

ESCUELA POLITÉCNICA DEL EJÉRCITO

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA
INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA RESPUESTA INFLAMATORIA ANTE
EXPOSICIÓN CRÓNICA A CONTAMINANTES
AMBIENTALES DEL AIRE, EN EL PERSONAL POLICIAL DE
TRÁNSITO DEL DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO-
ECUADOR.**

Previa a la obtención de Grado Académico o Título de:

INGENIERA EN BIOTECNOLOGÍA

ELABORADO POR:

MARÍA GABRIELA VILEMA ENRÍQUEZ

SANGOLQUÍ, SEPTIEMBRE DE 2011

HOJA DE LEGALIZACION DE FIRMAS

ELABORADO POR:

María Gabriela Vilema Enríquez

COORDINADORA DE LA CARRERA

Ing. Tatiana Páez

SECRETARIO ACADÉMICO

Dr. Mario Lozada

Lugar y fecha : _____

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue realizado en su totalidad por la Srta. María Gabriela Vilema Enríquez como requerimiento parcial a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología.

Fecha

Dr. Marcelo Grijalva

Dr. Carlos Maya

Para mi madre, mi padre y mi abuelita.

AGRADECIMIENTO

A Dios por todas sus bendiciones y las hermosas cosas que ha puesto en mi vida.

A mis padres LUIS Y MERY por enseñarme siempre con el ejemplo a ser una persona de bien y por brindarme con amor todo lo que han tenido.

A mis abuelitos especialmente a mi “mamita Maru” por estar siempre a mi lado brindándome su apoyo, sus consejos y sobre todo su amor incondicional.

A mi hermana Cristina por formar parte importante de mi vida.

Al Dr. Edmundo Estévez por toda la confianza depositada en mí y principalmente por ser un gran soporte profesional.

Al Dr. Marcelo Grijalva y al Dr. Carlos Maya quienes como director y codirector de esta tesis me brindaron su tiempo, su sabiduría y su orientación académica.

A todas esas personas que han formado parte de mi vida y me han regalado su amistad y cariño y con quienes he compartido buenos y malos momentos.

A la Policía Nacional, esencialmente a los directivos del Grupo Operativo de Control de Tránsito y Seguridad Vial del DMQ, Hospital de la Policía e ISSPOL.

A la Universidad Central del Ecuador, particularmente al Centro de Biomedicina y al Municipio de Quito, que a través de la Secretaría de Ambiente financiaron este proyecto.

María Gabriela Vilema

INDICE DE CONTENIDOS

HOJA DE LEGALIZACION DE FIRMAS	ii
CERTIFICACIÓN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTO	v
INDICE DE CONTENIDOS	vi
LISTADO DE TABLAS	viii
LISTADO DE CUADROS	ix
LISTADO DE FIGURAS	xi
LISTADO DE ANEXOS	xii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO 1: INTRODUCCION	1
1.1 Formulación del problema	1
1.2 Justificación del problema	2
1.3 Objetivos de la investigación	3
1.3.1 Objetivo General.....	3
1.3.2 Objetivos Específicos	4
1.4 Marco Teórico	4
1.4.1 Principales contaminantes ambientales	6
1.4.2 Efectos de los principales contaminantes en la salud	27
1.4.3 Marcadores de inflamación.....	33
1.5 Sistema de hipótesis o pregunta de investigación	44

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS	45
2.1 Participantes.....	45
2.2 Zona de Estudio	46
2.3 Período de tiempo de investigación.....	46
2.4 Diseño	46
2.5 Instrumentos	48
2.6 Procedimientos	49
2.6.1 Recolección de la muestra y Almacenamiento	50
2.6.2 Micro ELISA.....	50
2.7 Análisis de Datos	60
 CAPÍTULO 3: RESULTADOS	 61
3.1 Análisis exploratorio de datos.....	61
3.1.1 Medidas resumen	61
3.1.2 Análisis gráfico	63
3.2 Análisis inferencial.....	73
3.2.1 Intervalos de confianza.....	73
3.2.2 Pruebas de hipótesis	78
 CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN	 92
 CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES	 100
 CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES.....	 103
 CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA	 105
 ANEXOS	 113

LISTADO DE TABLAS

<i>Tabla 3.1 Estadística descriptiva de todos los datos obtenidos en la investigación.....</i>	<i>62</i>
<i>Tabla 3.2 Estadística descriptiva de las cuatro moléculas analizadas, clasificadas por tipo.</i>	<i>62</i>
<i>Tabla 3.3 Intervalos de confianza para la media de IL-6.</i>	<i>74</i>
<i>Tabla 3.4 Intervalos de confianza para la media de sICAM-1.....</i>	<i>74</i>
<i>Tabla 3.5 Intervalos de confianza para la media de sVCAM-1.</i>	<i>75</i>
<i>Tabla 3.6 Intervalos de confianza para la media de sE-selectina.</i>	<i>75</i>
<i>Tabla 3.7 Intervalos de confianza para la desviación estándar de IL-6.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 3.8 Intervalos de confianza para la desviación estándar de sICAM-1.....</i>	<i>76</i>
<i>Tabla 3.9 Intervalos de confianza para la desviación estándar de sVCAM-1.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabla 3.10 Intervalos de confianza para la desviación estándar de sE-selectina.</i>	<i>77</i>
<i>Tabla 3.11 Prueba F para igualdad de varianzas de IL-6.</i>	<i>79</i>
<i>Tabla 3.12 Prueba F para igualdad de varianzas de sICAM-1.</i>	<i>79</i>
<i>Tabla 3.13 Prueba F para igualdad de varianzas de sVCAM-1.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabla 3.14 Prueba F para igualdad de varianzas de sE-selectina.....</i>	<i>80</i>
<i>Tabla 3.15 Prueba T para igualdad de medias de IL-6.....</i>	<i>81</i>
<i>Tabla 3.16 Prueba T para igualdad de medias de sICAM-1.</i>	<i>82</i>
<i>Tabla 3.17 Prueba T para igualdad de medias de sVCAM-1.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabla 3.18 Prueba T para igualdad de medias de sE-selectina.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabla 3.19 Prueba T para una media de IL-6.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabla 3.20 Prueba T para una media de sICAM-1.</i>	<i>85</i>
<i>Tabla 3.21 Prueba T para una media de sVCAM-1.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabla 3.22 Prueba T para una media de sE-selectina.....</i>	<i>86</i>
<i>Tabla 3.23 Tabla de contingencia de IL-6.</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 3.24 Prueba de independencia para IL-6.....</i>	<i>88</i>
<i>Tabla 3.25 Tabla de contingencia de sICAM-1.....</i>	<i>89</i>
<i>Tabla 3.26 Prueba de independencia para sICAM-1.....</i>	<i>89</i>
<i>Tabla 3.27 Tabla de contingencia de sVCAM-1.</i>	<i>90</i>
<i>Tabla 3.28 Prueba de independencia para sVCAM-1.....</i>	<i>90</i>
<i>Tabla 3.29 Tabla de contingencia de sE-selectina.</i>	<i>91</i>
<i>Tabla 3.30 Prueba de independencia para sE-selectina.</i>	<i>91</i>

LISTADO DE CUADROS

<i>Cuadro 1.1 Óxidos de nitrógeno.</i>	<i>7</i>
<i>Cuadro 1.2 Elementos traza en la zona cerámica de Castellón.</i>	<i>19</i>
<i>Cuadro 2.1 Materiales y Equipos utilizados en la investigación.</i>	<i>49</i>

LISTADO DE FIGURAS

Figura 1.1 Emisiones de $PM_{2.5}$ por sector en Ontario-Canadá.....	20
Figura 1.2 Caracterización Química del PM_{10} en el DMQ.	21
Figura 1.3 Concentraciones de Vanadio y Zinc en las estaciones de monitoreo de CORPAIRE.....	22
Figura 1.4 Concentraciones de Plomo y Cadmio en las estaciones de monitoreo de CORPAIRE.....	23
Figura 1.5 Concentración de Manganeso en las estaciones de monitoreo de CORPAIRE.	24
Figura 1.6 Estructura de IL-6 humana recombinante.....	34
Figura 1.7 Cromosoma en el que se encuentra ubicado el gen de IL-6.....	35
Figura 1.8 Secuencia de IL-6.	35
Figura 1.9 Base estructural para la dimerización de ICAM-1 en la superficie celular.....	36
Figura 1.10 Secuencia de aminoácidos de ICAM-1.....	37
Figura 1.11 Cromosoma en el que se localiza ICAM-1.....	38
Figura 1.12 Estructura cristalina de un fragmento de 2 dominios N-terminal de VCAM-1.	38
Figura 1.13 Cromosoma en el que se localiza el gen de VCAM-1.....	39
Figura 1.14 Secuencia de aminoácidos de VCAM-1.	40
Figura 1.15 E-selectina (molécula de adhesión endotelial 1).....	41
Figura 1.16 Ubicación el gen de la E-selectina en su cromosoma correspondiente.	42
Figura 1.17 Secuencia de aminoácidos de E-selectina.	43
Figura 3.1 Diagrama de cajas para la molécula IL-6 del total de individuos.	64
Figura 3.2 Diagrama de cajas para IL-6 clasificado por tipo.....	65
Figura 3.3 Gráfico de columnas para las categorías de IL-6.	66
Figura 3.4 Diagrama de cajas para sICAM-1 del total de individuos.....	66
Figura 3.5 Diagrama de cajas para sICAM-1 clasificado por tipo.	67
Figura 3.6 Gráfico de columnas para las categorías de sICAM-1.....	68
Figura 3.7 Diagrama de cajas para sVCAM-1 del total de individuos.	69
Figura 3.8 Diagrama de cajas para sVCAM-1 clasificado por tipo.....	70
Figura 3.9 Gráfico de columnas para las categorías de sVCAM-1.	70
Figura 3.10 Diagrama de cajas para sE-selectina del total de individuos.....	71
Figura 3.11 Diagrama de cajas para sE-selectina clasificado por tipo.....	72
Figura 3.12 Gráfico de columnas para las categorías de sE-selectina.	72

LISTADO DE ANEXOS

<i>Anexo A. Curvas de calibración para cálculo de concentraciones.</i>	<i>113</i>
<i>Anexo B. Intervalos de confianza para la media.....</i>	<i>115</i>
<i>Anexo C. Intervalos de confianza para la varianza.....</i>	<i>117</i>
<i>Anexo D. Prueba de hipótesis para igualdad de varianzas</i>	<i>119</i>
<i>Anexo E. Prueba de hipótesis para igualdad de medias</i>	<i>120</i>
<i>Anexo F. Prueba de hipótesis para una media</i>	<i>121</i>
<i>Anexo H. Prueba de hipótesis de independencia</i>	<i>122</i>

RESUMEN

En tema de medio ambiente, es vital conocer de las implicaciones que tienen nuestras acciones sobre la naturaleza y cómo estas acciones van volviendo frágil la vida. La contaminación del aire provoca graves problemas en la salud humana, principalmente problemas respiratorios y cardiovasculares que muchas veces son mediados por inflamación. Este trabajo tiene como objetivo evaluar la respuesta inflamatoria relacionada con la exposición crónica del personal policial de tránsito del DMQ, a los contaminantes ambientales del aire mediante la caracterización de marcadores de inflamación por microELISA.

Esta investigación estudió una muestra piloto de 71 policías de tránsito, entre casos (aquellos que trabajan actualmente en las calles) y controles (los que actualmente trabajan en oficinas), a los cuales se les determinó la concentración sérica de los marcadores de inflamación IL-6, sICAM-1, sVCAM-1 y sE-selectina. Los policías estudiados fueron los de mayor antigüedad en sus unidades y fueron seleccionados luego de pasar una prueba médica que indicó que no tenían otros problemas inflamatorios. Las cuatro moléculas fueron analizadas en las muestras de suero, por microELISA con los kits Quantikine de R&D Systems.

Una vez obtenidas las concentraciones, se realizó un análisis exploratorio de datos y varias pruebas de hipótesis. Estos análisis demostraron que los datos con los que se estaba trabajando eran coherentes, que la inflamación encontrada en los policías está mediada por IL-6 y sE-selectina y que esta última molécula es independiente del trabajo realizado por los mismos. En conclusión los policías estudiados presentan inflamación, sin distinguir estadísticamente si son casos o controles ya que una exposición crónica durante varios años no diferencia si actualmente trabajan en las calles o en oficinas.

ABSTRACT

In the subject of environment, it is vital to know the implications of our actions on the nature and how these actions are making life fragile. Air pollution causes serious human health problems, especially respiratory and cardiovascular problems, that often are mediated by inflammation. This work aims to evaluate the inflammatory response, associated with chronic exposure of the DMQ transit police to the ambient air pollutants through the characterization of inflammation markers by microELISA.

This research studied a pilot sample of 71 traffic policemen among cases (those currently working on the streets) and controls (those currently working in offices), to which were determined in serum, inflammatory markers like IL-6, sICAM-1, sVCAM-1 and sE-selectin. The policemen studied were seniors in their units and were selected after passing a medical test that indicated that they had not other inflammatory problems. The four molecules were analyzed in serum samples, with microELISA Quantikine kits of R&D Systems.

Once the concentrations were obtained, we performed an exploratory analysis of data and multiple hypothesis testing. These tests showed that the data used was consistent, that the inflammation found in the policemen is mediated by IL-6 and sE-selectin, and that this last molecule is independent of the work done by them. In conclusion the policemen studied have inflammation, not statistically different among cases and controls, because a chronic exposure during several years cannot differentiate whether they currently work on the street or in offices.

CAPÍTULO 1: INTRODUCCION

1.1 Formulación del problema

Actualmente la contaminación ambiental es uno de los temas que más preocupación causa a nivel mundial, por tal motivo, éste debe ser tratado con la urgencia y seriedad correspondientes. No solo los efectos se han visto en la naturaleza con los constantes cambios climáticos, el calentamiento global y el sin fin de desastres naturales por los cuales estamos pasando, sino que ahora los problemas también se están evidenciando directamente en la salud humana. El ser humano por estar constantemente expuesto a la contaminación vehicular, industrial y a la combustión de diversos materiales, es uno de los candidatos predilectos para desencadenar afecciones de salud y hoy en la actualidad los estudios que se están llevando a cabo demuestran esto.

América del Norte, especialmente Estados Unidos y varios países europeos vienen realizando estudios en este campo ya por muchos años y son éstos los que nos llevan a plantearnos una inquietud a ser resuelta lo más pronto posible y así, tomar la iniciativa de realizar este estudio en el país. Los casos que se han reportado de la relación entre los contaminantes ambientales, enfocados a la materia particulada y ciertos gases, con su respectiva relación con los daños a nivel cardiovascular y respiratorio, cada vez van en aumento, por lo cual a nivel mundial este es un caso a tener muy en cuenta y un problema grave por resolver (Brook *et al.*, 2004; Frampton, 2001; Lanki *et al.*, 2006; Delfino *et al.*, 2005).

Es tan preocupante este tema, que en 2008, la alcaldía metropolitana de Quito liderada por el entonces alcalde Paco Moncayo, presentó en septiembre de ese año, el Plan Maestro de Movilidad en el cual se menciona que desde el año 2004 los promedios anuales de emisiones de partículas finas superan la norma internacional en todas las zonas de la ciudad (Diario La Hora, 2008). Las investigaciones y los esfuerzos por combatir estos males ya son también nacionales, no solo potencias mundiales están estudiando este problema, sino también nuestro país se está preocupando por los efectos que la contaminación ambiental tiene en nuestra población.

1.2 Justificación del problema

La contaminación ambiental se ha vuelto en los últimos años una complicación mundial que afecta no solo a los seres humanos, sino también a todo el entorno. Este problema, que se ha registrado desde hace ya varios años, nos plantea algunas inquietudes, las cuales no solo tienen que ver con el campo ambiental, sino también con la relación que el mismo tiene en varios aspectos como por ejemplo el humano.

La contaminación del aire es uno de los problemas que debe resolverse urgentemente por todas las implicaciones que tiene. Este problema es importante tratarlo no solo por bien del medio ambiente, sino también de los seres que en él habitan. Esta es una de las razones por las cuales se plantea este estudio, ya que el mismo va a tener como beneficiarios a personas involucradas en el lugar de estudio, posibles aledaños y en general a los habitantes del DMQ.

Al identificar cuáles son los contaminantes ambientales a los que estamos expuestos en la ciudad de Quito, no solo estamos contribuyendo al conocimiento, sino también con una base sobre la cual se pueden montar nuevas investigaciones. Estos contaminantes servirán de partida para analizar como ellos afectan a la salud, especialmente en el desencadenamiento de enfermedades cardiovasculares (Brook *et al.*, 2004; Wikipedia, 2011).

Los problemas cardiovasculares son en la actualidad una de las principales causas de muerte, por lo que es indispensable encontrar la relación que la contaminación ambiental tiene con éstos. Se ha demostrado que los hábitos alimenticios no solo son los causantes de este tipo de muerte, sino también la contaminación que va incrementando día tras día (Frampton, 2001).

En el DMQ la mayoría de las casi 120.000 toneladas de contaminantes depositados en la atmósfera son producidas por los 230.000-240.000 vehículos que circulan diariamente (CORPAIRE, 2008). Es tan alarmante el incremento del parque automotor en el DMQ que se hace cada vez más difícil controlar la calidad del aire en el mismo. Es así que mostrar la incidencia de este problema en la salud es muy importante, no solo para incentivar a la reflexión, sino también para promover la toma de acciones frente a este enemigo mortal.

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo General

Evaluar la respuesta inflamatoria relacionada con la exposición crónica del personal policial de tránsito del DMQ, a los contaminantes ambientales del aire mediante la caracterización de marcadores de inflamación por microELISA.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Estandarizar el método de micro ELISA para la valoración sérica de IL-6, sICAM-1, sVCAM-1 y sE-selectina.
- Determinar los niveles séricos de IL-6, sICAM-1, sVCAM-1 y sE-selectina como principales indicadores en sangre de inflamación por el método de micro ELISA.
- Determinar si existe relación entre exposición a contaminantes y respuesta inflamatoria. .
- Difundir los resultados obtenidos para contribuir en la generación de un nuevo pensamiento ambiental y lograr de esta manera poner a flote este gran problema que tanto nos afecta.

1.4 Marco Teórico

En esta sección se va pasar revisión de los aspectos más importantes que deben ser considerados y entendidos para dar coherencia a este estudio. Al hablar de contaminación del aire, estamos hablando de un sin número de cosas que la mayor parte del tiempo están implícitas y pasan desapercibidas, esta revisión va a

poner de manifiesto ciertos aspectos que posiblemente no se tratan normalmente cuando se habla de contaminación del aire y lo más importante y valioso es que se la va a relacionar con las consecuencias directas en la salud de las personas. Por lo tanto, en este capítulo se van a proporcionar las herramientas necesarias para un completo entendimiento de lo que es, de lo que está compuesta y lo que causa la materia particulada, un contaminante del aire que se ha comenzado a estudiar desde hace poco y que en los últimos años ha sido base fundamental de importantes estudios, además de otros contaminantes ambientales y términos a los que se van a hacer referencia en el transcurso de esta investigación.

Es importante establecer un conocimiento previo de los contaminantes ambientales que existen y/o son los más importantes. Este conocimiento nos dará una visión amplia de los agentes con los cuales estamos tratando y los que van a ser parte importante de nuestro estudio. Pero antes, es indispensable definir el término contaminación atmosférica.

La Real Academia Española define a la contaminación como la acción y efecto de contaminar, mientras que de la palabra contaminar dice: “*alterar nocivamente la pureza o las condiciones normales de una cosa o un medio por agentes químicos o físicos*” (Diccionario de la Lengua Española, vigésima segunda edición). La palabra contaminación está clara, pero al hablar de contaminación atmosférica se puede pensar en un sinnúmero de cosas, por lo que es necesario tomar una definición concreta.

Se puede entender por contaminación ambiental a la presencia en la atmósfera de sustancias en cantidades que provoquen molestias o se conviertan en un riesgo para la salud de las personas o los demás seres vivos, que ataquen a distintos materiales, reduzcan la visibilidad o a su vez que produzcan olores desagradables (Wikipedia, 2011).

Una vez explicado el término contaminación ambiental, es relevante exponer los principales contaminantes, entre los que se consideran:

1.4.1 Principales contaminantes ambientales

1.4.1.1 Óxidos de Nitrógeno

Los óxidos de nitrógeno, son compuestos químicos binarios gaseosos formados por la combinación de oxígeno y nitrógeno. La formación más frecuente de estos compuestos inorgánicos es la combustión a altas temperaturas, proceso mediante el cual, habitualmente el aire es el comburente (Wikipedia, 2011).

Los óxidos de nitrógeno son liberados al aire desde el escape de vehículos motorizados (sobre todo de aquellos que funciona a diesel), de la combustión del carbón, petróleo o gas natural, además durante procedimientos como la soldadura por arco, galvanoplastia, grabado de metales y detonación de dinamita. También pueden ser producidos comercialmente al hacer reaccionar el ácido nítrico con metales o con celulosa (Wikipedia, 2011).

El cuadro 1.1 muestra los distintos óxidos de nitrógeno y sus distintas nomenclaturas.

Cuadro 1.1 Óxidos de nitrógeno.

Fórmula	Nomenclatura sistemática	Nomenclatura de Stock	Nomenclatura tradicional
N ₂ O	Monóxido de dinitrógeno	Óxido de nitrógeno (I)	Óxido nitroso (anhídrido hiponitroso)
NO	Monóxido de nitrógeno	Óxido de nitrógeno (II)	Óxido nítrico
N ₂ O ₃	Trióxido de dinitrógeno	Óxido de nitrógeno (III)	Anhídrido nitroso
N ₂ O ₄	Tetraóxido de dinitrógeno	Óxido de nitrógeno (IV)	Tetróxido de nitrógeno
NO ₂	Dióxido de nitrógeno	Óxido de nitrógeno (IV)	Dióxido de nitrógeno
N ₂ O ₅	Pentaóxido de dinitrógeno	Óxido de nitrógeno (V)	Anhídrido nítrico

(Tomado de Wikipedia, 2011).

Los óxidos de nitrógeno son sustancias reactivas cuya fuente antropogénica en el aire es la combustión de gasolinas fósiles de vehículos y procesos industriales, particularmente en la generación de energía (Brook *et al.*, 2004).

