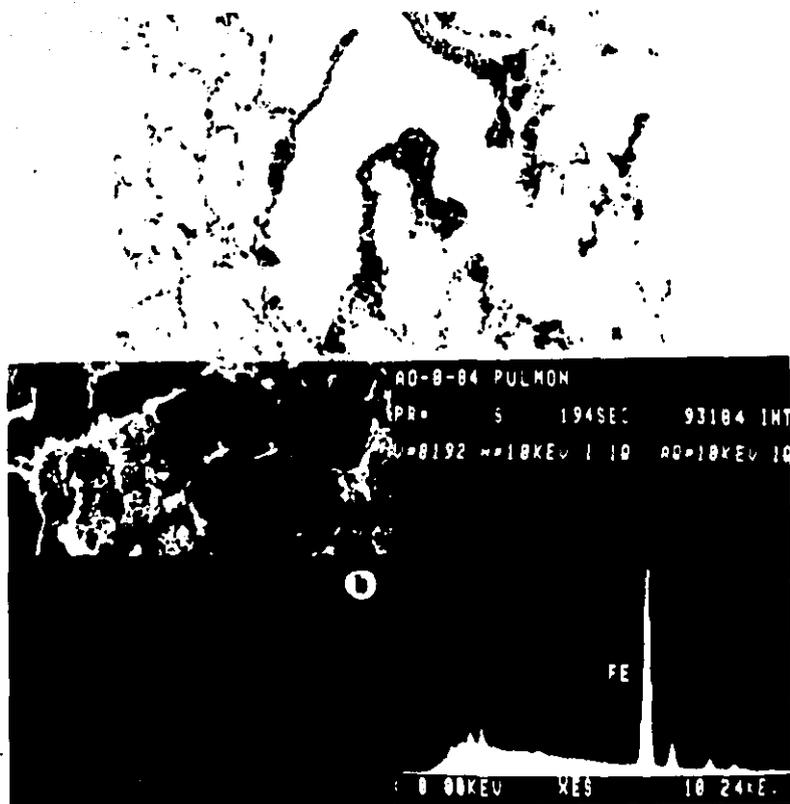


Fig.21 La instilación intratraqueal de Fe carbonillo resultó en la acumulación intralveolar de partículas de Fe, en la vecindad de vías aéreas menores. A) corte visto al microscopio de luz (120x, H&E). B) corte visto al microscopio electrónico de barrido y mapa de rayos-x (150x).

COMENTARIOS

Identificación de CF en Casos de Autopsia:

Los resultados encontrados en el presente estudio en relación a la concentración de CF y grado de exposición, son comparables a los reportados en otras ciudades del mundo como contaminación de fondo (7, 8, 29, 30, 31).

A pesar de la gran diversidad de técnicas de obtención y muestreo que han sido utilizadas por diversos autores, se ha podido establecer cierto consenso. Así se determinó que los habitantes de grandes ciudades tienen -- concentraciones de fibras contaminantes menores de 500 fibras/gr. Encontrándose concentraciones de 0 a 50 fibras/gr de pulmón en la gran mayoría de estos sujetos. Esto contrasta con las concentraciones de millares encontradas en poblaciones expuestas ocupacionalmente y en donde se observan con mayor frecuencia las enfermedades pulmonares asociadas a fibras.

Hay que hacer notar que al hablar de concentraciones de fibras, se pretende abarcar a todas aquellas fibras recubiertas (CF) y no recubiertas. La relación entre concentraciones de fibras y CF tiene una gran variabilidad, especialmente en los grupos ocupacionalmente expuestos y en donde la concentración de CF puede estar subestimando las concentraciones reales hasta 5000 veces. Este no parece ser el caso en los habitantes de grandes ciudades y la cuantificación de CF ha sido aceptada como una medida de -- exposición a fibras contaminantes (7, 8). Esta discrepancia se explica por el límite de resolución del procedimiento de identificación empleado y por el hecho de que aquellas fibras menores de 10 μ m de longitud - - -

no son capaces de inducir la formación de CF.

Existe una clasificación morfológica de los CF de acuerdo al aspecto y -- composición de la fibra central, llamando típicos aquellos compuestos de fibras de asbestos y atpícos, a los compuestos de fibras no asbestos - - (39). A pesar de esta clasificación, en el presente estudio no se intentó subdividir a los CF, ya que independientemente de su composición, todas las fibras tienen potencial patógeno. No obstante señalaremos que la gran mayoría de los CF estudiados tuvieron una apariencia típica, como - se muestra en la Fig. 1.

Los porcentajes de exposición reportados en la literatura son variables - de acuerdo a la época y lugar en que se haya realizado el estudio (8,29, 30). Bhagavan y Koss (30) han demostrado un aumento progresivo de casos - expuestos en la Ciudad de Baltimore dependiendo de la década estudiada. - Este aumento va del 41% en la década de los 40 a un 91% en 1972. El 93% encontrado en nuestra serie es comparable al 97% reportado en la Ciudad - de Chicago en 1977 (31). La falta de diferencias significativas entre -- nuestra muestra de 1977 (90%) y 1981 (97%), probablemente obedecen a lo - corto del lapso estudiado.

A pesar de que se esperaban concentraciones menores de CF en los habitantes del interior de la República Mexicana, en relación a los habitantes - de la Ciudad de México, no fue posible demostrarlo. Este problema, en parte, podría explicarse por la heterogeneidad del lugar de residencia de los casos de provincia (rural y urbano) y en parte por el número y dispersión de los resultados (en este grupo es donde existe un caso con clara exposi

ción ocupacional). No debemos pasar por alto la posibilidad de que el -- grupo de provincia estuviera expuesto a fibras naturales inductoras de CF y no necesariamente a contaminantes industriales, lo que explicaría la -- falta de diferencia entre los grupos. Este último punto requiere del análisis químico de las fibras para su dilucidación.

El mismo estudio de Bhagavan y Koss (30) ejemplifica la tendencia general que tienen los viejos a presentar mayores concentraciones de CF. Esta -- patrón no fue encontrado por nosotros, probablemente debido a que, tanto jóvenes como viejos, hemos estado expuestos por igual a grados de contaminación atmosférica grave durante un intervalo relativamente corto.

Las diferencias de concentración encontradas entre la población masculina y femenina, es un fenómeno que ya ha sido observado por otros (31). Aunque estos autores no ofrecen explicaciones, en nuestros casos es posible que las actividades intramuros que predominan en el grupo femenino, tengan algo que ver con esto. De alguna manera, la necesidad aparente en el grupo masculino por desplazarse de sus hogares al lugar de trabajo, implica una mayor exposición a atmósferas contaminadas. Este punto se ve reforzado por la observación de diferencias significativas entre las mujeres de provincia y de la ciudad. Aunque no se puede descartar el factor ocupacional, la información disponible no permitió elaborar sobre el tema, excepto en aquellos casos con concentraciones mayores a 200 CF/gr.

En cuanto al hábito tabáquico, los niveles de CF encontrados por nosotros no tuvieron correlación alguna con el mismo. Es de esperarse que en los sujetos fumadores, las alteraciones en los mecanismos de defensa del árbol

traqueobronquial permitan una mayor retención de partículas

Resultados concordantes con esta hipótesis han sido publicados por Churg y Warnock (31), pero únicamente en aquellos individuos con grados de exposición que van de moderados a severos. Las alteraciones morfológicas - compatibles con bronquitis crónica y el enfisema pulmonar, tampoco mostraron correlación alguna con las concentraciones encontradas.

El análisis de los casos de la Ciudad de México, en relación al lugar de residencia dentro de ella, no evidenció diferencias. Los reportes de la Subsecretaría del Mejoramiento del Ambiente, SSA (20), describieron diferentes concentraciones de partículas totales suspendidas en el aire en diversas áreas de la ciudad; diferencias que en orden decreciente van del noreste al sureste y del noroeste al suroeste. Este tipo de diferencias sería difícil de demostrar en los habitantes de la ciudad, dado el gran desplazamiento diario de su población. Por otro lado, debe tomarse en cuenta que predominantemente la población estudiada provenía del sur de la ciudad y que, desconocemos si las fibras siguen un patrón de distribución similar al de las otras partículas suspendidas en el aire.

Aunque los resultados obtenidos con este tipo de estudios no son transferibles directamente a la población general, su aplicación ha resultado -- útil en diversas ciudades del mundo (7, 8). Esta situación obliga a extender los estudios a diversos grupos de población dentro de la misma -- área de interés, con el objeto de conocer o identificar variables y reproducibilidad (40, 41, 42). Si además consideramos el alto índice de exposición a fibras contaminantes encontrado en la muestra del I.N.C.I.Ch., -

la necesidad de un estudio mas amplio y permanente resulta obvia. Por -- estas razones estudiamos una muestra adicional a partir de una poblaci3n hospitalaria diferente (H.G.M.G.G.), tambi3n localizada en el sur de la - Ciudad de M3xico y en donde se maneja otro tipo de padecimientos.

Los resultados obtenidos de esta segunda muestra concuerda con nuestras - observaciones originales. El muestreo 3nico del l3bulo superior derecho - pulmonar ofreci3 resultados muy similares a los encontrados en la muestra total y en el mismo l3bulo de los casos del I.N.C.I.Ch. En estos casos - tampoco fue posible encontrar correlaci3n entre el lugar de residencia, - la edad y el a3o de muestreo. Desafortunadamente, la falta de algunos da - tos personales de estos pacientes, como su ocupaci3n, no nos permiten co - mentar en relaci3n a la falta de diferencias en las concentraciones de CF por sexo.