1.4.1.1.1 Monóxido de Nitrógeno

Es un gas incoloro y poco soluble en agua producido por automóviles y plantas de energía. Es una molécula altamente inestable en el aire puesto que se oxida rápidamente en presencia de oxígeno convirtiéndose en dióxido de nitrógeno. Por esta razón, también se la considera como un radical libre (Wikipedia, 2011).

Con el tiempo, este gas puede convertirse en ácido nítrico, produciendo así lluvia ácida. Además el NO y el NO₂ participan en la depleción de la capa de ozono (Wikipedia, 2011).

Su efecto para con la radiación solar es doble. Mientras se encuentra en la baja atmósfera contribuye al calentamiento global, en cambio, en la alta lo hace al oscurecimiento global (Wikipedia, 2011).

1.4.1.1.2 Dióxido de Nitrógeno

Es un gas de color marrón amarillento, que se forma como subproducto en los procesos de combustión a altas temperaturas, como en los vehículos motorizados y las plantas eléctricas (Wikipedia, 2011).

❖ *Efectos en la Salud*

Es un gas tóxico, irritante y precursor de la formación de partículas de nitrato. Estas llevan a la producción de ácido y elevados niveles de PM_{2.5} en el ambiente. Afecta principalmente al sistema respiratorio. La exposición a corto plazo en altos niveles causa daños en las células pulmonares, mientras que la exposición a más largo plazo en niveles bajos de dióxido de nitrógeno puede causar cambios irreversibles en el tejido pulmonar similares a un enfisema (Wikipedia, 2011).

❖ Normas y Estándares

El límite anual de la Unión Europea es 40 microgramos/m³ para la protección de la salud pública, también ha adoptado un valor anual de 200 microgramos/m³ NE más de 24 veces en un año calendario. Japón tiene un promedio diario de óxido de nitrógeno que debe estar dentro o debajo del rango de 75 a 113 microgramos/m³. El rango de valores para otros países es bastante diverso en comparación con otros contaminantes. El estándar anual para la mayoría de países latinoamericanos es 50 microgramos/m³ (Wikipedia, 2011).

La Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire expresa que “el promedio aritmético de la concentración de óxidos de nitrógeno, expresada como NO₂, y determinada en todas las muestras en un año, no deberá exceder de cien microgramos por metro cúbico (100 µg/m³). La concentración máxima en 24 horas no deberá exceder ciento cincuenta microgramos por metro cúbico (150µg/m³) más de dos (2) veces en un año” (Ministerio del Ambiente, 2003).

El informe de la calidad del aire 2009 publicado por la CORPAIRE menciona que la Red automática de calidad del aire (RAUTO) no registró concentraciones mayores a las establecidas en la Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire, ni para períodos de 24 horas, ni para concentración media anual. Según este informe, las concentraciones anuales máximas registradas fueron 30.1µg/m³ en el sector del camal, 29.0µg/m³ en el sector del colegio San Gabriel y 27.9µg/m³ en el centro. Sin embargo la Red de monitoreo pasivo (REMPA) registró concentraciones medias anuales que superaron el valor guía de la OMS (40 µg/m³), en La Marín (59.40 µg/m³), Necochea (48.20 µg/m³) y Basílica (43.44 µg/m³).

Estos valores publicados por la CORPAIRE, nos dan una idea bastante clara de las emisiones gaseosas para este contaminante específico y aunque están elevadas, no llegan al máximo de los valores permitidos por nuestra legislación. Hay que tener en cuenta que este contaminante es muy peligroso por ser precursor de la formación de aerosoles y material particulado, que como veremos más adelante causa graves problemas en la salud.

1.4.1.2 *Monóxido de Carbono*

El monóxido de carbono (CO) es producto de la combustión incompleta de combustibles que contienen carbono, es un gas inoloro, incoloro y sin sabor que se une a la hemoglobina con una afinidad 250 veces mayor que el oxígeno, por lo tanto interfiere en el transporte sistémico del oxígeno a los tejidos (Brook *et al.*, 2004).

1.4.1.2.1 Fuente Antropogénica

Puede ser producido también por la combustión incompleta de gas, gasolina, keroseno, carbón, petróleo, tabaco o madera, así como en la combustión de combustibles fósiles en procesos industriales y también fuentes naturales como los incendios forestales. Las concentraciones de este gas son generalmente mayores durante los climas fríos, puesto que la combustión es menos eficiente a bajas temperaturas (Wikipedia, 2011; CORPAIRE, 2010b).

1.4.1.2.2 Efectos en la Salud

Los efectos más comunes de este contaminante en la salud humana son:

- En personas con enfermedades cardiovasculares, como angina, se pueden manifestar síntomas como dolor de pecho y otros síntomas cardiovasculares, especialmente cuando se realiza ejercicio.
- Mayor vulnerabilidad para experimentar contaminación por CO en personas con afectaciones que comprometen los sistemas cardiovascular y respiratorio, mujeres embarazadas, los bebés en gestación y recién nacidos.
- Las personas sanas expuestas a altas concentraciones de CO pueden ver afectada su visión y su alerta mental (CORPAIRE, 2010b).

1.4.1.2.3 Normas y Estándares

De acuerdo con los Estándares de la Calidad de Aire del Ambiente Nacional de los Estados Unidos el estándar de monóxido de carbono al aire libre es 9 ppm (40,000 microgramos por metro cúbico por 8 horas y 35 ppm por una hora) (Agencia de Protección Ambiental de EE. UU., 2010).

La Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire dice: “La concentración de monóxido de carbono de las muestras determinadas de forma continua, en un período de 8 (ocho) horas, no deberá exceder diez mil microgramos por metro cúbico ($10\ 000\ \mu\text{g}/\text{m}^3$) más de una vez en un año. La concentración máxima en una hora de monóxido de carbono no deberá exceder cuarenta mil microgramos por metro cúbico ($40\ 000\ \mu\text{g}/\text{m}^3$) más de una vez en un año” (Ministerio del Ambiente, 2003).

Basándose en esta información, el informe de la calidad del aire 2009 publicado también por la CORPAIRE menciona que ningún registro de la RAUTO superó lo establecido en esta norma para las concentraciones de 1 hora (40 mg/m^3) y en 8 horas (10 mg/m^3), y que tampoco fueron superadas las respectivas guías de la OMS (30 mg/m^3 en 1 hora, 10 mg/m^3 en 8 horas). La concentración más alta durante 1 hora (6.51 mg/m^3) se registró en Carapungo, en tanto que la máxima concentración durante 8 horas (2.71 mg/m^3) se registró en el sector del Colegio San Gabriel (Av. América), sin tener un valor muy elevado para el año 2009.

1.4.1.3 *Dióxido de Azufre*

El dióxido de azufre (SO_2) es un gas soluble altamente irritante que no tiene color, pero si un olor y sabor desagradables. En contacto con agua forma ácidos, los que le confieren el poder irritante al contacto con los ojos, las mucosas y la piel. En el aire, la principal fuente de SO_2 incluye la combustión de gasolinas con azufre, especialmente en las plantas generadoras de energía (Brook *et al.*, 2004).

1.4.1.3.1 Efectos en la Salud

Los principales efectos que causa la exposición a SO_2 en los humanos son:

- Estrechamiento de las vías respiratorias (bronco constricción) en niños y adultos con asma, esto, puede causar síntomas como opresión en el pecho y dificultad para respirar. Estos síntomas se vuelven más graves cuando aumenta la concentración de este gas y/o la frecuencia

respiratoria, pero cuando la exposición cesa, la función pulmonar, generalmente se recobra después de una hora.

- Cuando existen niveles muy elevados de este contaminante, una persona sana puede presentar los mismos síntomas descritos anteriormente.
- Las exposiciones a largo plazo de este gas junto con las de material particulado fino pueden causar enfermedades respiratorias, alterar los mecanismos pulmonares de defensa y agravar enfermedades cardiovasculares existentes (CORPAIRE, 2010b).

1.4.1.3.2 Normas y Estándares

La Norma Ecuatoriana de Calidad del Aire menciona: “El promedio aritmético de la concentración de SO₂ determinada en todas las muestras en un año no deberá exceder de ochenta microgramos por metro cúbico (80 µg/m³). La concentración máxima en 24 horas no deberá exceder trescientos cincuenta microgramos por metro cúbico (350 µg/m³), más de una vez en un año” (Ministerio del Ambiente, 2003).

Al analizar este contaminante en particular, según el informe presentado por la CORPAIRE de las emisiones de 2009 se puede encontrar cifras altas, por lo que es importante revisar lo que publica CORPAIRE: “*todas las estaciones de la RAUTO registraron valores inferiores a las concentraciones máximas permitidas por la Norma Ecuatoriana para el promedio en 24 horas (350 µg/m³) y en el año (80 µg/m³). No obstante, la guía de la OMS para 24 horas (20 µg/m³) fue superada en varias ocasiones en El Camal, destacándose los meses de mayo (16 veces), abril (7 veces) y noviembre (7 veces). En esta misma estación se registró el valor más alto del máximo promedio en 24 horas durante el año 2009 (60.5 µg/m³) y el máximo promedio anual (10.3 µg/m³)*” (CORPAIRE, 2010a).

“La guía de la OMS del año 2005 (OMS, 2006) propone un criterio para limitar las concentraciones de SO₂ a 500 µg/m³, en un período de 10 minutos. En El Camal, durante el año 2009 se registraron 8 eventos con concentraciones mayores a 500 µg/m³; (3 durante el 4 de enero y 5 durante el 28 de mayo). Por su parte la REMPA registró promedios anuales más altos en el Triángulo (26.68 µg/m³), La Marín (21.87), Necochea (20.42), Monteserrín (15.49), Morán Valverde (12.93), Cumbayá (12.27), Maternidad (12.26), El Camal (11.84), La Mariscal (10.92) y Escuela Sucre (10.63)” (CORPAIRE, 2010a).

Estos valores reportados nos pueden hacer pensar que si no hacemos un control más estricto de las emisiones vehiculares el problema puede convertirse en algo serio, recordemos que las emisiones de SO₂ son producto de la combustión de los combustibles con azufre principalmente, por lo que los esfuerzos deberían apuntar en ese sentido.

1.4.1.4 Ozono

El ozono (O₃) es un gas cuya molécula está compuesta por tres átomos de oxígeno. A temperatura y presión ambientales es de olor acre y generalmente incoloro, pero en grandes concentraciones puede tornarse azulado. El ozono que encontramos aproximadamente entre los 11 y 50 km de altitud, nos protege de los rayos ultravioleta del sol, pero el ozono que se encuentra a nivel del suelo, es un contaminante peligroso que se forma cuando los contaminantes emitidos por los autos, las chimeneas industriales y los depósitos de combustible o aquellos similares, reaccionan químicamente en la atmósfera en presencia de la luz solar (Wikipedia, 2011; Medline Plus, 2010; CORPAIRE, 2010b).

1.4.1.4.1 Efectos en la Salud

Los principales problemas derivados de la contaminación por ozono son:

- Este gas puede producir irritación en el sistema respiratorio, causar tos, irritación de la garganta y/o una sensación de incomodidad en el pecho.
- Puede provocar la reducción de la función pulmonar y dificultar la respiración normal, por lo que la capacidad de realizar ejercicio en espacios abiertos puede verse comprometida.
- Puede agravar el asma, ya que hace a las personas más sensibles a las alergias.
- Puede incrementar la susceptibilidad a infecciones respiratorias.
- El ozono puede inflamar y dañar el tapizado interno de los pulmones. Este problema en condiciones normales es regulado por el propio organismo, pero si la exposición es recurrente, el tejido pulmonar puede dañarse permanentemente, dando como resultado una pérdida de la elasticidad de los pulmones, una baja permanente en la función pulmonar y por tanto el debilitamiento de la salud (CORPAIRE, 2010b).

1.4.1.4.2 Normas y Estándares

La Norma Ecuatoriana menciona de los contaminantes fotoquímicos, expresados como ozono que: “la máxima concentración de oxidantes fotoquímicos, obtenida mediante muestra continua en un período de una hora, no deberá exceder de ciento sesenta microgramos por metro cúbico ($160 \mu\text{g}/\text{m}^3$), más de una vez en un año. La máxima concentración de oxidantes fotoquímicos, obtenida mediante muestra continua en un período de ocho horas, no deberá exceder de ciento veinte microgramos por metro cúbico ($120\mu\text{g}/\text{m}^3$), más de una vez en un año” (Ministerio del Ambiente, 2003).

Para este contaminante, el informe 2009 que presentó la CORPAIRE, reporta que los valores fueron menores a las concentraciones establecidas por la Norma Ecuatoriana para períodos de 1 hora (160 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) y 8 horas (120 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) y que por cuarto año consecutivo, no se sobre pasó el límite establecido por las normas ecuatorianas. Sin embargo, la guía de la OMS para períodos de 8 horas (100 $\mu\text{g}/\text{m}^3$) fue superada en el Centro (111.94) y Guamaní (103.68) el 13 de septiembre de 2009, se menciona en el informe que se puede explicar estos valores por los incendios forestales reportados ese día. La REMPA registró las concentraciones medias anuales más altas el Cruz Loma (42.3 $\mu\text{g}/\text{m}^3$), Pomasqui (36.25), Guayllabamba (34.70), Cumbayá (33.21), Pintag (31.55), La Ecuatoriana (31.26), La Roldós (31.00) y Tumbaco (30.64). En este informe se menciona la posibilidad de asociar las concentraciones medias de O_3 a largo plazo, con la altura.

1.4.1.5 *Material Particulado (PM)*

La materia particulada que es transportada por el aire consiste en una mezcla heterogénea de partículas sólidas y líquidas suspendidas en el mismo, éstas varían continuamente en tamaño y composición química en el tiempo y espacio.

1.4.1.5.1 Clasificación

Esta materia particulada puede ser clasificada en: Partículas torácicas " PM_{10} " (diámetro aerodinámico medio de $< 10 \mu\text{m}$), Fracción gruesa " $\text{PM}_{10-2.5}$ " (diámetro aerodinámico medio entre 2.5 y 10 μm), Partículas finas " $\text{PM}_{2.5}$ " (diámetro aerodinámico medio de $< 2.5 \mu\text{m}$) y Partículas ultrafinas (UFP) " $\text{PM}_{0.1}$ " (diámetro aerodinámico medio de $< 0.1 \mu\text{m}$). $\text{PM}_{2.5}$ se genera mayormente por

combustión, la fracción gruesa deriva de fuentes naturales como por ejemplo tierra soplada por el viento o de procesos de pulverización y las partículas ultrafinas también resultan de procesos de combustión (Brook *et al.*, 2004).

Otra clasificación que se le puede dar a este contaminante del aire, es en materia particulada primaria y secundaria. Las partículas primarias como el polvo de las carreteras o el carbón elemental de la combustión de maderas son emitidos directamente a la atmósfera, por otro lado, las partículas secundarias se forman en la atmósfera de emisiones primarias gaseosas. Por ejemplo, los sulfatos se forman del SO_2 de emisiones de plantas eléctricas e industrias, mientras que los nitratos se forman de las emisiones de NO_x de plantas de energía, automóviles y otros tipos de fuentes de combustión (Cuclis, 2006).

1.4.1.5.2 Fuente Antropogénica

En la naturaleza, el material particulado se genera por diversos procesos, en los cuales se puede incluir la polinización de plantas, incendios forestales y la acción que ejerce el viento sobre diversas superficies. Como principales fuentes antropogénicas de pequeñas partículas están la quema de combustibles sólidos, siendo los más importantes la madera y el carbón, ciertas actividades agrícolas como la aplicación de fertilizantes, el almacenamiento de granos y la industria de la construcción (CONAM, 2008).

La fuente de la cual proviene la materia particulada “más grande”, PM_{10} , es de la ceniza que vuela de las plantas eléctricas, de varios procesos de manufacturación, de las cenizas de fogatas, de prácticas de agricultura y

forestales, de fuentes de polvo como lo caminos no pavimentados y en los Estados Unidos, la mayor parte de PM_{10} proviene de fuentes naturales, y solo el 6% proviene de combustión de gasolinias por parte de la industria y del transporte (Cuclis, 2006).

1.4.1.5.3 Composición Química

La composición química de las partículas depende de la localización, el tiempo del año, y el clima. Los diferentes componentes de PM son el resultado de varios tipos de emisiones y por lo tanto, los mismos van a variar dependiendo de los factores antes mencionados (Cuclis, 2006).

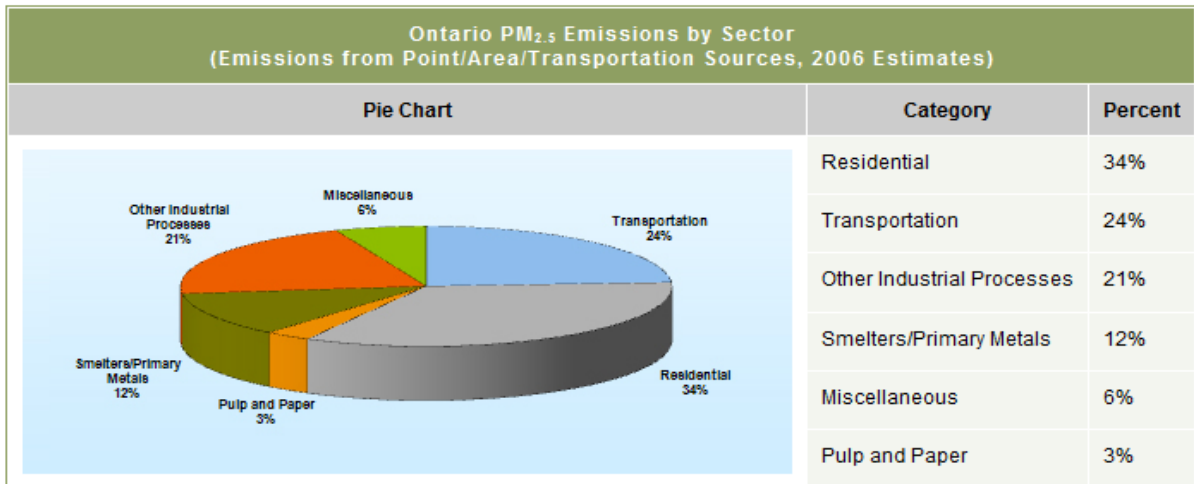
Tomando en cuenta esto, un artículo publicado en 2007 por María Cruz Minguillón, realizado en la zona cerámica de Castellón-España, muestra a varios elementos traza como contaminantes ambientales en esta zona del país. Este estudio es importante, ya que no solo cita a estos elementos como peligros para la salud, sino que también indica las principales fuentes de las que provienen los mismos. A continuación se describen los elementos traza encontrados en este estudio y las fuentes que los producen (cuadro 1.2):

Cuadro 1.2 Elementos traza en la zona cerámica de Castellón.

Elementos traza	Descripción
Zr, Zn, Pb, As, Tl, Ba y Cs	Uso y fabricación de componentes de esmaltes (incluyendo fabricación de fritas cerámicas)
Se, Ce, Cd y Cr	Uso y fabricación de determinados pigmentos cerámicos
Sb	Generalmente asociado al tráfico, aunque puede proceder del uso y fabricación de determinados pigmentos cerámicos.
Rb, Li, La, Sc y Pr	Emisiones de materia mineral (principalmente generadas en la fabricación de baldosas cerámicas)
Co	Emisiones de materia mineral y uso y fabricación de determinados pigmentos cerámicos
Cu	Tráfico
Mn	Generalmente asociado al tráfico, aunque en la zona de estudio está asociado también con la materia mineral
V	Central térmica y planta petroquímica
Ni	Central térmica y planta petroquímica, aunque puede proceder también del uso y fabricación de determinados pigmentos cerámicos.

(Tomado de Minguillón, 2007).

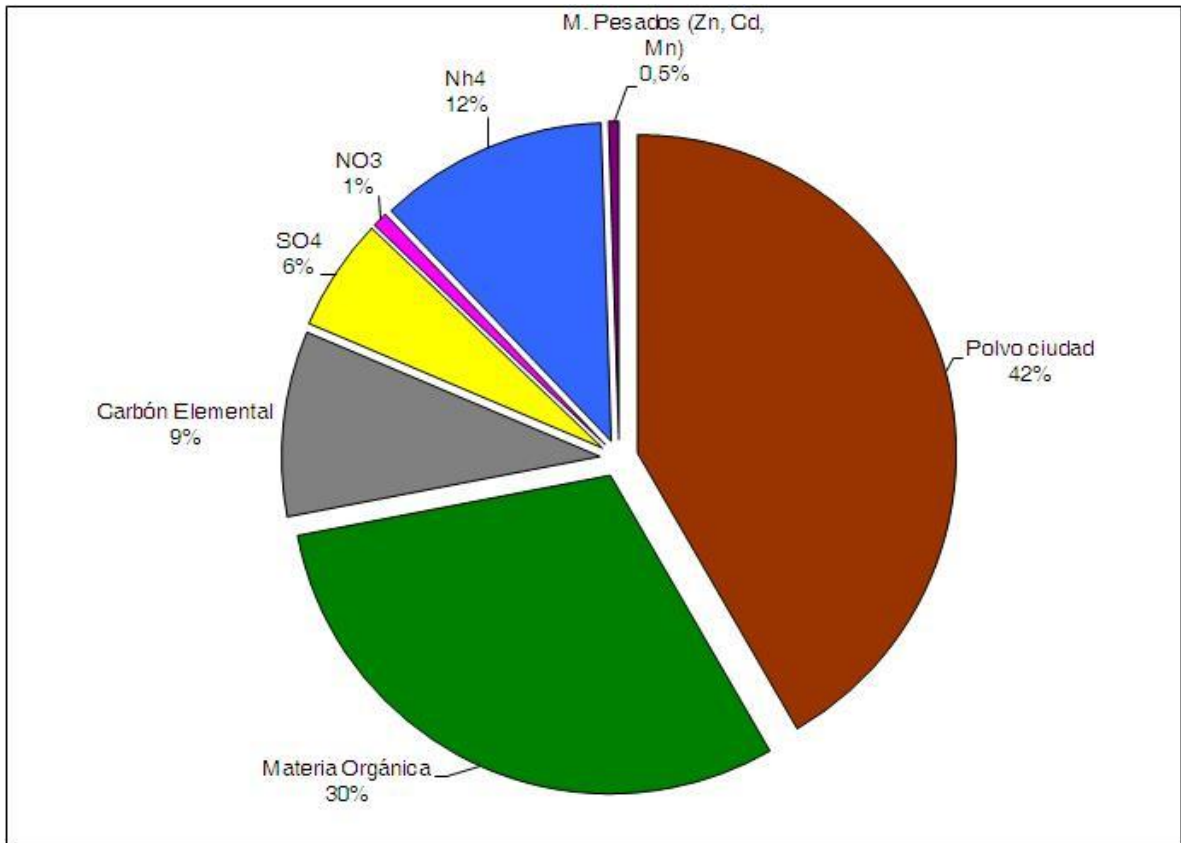
Puesto que la composición del material particulado varía de acuerdo a la zona, el Ministerio del Ambiente de Ontario Canadá, publica en 2006 que la composición del $PM_{2.5}$ de esta ciudad, está mayormente relacionada con partículas de sulfato y nitrato, carbón orgánico y elemental y tierra. Además muestra, como lo hace la figura 1.1, las emisiones de acuerdo a la fuente.