Estos resultados servir3n como punto de partida y comparaci3n de estudios posteriores encaminados a la vigilancia del problema. A la fecha existen otros datos relacionados obtenidos en poblaciones abiertas y cerradas del norte de la Ciudad de M3xico que demuestran una clara exposici3n a fibras contaminantes. Sin embargo, estos resultados fueron obtenidos en muestras de esputo y no es posible correlacionarlos directamente con los nuestros - (19, 19 bis). Adicionalmente , tambi3n se ha observado una clara exposi-- ci3n a dichas fibras en los perros callejeros de nuestra ciudad (22). A - pesar de estos esfuerzos, todav3a es necesaria la incorporaci3n de nuevos datos obtenidos con t3cnicas comparables en otras 3reas de la ciudad, as3 como la evaluaci3n de otras part3culas.

Interesados en este segundo punto, nos propusimos evaluar con los medios -

disponibles a la fecha de inicio de esta tesis, el contenido de silicio retenido en el pulmón de humanos.

Se eligió el silicio por ser el principal componente de la mayoría de las partículas contaminantes conocidas como patógenas. Esto incluye a las fibras: asbestos y no asbestos.

Análisis Elemental de Pulmones de Autopsia por Fluorescencia de Rayos-X:

El interés por conocer los contaminantes ambientales capaces de ser retenidos en los tejidos humanos, ha estimulado el empleo de diversas técnicas analíticas que permiten su identificación (43). Esto incluye a la espectrofotometría de rayos-x, la cual da información en cuanto al contenido de elementos químicos presentes en las muestras a estudiar. Esta técnica no permite conocer la manera en la que los elementos se encuentran, sea libre o en combinación; ni tampoco su localización dentro de los tejidos. No obstante ofrece un panorama de los diversos elementos que normalmente o anormalmente componen la muestra, representando una buena técnica de rastreo (44).

Existen algunos estudios en la literatura en donde esta metodología ha sido empleada para conocer los niveles de metales retenidos en los pulmones de habitantes de ciudades muy industrializadas (38). Sin embargo, esta información no incluye las determinaciones de los contaminantes que aquí nos interesan.

El interés particular por determinar los niveles de silicio obedece dos -

propósitos, en primer lugar tratar de correlacionar estos niveles con la concentración de CF y en segundo lugar darnos una posible idea de la existencia de otros contaminantes ricos en Si diferentes a los CF.

Los resultados obtenidos con esta técnica nos permitieron identificar diversos elementos, (Fe, Cu, Ti, Pb, Br y Zn) indicadores de exposición a contaminación atmosférica de origen vehicular e industrial. Esto se ve claramente con los niveles encontrados de Ti y Pb. Aunque el Ti ha sido reportado como un elemento inocuo indicador de exposición a contaminación industrial (38, 45), también representa un elemento presente en polvo de origen marino. Esto puede ser el caso de la paciente de Veracruz en la que además se encontraron niveles altos de Si, probablemente relacionados con la exposición a arena de mar u otras arcillas. Los otros pacientes con Ti fueron habitantes de la Ciudad de México. En el caso de Pb, es interesante hacer notar que todos aquellos individuos que lo tuvieron, correspondieron a habitantes de la Ciudad de México, indicando una exposición a sustancias ricas en Pb como pudiera ser la gasolina. A pesar de que estos resultados son interesantes, su estudio más profundo desviaría el propósito principal de esta tesis.

En relación a los niveles de Al y Si encontrados, no fue posible hacer correlaciones con edad, sexo, lugar de residencia, ocupación, etc. Esto correlaciona con la experiencia obtenida del análisis de los CF y en la que participan variables de difícil control como el desplazamiento del individuo dentro de la ciudad, la exposición desconocida a contaminantes por vecindad con fuentes no identificadas, fenómenos naturales relacionados con la geografía (p. ej. el caso de Veracruz), etc. No obstante crea-

mos que este tipo de estudios ofrecen un panorama de la situación y permiten la elaboración de protocolos de estudio mejor dirigidos. De esta manera, hemos encontrado una falta de correlación entre los niveles de Si y CF que indican la exposición a otros contaminantes ricos en este elemento. Hecho que queda mejor representado con el caso del mesotelioma, en el que a pesar de los miles de CF encontrados, la concentración de Si es muy similar a la encontrada en el resto de los pacientes. Aunque con estos estudios no es posible determinar la naturaleza y el riesgo de exposición a contaminantes, sí nos plantea la necesidad de buscar sus fuentes de exposición para valorar su patogenicidad. Si bien es cierto que los niveles de Si encontrados en estos pacientes están muy por debajo de los encontrados en el caso de silicosis, no debemos olvidar que esto representa un riesgo mientras desconozcamos el efecto del tiempo y la potencia-ción con otros contaminantes.

Una posible fuente de exposición en nuestro medio podría estar representada por las tolveneras. En ellas se levantan y arrastran por grandes distancias, enormes cantidades de polvo levantado del suelo cuya composición es rica en silicatos. Ya se han señalado a las tormentas de arena o tolveneras como fuentes de exposición a contaminantes (silicatos) capaces de dañar pulmón. Esto se reportó en habitantes del Sahara (10,11) y en granjeros y animales del sur de California (14,46).

Esta situación hace necesario considerar estos datos para buscar correlaciones futuras entre enfermedad pulmonar y contaminación por polvos. Nuestro siguiente objetivo fue la búsqueda de correlación entre los niveles de Si encontrados en estos sujetos sin patología pulmonar, con -

sujetos con patología pulmonar intersticial. Desafortunadamente, el material disponible correspondió a biopsias pulmonares en las cuales no fue posible contar con la cantidad necesaria de tejido para hacer estudios de fluorescencia de rayos-x. Por lo cual recurrimos al microanálisis de rayos-x por energía dispersiva (EDXA). Esta técnica ofrece la ventaja de poder correlacionar la presencia de ciertos elementos, con la morfología y localización tisular de los mismos, a resoluciones altas. Sus resultados no son extrapolables a los obtenidos por fluorescencia de rayos-x, pero el hallazgo de Si retenido en pulmones resultó suficientemente interesante como para intentar identificar partículas por este método.

Microanálisis de Rayos-X de Biopsias Pulmonares:

El advenimiento de las técnicas de microanálisis de rayos-x han incrementado enormemente el potencial diagnóstico de la microscopía electrónica. Una de las áreas de la medicina que ha sido mas favorecida por esta situación, corresponde a la patología pulmonar. Su aplicación en este campo ha permitido reconocer un grupo de padecimientos intersticiales asociados a exposiciones a polvos inorgánicos (9, 12, 13, 15, 47, 48, 49). Esta contribución ha modificado grandemente el conocimiento de esta área de la neumología y ha permitido explorar mecanismos patogénicos en un grupo de padecimientos clasificados anteriormente como idiopáticos.

El empleo de esta metodología nos permitió buscar correlaciones entre la contaminación por partículas ricas en Si y la patología pulmonar primaria mas frecuentemente observada en nuestro instituto y que por otro lado ha

ESTA TESIS NO DEBE
79.

tratado de relacionarse con la contaminación atmosférica en México y - -
otros países.

Tradicionalmente, el análisis estadístico empleado para reportar los resultados del EDXA se ha basado en pruebas paramétricas. Esto ha ocurrido a pesar de que es bien conocida la variabilidad y dispersión de los resultados obtenidos. Como propósito adicional, nos propusimos analizar comparativamente nuestros resultados con estadística paramétrica y no -- paramétrica, buscando la estandarización del método para su aplicación - diagnóstica futura. Los resultados obtenidos después del análisis estadístico paramétrico permitieron identificar dos casos con niveles altos de Al y Si. Esta identificación se hizo después de la manipulación de - datos como sustracción de los niveles recolectados del carbón, el establecimiento de un umbral equivalente a cero, etc. Esto dificultó la interpretación y recolección de los datos, por lo que lo consideramos poco útil y no apegado a las distribuciones obtenidas.

El análisis estadístico no paramétrico de los resultados, también identifica los mismos casos anómalos, solo que en esta ocasión el Si fue el único elemento claramente identificable. El análisis de estas discrepancias, permitieron reconocer al carbón empleado como portamuestras, como fuente de Al en el análisis. Esta contaminación hizo difícil la comparación entre zonas "normales" y gruesas, ya que el menor grosor presente - en las primeras permitió la excitación del Al presente en el portamuestras. En contraste, el mayor grosor de las zonas con lesión intersticial, absorvieron la energía proveniente del portamuestras y los niveles detectados resultaron ser menores. Esta observación nos obligó a dese--

char como controles a las zonas denominadas 'normales' y a los casos muestreados con estos fines. La comparación de áreas engrosadas de los diferentes casos permitieron identificar con claridad los casos con niveles altos de Si, en los que además se encontraron niveles altos de Mg y K. Desde nuestro punto de vista, el análisis estadístico no paramétrico se apega más a las necesidades impuestas por el tipo de datos recolectados y disminuye la manipulación de los mismos.

Una vez identificados estos dos casos con niveles altos de Si, se procedió al análisis morfológico de las muestras encontrándose partículas inorgánicas atrapadas en intersticio y macrófagos pulmonares. En un caso las partículas tuvieron Al, Si y K y el cuadro histológico correspondió a una neumonía intersticial granulomatosa y en el otro, Mg, Al y Si con una neumonitis intersticial no granulomatosa.

Con el objeto de buscar diferencias en la evolución de los pacientes con y sin polvos en sus biopsias, se trataron de caracterizar lo mejor posible con sus cuadros clínicos e histopatológicos. A pesar de este esfuerzo, las evoluciones obtenidas a la fecha, no parecen tener comportamientos diferentes. Sin embargo, creemos necesario el seguimiento a mas largo plazo y el incremento en el número de casos estudiados; para lo cual ya hemos sentado las bases necesarias.

Aunque la presencia de partículas extrañas presentes en pulmones con patología intersticial no demuestran relaciones etiopatogénicas concretas, sí abren la posibilidad de estudios experimentales tendientes a valorar los efectos de dichas partículas. Este fue el caso con una de las pacien-

tes estudiadas, a la que se le pudo motivar para que nos proporcionara -- una muestra del polvo al que estuvo expuesta en su hogar. El análisis de este polvo y el encontrado en la biopsia, demostraron niveles comparables de Al, Si y K.