(Tomado de Ministry of the Environment Ontario, 2006).

Figura 1.1 Emisiones de PM_{2.5} por sector en Ontario-Canadá.

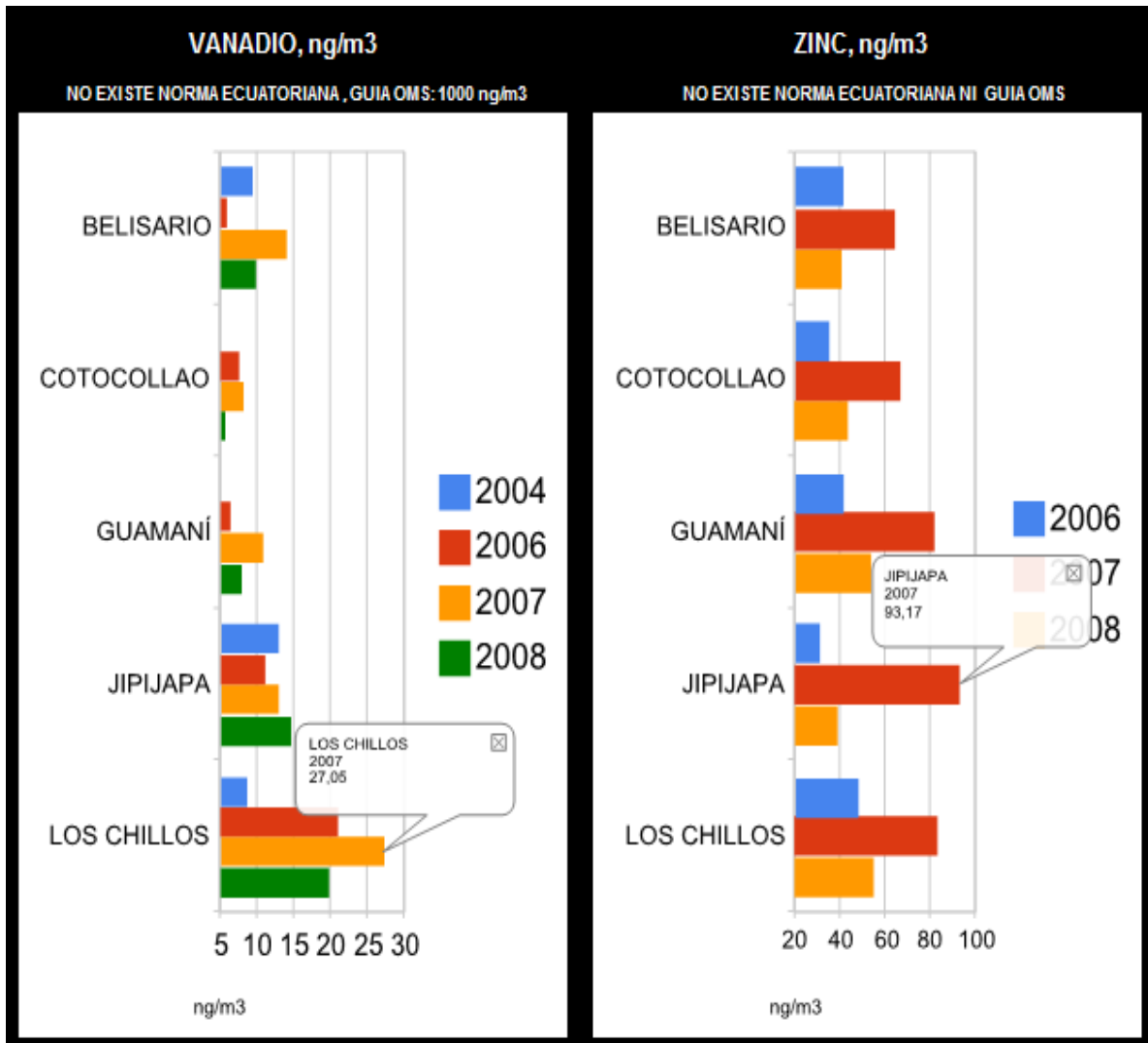
En el Ecuador, la Corporación Municipal para el Mejoramiento del Aire de Quito (CORPAIRE), analiza la materia particulada muestreada en el Distrito Metropolitano de Quito y publica en su página web, la caracterización química de ésta. La figura 1.2, muestra esta caracterización.



(Tomado de CORPAIRE, 2011).

Figura 1.2 Caracterización Química del PM₁₀ en el DMQ.

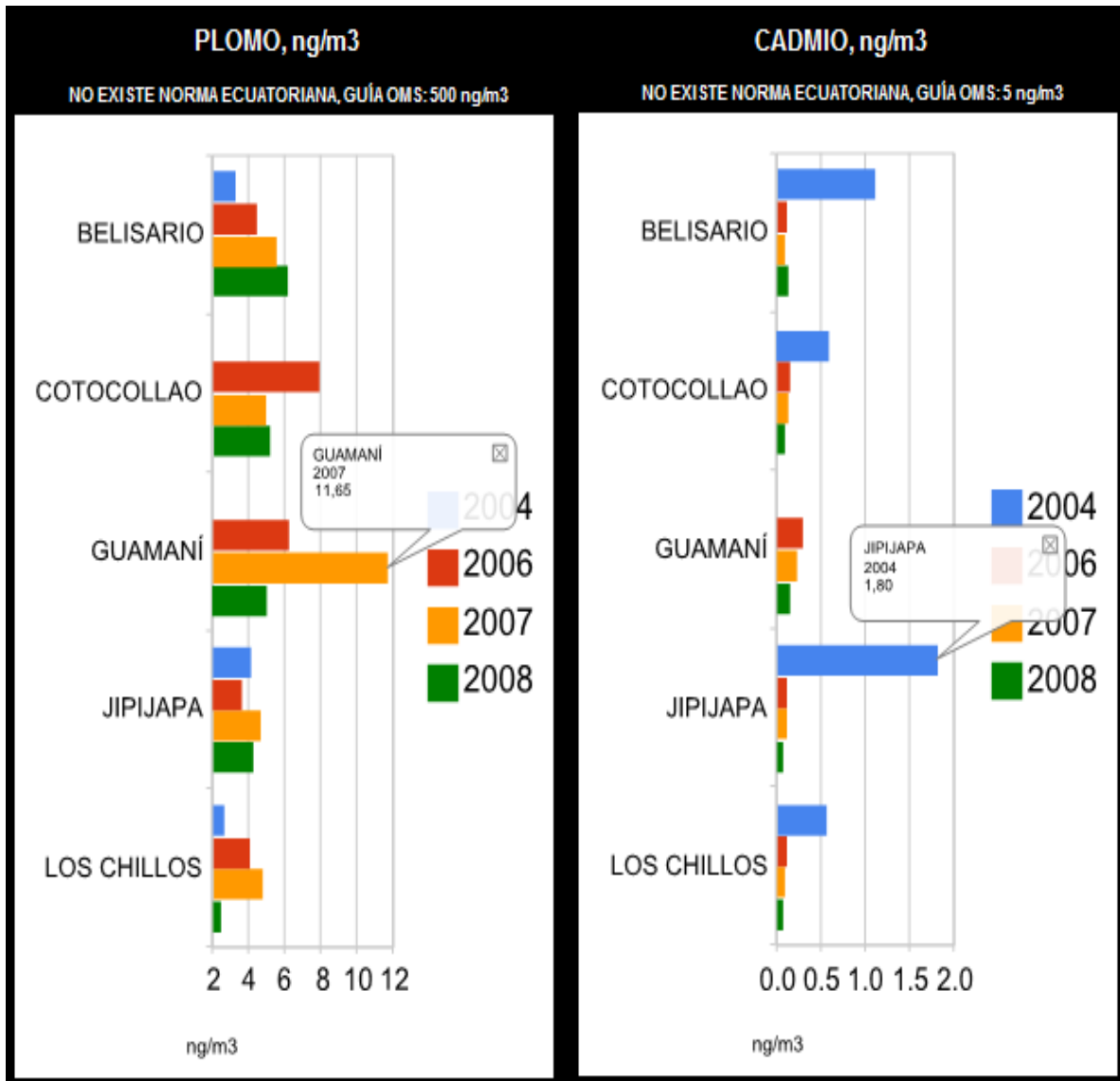
Como se muestra en la figura 1.2, el PM₁₀ del DMQ muestra una gran cantidad de polvo y materia orgánica en su composición, pero también posee algunos metales traza, los cuales también fueron analizados en cantidad en cada una de las estaciones de monitoreo de esta organización. Las figuras 1.3, 1.4 y 1.5 muestran este estudio.



(Tomado de CORPAIRE, 2009).

Figura 1.3 Concentraciones de Vanadio y Zinc en las estaciones de monitoreo de CORPAIRE.

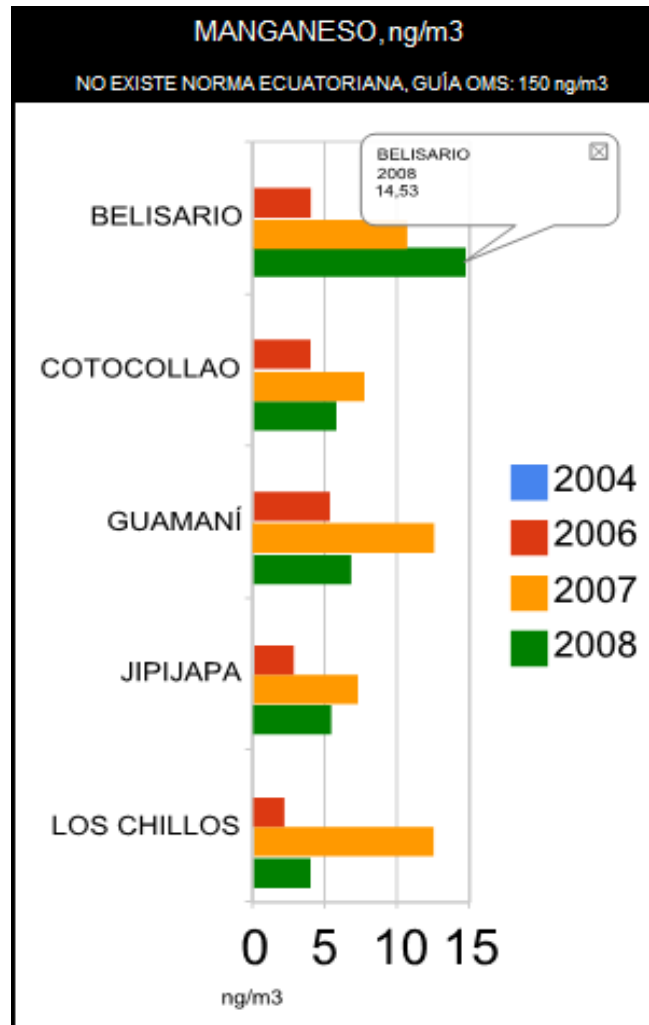
La figura 1.3 muestra que el año 2007 fue el de mayor concentración de los dos metales. La estación Los Chillos presenta la mayor concentración de Vanadio y la estación Jipijapa la de Zinc. A pesar de que ese año muestra las concentraciones más altas de los metales, ninguno se convierte un peligro para la salud humana.



(Tomado de CORPAIRE, 2009).

Figura 1.4 Concentraciones de Plomo y Cadmio en las estaciones de monitoreo de CORPAIRE.

Al igual que el vanadio y el zinc, las concentraciones en el DMQ de estos metales no representan riesgo para los humanos. La estación Guamaní en el 2007 reporta la mayor concentración de Plomo y la estación Jipijapa en el 2004 la de Cadmio.



(Tomado de CORPAIRE, 2009).

Figura 1.5 Concentración de Manganeso en las estaciones de monitoreo de CORPAIRE.

Esta figura explica la misma tendencia de las dos anteriores, es decir, que los metales traza en el DMQ no son un riesgo para la salud de los seres humanos. La mayor concentración de manganeso se produjo en la estación Belisario en 2008.

1.4.1.5.4 Normas y Estándares

En nuestro país, el Ministerio del Ambiente publicó el Texto Unificado de la Legislación Ambiental Secundaria en el cual se encuentran los límites máximos permitidos y los niveles críticos de contaminación, el cual hace referencia a los contaminantes comunes del aire ambiente y menciona lo siguiente:

“Material particulado menor a 10 micrones (PM₁₀).- El promedio aritmético de la concentración de PM₁₀ de todas las muestras en un año no deberá exceder de cincuenta microgramos por metro cúbico (50 µg/m³). La concentración máxima en 24 horas, de todas las muestras colectadas, no deberá exceder ciento cincuenta microgramos por metro cúbico (150 µg/m³), valor que no podrá ser excedido más de dos (2) veces en un año” (Ministerio del Ambiente, 2003).

“Material particulado menor a 2,5 micrones (PM_{2,5}).- Se ha establecido que el promedio aritmético de la concentración de PM_{2,5} de todas las muestras en un año no deberá exceder de quince microgramos por metro cúbico (15 µg/m³). La concentración máxima en 24 horas, de todas las muestras colectadas, no deberá exceder sesenta y cinco microgramos por metro cúbico (65 µg/m³), valor que no podrá ser excedido más de dos (2) veces en un año” (Ministerio del Ambiente, 2003).

Siguiendo estas referencias, el informe de la calidad del aire en 2009 publicado por la CORPAIRE menciona para:

- Material Particulado Grueso (PM₁₀): La estación de Tababela superó las normas ecuatorianas con una concentración de 536.5 µg/m³ en julio de ese año, mientras que la estación de Guanamí en septiembre registró 108.37 µg/m³. Según la guía propuesta por la OMS (50 µg/m³), excepto

en Jipijapa, fue superada en todas las estaciones: Belisario (21 veces), Tababela y Cotocollao (15 veces cada una), Guamaní (12), El Camal (6) y Los Chillos (1).

En relación a la concentración anual máxima permitida por la Norma Ecuatoriana ($50 \mu\text{g}/\text{m}^3$), ésta fue superada sólo en Tababela ($52.9 \mu\text{g}/\text{m}^3$). No obstante en todas las 7 estaciones de la Red Activa de Material Particulado (RAPAR) se superó la guía de la OMS ($20 \mu\text{g}/\text{m}^3$), siendo $24.09 \mu\text{g}/\text{m}^3$ la concentración más baja, en Los Chillos.

- Material Particulado Fino ($\text{PM}_{2.5}$): el 1º de enero de 2009, en Cotocollao se registró una concentración de $73.88 \mu\text{g}/\text{m}^3$, superando lo que establece la Norma Ecuatoriana como concentración máxima permitida en 24 horas ($65 \mu\text{g}/\text{m}^3$). En el resto del año las concentraciones fueron menores a lo que establece esta norma. No obstante, en todas las estaciones de la RAUTO se superó sistemáticamente el valor guía de la OMS ($25 \mu\text{g}/\text{m}^3$), especialmente en los meses de agosto a noviembre.

La concentración media anual establecida para Ecuador ($15 \mu\text{g}/\text{m}^3$) fue superada en todas las estaciones de la RAUTO provistas con sensores de $\text{PM}_{2.5}$ (El Camal, Belisario, Centro, Cotocollao y Carapungo). La concentración más baja se registró en Cotocollao ($17 \mu\text{g}/\text{m}^3$), y la más alta en El Camal ($22.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$). Estas concentraciones también son mayores al valor guía que al respecto sugiere la OMS ($10 \mu\text{g}/\text{m}^3$).

Analizando los valores reportados para 2009 de este contaminante ambiental, se puede explicar, que en el caso de PM_{10} los valores elevados se dan por que las estaciones están cerca de vías no pavimentadas, canteras e incluso de la construcción del nuevo aeropuerto de Quito y tomando en cuenta que este

material grueso se asocia a procesos de suspensión de polvo, estas pueden ser las razones para explicar esos valores elevados. En cuanto a $PM_{2.5}$ que es producto de la quema de combustibles fósiles, los valores se deben a este factor, sobre todo el primero de enero, ya que la tradición ecuatoriana de quema de años viejos pudo contribuir en gran medida a los valores elevados ese mismo día.

Con una idea más clara de los contaminantes del aire, es relevante revisar con más detalle los problemas que los mismos pueden causar en la salud de los seres humanos.

1.4.2 Efectos de los principales contaminantes en la salud

En el estudio realizado por Brook *et al.* en el año 2004 se muestra que el CO, los NO_x , el SO_2 , el O_3 y la materia particulada están asociados con el incremento en la hospitalización y la mortalidad debido a enfermedades cardiovasculares especialmente en personas con daño cardíaco, frecuentes arritmias o ambos. Estudios realizados en conejos hiperlipidémicos expuestos a PM_{10} muestran lesiones coronarias más avanzadas, aterosclerosis extensiva en la aorta y un incremento en la composición de lípidos. Este estudio hace referencia a que, los posibles vínculos entre la exposición aguda y/o crónica a PM y eventos cardiovasculares, pueden estar relacionados al incremento en el ritmo cardíaco y la presión sanguínea, fibrinógeno y los factores de coagulación sanguínea; mediadores de la inflamación y daño o disfunción endotelial. Consecuencias de estos efectos pueden incluir isquemia miocárdial, arritmias ventriculares y aumento en el potencial de trombosis aguda para el desencadenamiento de síndromes coronarios agudos. Estudios epidemiológicos han demostrado un incremento en el riesgo de eventos cardiovasculares en relación con la exposición a corto y largo plazo de la materia particulada

ambiental. Varios mecanismos han sido descritos, incluyendo aumento en la coagulación/trombosis, una propensión a arritmias, vasoconstricción arterial aguda, respuesta sistémica inflamatoria y aterosclerosis crónica.

Frampton publica en el 2001 un estudio que menciona el posible por qué del peligro de la materia particulada y hace mención a la acidez de la partícula, su contenido de metales pesados, bioaerosoles y las partículas ultrafinas (UFPs). Las partículas ultrafinas son importantes con relación a los efectos en salud respiratoria por varias razones: 1) las UFPs son biológicamente más reactivas que aquellas de mayor tamaño y producen efectos a bajas concentraciones; 2) las UFPs a la misma concentración en el aire tienen mayor número y área superficial que las partículas grandes; 3) inhalar UFPs tienen una alta deposición en la región pulmonar y 4) las UFPs tienen una alta propensión a penetrar el epitelio y alcanzar los espacios intersticiales. Frampton propone en este estudio una fisiopatología que relaciona los contaminantes y los eventos cardiovasculares, en la siguiente secuencia:

- a) Daño a las células epiteliales por las especies reactivas de oxígeno, acompañado con la activación de los factores de regulación nuclear para la elaboración de citocinas proinflamatorias que incluyen IL-8 e IL-6.
- b) Activación del endotelio vascular y los leucocitos polimorfonucleares circulantes, eosinófilos, linfocitos y monocitos.
- c) Incremento en la liberación de IL-6 y factor de tejido por las células mononucleares activadas de la sangre. IL-6 inicia la síntesis hepática de las proteínas de la fase aguda. El factor de tejido monocítico y la activación de las células endoteliales inician la cascada de coagulación.

Por otro lado, la investigación llevada a cabo por Lanki *et al.* en el año 2006 muestra la incidencia de la materia particulada en afecciones cardiovasculares y el mismo hace referencia a que el 6% de las muertes anuales en tres ciudades europeas se debe a la contaminación por materia particulada en el aire. Indica que la exposición a la contaminación ambiental, especialmente a la materia particulada, está relacionada con enfermedades cardíacas como arritmias y fallas del corazón, desencadenando así eventos de infarto de miocardio y que la propensión a la aterosclerosis está también envuelta en los efectos crónicos de la contaminación ambiental. Además este estudio indica que existe una gran diferencia entre las fuentes generadoras de la materia particulada y que dependiendo de las mismas los efectos van a ser también diferentes para cada uno de ellos, pero sin dejar de lado todo el evento de problemas cardíacos que produce este tipo de contaminante ambiental. Es importante mencionar que esta investigación, así como las anteriormente citadas, hace énfasis en las partículas ultrafinas e indica que algunos estudios toxicológicos sugieren que los efectos de las UFPs en salud humana pueden ser debidos a los compuestos orgánicos presentes y que por otro lado la composición de las mismas no es necesariamente decisiva, a pesar de que hasta la materia particulada inerte de las partículas ultrafinas han demostrado ser capaces de inducir estrés oxidativo debido a su gran número, su gran área superficial y su alta penetración.

En el año 2005 Delfino *et al.* publica un artículo en el que mencionan las asociaciones entre las admisiones hospitalarias y la mortalidad con la contaminación ambiental del aire, la concentración de la materia particulada, especialmente $PM_{2.5}$ y PM_{10} . Se muestra asociaciones entre la materia particulada, los riesgos de isquemia cardíaca y arritmias, incremento en la presión sanguínea, decremento del ritmo cardíaco e incremento de los marcadores circulantes de inflamación y trombosis. Los componentes redox activos en las UFPs provenientes de la combustión de gasolinas fósiles alcanzan los sitios

cardiovasculares objetivo. Alta exposición a UFPs puede llevar a una inflamación sistémica debido al estrés oxidativo que se da como respuesta ante las especies reactivas de oxígeno, promoviendo así, un avance en la aterosclerosis y las respuestas cardiovasculares agudas, desde un aumento en la presión sanguínea hasta un infarto de miocardio.

Como ya se ha mencionado, la respuesta inflamatoria es una de las consecuencias de este problema y el estudio que realiza Riediker *et al.* en el año 2004, es de valiosa importancia, puesto que el mismo muestra algunos marcadores de la inflamación como la proteína reactiva C (CRP), plasminógeno, el factor von Willebrand, entre otras y además hace referencia a que algunos gases presentes en el ambiente como el NO₂ y el CO no presentan una respuesta significativa.