Con el objeto de evaluar el potencial patógeno de estas partículas, procedimos al aislamiento, separación por tamaños y caracterización del polvo para ser probado experimentalmente.

Polvo de Mexicali:

Este polvo pertenece al grupo de los silicatos, específicamente, al de -- los feldespatos. Los feldespatos son aluminosilicatos que además contienen en sus moléculas O, Na, K, Ca o Ba y se clasifican de acuerdo a su -- sistema de cristalización. Los feldespatos específicamente identificados por difracción de rayos-x en las muestras de estudio, correspondieron a: Microclina $KAlSi_3O_8$ y Albita $NaAlSi_3O_8$ (50). Al análisis individual de -- las partículas demostró una preponderancia de aquellas con K en su estructura, por lo que la concentración de microclina parece ser mayor. Este -- mismo análisis evidenció una relación Al/Si similar a la contenida en la fórmula química de estos compuestos. Hasta donde nos fue posible documentar, los feldespatos no han sido evaluados como agentes citotóxicos. -- La gran mayoría de los estudios relacionados con el tema, han demostrado diversos grados de citotoxicidad para un gran número de polvos, especialmente silicatos (48, 58). Hay que recordar que los silicatos representan

el grupo mas grande entre los minerales y que son los principales componentes del suelo.

El sílice es uno de los polvos mas citotóxicos que ha sido estudiado a la fecha (52). Sus patrones de citotoxicidad, medidos por su capacidad de producir hemólisis, han servido de puntos de comparación para evaluar partículas nuevas. Durante algún tiempo, los efectos de diversos polvos se habían relacionado con su contenido de sílice, ya que éste compuesto frecuentemente se encuentra como componente de los suelos. Sin embargo, cada día se reconocen más partículas con efectos citotóxicos propios.

Desde luego que ésta es una interrogante que debe contestarse cada vez -- que se estudian nuevos polvos. En nuestro caso, la comparación del grado de hemólisis producido por el polvo de Mexicali y el producido por el -- cuarzo, demostraron una gran diferencia. Esta diferencia no puede correlacionarse con el contenido de sílice presente en el polvo de Mexicali, -- ya que solo representa el 3%. Por lo tanto, debemos aceptar un efecto negativo propio de los feldespatos. No obstante, decidimos indagar el papel que podría jugar la contaminación de nuestros experimentos con el polvo -- nativo de nuestro laboratorio. Este polvo es una mezcla de partículas de aluminosilicatos y material rico en S que pudiera corresponder a materia orgánica o productos de la combustión de hidrocarburos. Los resultados -- encontrados demostraron un efecto mínimo, no diferente del producido por -- por el Fe carbonillo indicando una mínima o nula participación de la res-- puesta de los feldespatos. Esta observación nos brinda un punto de estudio futuro, en la que tendremos que evaluar el papel de las mezclas de --

compuestos en las respuestas citotóxicas, después de caracterizar metí-
culosamente al polvo de nuestro laboratorio. Llama la atención el hecho de
que aún teniendo aluminosilicatos en este polvo, la respuesta fuera tan -
diferente a la encontrada con las otras muestras.

El estudio del comportamiento de los polvos en presencia de eritrocitos,
no garantiza los efectos que pudieran tener sobre el pulmón o sus células
de defensa. Por esta razón decidimos ampliar nuestros estudios a la bús-
queda de lesión celular en macrófagos alveolares de rata. Estudios simi-
lares han permitido reconocer que el mecanismo del daño celular inmediato
producido por el sílice, depende de sus interacciones y ruptura de la mem-
brana celular (52, 53). Dependiendo de esta fase inicial sobre los macró-
fagos, será el tipo y extensión de daño tisular pulmonar producido (54,55,
56). Los resultados encontrados permitieron identificar un claro efecto
nocivo de los feldespatos sobre la membrana celular de los macrófagos, me-
dido por la liberación de una enzima citoplásmica (DHL).

Simultáneamente decidimos probar los efectos de este polvo sobre los pul-
mones de rata, comparando con los efectos del cuarzo y de un polvo inerte
(Fe carbonilo). Se empleó el equivalente a la dosis mínima necesario pa-
ra obtener lesión pulmonar por cuarzo (57). También evaluamos el papel -
del tamaño de las partículas del polvo de Mexicell en la producción de --
daño pulmonar. Mientras que las partículas mas grandes indujeron lesio--
nes granulomatosas a cuerpo extraño, las mas pequeñas indujeron lesiones
intersticiales no granulomatosas. En ambos casos, la lesión intersticial
pareció originarse a nivel de conductos alveolares y se extendió alrede--
dor de paredes vasculares e intersticio. Este punto de partida también -

fue observado en las lesiones silicóticas y representó el sitio de acumulación del Fe carbonilo. Ya han sido reportados en la literatura patrones de distribución similares en lesiones inducidas por sílice y asbestos (53,58). Este hecho merece atención, ya que por su lugar de asiento, pudiera manifestarse como una enfermedad de la vía aérea menor en estadios "iniciales" del padecimiento, como se ha sugerido en la asbestosis (58).