Delfino *et al.* 2008 hace una importante contribución al estudiar la asociación de la contaminación por materia particulada y la inflamación sistémica. Esta investigación estudia biomarcadores de inflamación sistémica que han sido asociados con riesgos en morbi-mortalidad por problemas cardiovasculares. Los marcadores estudiados fueron, Proteína C reactiva (PCR), fibrinógeno, factor de necrosis tumoral α (TNF- α) y su receptor soluble II (sTNF-RII), interleucina 6 (IL-6) y su receptor soluble (IL-6sR), selectina soluble plaquetaria (sP-selectina), molécula de adherencia vascular 1 soluble (sVCAM-1), molécula de adherencia intracelular 1 soluble (sICAM-1) y mieloperoxidasa (MPO). Lo relevante de este estudio es que encuentra asociaciones positivas entre PCR, sTNF-RII, IL-6 y sP-selectina con la exposición a partículas cuasi-ultrafinas y coeficientes positivos pero no altamente significantes entre TNF- α , sVCAM-1 y sICAM-1. Esta importante investigación provee evidencia de que las emisiones vehiculares de

carbón orgánico primario y partículas cuasi-ultrafinas llevan a un incremento en la inflamación sistémica y la activación plaquetaria en ancianos con enfermedad de las arterias coronarias.

Toda esta información nos muestra, que en efecto, hay una relación entre la contaminación del aire (PM) y problemas cardiovasculares. Poco a poco van aumentando los estudios que se focalizan en este aspecto (Auchincloss *et al.*, 2008; Peretz *et al.*, 2008); pero el mecanismo por el que todo esto sucede, todavía es algo misterioso.

Los mecanismos biológicos tras de esta asociación, todavía permanecen sin resolverse, pero una posible respuesta puede ser que este proceso se inicia al respirar el material particulado suspendido en el aire, aquel que es lo suficientemente pequeño como para cruzar la barrera aire-sangre y translocarse a la circulación pulmonar para de esta manera interactuar directamente con el tejido cardíaco (Totlandsdal, Refsnes, *et al.*, 2008; Totlandsdal, Skomedal, *et al.*, 2008).

Una vez que ya se ha incorporado el material particulado a la circulación, este puede actuar provocando una inflamación, misma que juega un papel importante en la patogénesis de la aterosclerosis. La aterosclerosis es la principal causa de enfermedades coronarias, es una enfermedad inflamatoria en la cual los mecanismos inmunes interactúan con los factores de riesgo metabólicos, para iniciar, propagar y activar las lesiones en el árbol arterial (Hansson, 2005).

Podemos especular que la forma en la cual el PM causa inflamación es la misma o por lo menos muy similar a la inflamación causada por el depósito de LDL en las arterias. Este proceso se da una vez que se ha infiltrado y retenido el LDL en la intima arterial, iniciándose así, una respuesta inflamatoria en la pared de la arteria. La modificación del LDL por oxidación o atracción enzimática a la intima, lleva a liberación de fosfolípidos que pueden activar las células endoteliales. Las plaquetas, son las primeras células sanguíneas en llegar a la escena de la activación endotelial. Sus glicoproteínas Ib y IIb/IIIa ligan moléculas de superficie en la célula, para contribuir a la activación del endotelio (Hansson, 2005).

Las células endoteliales activadas expresan varios tipos de moléculas de adhesión leucocítica, mismas que provocan que las células sanguíneas vayan por la superficie vascular para adherirse al sitio de la activación. Ya que la molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1) es típicamente sobre regulada en respuesta a la hipercolesterolemia, las células que llevan los receptores para VCAM-1 (monocitos y linfocitos) se adhieren con preferencia a estos lugares. Una vez que las células se han ligado, citocinas producidas en la intima, estimulan su migración entre los espacios inter-endoteliales y sub-endoteliales (Hansson, 2005).

Una citocina o un factor de crecimiento producido en la intima inflamada, factor estimulador de macrófagos, inducen la entrada de los monocitos a la placa para que se diferencien en macrófagos. Este paso es crucial para el desarrollo de la aterosclerosis. Los macrófagos activados, producen citocinas inflamatorias, proteasas y radicales de oxígenos y nitrógeno citotóxicos (Hansson, 2005).

Células inmunes, incluidas células T, células dendríticas presentadoras de antígeno, monocitos y macrófagos, patrullan varios tejidos, incluyendo las arterias ateroscleróticas, en busca de antígenos. Cuando los receptores de antígenos de las células T han sido ligados con el antígeno, la cascada de activación, resulta en la expresión de un set de citocinas, moléculas de superficie celular y enzimas. Las células inmunes activadas en la placa, producen citocinas inflamatorias (interferon γ , interleucina-1 y factor de necrosis tumoral [TNF]) que inducen la producción de cantidades considerables de IL-6. Por su parte la interleucina 6 estimula la producción de grandes cantidades de proteína C reactiva (CRP) y fibrinógeno, especialmente en el hígado. Como resultado de este proceso, niveles elevados de interleucina 6 (IL-6) y proteína C reactiva, pueden ser detectadas en la circulación (Hansson, 2005).

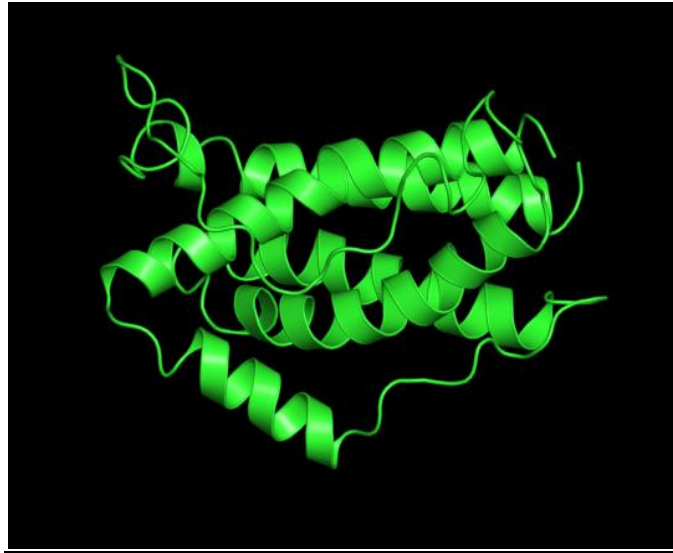
1.4.3 Marcadores de inflamación

Existen varias moléculas responsables de brindar una señal de alerta cuando detectan un peligro. Muchas de ellas se utilizan como indicadores de cierta deficiencia o mal y en el presente trabajo se van a utilizar varias para determinar si existe o no relación entre la exposición a contaminantes y la respuesta inflamatoria. Éstas son:

1.4.3.1 Interleucina 6 (IL-6)

La forma funcional de esta glucoproteína corresponde a un homodímero en el que cada subunidad forma un dominio globular de cuatro hélices alfa. Su receptor consta de una proteína que se une a la citocina y una subunidad

transdutora de señales, las mismas que pertenecen a la familia de receptores de citocinas de tipo I (Abbas, Lichtman; 2004). Ver figura 1.6

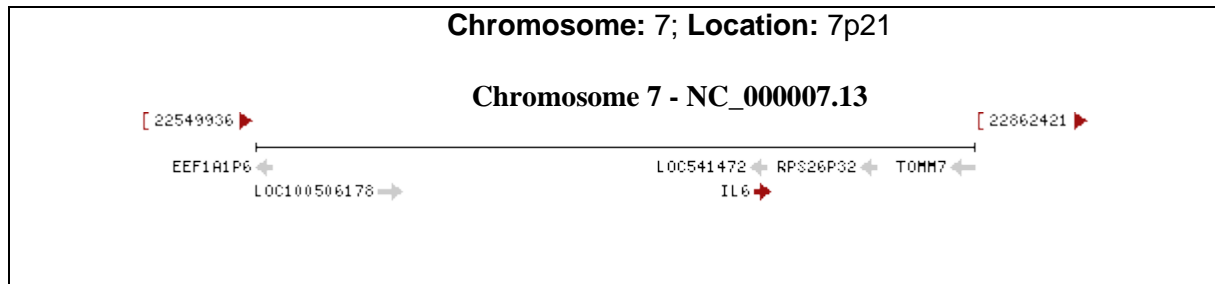


(Tomando de EBI, 2011).

Figura 1.6 Estructura de IL-6 humana recombinante.

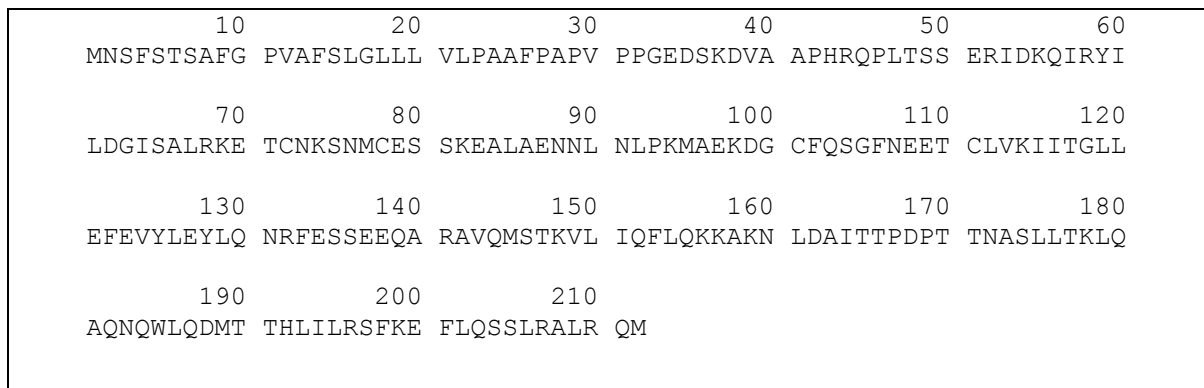
Esta molécula también es conocida como interferón beta-2, BSF-2, CDF, factor diferenciador CTL, factor de crecimiento del hibridoma, factor 2 estimulador de las células B (EBI/UniProt; 2011). Es una citocina multifuncional alfa helicoidal con papeles importantes en la defensa del huésped, en reacciones de la fase aguda, en la respuesta inmune y en la hematopoyesis. Es expresada por una variedad de células normales y transformadas entre las que están las células T, las células B, monocitos/macrófagos, fibroblastos, hepatocitos, keratinocitos, astrocitos, células endoteliales vasculares y células de varios tumores (R&D Systems, 2008).

IL-6 comprende 6118 bps del cromosoma 7 (figura 1.7), desde 22765503 hasta 22771621. Tiene 10 transcritos con un total de 26 exones en la cadena codificadora. Esta molécula tiene una longitud de 212 AA, una masa de 23,718 Da y la secuencia que se presenta en la figura 1.8. (NCBI, 2011; EBI, 2011).



(Tomado de NCBI, 2011).

Figura 1.7 Cromosoma en el que se encuentra ubicado el gen de IL-6.



(Tomado de EBI/UniProt, 2011).

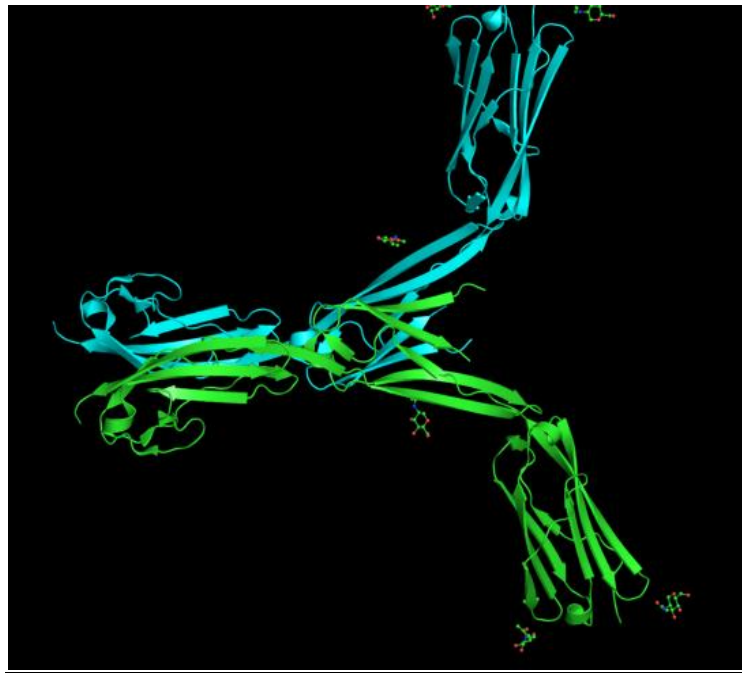
Figura 1.8 Secuencia de IL-6.

IL-6 actúa de forma similar como un factor de crecimiento para las células plasmáticas neoplásicas, conocidas como mielomas, de modo que muchas células mielomatosas que crecen de forma autónoma secretan IL-6 como un factor de crecimiento autocrino. Además puede favorecer el crecimiento de hibridomas productores de anticuerpos monoclonales, que derivan de los mielomas (Abbas, Lichtman; 2004).

Los valores de referencia de IL-6 para personas aparentemente sanas son: promedio (6,81 pg/mL) y los comprendidos entre 0,45 pg/mL y 9,96 pg/mL (R&D Systems, 2008).

1.4.3.2 Molécula de adherencia intercelular-1 (ICAM-1)

Es una glucoproteína de membrana de 532 aminoácidos (ver figura 1.9) y una masa de 75 a 144 kD, que se expresa en diversas células hematopoyéticas y no hematopoyéticas, tales como linfocitos B y T, células dendríticas, macrófagos, fibroblastos, queratinocitos y células endoteliales (Abbas, Lichtman; 2004).



(Tomado de EBI, 2011).

Figura 1.9 Base estructural para la dimerización de ICAM-1 en la superficie celular.

Este homodímero que comprende 15774 bps del cromosoma 19 (figura 1.10), es conocido también como BB2, CD54, P3.58 y se une a integrinas del

tipoCD11a/ CD18, o CD11b/CD18; también es usado por el Rhinovirus como receptor. ICAM-1 tiene 2 transcritos con un total de 10 exones en la cadena codificante (EBI, 2011; NCBI, 2011).

10	20	30	40	50	60
MAPSSRPAL	PALLVLLGAL	FPGPGNAQTS	VSPSKVILPR	GGSVLVTCST	SCDQPKLLGI
70	80	90	100	110	120
ETPLPKKELL	LPGNNRKVYE	LSNVQEDSQP	MCYSNCPDGQ	STAKTFLTVY	WTPERVELAP
130	140	150	160	170	180
LPSWQPVGKN	LTLRCQVEGG	APRANLTVVL	LRGEKELKRE	PAVGEPAEVT	TTVLVRRDHH
190	200	210	220	230	240
GANFSCRTEL	DLRPQGLELF	ENTSAPYQLQ	TFVLPATPPQ	LVSPRVLEVD	TQGTVVCSLD
250	260	270	280	290	300
GLFPVSEAQV	HLALGDQRLN	PTVTYGNDSF	SAKASVSVTA	EDEGTQRLTC	AVILGNQSQE
310	320	330	340	350	360
TLQTVTIYSF	PAPNVILTKP	EVSEGTEVTV	KCEAHPRAKV	TLNGVPAQPL	GPRAQLLLKA
370	380	390	400	410	420
TPEDNGRSFS	CSATLEVAGQ	LIHKNQTREL	RVLYGPRLDE	RDCPGNWTWP	ENSQQTPMCQ
430	440	450	460	470	480
AWGNPLPELK	CLKDGTFFLP	IGESVTVTRD	LEGTYLCRAR	STQGEVTRKV	TVNVLSPRYE
490	500	510	520	530	
IVIITVVA	VIMGTAGLST	YLYNRQRKIK	KYRLQQAQKG	TPMKPNTQAT	PP

(Tomado de EBI/UniProt, 2011).

Figura 1.10 Secuencia de aminoácidos de ICAM-1

La proteína codificada por este gen (figura 1.11), es un tipo de molécula de adherencia intercelular presente comúnmente en bajas concentraciones en la membrana de leucocitos y células endoteliales. Luego de la estimulación de citocinas, la concentración aumenta. ICAM-1 puede ser inducida por la interleucina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) (NCBI, 2011).

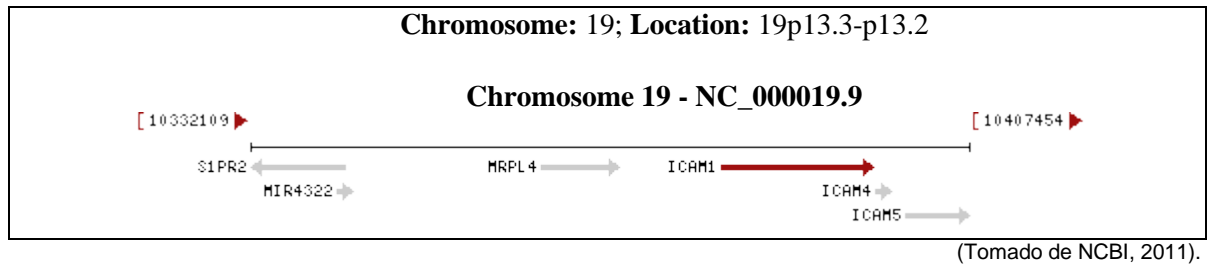
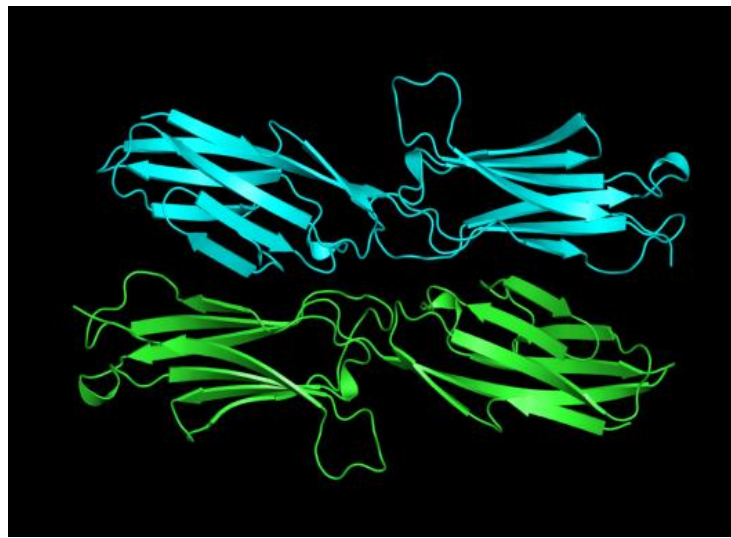


Figura 1.11 Cromosoma en el que se localiza ICAM-1.

Luego de realizar pruebas de la concentración de esta molécula en individuos aparentemente sanos, R&D Systems, reporta como valores de referencia un promedio de 208 ng/mL, un rango de 98.8 – 320 ng/mL y una desviación estándar de 40.7 ng/mL.

1.4.3.3 Molécula de adherencia vascular-1 (VCAM-1)

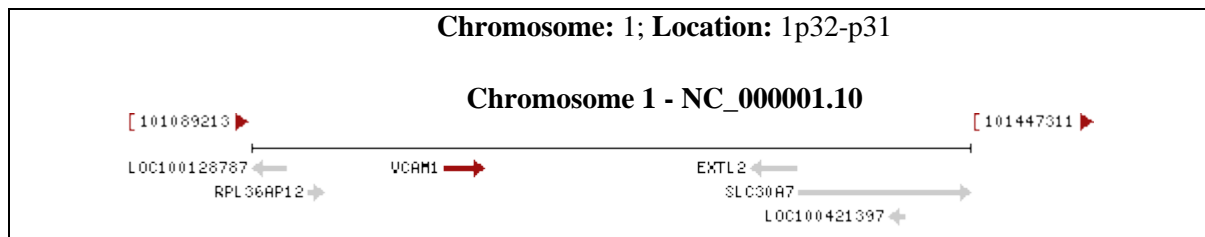


(Tomado de EBI, 2011).

Figura 1.12 Estructura cristalina de un fragmento de 2 dominios N-terminal de VCAM-1.

La molécula (figura 1.12) codificada por este gen, es miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas y codifica una sialoglicoproteína de superficie celular expresada por el endotelio activado mediante citocinas. Esta proteína de membrana tipo 1 media la adhesión celular leucocito-endotelio y la transducción de señales. Puede tener un rol importante en el desarrollo de aterosclerosis y artritis reumatoidea (NCBI, 2011).

VCAM-1 comprende 19296 bps del cromosoma 1 (figura 1.13) desde 101185305 hasta 101204601 y tiene 4 transcritos con un total de 15 exones en la cadena principal. Esta molécula de 739 aminoácidos (figura 1.14) y de 100 a 110 kD contiene seis o siete dominios de inmunoglobulina y es expresado solo después de que las células endoteliales han sido estimuladas por citocinas en el endotelio vascular inflamado, así como en macrófagos y células dendríticas (EBI, 2011; EBI/UniProt, 2011).



(Tomado de NCBI, 2011).

Figura 1.13 Cromosoma en el que se localiza el gen de VCAM-1.