Las diferencias de respuesta tisular producidas por partículas de diferente composición o de la misma composición pero de diferente tamaño, sugieren que ambos factores son determinantes para establecer el tipo de lesión histológica. Es muy probable que la exposición experimental crónica a partículas pequeñas de polvo de Mexicali, resulte en alteraciones histológicas pulmonares similares a las observadas en el caso que dió origen a estos estudios.

Aunque con estas investigaciones no pretendíamos establecer los mecanismos de daño celular por feldespatos, los resultados encontrados favorecen la hipótesis de que el daño es iniciado a nivel de membrana celular. Algunos estudios preliminares en nuestro laboratorio han demostrado la deformación celular de los macrófagos expuestos a feldespatos, tal como ocurre después de lesiones a membranas que alteran la permeabilidad celular (Fig.22) (59). Tal es el caso del daño producido por sílice y en el que su perpetuación dependerá de la producción de sustancias macrofágicas capaces de despertar respuestas tisulares mediadas por linfocitos y fibroblastos (54,55). Es quizá a este nivel en donde operan los factores responsables del tipo y severidad de la lesión producida y que pudieran ex--



Fig.22 Aspecto al microscopio electrónico de barrido de los macrófagos alveolares de rata incubados en PBS por una hora. A) Macrófagos no expuestos a polvo (3000x). B) Macrófagos expuestos a feldspatos. Nótese la formación de vesículas y la pérdida de procesos citoplásmicos en la superficie celular(3000x).

plicar las diferencias entre las lesiones inducidas por sílice y por fel-despetos.

Es nuestro propósito continuar con estos estudios encaminados a comprender los mecanismos iniciales y tardíos de daño tisular por polvos inorgánicos.

CONCLUSIONES

Estos estudios representan el inicio de una serie de investigaciones en-- caminadas a evaluar y vigilar los efectos de la contaminación atmosférica por partículas sobre la salud, identificándose algunos feldspatos como - probables agentes patógenos. Por tratarse de un principio, la mayoría de los resultados obtenidos representan descripciones que todavía no permiti- ten profundizar en consideraciones teóricas.

En conclusión:

- 1) Hemos registrado los niveles de exposición a fibras contaminantes en habitantes del sur de la Ciudad de México.
- 2) Se ha determinado que la cantidad de silicio retenido en pulmones de sujetos sin patología pulmonar grave, sugiere la presencia de - - otras partículas inorgánicas además de los CF.
- 3) Se estandarizaron las condiciones de una tecnología que enriquece el potencial diagnóstico de las biopsias pulmonares, para la identi- ficación de partículas inorgánicas retenidas en ellas.
- 4) Se establecieron criterios de análisis para el estudio prospecti- vo de casos con neumopatías intersticiales y su correlación con ex- posición a polvos.
- 5) Se identificó un caso clínico en el que la exposición a polvos - inorgánicos puede ser relacionado con la causa del padecimiento.

6) Se establecieron los procedimientos experimentales necesarios -- para evaluar el potencial patógeno de las partículas inorgánicas. -- Identificándose a unos feldespatos como probables inductores de patología intersticial pulmonar.

Estos estudios representan los primeros intentos por comprender un problema de magnitud desconocida en nuestro país. De su comprensión dependerán las medidas encaminadas para su control.

REFERENCIAS

- 1.- Harkov R: Toxic air pollutants. Assessing their importance, 1982, Sci Total Environ 26:67-85.
- 2.- Mitchell RS: Synopsis of Clinical Pulmonary Disease, 1978, Ed. Mitchell RS, The CV Mosby Company, Saint Louis, Cap.25, Pag.:267-282.
- 3.- Mitchell RS, Judson FN, Moulding TS, Wiser P, Brock LL, Keible DL y Pollard J: Health effects on urban population. Special considerations of areas at 1500 m and above. 1979, JAMA 424:1163-1168.
- 4.- Rosenman KD: Cardiovascular disease and environmental exposure, 1979, Brit J Ind Med 36:85-97.
- 5.- Celis A, Díaz J, Goriocica D y Cano F: Enfisema pulmonar y contaminación ambiental. 1968, Neumol Cir Tórax Mex 29:135-141.
- 6.- Pacheco C y Maldonado L: El pulmón y las enfermedades de trabajo, 1979, Simposio Syntex. La Medicina del Trabajo en México, México, D.F.
- 7.- Churg AM y Warnock ML: Asbestos and other ferruginous bodies. Their formation and clinical significance. 1981, Am J Pathol 102:447-456.
- 8.- Churg AM: Fiber counting and analysis in the diagnosis of asbestos related diseases. 1982, Hum Pathol 13:381-392.
- 9.- Abraham JL: Documentation of environmental particulate exposures in humans using SEM and EDXA, 1979, Scanning Electron Microscop. 11: 751-766.
- 10.- Policard A y Collet A: Deposition of siliceous dust in the lungs of the inhabitants of the Saharan regions. 1952, Arch Indust Hyg Occup Med 5:527-534.

- 11.- Bar-Ziv J y Golbert GH: Simple siliceous pneumoconiosis in Negev Bedouins. 1974, Arch Environ Health 29:121-126.
- 12.- Brody AR, Vallyathan NV y Craighead JE: Distribution and elemental analysis of inorganic particulates in pulmonary tissue. 1976, Scanning Electron Microsc 111:477-484.
- 13.- Roub LW, Dekker A, Wagenblast HW y Reece J: Pulmonary Silicosis. A case diagnosed by needle-aspiration biopsy and energy-dispersive x-ray analysis. 1979, Am J Clin Pathol 72:871-875.
- 14.- Sherwin RP, Barmen ML y Abraham JL: Silicate pneumoconiosis of farm workers. 1979, Lab Invest 40:576-582.
- 15.- Mukherjee TM y Dixon BR: The role of electron microscopy and microanalytical techniques in the understanding of the pathophysiology of environmental dusts associated with lung disease. 1983, Scanning Electron Microsc 111:663-679.
- 16.- Bravo A y Urone P: The altitude: A fundamental parameter in the use of air quality standards. 1981, J Air Pollution Control Association, 31:264-265.
- 17.- Javelly M: Se desconoce el grado de contaminación del Valle de México: Aún no opera la red de detección. 6-XI-84 Excelsior parte inferior de la 5a. y 6a. columna.
- 18.- Aguillar S, Bravo H y Torres R: Determinación de la fracción respirable de partículas suspendidas totales en el área metropolitana de la Ciudad de México. Presentado en el Segundo Congreso Nacional de la Asociación Nacional de Egresados de la Facultad de Medicina, UNAM, 1981.
- 19.- Molina Luna P: Búsqueda de cuerpos ferruginosos en esputo de una población adulta que habita en el noroeste de la Ciudad de México. 1981, - - Instituto Politécnico Nacional. México, D.F. Tesis Profesional. QBP.
- 19.- Pérez Reyes HA: Estudio Citológico de Esputo e Identificación de Cuerpos Ferruginosos en Trabajadores de Asbesto, 1980, Instituto Politécnico Nacional, México, D.F. Tesis Profesional.

- 20.- Tolivia E y col: Concentración media mensual por estación de partículas suspendidas totales (mcg/m^3). Red manual de monitoreo, Valle de México. Subsecretaría del Mejoramiento del Ambiente. Dirección de -- Saneamiento Atmosférico. México, 1981.
- 21.- Bravo H, Tirado D y Torres R: Determinación del comportamiento de -- las partículas suspendidas totales y la fracción respirable en la -- zona céntrica del Casco de Santo Tomás, D.F. 1984, Memorias IV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Sociedad Mexicana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental S.C. Morelia, Mich.
- 22.- De Buen N y col.: Cuerpos ferruginosos en pulmón de perro. 1984, Neumol Cir Tórax Mex 45:39.
- 23.- Rivero O: Contaminación atmosférica. Daños de la salud. 1975, Neumol Cir Tórax Mex 36:73-83.
- 24.- Ordóñez BR: Contaminación atmosférica y enfermedad pulmonar obstructiva crónica. 1973, Neumol Cir Tórax Mex 34:257-271.
- 25.- Cano Valle F: Enfermedades intersticiales del pulmón. 1978, Rev Med Hosp Gral 41:367.
- 26.- Gardida A: Comunicación Personal. 1981.
- 27.- Cisero SR, Alonso P, Ramírez E y Chávez JI: Mesoteliomas pleurales. Estudio clinicopatológico de 19 casos. 1973, Gaceta Med Mex 106:37-47.
- 28.- Varios: Memorias del I Simposium sobre Problemas Ambientales en México. Instituto Politécnico Nacional, 3-6 de diciembre de 1979.
- 29.- Anjilvel L y Thurlbeck WM: The incidence of asbestos bodies in the lungs at random necropsies in Montreal. 1966, Canad Med Ass J 95: 1179-1182.
- 30.- Bhagavan BS y Koss LG: Secular trends in prevalence and concentration of pulmonary asbestos bodies. 1940-1972. 1976, Arch Pathol Lab Med 100:539-541.