10	20	30	40	50	60
MPGKMVVILG	ASNILWIMFA	ASQAFKIEIT	PESRYLAQIG	DSVSLTCSTT	GCESPPFSWR
70	80	90	100	110	120
TQIDSPLNKG	VTNEGTTSTL	TMNPVDFGNE	HSYLCTATCE	SRKLEKGIQV	EIYSFPKDPE
130	140	150	160	170	180
IHLGSPLEAG	KPITVKCSVA	DVYPFDRLEI	DLLKGDHLMK	SQEFLEDADR	KSLETKSLEV
190	200	210	220	230	240
TFTPVIEDIG	KVLVCRALH	IDEMDSVPTV	RQAVKELQVY	ISPKNTVISV	NPSTKLQEGG
250	260	270	280	290	300
SVTMTCSSEG	LPAPEIFWSK	KLDNGNLQHL	SGNATLTLIA	MRMEDSGIYV	CEGVNLIGKN
310	320	330	340	350	360
RKEVELIVQE	KPFTVEISPG	PRIAAQIGDS	VMLTCSVMGC	ESPSFSWRTQ	IDSPLSGKVR
370	380	390	400	410	420
SEGTNSTLTL	SPVSFENEHS	YLCTVTCGHK	KLEKGIQVEL	YSFPRDPEIE	MSGGLVNGSS
430	440	450	460	470	480
VTVSCKVPSV	YPLDRLEIEL	LKGETILENI	EFLEDTDMKS	LENKSLEMTF	IPTIEDTGKA
490	500	510	520	530	540
LVCQAKLHID	DMEFEPKQRQ	STQTLYVNVA	PRDTTVLVSP	SSILEEGSSV	NMTCLSQGFP
550	560	570	580	590	600
APKILWSRQL	PNGELQPLSE	NATLTLISTK	MEDSGVYLCE	GINQAGRSRK	EVELIIQVTP
610	620	630	640	650	660
KDIKLTAFPS	ESVKEGDTVI	ISCTCGNVPE	TWIIILKKKAE	TGDTVLSID	GAYTIRKAQL
670	680	690	700	710	720
KDAGVYECES	KNKVGSQLRS	LTLDVQGREN	NKDYFSPPELL	VLYFASSLII	PAIGMIIYFA
730					
RKANMKGSYS	LVEAQKSKV				

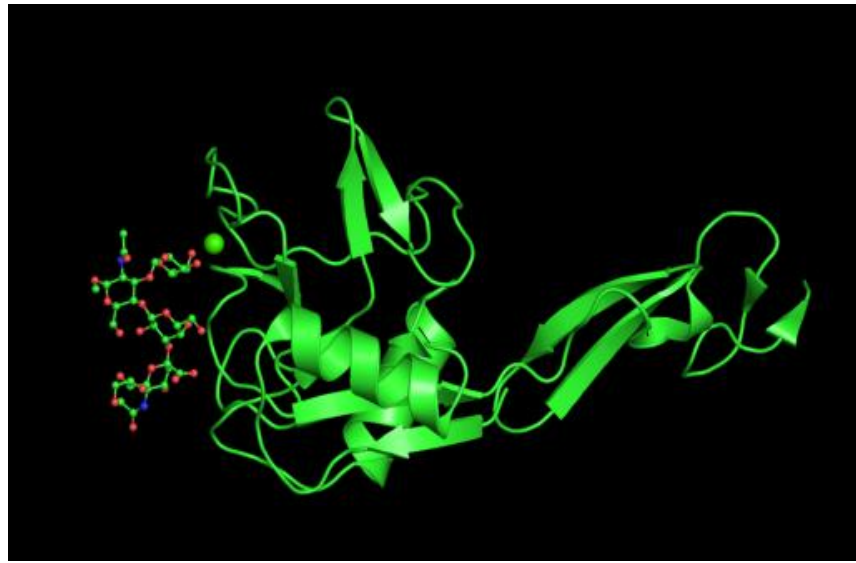
(Tomado de EBI/UniProt, 2011).

Figura 1.14 Secuencia de aminoácidos de VCAM-1.

VCAM-1 es además conocida como CD106, MGC99561, INCAM-100 o DKFZp779G2333 y tiene un papel importante en el sistema inmune humano. Tiene expresión celular también en células del estroma de la médula ósea, es receptor de integrina CD49dCD29 (VLA-4), interviene en la activación del tráfico de linfocitos y participa en la hematopoyesis (Abbas, Lichtman; 2004).

Luego de realizar pruebas de la concentración de esta molécula en individuos aparentemente sanos, R&D Systems, reporta como valores de referencia un promedio de 557 ng/mL, un rango de 349 – 991 ng/mL y una desviación estándar de 139.6 ng/mL.

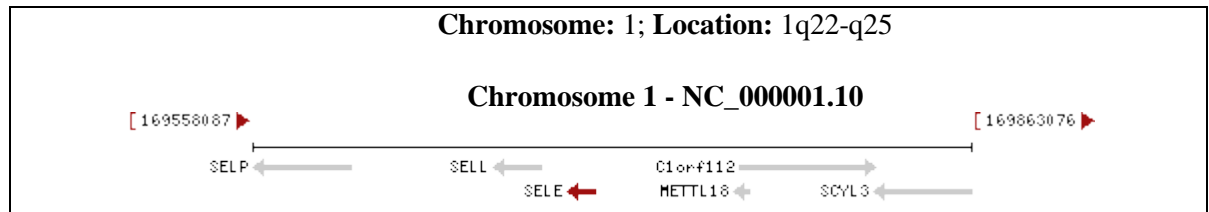
1.4.3.4 *E-selectina*



Tomado de EBI, 2011).

Figura 1.15 E-selectina (molécula de adhesión endotelial 1).

La proteína codificada por el gen ubicado en el cromosoma 1 (ver figura 1.16) se encuentra en células endoteliales estimuladas por citocinas y se cree que es responsable de la acumulación de leucocitos en los sitios de inflamación, mediante la adhesión de células al revestimiento vascular. Esta proteína forma parte de la familia de selectinas de adhesión celular. Las moléculas de adhesión participan en la interacción entre los leucocitos y el endotelio y están envueltas en la patogénesis de la aterosclerosis.



(Tomado de NCBI, 2011).

Figura 1.16 Ubicación el gen de la E-selectina en su cromosoma correspondiente.

La selectina E, también conocida como molécula de adhesión leucocítica al endotelio-1 (ELAM-1) o CD62E, se expresa exclusivamente en células endoteliales activadas por citocinas, de ahí la designación E. Reconoce grupos de hidratos de carbono sialilados complejos relacionados con la familia Lewis X o Lewis A que se encuentran en varias proteínas de membrana de granulocitos, monocitos y algunos linfocitos T efectoros previamente activados y linfocitos T de memoria (Abbas, Lichtman; 2004).

La E-selectina comprende 11439 bps del cromosoma 1, desde 169691781 hasta 169703220 y tiene 10 transcritos con un total de 19 exones en la cadena molde. Esta glicoproteína de superficie celular tiene un total de 610 AA (figura 1.17) y una masa 66,655 Da. (EBI, 2011; EBI/UniProt, 2011).

10	20	30	40	50	60
MIASQFLSAL	TLVLLIKESG	AWSYNTSTEA	MTYDEASAYC	QQRythLVAI	QNKEEIEYLN
70	80	90	100	110	120
SILSYSPSY	WIGIRKVNNV	WVWVGTQKPL	TEEAKNWAPG	EPNNRQKDED	CVEIYIKREK
130	140	150	160	170	180
DVGMWNDERC	SKKKLALCYT	AACTNTSCSG	HGECVETINN	YTCKCDPGFS	GLKCEQIVNC
190	200	210	220	230	240
TALESPEHGS	LVCSHPLGNF	SYNSSCSISC	DRGYLPSSME	TMQCMSSGEW	SAPIPACNVV
250	260	270	280	290	300
ECDAVTNPAN	GFVECFQNP	SFPWNTTCTF	DCEEGFELMG	AQSLQCTSSG	NWDNEKPTCK
310	320	330	340	350	360
AVTCRAVRQP	QNGSVRCSHS	PAGEFTFKSS	CNFTCEEFGM	LQGPAQVECT	TQGQWTQQIP
370	380	390	400	410	420
VCEAFQCTAL	SNPERGYMNC	LPSASGSFRY	GSSCEFSCEQ	GFVLKGSKRL	QCGPTGEWDN
430	440	450	460	470	480
EKPTCEAVRC	DAVHQPPKGL	VRCAHSPIGE	FTYKSSCAFS	CEEGFELHGS	TQLECTSQGQ
490	500	510	520	530	540
WTEEVPSQV	VKCSLAVPG	KINMSCSGEP	VFGTVCKFAC	PEGWTLNGSA	ARTCGATGHW
550	560	570	580	590	600
SGLLPTCEAP	TESNIPLVAG	LSAAGLSLLT	LAPFLLWLRK	CLRKAKKFVP	ASSQSLESD
610					
GSYQKPSYIL					

(Tomado de EBI/UniProt, 2011).

Figura 1.17 Secuencia de aminoácidos de E-selectina.

Esta molécula es importante para la localización selectiva de los linfocitos T efectores y de memoria en algunos focos periféricos de inflamación, sobre todo en la piel. No se expresa de novo en células endoteliales, como consecuencia de la inducción de la expresión del gen correspondiente durante la activación celular; esta inducción es generalmente consecuencia del efecto de lipopolisacáridos bacterianos o de citocinas tales como interleucina 1 o factor de necrosis tumoral alfa (Abraham, 2006).

Luego de realizar pruebas de la concentración de esta molécula en individuos aparentemente sanos, R&D Systems, reporta como valores de referencia un promedio de 37 ng/mL, un rango de 17.9 – 79.2 ng/mL y una desviación estándar de 14.9 ng/mL.

1.5 Sistema de hipótesis o pregunta de investigación

El ser humano, en condiciones de estrés por contaminación, aumenta la síntesis a nivel celular de marcadores moleculares que evidencian la respuesta inflamatoria a contaminantes ambientales del aire.

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Participantes

Esta tesis como parte del proyecto: “Estudio de la relación entre enfermedad cardiovascular y polución del aire en el personal policial de tránsito del Distrito Metropolitano de Quito: Un enfoque integral y prospectivo en salud, bioética y ambiente”, bajo la dirección del Dr. Edmundo Estévez, contó con el apoyo del Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador, especialmente con el trabajo del Dr. Estévez y la Lic. Marcia Racines Orbe, quien es una destacada investigadora de larga trayectoria en este centro investigativo.

Como apoyo externo se contó con la participación del Dr. Rodrigo Armijos, la Dra. Margarita Weigel y el Dr. Hector Olvera de la Universidad de Texas en el Paso (UTEP) y la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo con su grupo de estudiantes maestrantes.

Es parte indispensable de esta tesis también la Policía Nacional del Ecuador, especialmente los grupos del ISSPOL, Hospital de la Policía con el Dr. Mayor Mauricio Arroyo Vega a la cabeza y el Grupo Operativo de Control de Tránsito y Seguridad Vial del DMQ con el soporte constante de la Dra. Capitán Patricia Proaño y el Pol. Juan Carlos Jiménez.

Sin el apoyo de la Secretaría de Ambiente del municipio de Quito el proyecto del cual esta tesis es parte, no se hubiera llevado a cabo; ya que esta institución financió en gran parte el mismo.

2.2 Zona de Estudio

Los trabajos de recolección de muestras de sangre y los análisis de laboratorio se llevaron a cabo en la ciudad de Quito-Ecuador. El Hospital de la Policía sirvió como sede para la toma de muestras y los estudios médicos, mientras que los análisis de laboratorio se realizaron en los laboratorios del Centro de Biomedicina de la Universidad Central del Ecuador.

El grupo participante de casos pertenece al Grupo Operativo de Control de Tránsito y Seguridad Vial del DMQ, éste tiene como zona de trabajo tres sectores de la ciudad de Quito, el sur hasta la Av. Rodrigo de Chávez, todo el Centro Histórico y el norte hasta la Av. Naciones Unidas. Con esas tres zonas representativas de la ciudad, el trabajo se focalizó en la ciudad de Quito como el área de estudio. El grupo control, tiene también como lugar de trabajo esta ciudad.

2.3 Período de tiempo de investigación

Este estudio inició en octubre del año 2009 y finalizó en diciembre del año 2010.

2.4 Diseño

Las personas con la que se trabajó en este estudio, son policías de tránsito pertenecientes al Grupo Operativo de Control de Tránsito y Seguridad Vial del DMQ. Esta institución cuenta con un total de 891 policías que trabajan en las zonas sur, centro y norte del DMQ. Los límites de trabajo son al sur la Av. Rodrigo de Chávez y al norte la Av. Naciones Unidas, por lo que comprenden una amplia zona del DMQ que incluye las tres zonas representativas.

Los individuos seleccionados para este estudio son policías a los que previamente se les realizó un estudio médico para determinar que no tengan problemas de salud que puedan crear conflictos con la investigación, es decir, se descartó que tengan problemas inflamatorios de una naturaleza diferente a la relacionada con la contaminación ambiental, como por ejemplo una simple inflamación de garganta o hasta problemas de gota. Las muestras de sangre fueron recolectadas a estos sujetos que aparentemente no presentaban enfermedades inflamatorias.

Para formar el grupo de casos, se seleccionó a los policías con un número mayor o igual a cuatro años de trabajo en la mencionada institución. Esto se debe a que los años de trabajo en las calles contaminadas del DMQ son un factor indispensable para tomar a estos sujetos como expuestos crónicamente a los contaminantes. Para el grupo de controles se tomó en cuenta el mismo criterio, es decir, los policías que han trabajado en oficina el mismo número de años y que por ende no han estado continuamente expuestos a este riesgo o por lo menos no de la misma manera que los casos.

Una vez elegidos a los dos grupos de estudio, se decidió trabajar con una muestra piloto de 71 policías en total. Esta selección se la realizó de forma aleatoria. Esta decisión se la hizo en base al alto costo de los reactivos necesarios

para todas las pruebas, la dificultad de ingresar al país los kits necesarios para los análisis de microELISA y porque este es un estudio preliminar que pretende buscar relaciones entre los factores mencionados para así poder estudiar una población más grande.

2.5 Instrumentos

El cuadro 2.1 muestra los materiales, equipos y reactivos que se usaron en esta investigación.

Cuadro 0.1 Materiales y Equipos utilizados en la investigación.

Procedimiento	Materiales y Equipos
	Guantes
Recolección de muestras de sangre	Agujas calibre 21 en tubo Vacutainer Tubos de recolección de muestra tapa roja
	Torniquetes
	Algodón con alcohol
Procesamiento y almacenamiento de muestras	Centrífuga Pipetas Pasteur Tubos para almacenamiento Congelador
	Kit Quantikine Human sICAM-1/CD54
	Kit Quantikine Human sVCAM-1
	Kit Quantikine Human sE-selectin/CD62E
	Kit Quantikine Human IL-6
	Agua ultra pura
	Tubos de ensayo
	Vasos de Precipitación
MicroELISA	Erlenmeyers
	Embudos
	Guantes
	Micropipetas-Puntas
	Agitador orbital (Orbitl Digital Shaker, orbit 300 model - Labnet)
	Lavador automático de microplatos (Titertek Multidrop - Labsystems)
	Lector de placas (Whittaker Bioproducts EIA Reader EIA 400 AT)
	Marcadores de vidrio
Otros	Computador
	Papel para impresión

(Vilema, 2011).

2.6 Procedimientos

Esta tesis analiza varios marcadores de inflamación en sangre, en un total de 71 sujetos divididos en 2 grupos, un grupo de casos con 38 individuos y uno control con 33.

Este número se calculó en base al universo del proyecto “Estudio de la relación entre enfermedad cardiovascular y polución del aire en el personal policial de tránsito del Distrito Metropolitano de Quito: Un enfoque integral y prospectivo en salud, bioética y ambiente” que estudió 300 individuos en total. Para este análisis se tomó una submuestra de esta cantidad, por lo que este estudio trabajó con 71 personas.

2.6.1 Recolección de la muestra y Almacenamiento

Tomar una muestra de 8mL de sangre mediante punción venosa con una aguja calibre 21 en tubo Vacutainer. Antes de la centrifugación, permitir que la muestra repose por 30 minutos para luego obtener el suero mediante centrifugación a 1500rpm durante 10 minutos a 4°C. Almacenar en alícuotas el suero conseguido a -80°C.

2.6.2 Micro ELISA

Esta técnica requirió los kits de la casa comercial R&D Systems, Quantikine Human sICAM-1/CD54, Quantikine Human sVCAM-1, Quantikine Human sE-Selectin/CD62E y Quantikine Human IL-6 y se siguieron los procedimientos recomendados en éstos.

2.6.2.1 sICAM-1/CD54

2.6.2.1.1 Preparación de la Muestra

Las muestras de suero, requieren una dilución de 1:20, esto quiere decir, 20µL de suero + 380 µL del calibrador diluyente RD5-7.

2.6.2.1.2 Preparación de los Reactivos

❖ *Buffer de Lavado*

En el caso de haberse formado cristales en el concentrado, calentar a temperatura ambiente y mezclar suavemente hasta que los cristales se hayan disuelto. Diluir 20mL del concentrado en agua destilada para formar 500mL de buffer de lavado.

❖ *Solución de Sustrato*

Mezclar en volúmenes iguales los reactivos Color A y Color B dentro de no más de 15 minutos de uso. Proteger la mezcla de la luz.

❖ *Estándares*

Reconstituir el estándar sICAM-1 con 1mL de agua destilada, este procedimiento origina una solución stock de 250ng/mL. Mezclar el estándar para asegurar una reconstitución completa y permitir que repose por 15 minutos.

Pipetear 800µL del calibrador diluyente RD5-7 en el tubo estándar de 50ng/mL y 500µL del mismo en cinco tubos más para formar los siguientes estándares. Adicionar al tubo de 50ng/mL, 200µL de la solución stock reconstituida y mezclar bien. Este tubo va a servir como el estándar más alto, de éste tomar 500µL y colocar en el tubo de 25ng/mL que ya tiene el calibrador diluyente y mezclar. De este último tomar 500µL para preparar el estándar 12.5ng/mL. Una vez mezclado bien, tomar 500µL para el estándar 6.25ng/mL. Para preparar el siguiente estándar, agregar al calibrador diluyente, 500µL de la solución antes preparada y mezclar, de ésta tomar 500µL para preparar el último

estándar que corresponde a 1.56ng/mL. El calibrador diluyente RD5-7 sirve como el estándar cero (0ng/mL).

2.6.2.1.3 Procedimiento del Ensayo

- Adicionar a cada pocillo del microplato 100µL del conjugado de sICAM-1.

- Agregar a cada pocillo 100µL de los estándares y las muestras. Cubrir toda la placa con el adhesivo incluido en el kit e incubar durante 1.5 horas a temperatura ambiente en un agitador horizontal orbital que provea de una órbita de 3mm y 500±50 rpm (Orbitl Digital Shaker, orbit 300 model - Labnet).

- Aspirar cada pocillo y lavarlo, repetir este procedimiento tres veces más para hacer un total de cuatro lavados. Realizar el lavado llenando cada pocillo con 320µL del buffer de lavado usando un lavador automático (Titertek Multidrop - Labsystems). La remoción completa del líquido en cada paso es fundamental. Después del último lavado, quitar todo el líquido invirtiendo el microplato en papel absorbente limpio.

- Adicionar 200µL de la solución de sustrato a cada pocillo. Incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz.

- Agregar a cada pocillo, 50µL de la solución para parar la reacción. El color en el pocillo debe cambiar de azul a amarillo. Si el color es verde, mezclar suavemente hasta lograr el color deseado.

- Determinar la densidad óptica de cada pocillo dentro de los primeros treinta minutos, usando un lector de placas ajustado a 450nm (Whittaker Bioproducts EIA Reader EIA 400 AT).

2.6.2.2 sVCAM-1/CD54

2.6.2.2.1 Preparación de la Muestra

Las muestras de suero, requieren una dilución de 1:20, esto quiere decir, 20µL de suero + 380 µL del calibrador diluyente RD5P (1X).

2.6.2.2.2 Preparación de los Reactivos

❖ *Buffer de Lavado*

En el caso de haberse formado cristales en el concentrado, calentar a temperatura ambiente y mezclar suavemente hasta que los cristales se hayan disuelto. Diluir 20mL del concentrado en agua destilada para formar 500mL de buffer de lavado.

❖ *Solución de Sustrato*

Mezclar en volúmenes iguales los reactivos Color A y Color B dentro de no más de 15 minutos de uso. Proteger la mezcla de la luz. Se requieren 100 µL de esta mezcla por cada pocillo.

❖ *Calibrador Diluyente RD5P (1X)*

Diluir 20 mL de este reactivo en 80 mL de agua destilada con el fin de preparar una solución de 100 mL de calibrador diluyente RD5P (1X). Conservar a temperatura ambiente.

❖ *Estándares*

Reconstituir el estándar sVCAM-1 con 1mL de agua destilada, este procedimiento origina una solución stock de 400 ng/mL. Mezclar el estándar para asegurar una reconstitución completa y permitir que repose por 15 minutos.

Pipetear 500µL del calibrador diluyente RD5P (1X) en el tubo estándar de 200ng/mL y 500µL del mismo en siete tubos más para formar los siguientes estándares. Adicionar al tubo de 200ng/mL, 500µL de la solución stock reconstituida y mezclar bien. Este tubo va a servir como el estándar más alto, de éste tomar 500µL y colocar en el tubo de 100ng/mL que ya tiene el calibrador diluyente y mezclar. De este último tomar 500µL para preparar el estándar 50ng/mL. Una vez mezclado bien, tomar 500µL para el estándar 25ng/mL. Para preparar el siguiente estándar, agregar al calibrador diluyente, 500µL de la solución antes preparada y mezclar, de ésta tomar 500µL para preparar el estándar que corresponde a 6.25ng/mL. De éste formar el estándar 3.125ng/mL y de este último formar el estándar 1.56ng/mL. El calibrador diluyente RD5P (1X) sirve como el estándar cero (0ng/mL).

2.6.2.2.3 Procedimiento del Ensayo

- Adicionar a cada pocillo del microplato 100µL del conjugado de sVCAM-1.
- Agregar a cada pocillo 100µL de los estándares y las muestras. Cubrir toda la placa con el adhesivo incluido en el kit e incubar durante 1.5 horas a temperatura ambiente.
- Aspirar cada pocillo y lavarlo, repetir este procedimiento tres veces más para hacer un total de cuatro lavados. Realizar el lavado llenando cada pocillo con 320µL del buffer de lavado usando un lavador automático (Titertek Multidrop - Labsystems). La remoción completa del líquido en cada paso es fundamental. Después del último lavado, quitar todo el líquido restante invirtiendo el microplato en papel absorbente limpio.
- Adicionar inmediatamente 100µL de la solución de sustrato a cada pocillo. Cubrir con un nuevo adhesivo e incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz.
- Agregar a cada pocillo, 50µL de la solución para parar la reacción. El color en el pocillo debe cambiar de azul a amarillo. Si el color es verde o no es uniforme, mezclar suavemente hasta lograr el color deseado.
- Determinar la densidad óptica de cada pocillo dentro de los primeros treinta minutos, usando un lector de placas ajustado a 450nm (Whittaker Bioproducts EIA Reader EIA 400 AT).

2.6.2.3 sE-selectina/CD62E

2.6.2.3.1 Preparación de la Muestra

Las muestras de suero, requieren una dilución de 1:10, esto quiere decir, 30µL de suero + 270 µL del calibrador diluyente RD6-11.

2.6.2.3.2 Preparación de los Reactivos

❖ *Buffer de Lavado*

En el caso de haberse formado cristales en el concentrado, calentar a temperatura ambiente y mezclar suavemente hasta que los cristales se hayan disuelto. Diluir 20mL del concentrado en agua destilada para formar 500mL de buffer de lavado.

❖ *Solución de Sustrato*

Mezclar en volúmenes iguales los reactivos Color A y Color B dentro de no más de 15 minutos de uso. Proteger la mezcla de la luz. Se requieren 200 µL de esta mezcla por cada pocillo.

❖ *Estándares*

Reconstituir el estándar sE-selectina con 1mL de agua destilada, para producir una solución stock de 80 ng/mL. Mezclar el estándar para asegurar una reconstitución completa y permitir que repose por 15 minutos.

Pipetear 900µL del calibrador diluyente RD6-11 en el tubo estándar de 8ng/mL y 500µL del mismo en seis tubos más para formar los siguientes

estándares. Adicionar al tubo de 8ng/mL, 500µL de la solución stock reconstituida y mezclar bien. Este tubo va a servir como el estándar más alto, de éste tomar 500µL y colocar en el tubo de 4ng/mL que ya tiene el calibrador diluyente y mezclar. De este ultimo tomar 500µL para preparar el estándar 2ng/mL. Una vez mezclado bien, tomar 500µL para el estándar 1ng/mL. Para preparar el siguiente estándar, agregar al calibrador diluyente, 500µL de la solución antes preparada y mezclar, de ésta tomar 500µL para preparar el estándar 0.25ng/mL. De éste, formar el último estándar que corresponde a 0.125ng/mL. El calibrador diluyente sirve como el estándar cero (0ng/mL).

2.6.2.3.3 Procedimiento del Ensayo

- Adicionar a cada pocillo del microplato 100µL del reactivo RD1W.
- Agregar a cada pocillo 100µL de los estándares y las muestras. Cubrir toda la placa con el adhesivo incluido en el kit e incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.
- Aspirar cada pocillo y lavarlo, repetir este procedimiento tres veces más para hacer un total de cuatro lavados. Realizar el lavado llenando cada pocillo con 320µL del buffer de lavado usando un lavador automático (Titertek Multidrop - Labsystems). La remoción completa del líquido en cada paso es fundamental. Después del último lavado, quitar todo el líquido restante invirtiendo el microplato en papel absorbente limpio.
- Adicionar 200µL del conjugado de sE-selectina a cada pocillo. Cubrir con un nuevo adhesivo e incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.
- Repetir los 4 lavados como se mencionó en los pasos anteriores.

- Colocar 200 μ L del sustrato en cada pocillo. Incubar por 30 minutos a temperatura ambiente y cubrir de la luz.
- Agregar a cada pocillo, 50 μ L de la solución para parar la reacción. El color en el pocillo debe cambiar de azul a amarillo. Si el color es verde o no es uniforme, mezclar suavemente hasta lograr el color deseado.
- Determinar la densidad óptica de cada pocillo dentro de los primeros treinta minutos, usando un lector de placas ajustado a 450nm (Whittaker Bioproducts EIA Reader EIA 400 AT).

2.6.2.4 IL-6

2.6.2.4.1 Preparación de la Muestra

Las muestras de suero para este procedimiento, no requieren de ningún tratamiento especial. El suero se usa directamente una vez que ha sido descongelado.

2.6.2.4.2 Preparación de los Reactivos

❖ *Buffer de Lavado*

En el caso de haberse formado cristales en el concentrado, calentar a temperatura ambiente y mezclar suavemente hasta que los cristales se hayan disueltos. Diluir 20mL del concentrado en agua destilada para formar 500mL de buffer de lavado.

❖ *Solución de Sustrato*

Mezclar en volúmenes iguales los reactivos Color A y Color B dentro de no más de 15 minutos de uso. Proteger la mezcla de la luz. Se requieren 200 μL de esta mezcla por cada pocillo.

❖ *Estándares*

Reconstituir el estándar IL-6 con 5mL del calibrador diluyente RD6F, este procedimiento origina una solución stock de 300 pg/mL. Mezclar el estándar para asegurar una reconstitución completa y permitir que repose por 15 minutos.

Pipetear 667 μL del calibrador diluyente RD6F en el tubo estándar de 100pg/mL y 500 μL del mismo en cinco tubos más para formar los siguientes estándares. Adicionar al tubo de 100pg/mL, 333 μL de la solución stock reconstituida y mezclar bien. Este tubo va a servir como el estándar más alto, de éste tomar 500 μL y colocar en el tubo de 50pg/mL que ya tiene el calibrador diluyente y mezclar. De este último tomar 500 μL para preparar el estándar 25pg/mL. Una vez mezclado bien, tomar 500 μL para el estándar 12.5pg/mL. Para preparar el siguiente estándar, agregar al calibrador diluyente, 500 μL de la solución antes preparada y mezclar, de ésta tomar 500 μL para preparar el último estándar que corresponde a 3.12pg/mL. El calibrador diluyente RD6F sirve como el estándar cero (0pg/mL).

2.6.2.4.3 Procedimiento del Ensayo

- Adicionar a cada pocillo del microplato 100 μL del reactivo RD1W de este kit.

- Agregar a cada pocillo 100 μ L de los estándares y las muestras. Cubrir toda la placa con el adhesivo incluido en el kit e incubar durante 2 horas a temperatura ambiente.
- Aspirar cada pocillo y lavarlo, repetir este procedimiento tres veces más para hacer un total de cuatro lavados. Realizar el lavado llenando cada pocillo con 320 μ L del buffer de lavado usando un lavador automático (Titertek Multidrop - Labsystems). La remoción completa del líquido en cada paso es fundamental. Después del último lavado, quitar todo el líquido restante invirtiendo el microplato en papel absorbente limpio.
- Adicionar 200 μ L de la solución de sustrato a cada pocillo. Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz.
- Agregar a cada pocillo, 50 μ L de la solución para parar la reacción. El color en el pocillo debe cambiar de azul a amarillo. Si el color es verde o no es uniforme, mezclar suavemente hasta lograr el color deseado.
- Determinar la densidad óptica de cada pocillo dentro de los primeros treinta minutos, usando un lector de placas ajustado a 450nm (Whittaker Bioproducts EIA Reader EIA 400 AT).

2.7 Análisis de Datos

Inicialmente se efectuó un análisis exploratorio, en el que se incluyó medidas resumen y un análisis gráfico. Posteriormente se realizó un estudio inferencial puntual por intervalos de confianza y pruebas de hipótesis.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

El presente capítulo tiene como finalidad presentar de forma detallada los resultados obtenidos en esta investigación. Los mismos corresponden a tablas y figuras que ayudarán a explicar los hallazgos más importantes que esta tesis ha alcanzado. Todos los análisis estadísticos fueron realizados con los programas InfoStat y Microsoft Excel; y por lo tanto, las tablas y figuras se generaron con la ayuda de estas herramientas estadísticas.

Las concentraciones de las cuatro moléculas estudiadas se las obtuvo mediante una curva de calibración, que luego de una regresión lineal mostró una ecuación que sirvió para transformar las densidades ópticas obtenidas en concentraciones. El Anexo A presenta estas curvas de calibración.

3.1 Análisis exploratorio de datos

Con el fin de obtener estadísticos que proporcionen datos generales acerca de la investigación, se utilizó la estadística descriptiva para generar tablas y gráficos que explican de manera general lo conseguido.

3.1.1 Medidas resumen

En esta parte se muestran tablas que explican varias medidas resumen como número de observaciones (n), media, desviación estándar (D.E.), valor mínimo (Mín) y valor máximo (Máx).

Tabla 3.1 Estadística descriptiva de todos los datos obtenidos en la investigación.

Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
IL-6(pg/mL)	71	16,73	7,29	7,35	45,35
sICAM-1/CD54(ng/mL)	71	205,97	70,65	123,28	518,59
sVCAM-1(ng/mL)	71	584,27	252,80	262,17	1863,72
sE-selectin/CD62E(ng/mL)	71	71,70	16,23	29,21	105,86

(Vilema, 2011).

La tabla 3.1 indica que el total de sujetos estudiado fue 71. La media o promedio para la molécula IL-6 fue 16,73 pg/mL, para sICAM-1 fue 205, 97 ng/mL, para sVCAM-1 fue 584,27 ng/mL y para sE-selectina fue 71,70 ng/mL. Estos datos los podemos comparar con los valores estándar promedio de las cuatro moléculas que son: 7,81 pg/mL, 208 ng/mL, 557 ng/mL y 37 ng/mL respectivamente; y a simple vista podemos decir que, para el total de sujetos estudiado, los promedios obtenidos en esta tesis son mayores que los estándar en tres de las cuatro moléculas. La única molécula que está por debajo del promedio estándar es sICAM-1.

Tabla 3.2 Estadística descriptiva de las cuatro moléculas analizadas, clasificadas por tipo.

Tipo	Variable	n	Media	D.E.	Mín	Máx
Casos	IL-6(pg/mL)	38	12,32	5,54	7,35	27,48
	sICAM-1/CD54(ng/mL)	38	210,12	73,19	124,32	518,59
	sVCAM-1(ng/mL)	38	644,04	283,95	262,17	1863,72
	sE-selectin/CD62E(ng/mL)	38	73,43	16,07	42,71	97,95
Controles	IL-6(pg/mL)	33	21,81	5,58	17,35	45,35
	sICAM-1/CD54(ng/mL)	33	201,18	68,42	123,28	374,58
	sVCAM-1(ng/mL)	33	515,45	193,51	312,56	1290,85
	sE-selectin/CD62E(ng/mL)	33	69,70	16,42	29,21	105,86

(Vilema, 2011).

La tabla 3.2 muestra que el grupo casos tiene 38 individuos, mientras que el grupo controles tiene 33. Al comparar las medias entre los dos grupos, es evidente que el primer grupo tiene concentraciones más elevadas en 3 de las 4 moléculas y al comparar con los estándares, las concentraciones también son más elevadas, en las 4 moléculas. El segundo grupo tiene concentraciones más bajas

que el grupo 1, a excepción de IL-6 en donde se evidencia una concentración más elevada, incluso al comparar con el estándar. Así mismo, al comparar sE-selectina con el estándar, la concentración obtenida en el estudio es más alta.

En forma resumida, lo que nos muestra la tabla 3.2 es que en general, la concentración de las moléculas estudiadas es más elevada en el grupo de casos que en el grupo de controles.

3.1.2 Análisis gráfico

En esta sección se presentan gráficos de columna y diagramas de caja. Estos últimos ayudan a explicar los tipos de datos con los que se está trabajando, es decir, gráficamente se determinará la simetría, la dispersión y varias características importantes de los mismos, así como valores atípicos que se pueden presentar.

Los gráficos de columnas se utilizan para comparar valores de categorías. Las categorías que se utilizaron para la construcción de estos gráficos fueron determinadas con la ayuda de la ley seis sigma (6σ) y son un referente para dar cierta clasificación a la concentración de las moléculas estudiadas.

Los diagramas de caja representan figuras que muestran los tres cuartiles, Q1 que es la línea base de la caja y corresponde al 25% de los datos, Q2 que es la línea media y coincide con la mediana y Q3 que es la línea superior de la caja y concentra el 75% de los datos. Los dos brazos o bigotes, representan los valores mínimo y máximo de los datos estudiados.

A continuación se presentan varios gráficos de columna y diagramas de caja para las cuatro moléculas estudiadas, con su respectiva explicación.

3.1.2.1 IL-6

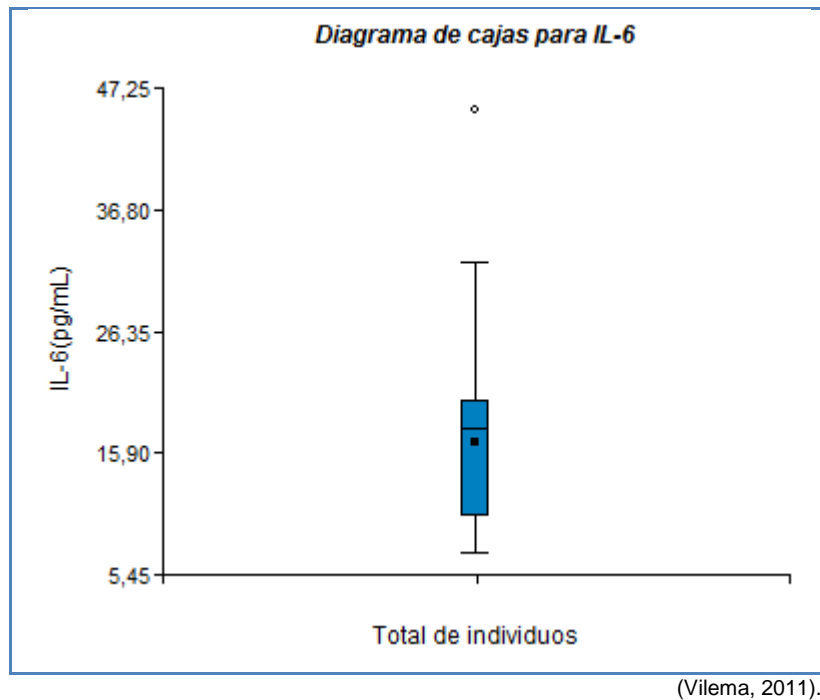


Figura 3.1 Diagrama de cajas para la molécula IL-6 del total de individuos.

La figura 3.1 muestra una distribución asimétrica sesgada a la izquierda. Indica dispersión en los datos entre el 25% y el 50% de la población ya que la parte inferior de la caja es más grande que la superior. Este diagrama muestra también, que el 25% de los policías con mayores concentraciones de IL-6 están menos agrupados y es evidente la existencia de un dato atípico que corresponde a 45,35 pg/mL.

Por otro lado, si bien la figura 3.2 muestra un diagrama de cajas para la misma molécula, éste está clasificado según sean casos o controles. El diagrama

muestra que el grupo de casos tiene datos menos dispersos que el grupo de controles y que este último grupo tiene un evidente sesgo hacia la derecha. Este gráfico también ayuda a visualizar que las concentraciones de IL-6 son mayores en el grupo control y que el dato atípico se encuentra en este grupo.

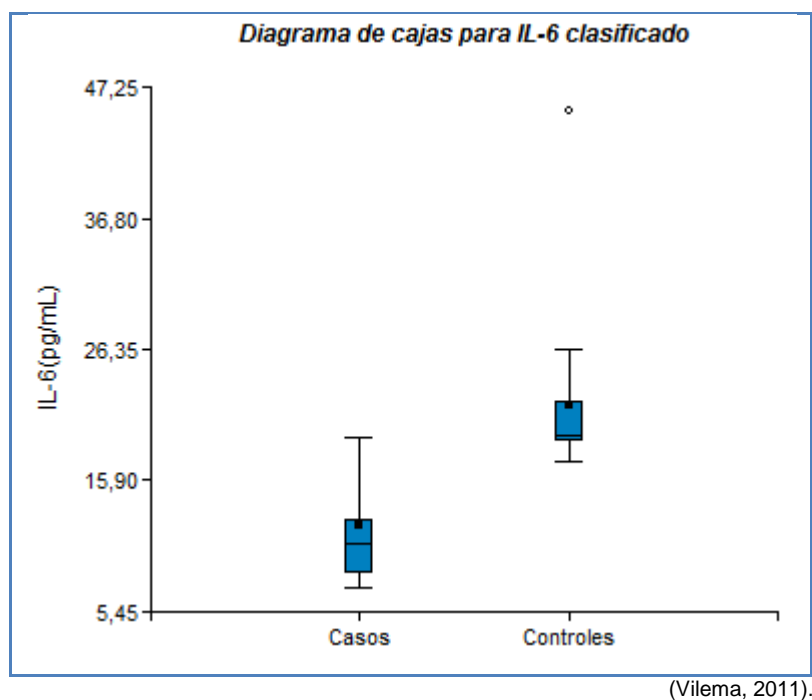
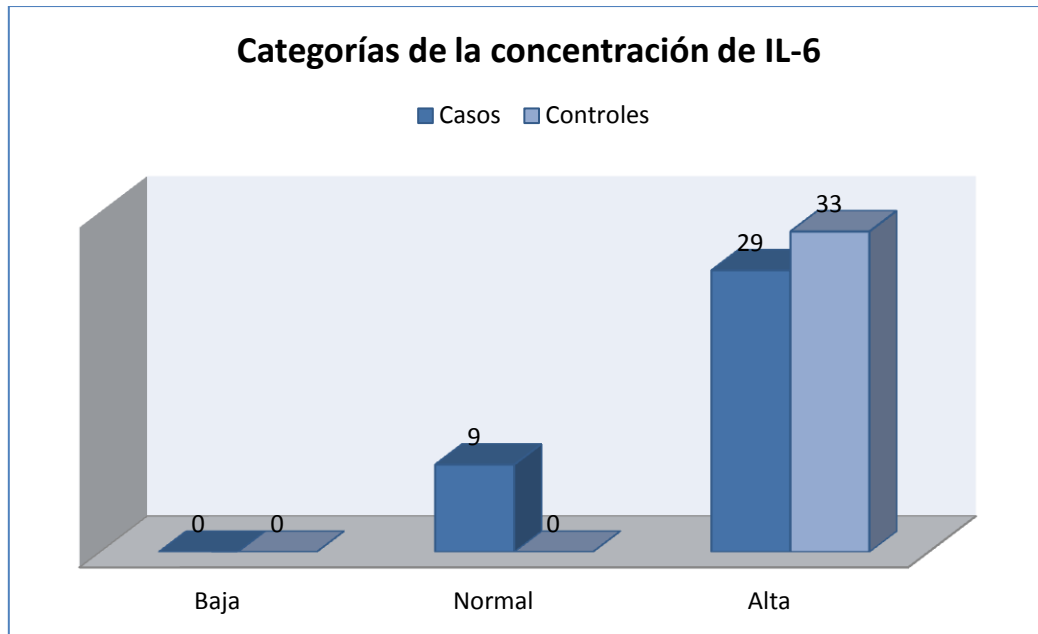


Figura 3.2 Diagrama de cajas para IL-6 clasificado por tipo.

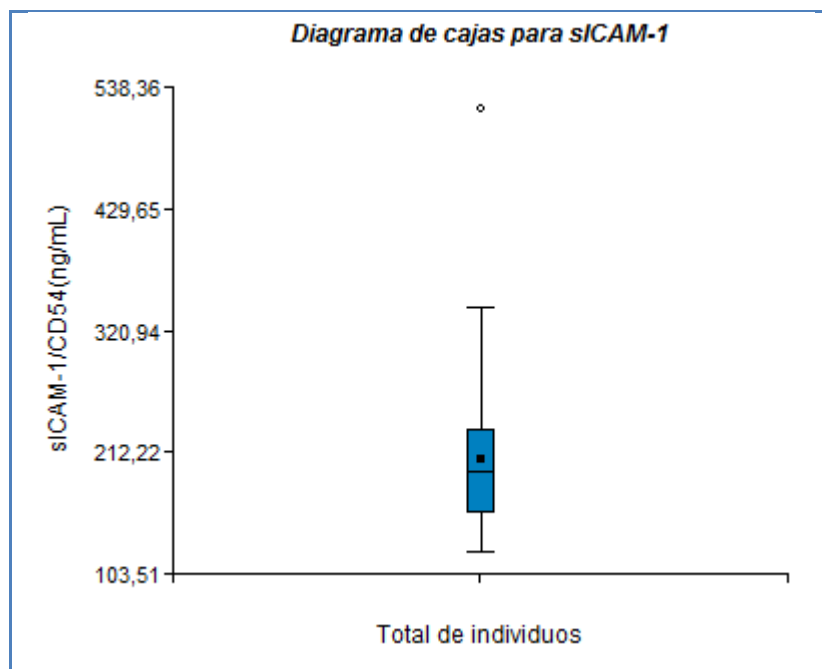
La figura 3.3 muestra que las concentraciones de IL-6 son más altas en el grupo de controles que en el grupo de casos. A simple vista se puede observar que el grupo de casos tiene 9 sujetos cuyas concentraciones de IL-6 pueden ser consideradas como normales, mientras que la totalidad de los controles presenta concentraciones elevadas de esta molécula. Diciendo así preliminarmente, que las concentraciones de IL-6 son más elevadas en el grupo de casos que el grupo de controles.



(Vilema, 2011).

Figura 3.3 Gráfico de columnas para las categorías de IL-6.

3.1.2.2 sICAM-1



(Vilema, 2011).

Figura 3.4 Diagrama de cajas para sICAM-1 del total de individuos.

La figura antes presentada (figura 3.4) no muestra un sesgo en los datos, ni una dispersión de los mismos, ya que las dos partes de la caja son del mismo tamaño; sin embargo el tamaño del brazo inferior indica que el 25% de las concentraciones más bajas corresponden a datos más agrupados. Este diagrama también muestra la existencia de un dato atípico, éste corresponde a 518,59 ng/mL.