- 31.- Churg AM y Warnock ML: Correlation of quantitative asbestos body counts and occupation in urban patients. 1977, Arch Pathol Lab Med 101:629-634.
- 32.- Smith J y Naylor B: A method for extracting ferruginous bodies from sputum and pulmonary tissue. 1972, Am J Clin Pathol 58:250-254.
- 33.- Welbel ER y Gómez DM: Architecture of the human lung. Use of quantitative methods establishes fundamental relations between size and number of lung structures. 1962, Science 137:577-585.
- 34.- Zar JH: Biostatistical Analysis. 1974, Prentice Hall, Inc Englewood Cliffs, N.J.
- 35.- Peralta R, Hernández G, Vicente E y Prado J: Microscopic information extraction by digital processing of SEM images. 1983, Proc. XXVI Midwest Symposium on Circuits and Systems. INADE pag.:108, Puebla, Pue.
- 36.- Osorio Vargas AR, Peralta y Fabi R, Fuentes J y Gómez A: Identificación de polvos inorgánicos en biopsias pulmonares con patología intersticial. 1983, Patología 21:333.
- 37.- Spencer H: Diseases of the Bronchial Tree. En: Pathology of the Lung. 118-129. 1977. Pergamon Press, Lts. Oxford, England.
- 38.- Bartsch P, Collingnon A, Weber G, Robaye G, Delbrouck JH, Roelandts I y Yujle J: Distribution of metals in human lung: Analysis by particle induced x-ray emission. 1982, Arch Environ Health 37:111-117.
- 39.- Crouch E y Churg A: Ferruginous bodies and the histologic evaluation of dust exposure. 1984, Am J Surg Pathol 8:109-116.
- 40.- Churg A y Warnock ML: Analysis of the cores of ferruginous (asbestos) bodies from the general population. I. Patients with and without lung cancer. 1977, Lab Invest 37:280-286.
- 41.- Churg A, Warnock ML y Green N: Analysis of the cores of ferruginous (asbestos) bodies from the general population, II True asbestos bodies and pseudoasbestos bodies. 1979, Lab Invest 40:31-38.

- 42.- Churg A y Warnock ML: Analysis of the cores of ferruginous (asbestos) bodies from the general population. III. Patients with environmental exposure. 1979, Lab Invest 40:622-626.
- 43.- Weill H y Turner-Warwick M: Occupational Lung Disease. Research approaches and methods. 1981, 1a. Ed. marcel Dekker, Inc., New York.
- 44.- Bertin EP: Introduction to x-ray spectrometric analysis. 1978, 1a. Ed. Plenum Press, New York.
- 45.- Maatta K y Arstila AU: Pulmonary deposits of titanium dioxide in cytologic and lung biopsy specimens. Light and electron microscopic x-ray analysis. 1975, Lab Invest 33:342-346.
- 46.- Brambilla C, Abraham J, Brambilla E, Benirschke K y Bloor C: Comparative pathology of silicate pneumoconiosis. 1979, Am J Pathol 96:149-170.
- 47.- Brody AR, Dwyer DM, Vallyathan NV, Visco GP y Craighead JE: The elemental content of granulomata: preliminary studies of pulmonary sarcoidosis and hypersensitivity pneumonitis. 1977, Scanning Electron Microscopy 11:129-136.
- 48.- Lapenas DJ, Davis GS, Gale PN y Brody AR: Mineral dust as etiologic agents in pulmonary fibrosis: The diagnostic role of analytical scanning electron microscopy. 1982, Am J Clin Pathol 78:701-706.
- 49.- Abraham JL y Burnett BR: Quantitative analysis of inorganic particulate burden in situ in tissue sections. 1983, Scanning Electron Microscopy 11:681-696.
- 50.- Dana ES y Ford WE: Tratado de Mineralogía. 1981, 4a. Ed. C.E.C.S.A., México.
- 51.- Singh SV, Das B y Rahman O: Relationship between solubility and hemolytic effects of toxic dust. 1983, J Appl Toxicol 3:14-17.
- 52.- Allison AC, Harrington JS y Birbeck M: An examination of the cytotoxic effects of silica on macrophages. 1966, J Exp Med 124:124-154.

- 53.- Brody AR, Roe NM, Evans JN y Davis GS: Desposition and translocation of inhaled silica in rats: quantification of particle distribution, macrophage participation and function. 1982, Lab Invest 47:533-542.
- 54.- Brain JD: Macrophage damage in relation to the pathogenesis of lung disease. 1980, Environ Health Persp 35:21-28.
- 55.- Bitterman PB, Adelberg S y Crystal RG: Mechanisms of pulmonary fibrosis. Spontaneous release of the alveolar macrophage-derived growth factor in the interstitial lung disorders. 1983, J Clin Invest 72:1801-1813.
- 56.- Faber JL: How do mineral dusts cause lung injury?. 1983, Lab Invest 49:379-380.
- 57.- Keiser KM, Hesterberg TW, Haschek WH y Last JA: Experimental silicosis. 1. Acute effects of intratracheally instilled quartz on collagen metabolism and morphologic characteristics of rat lung. 1982, Am J Pathol 107:176-185.
- 58.- Wright JL y Churg A: Morphology of small-airway lesions in patients with asbestos exposure. 1984, Hum Pathol 15:68-74.
- 59.- Trump BF, Berezesky IK y Osornio-Vargas AR: Cell death and the disease process. The role of calcium. En: Bowen ID y Lockshin RA: Cell death in biology and pathology. 1981, 1a. Ed. Chapman and Hall Londres.