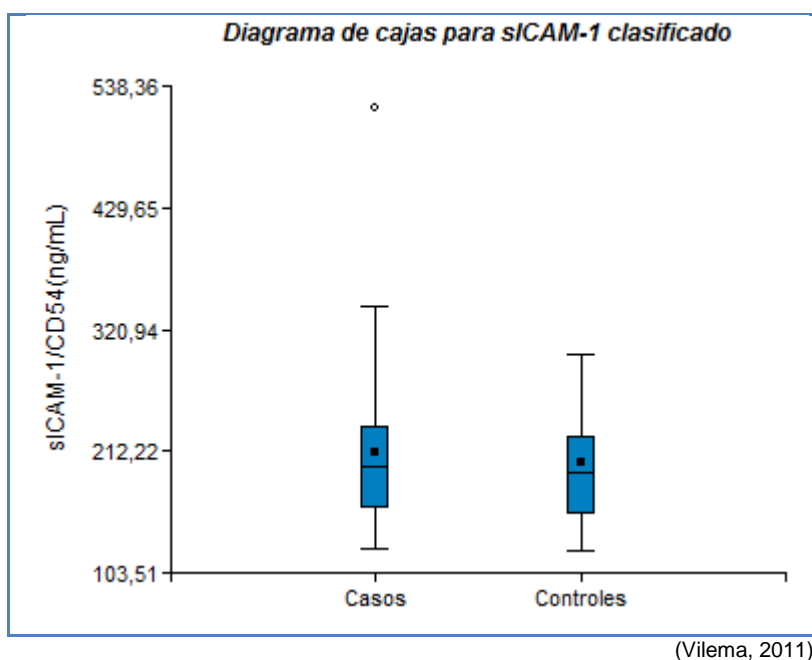
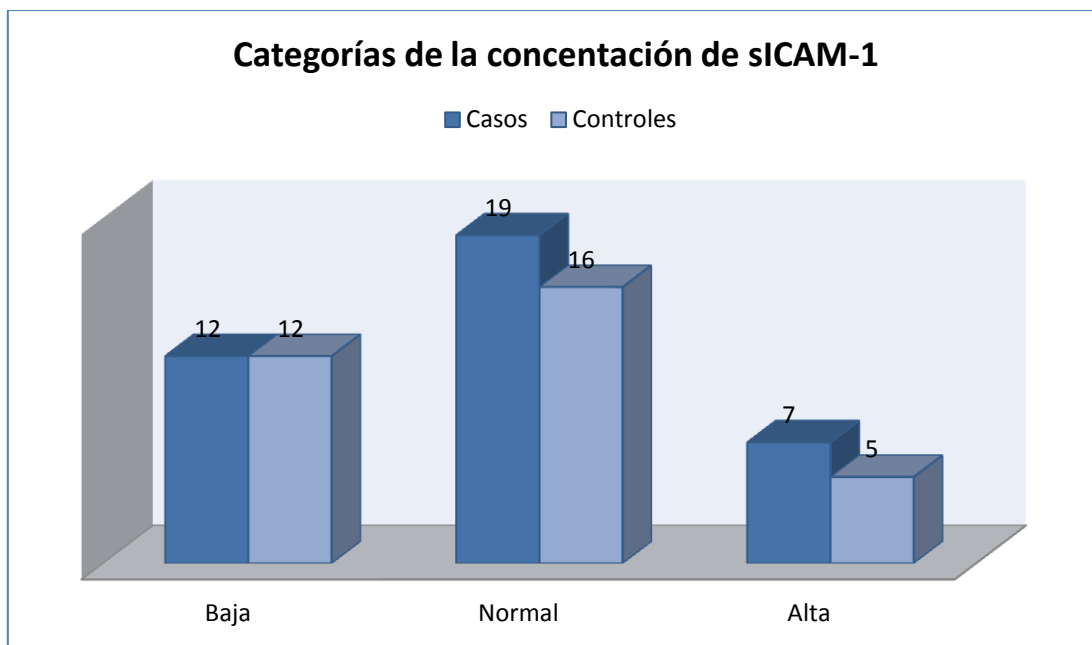


Figura 3.5 Diagrama de cajas para sICAM-1 clasificado por tipo.

La figura 3.5 corrobora la información presentada en la figura 3.4, es decir, los datos no tienen sesgo, ni están dispersos. Las concentraciones de los casos y de los controles, son a simple vista parecidas y el dato atípico existente se encuentra en el grupo de los casos.



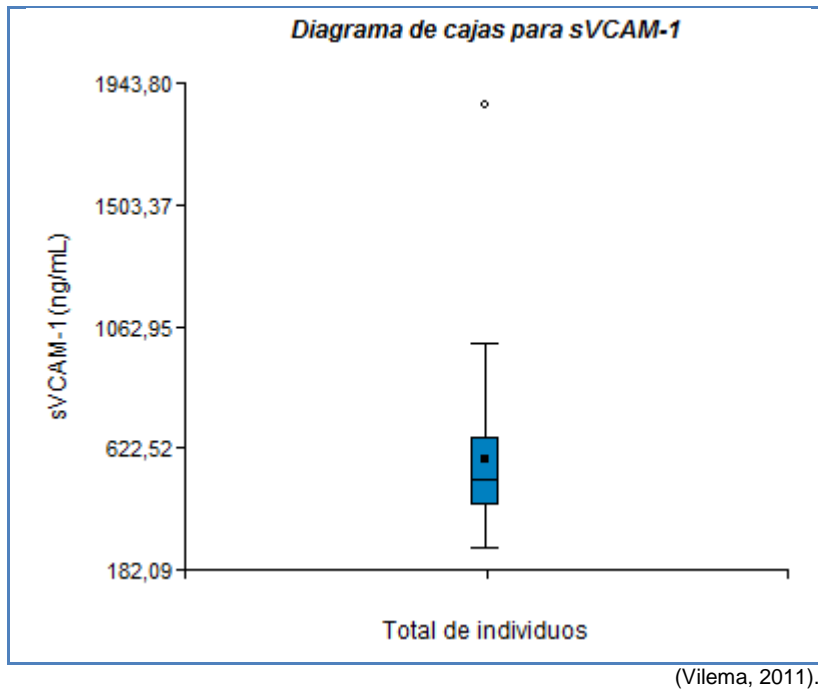
(Vilema, 2011).

Figura 3.6 Gráfico de columnas para las categorías de sICAM-1.

La figura 3.6 muestra igual número de sujetos con concentraciones consideradas como bajas en los casos y en los controles; un mayor número de personas con concentraciones normales al igual que altas en el grupo de casos, demostrando esto que los datos de los dos grupos son bastante homogéneos.

3.1.2.3 sVCAM-1

La figura 3.7 muestra que para el total de individuos, los datos de la concentración de sVCAM-1 están sesgados a la derecha y como la parte superior de la caja es más grande, las concentraciones de sVCAM-1 comprendidas entre el 50% y el 75% de la población están más dispersas. El 25% de las concentraciones más altas están menos agrupadas que el 25% de las concentraciones más bajas y el dato atípico que se observa en este diagrama corresponde a 1863,72 ng/mL.



(Vilema, 2011).

Figura 3.7 Diagrama de cajas para sVCAM-1 del total de individuos.

Para confirmar lo antes expuesto se presenta la figura 3.8 que muestra el mismo tipo de asimetría en los dos grupos, los datos sesgados a la derecha y la misma agrupación de las concentraciones. Esta figura lo que aporta es que no solo existe un valor atípico, sino dos, uno en cada grupo estudiado. El valor extremo en el grupo de casos es 1863,72 ng/mL y en el grupo de controles es 1290,85 ng/mL.

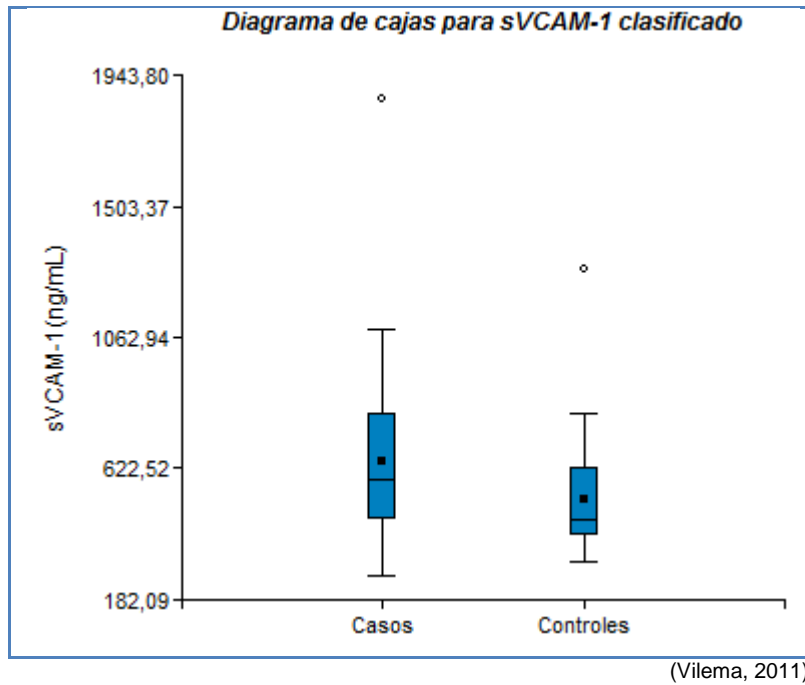
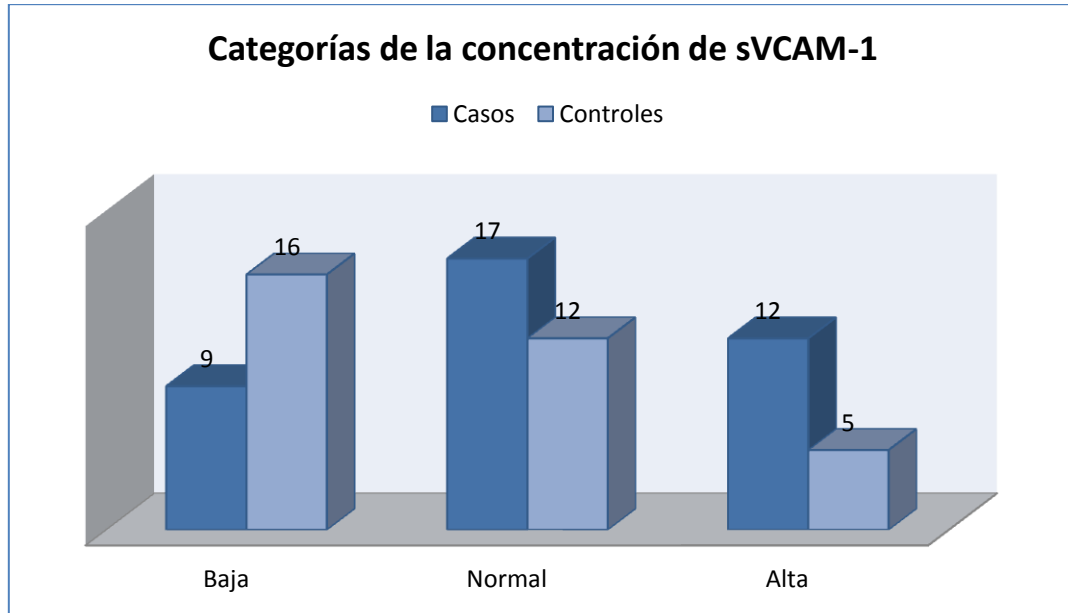


Figura 3.8 Diagrama de cajas para sVCAM-1 clasificado por tipo.



(Vilema, 2011).

Figura 3.9 Gráfico de columnas para las categorías de sVCAM-1.

La figura 3.9 muestra que las concentraciones de sVCAM-1 son más elevadas en el grupo de casos que en el grupo de controles, ya que existe un menor número de personas con concentraciones bajas de sVCAM-1, y un mayor número de personas con concentraciones altas de esta molécula.

3.1.2.4 sE-selectina

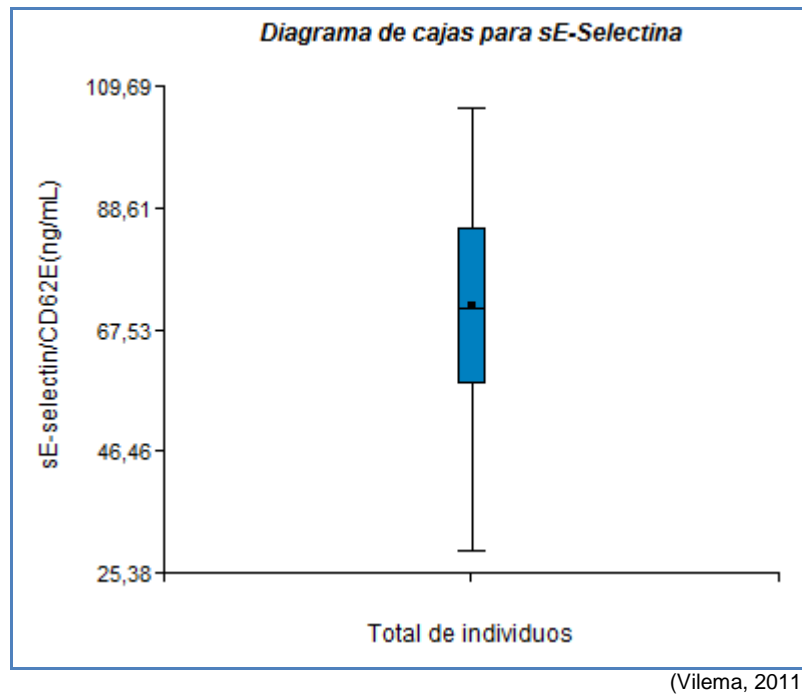
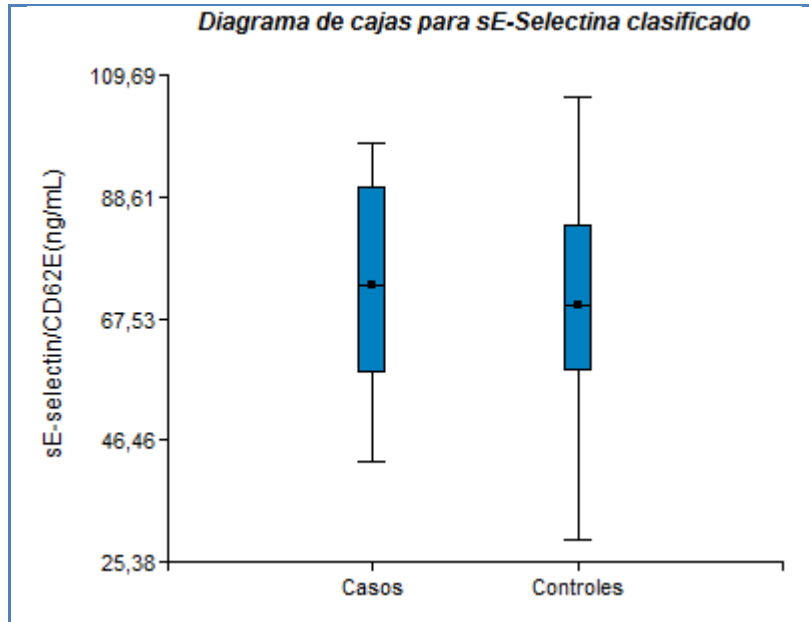


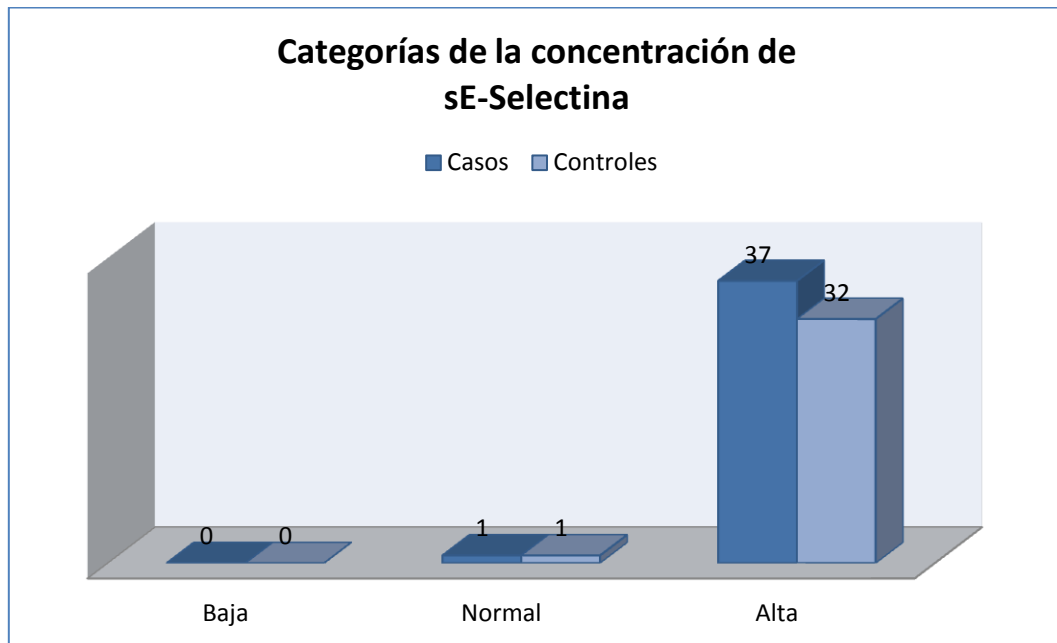
Figura 3.10 Diagrama de cajas para sE-selectina del total de individuos.

En la figura 3.10 se puede observar que, para el total de individuos, los datos son simétricos, no están dispersos y no hay valores atípicos. Por otro lado, la figura 3.11 muestra datos ligeramente sesgados a la derecha en los dos grupos, lo que indica dispersión de datos en las concentraciones que se encuentran entre el 50% y el 75% de la población.



(Vilema, 2011).

Figura 3.11 Diagrama de cajas para sE-selectina clasificado por tipo.



(Vilema, 2011).

Figura 3.12 Gráfico de columnas para las categorías de sE-selectina.

La figura 3.12 muestra una evidente concentración elevada de sE-selectina en los dos grupos, casi todos los individuos pertenecientes a los dos grupos tienen concentraciones consideradas como altas de esta molécula y solo un sujeto del grupo de casos y un sujeto del grupo de controles tiene una concentración de sE-selectina que se puede llamar normal.

El análisis exploratorio de datos permitió gráficamente determinar asimetría y dispersión de datos, así como encontrar valores atípicos o extremos en 3 de las 4 moléculas estudiadas. Estos valores cambian de manera significativa la media de la población y por tal motivo, a continuación solo se mostrarán los análisis inferenciales realizados una vez que se han excluidos los valores atípicos. Los análisis con todos los datos se presentarán en los anexos (desde Anexo B hasta Anexo H).

3.2 Análisis inferencial

Como se había mencionado anteriormente, los análisis propuestos en esta parte, son los realizados una vez que se han excluido los valores atípicos. A continuación se presenta cada uno de ellos.

3.2.1 Intervalos de confianza

3.2.1.1 *Intervalos de confianza para la media*

3.2.1.1.1 IL-6

Tabla 3.3 Intervalos de confianza para la media de IL-6.

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	IL-6 (pg/mL)	16,32	0,77	70	14,78	17,87
Casos	IL-6 (pg/mL)	12,32	0,90	38	10,50	14,14
Controles	IL-6 (pg/mL)	21,08	0,66	32	19,74	22,41

(Vilema, 2011).

La tabla 3.3, permite concluir con un 95% de confianza que la media poblacional de aquellos policías de tránsito que trabajan en las calles se encuentra en el intervalo de 10,50 pg/mL a 14,14 pg/mL y que el intervalo de 19,74 pg/mL a 22,41 pg/mL contiene, con un 95% de confianza, el valor de la concentración promedio de IL-6 de aquellos policías que trabajan en oficinas. El intervalo de confianza para todos los sujetos estudiados es de 14,78 pg/mL a 17,87 pg/mL.

3.2.1.1.2 sICAM-1

Tabla 3.4 Intervalos de confianza para la media de sICAM-1

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	sICAM-1 (ng/mL)	201,50	7,20	70	187,14	215,86
Casos	sICAM-1 (ng/mL)	201,79	8,69	37	184,17	219,40
Controles	sICAM-1 (ng/mL)	201,18	11,91	33	176,92	225,44

(Vilema, 2011).

La tabla 3.4, permite concluir con un 95% de confianza, que la media poblacional del grupo de casos se encuentra en el intervalo de 184,17 ng/mL a 219,40 ng/mL y que el intervalo de 19,74 pg/mL a 22,41 pg/mL contiene, con un 95% de confianza, el valor de la concentración promedio de IL-6 de la población de controles. El intervalo de confianza para todos los sujetos estudiados es de 187,14 ng/mL a 215,86 ng/mL.

3.2.1.1.3 sVCAM-1

Tabla 3.5 Intervalos de confianza para la media de sVCAM-1.

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	sVCAM-1 (ng/mL)	555,49	22,04	69	511,50	599,48
Casos	sVCAM-1 (ng/mL)	611,07	33,06	37	544,03	678,11
Controles	sVCAM-1 (ng/mL)	491,22	24,14	32	441,98	540,46

(Vilema, 2011).

La tabla 3.5, permite concluir con un 95% de confianza que la media poblacional de los policías de tránsito que trabajan en las calles se encuentra en el intervalo de 544,03 ng/mL a 678,11ng/mL y que el intervalo de 441,98 ng/mL a 540,46 ng/mL contiene, con un 95% de confianza, el valor de la concentración promedio de sVCAM-1 de los policías que trabajan en oficinas. El intervalo de confianza para todos los sujetos estudiados es de 511,50 ng/mL a 599,48 ng/mL.

3.2.1.1.4 sE-selectina

Tabla 3.6 Intervalos de confianza para la media de sE-selectina.

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	sE-selectina (ng/mL)	71,70	1,93	71	67,86	75,54
Casos	sE-selectina (ng/mL)	73,43	2,61	38	68,15	78,71
Controles	sE-selectina (ng/mL)	69,70	2,86	33	63,88	75,52

(Vilema, 2011).

La tabla 3.6, permite concluir con un 95% de confianza, que la concentración media de sE-selectina para la población de casos se encuentra en el intervalo de 68,15 ng/mL a 78,71 ng/mL y la media poblacional del grupo de controles en el intervalo de 63,88 pg/mL a 75,52 pg/mL. El intervalo de confianza para todos los sujetos estudiados es de 67,86 ng/mL a 75,54 ng/mL.

3.2.1.2 Intervalos de confianza para la desviación estándar.

3.2.1.2.1 IL-6

Tabla 3.7 Intervalos de confianza para la desviación estándar de IL-6.

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	IL-6 (pg/mL)	41,94	7,14	70	5,55	7,77
Casos	IL-6 (pg/mL)	30,72	7,14	38	4,52	7,17
Controles	IL-6 (pg/mL)	13,75	3,49	32	2,97	4,93

(Vilema, 2011).

La tabla 3.7 muestra que, con un 95% de confianza, la desviación estándar de la concentración de IL-6 está entre 5,55 pg/mL y 7,77 pg/mL para el total de sujetos de estudio, para el grupo de casos está entre 4,52 pg/mL y 7,17 pg/mL y para el grupo de controles entre 2,97 pg/mL y 4,93 pg/mL.

3.2.1.2.2 sICAM-1

Tabla 3.8 Intervalos de confianza para la desviación estándar de sICAM-1.

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	sICAM-1 (ng/mL)	3627,40	617,57	70	51,64	72,27
Casos	sICAM-1 (ng/mL)	2791,52	657,97	37	42,97	68,63
Controles	sICAM-1 (ng/mL)	4680,93	1170,23	33	55,02	90,49

(Vilema, 2011).

La tabla 3.8 muestra, con un 95% de confianza, que la desviación estándar de la concentración de sICAM-1 para el grupo de casos está entre 42,97 ng/mL y 68,6 ng/mL, para el grupo de controles está entre 55,02 ng/mL y 90,49 ng/mL y para el total de sujetos de estudio está entre 51,64 ng/mL y 72,27 ng/mL.

3.2.1.2.3 sVCAM-1

Tabla 3.9 Intervalos de confianza para la desviación estándar de sVCAM-1.

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	sVCAM-1 (ng/mL)	33532,16	5750,72	69	156,85	220,05
Casos	sVCAM-1 (ng/mL)	40429,06	9529,22	37	163,51	261,18
Controles	sVCAM-1 (ng/mL)	18653,11	4737,89	32	109,49	181,58

(Vilema, 2011).

La tabla 3.9 muestra que, con un 95% de confianza, la desviación estándar de la concentración de sVCAM-1 está entre 156,85 ng/mL y 220,05 ng/mL para el total de sujetos de estudio, para el grupo de casos está entre 163,51 ng/mL y 261,18 ng/mL y para el grupo de controles entre 109,49 ng/mL y 181,58 ng/mL.

3.2.1.2.4 sE-selectina

Tabla 3.10 Intervalos de confianza para la desviación estándar de sE-selectina.

Tipo	Variable	Estimación	E. E.	n	LI (95%)	LS (95%)
Todos	sE-selectina (ng/mL)	263,27	44,50	71	13,93	19,44
Casos	sE-selectina (ng/mL)	258,32	60,06	38	13,10	20,79
Controles	sE-selectina (ng/mL)	269,55	67,39	33	13,20	21,72

(Vilema, 2011).

La tabla 3.10 muestra, con un 95% de confianza, que la desviación estándar de la concentración de sE-selectina para el grupo de casos está entre 13,10 ng/mL y 20,79 ng/mL, para el grupo de controles está entre 13,20 ng/mL y 21,72 ng/mL y para el total de sujetos de estudio está entre 13,93 ng/mL y 72,27 ng/mL.

3.2.2 Pruebas de hipótesis

Estas pruebas ayudan a establecer estadísticamente una hipótesis en relación a medias, varianzas o independencia. Mediante estas pruebas se analizarán, una hipótesis nula (H_0) y una alternativa (H_a), que servirán para tomar una decisión en relación a los parámetros mencionados. En todas estas pruebas, primeramente se establecerán las dos hipótesis y luego se tomará la decisión en base al estadístico de prueba calculado y al criterio de rechazo.

3.2.2.1 *Prueba de hipótesis para igualdad de varianzas*

En esta prueba se va a determinar si las varianzas de las dos poblaciones son iguales o diferentes, según el siguiente criterio de rechazo:

$p < \alpha$ Se rechaza la hipótesis nula a favor de la alternativa

$p \geq \alpha$ Se acepta la hipótesis nula

Donde: p = estadístico de prueba y

α = nivel de significancia (5%).

3.2.2.1.1 IL-6

$$H_0: \sigma_1 = \sigma_2$$

$$H_a: \sigma_1 \neq \sigma_2$$

Donde: σ_1 = varianza para la población de casos y

σ_2 = varianza para la población de controles.

Tabla 3.11 Prueba F para igualdad de varianzas de IL-6.

Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n (1)	n (2)	Var (1)	Var (2)	F	p
IL-6	Casos	Controles	38	32	30,72	13,75	2,23	0,0244

(Vilema, 2011).

La tabla 3.11 presentar el valor p, que es el valor que se va a analizar para determinar cuál de las dos hipótesis es la que se va a aceptar. En este caso, el valor de p (2,44%) es menor que α y por esta razón, se rechaza la hipótesis nula a favor de la alternativa; lo que quiere decir que las varianzas de las dos poblaciones son estadísticamente diferentes.

3.2.2.1.2 sICAM-1

$$H_0: \sigma_1 = \sigma_2$$

$$H_a: \sigma_1 \neq \sigma_2$$

Donde: σ_1 = varianza para la población de casos y
 σ_2 = varianza para la población de controles.

Tabla 3.12 Prueba F para igualdad de varianzas de sICAM-1.

Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n (1)	n (2)	Var (1)	Var (2)	F	p
sICAM-1	Casos	Controles	37	33	2791,52	4680,93	0,60	0,1412

(Vilema, 2011).

El valor de p calculado en este caso (14,12%), lleva a tomar como verdadera la hipótesis nula que dice que las dos varianzas son estadísticamente iguales. La tabla 3.12 muestra que $p \geq \alpha$, por lo que la decisión es en favor de la hipótesis nula.

3.2.2.1.3 sVCAM-1

$$H_0: \sigma_1 = \sigma_2$$

$$H_a: \sigma_1 \neq \sigma_2$$

Donde: σ_1 = varianza para la población de casos y
 σ_2 = varianza para la población de controles.

Tabla 3.13 Prueba F para igualdad de varianzas de sVCAM-1.

Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n (1)	n (2)	Var (1)	Var (2)	F	p
sVCAM-1	Casos	Controles	37	32	40429,06	18653,11	2,17	0,0307

(Vilema, 2011).

En este caso, el valor de p (3,07%) (tabla 3.13), indica que la decisión correcta a tomarse es rechazar la hipótesis nula a favor de la alternativa; esto quiere decir que las varianzas de las dos poblaciones son estadísticamente diferentes.

3.2.2.1.4 sE-selectina

$$H_0: \sigma_1 = \sigma_2$$

$$H_a: \sigma_1 \neq \sigma_2$$

Donde: σ_1 = varianza para la población de casos y
 σ_2 = varianza para la población de controles.

Tabla 3.14 Prueba F para igualdad de varianzas de sE-selectina.

Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n (1)	n (2)	Var (1)	Var (2)	F	p
sE-selectina	Casos	Controles	38	33	258,32	269,55	0,96	0,9081

(Vilema, 2011).

El valor calculado de p (90,81%) que muestra la tabla 3.14, indica que la varianza de las dos poblaciones es estadísticamente la misma. En este caso se acepta la hipótesis nula planteada.

3.2.2.2 Prueba de hipótesis para igualdad de medias

Esta prueba determinará si las medias de las dos poblaciones son iguales o si la media poblacional de los casos es mayor que la de los controles. Para esto, se considerará el siguiente criterio de rechazo:

$p < \alpha$ Se rechaza la hipótesis nula a favor de la alternativa

$p \geq \alpha$ Se acepta la hipótesis nula

Donde: p = estadístico de prueba y

α = nivel de significancia (5%).

3.2.2.2.1 IL-6

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 > \mu_2$$

Donde: μ_1 = media para la población de casos y

μ_2 = media para la población de controles.

Tabla 3.15 Prueba T para igualdad de medias de IL-6.

Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n (1)	n (2)	Media (1)	Media (2)	T	gl	p -valor
IL-6	Casos	Controles	38	32	12,32	21,08	-7,87	66	>0,9999

(Vilema, 2011).

Esta prueba muestra que las dos medias poblacionales son estadísticamente iguales ($p > 99,99\%$), es decir, la concentración promedio de IL-6 de los casos y los controles es estadísticamente la misma. Ver tabla 3.15.

3.2.2.2.2 sICAM-1

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 > \mu_2$$

Donde: μ_1 = media para la población de casos y
 μ_2 = media para la población de controles.

Tabla 3.16 Prueba T para igualdad de medias de sICAM-1.

Variable	Grupo (1)	Grupo (2)	n (1)	n (2)	Media (1)	Media (2)	T	gl	p - valor
sICAM-1	Casos	Controles	37	33	201,79	201,18	0,04	68	0,4833

(Vilema, 2011).

Para la molécula sICAM-1, la concentración promedio de las dos poblaciones es estadísticamente la misma; $p = 48,33\%$ (tabla 3.16). En este caso, no hay diferencia en la concentración de sICAM-1, ni en los casos, ni en los controles.

3.2.2.2.3 sVCAM-1

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 > \mu_2$$

Donde: μ_1 = media para la población de casos y
 μ_2 = media para la población de controles.

Tabla 3.17 Prueba T para igualdad de medias de sVCAM-1.

Variable	Grupo	Grupo	n	n	Media	Media	T	gl	p - valor
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)			
sVCAM-1	Casos	Controles	37	32	611,07	491,22	2,93	65	0,0023

(Vilema, 2011).

Esta prueba muestra que las dos medias poblacionales son estadísticamente diferentes ($p = 0,23\%$) (tabla 3.17), es decir, la concentración promedio de sVCAM-1, es estadísticamente diferente a la concentración de la misma molécula en los controles.

3.2.2.2.4 sE-selectina

$$H_0: \mu_1 = \mu_2$$

$$H_a: \mu_1 > \mu_2$$

Donde: μ_1 = media para la población de casos y
 μ_2 = media para la población de controles.

Tabla 3.18 Prueba T para igualdad de medias de sE-selectina.

Variable	Grupo	Grupo	n	n	Media	Media	T	gl	p - valor
	(1)	(2)	(1)	(2)	(1)	(2)			
sE-selectina	Casos	Controles	38	33	73,43	69,70	0,97	69	0,1689

(Vilema, 2011).

El valor de p (16,89%) presentado por la tabla 3.18, indica que la concentración promedio de sE-selectina de las dos poblaciones es estadísticamente la misma, tanto para los casos como para los controles.

3.2.2.3 Prueba de hipótesis para una media

Esta prueba determinará si la media de las dos poblaciones, es mayor que el promedio específico o estándar. Esto quiere decir, que esta prueba establecerá si el promedio poblacional supera el valor normal. Para esto, se considerará el siguiente criterio de rechazo:

$p < \alpha$ Se rechaza la hipótesis nula a favor de la alternativa

$p \geq \alpha$ Se acepta la hipótesis nula

Donde: p = estadístico de prueba y

α = nivel de significancia (5%).

3.2.2.3.1 IL-6

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_a: \mu > \mu_0$$

Donde: μ = media poblacional

μ_0 = media específica o estándar

Tabla 3.19 Prueba T para una media de IL-6.

Tipo	Variable	n	Media	T	p (unilateral D)
Casos	IL-6	38	12,32	6,13	<0,0001
Controles	IL-6	32	21,08	21,76	<0,0001

(Vilema, 2011).

La tabla 3.19 muestra los valores de p (<0,01%). Estos valores permiten establecer que las concentraciones promedio de IL-6, tanto para los casos como

para los controles, son más elevadas que la concentración promedio reportada como estándar (6,81 pg/mL).

3.2.2.3.2 sICAM-1

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_a: \mu > \mu_0$$

Donde: μ = media poblacional

μ_0 = media específica o estándar

Tabla 3.20 Prueba T para una media de sICAM-1.

Tipo	Variable	n	Media	T	p (unilateral D)
Casos	sICAM-1	37	201,79	-0,72	0,7605
Controles	sICAM-1	33	201,18	-0,57	0,7146

(Vilema, 2011).

La tabla 3.20 indica, que tanto para el grupo de casos como para el grupo de controles, las medias poblacionales no sobrepasan el valor reportado como estándar. Esto quiere decir, que las dos poblaciones tienen concentraciones promedio de sICAM-1 que pueden considerarse como normales.

3.2.2.3.3 sVCAM-1

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_a: \mu > \mu_0$$

Donde: μ = media poblacional

μ_0 = media específica o estándar

Tabla 3.21 Prueba T para una media de sVCAM-1.

Tipo	Variable	n	Media	T	p (unilateral D)
Casos	sVCAM-1	37	611,07	1,64	0,0553
Controles	sVCAM-1	32	491,22	-2,72	0,9948

(Vilema, 2011).

La tabla 3.21 muestra que, tanto para el grupo de casos como para el grupo de controles, las medias poblacionales no sobrepasan el valor reportado como estándar. Esto quiere decir, que las dos poblaciones tienen concentraciones promedio de sVCAM-1 que pueden considerarse como normales.

3.2.2.3.4 sE-selectina

$$H_0: \mu = \mu_0$$

$$H_a: \mu > \mu_0$$

Donde: μ = media poblacional

μ_0 = media específica o estándar

Tabla 3.22 Prueba T para una media de sE-selectina.

Tipo	Variable	n	Media	T	p (unilateral D)
Casos	sE-selectina	38	73,43	13,97	<0,0001
Controles	sE-selectina	33	69,70	11,44	<0,0001

(Vilema, 2011).

La tabla 3.22 muestra los valores de p (<0,01%) que permiten establecer que las concentraciones promedio de sE-selectina, tanto para los casos como para los controles, son más elevadas que la concentración promedio reportada como estándar (37 ng/mL).

3.2.2.4 Prueba de hipótesis de independencia

Esta prueba establecerá la relación de dependencia entre la concentración de las cuarto moléculas estudiadas, con el tipo de trabajo que realizan los policías de tránsito; es decir, determinará si la concentración de las moléculas depende del trabajo realizado por los policías en las calles o en oficinas. Para esto, se considerará el siguiente criterio de rechazo:

$p < \alpha$ Se rechaza la hipótesis nula a favor de la alternativa

$p \geq \alpha$ Se acepta la hipótesis nula

Donde: p = estadístico de prueba y

α = nivel de significancia (10%).

Esta prueba demanda la categorización de los datos analizados, de tal manera que se puedan crear tablas de contingencia que servirán para determinar la dependencia de las variables estudiadas. Para crear estas categorías o niveles de concentración, se utilizó la ley 6σ , que permitió crear tres niveles a partir del σ calculado. Los niveles de concentración se crearon de la siguiente manera:

Si $(\mu_0 - \sigma_0) < \text{concentración de la molécula}$ = Baja

Si $(\mu_0 + \sigma_0) > \text{concentración de la molécula}$ = Alta

Si los valores están entre $\mu_0 - \sigma_0$ y $\mu_0 + \sigma_0$ = Normal

Donde: μ_0 = media poblacional estándar

σ_0 = sigma calculado

3.2.2.4.1 IL-6

H_0 = El nivel de la concentración de IL-6 es independiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

H_a = El nivel de la concentración de IL-6 es dependiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

Para esta molécula:

$$\sigma_0 = 1,585$$

$$\mu_0 - \sigma_0 = 5,225$$

$$\mu_0 + \sigma_0 = 8,395$$

La tabla 3.23 es la tabla de contingencia creada para esta molécula.

Tabla 3.23 Tabla de contingencia de IL-6.

Tipo	Alta	Normal	Total
Casos	29	9	38
Controles	32	0	32
Total	61	9	70

(Vilema, 2011).

Tabla 3.24 Prueba de independencia para IL-6.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	8,70	1	0,0032

(Vilema, 2011).

El valor de p (0,32%) que muestra la tabla 3.24 indica que la concentración de IL-6 es dependiente del trabajo realizado por los policías de tránsito.

3.2.2.4.2 sICAM-1

H_0 = El nivel de la concentración de sICAM-1 es independiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

H_a = El nivel de la concentración de sICAM-1 es dependiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

Para esta molécula:

$$\sigma_0 = 36,87$$

$$\mu_0 - \sigma_0 = 171,13$$

$$\mu_0 + \sigma_0 = 244,87$$

La tabla 3.25 es la tabla de contingencia creada para esta molécula.

Tabla 3.25 Tabla de contingencia de sICAM-1.

Tipo	Alta	Baja	Normal	Total
Casos	6	12	19	37
Controles	5	12	16	33
Total	11	24	35	70

(Vilema, 2011).

Tabla 3.26 Prueba de independencia para sICAM-1.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,12	2	0,9418

(Vilema, 2011).

El valor de p (94,18%) que muestra la tabla 3.26 indica que la concentración de sICAM-1 es independiente del trabajo realizado por los policías de tránsito.

3.2.2.4.3 sVCAM-1

H_0 = El nivel de la concentración de sVCAM-1 es independiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

H_a = El nivel de la concentración de sVCAM-1 es dependiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

Para esta molécula:

$$\sigma_0 = 107$$

$$\mu_0 - \sigma_0 = 450$$

$$\mu_0 + \sigma_0 = 664$$

La tabla 3.27 es la tabla de contingencia creada para esta molécula.

Tabla 3.27 Tabla de contingencia de sVCAM-1.

Tipo	Alta	Baja	Normal	Total
Casos	11	9	17	37
Controles	4	16	12	32
Total	15	25	29	69

(Vilema, 2011).

Tabla 3.28 Prueba de independencia para sVCAM-1.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	5,76	2	0,0562

(Vilema, 2011).

El valor de p (5,62%) que muestra la tabla 3.28 indica que la concentración de sVCAM-1 es dependiente del trabajo realizado por los policías de tránsito. Lo que esto quiere decir es que, la concentración de sVCAM-1 si depende de si el policía está o no trabajando en las calles.

3.2.2.4.4 sE-selectina

H_0 = El nivel de la concentración de sE-selectina es independiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

H_a = El nivel de la concentración de sE-selectina es dependiente del tipo de trabajo realizado por los policías.

Para esta molécula:

$$\sigma_0 = 10,22$$

$$\mu_0 - \sigma_0 = 26,78$$

$$\mu_0 + \sigma_0 = 47,22$$

La tabla 3.29 es la tabla de contingencia creada para esta molécula.

Tabla 3.29 Tabla de contingencia de sE-selectina.

Tipo	Alta	Normal	Total
Casos	37	1	38
Controles	32	1	33
Total	69	2	71

(Vilema, 2011).

Tabla 3.30 Prueba de independencia para sE-selectina.

Estadístico	Valor	gl	p
Chi Cuadrado Pearson	0,01	1	0,9193

(Vilema, 2011).

El valor de p (91,93%) que muestra la tabla 3.30 indica que la concentración de sE-selectina es independiente del trabajo realizado por los policías de tránsito.

CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN

El presente capítulo expondrá un análisis de los resultados obtenidos al compararlos con estudios similares que se han realizado. Varias investigaciones hacen relación a la contaminación ambiental del aire con problemas inflamatorios, pero no hay investigaciones puntuales que indiquen este tipo de relación en la población ecuatoriana y mucho menos en la población del Distrito Metropolitano de Quito (DMQ). Es por esta razón que los resultados obtenidos en esta tesis se analizarán bajo la luz de estudios realizados en otros países y con diferentes poblaciones estudiadas.

El objetivo de esta tesis fue estudiar una parte del personal policial del DMQ con el fin de evaluar la respuesta inflamatoria ante la exposición crónica a contaminantes ambientales del aire. Para alcanzar este objetivo, se estudió dos grupos de policías de tránsito, unos expuestos a estos contaminantes y unos aparentemente no expuestos y sus concentraciones en suero de IL-6, sICAM-1, sVCAM-1 y sE-selectina. Bajo estas consideraciones se analizarán los resultados obtenidos con los análisis estadísticos realizados.

La publicación realizada por Abraham en el año 2006, dice que “el fenómeno inflamatorio se origina por diferentes estímulos que inducen la liberación de mediadores proinflamatorios endógenos, que a su vez inducen la activación endotelial. El endotelio activado expresa *de novo* o incrementa la expresión de diferentes moléculas de adhesión, que incluyen la E y P-selectinas, VCAM-1 e ICAM-1”. Basándose en esta publicación y en estudios que se irán discutiendo a

continuación se podrá determinar si existe o no inflamación relacionada a los marcadores inflamatorios seleccionados para la presente investigación.

Los resultados obtenidos en el análisis descriptivo sugieren que las concentraciones de IL-6 y sICAM-1 son elevadas al compararlas con el estudio realizado por Delfino *et al.* 2008. La concentración media de IL-6 obtenida en el presente estudio fue de 16,73 pg/mL con un mínimo de 7,35 pg/mL y un máximo de 45,35 pg/mL; mientras que Delfino *et al.* reporta una concentración media de 2,45 pg/mL, un mínimo de 0.28 pg/mL y un máximo de 20,14 pg/mL. En cuanto a sICAM-1 esta tesis obtuvo una concentración media de 205,97 ng/mL, un mínimo de 123,28 ng/mL y un máximo de 518,59 ng/mL, pero Delfino *et al.* reporta una concentración media de 159 ng/mL, un mínimo de 74 ng/mL y un máximo de 383 ng/mL. Al referirnos de sVCAM-1 esta investigación obtuvo una concentración media de 584,27 ng/mL, un mínimo de 262,17 ng/mL y un máximo de 1863,72 ng/mL; mientras que Delfino *et al.* encuentra una concentración media de 751 ng/mL, un mínimo de 203 ng/mL y un máximo de 1639 ng/mL.

Si analizamos los resultados expuestos anteriormente, notamos una clara diferencia entre las concentraciones de IL-6 y sICAM-1 entre estos dos estudios, pero si analizamos a sVCAM-1 podemos observar que las concentraciones son parecidas y que en ninguno de los dos estudios los valores se disparan como es el caso de las otras dos moléculas citadas anteriormente. Las claras diferencias entre las concentraciones pueden deberse al tipo de población que analiza cada estudio, a la edad de los sujetos de estudio o incluso a los mecanismos de inflamación y liberación de cada molécula en un determinado tipo de persona (Frampton, 2001).

La simetría y la dispersión que pueden presentar los datos, son características propias de cada estudio y población. En esta investigación se encontró que IL-6 presenta una distribución asimétrica sesgada a la izquierda y una dispersión de los datos que se encuentran entre el 25% y el 50% de la población, además al analizar esta molécula en la población estudiada se encontró un dato atípico en el grupo de controles. sICAM-1 por su parte, no presenta sesgo ni dispersión en los datos, pero si un dato atípico que se encuentra en el grupo de casos. En cuanto a sVCAM-1, se evidencia una distribución asimétrica sesgada a la derecha y una dispersión de los datos entre el 50% y el 75% de la población. Esta molécula presenta dos datos atípicos, uno en el grupo de los casos y otro en el grupo de los controles. Las concentraciones de sE-selectina, constituyen los datos más homogéneos del estudio, puesto que la distribución de los mismos es simétrica y no hay valores dispersos, así como tampoco existen datos atípicos.

Los datos atípicos son considerados valores extremos que se encuentran entre los datos estudiados. Estos valores extremos crean esa dispersión y asimetría que se observó en 3 de las 4 moléculas analizadas y por esa razón desvían los valores a heterogéneos. Estos valores extremos indican que hay personas en el estudio con concentraciones de IL-6, sICAM-1 y sVCAM-1 extremadamente elevadas al compararlas con personas del mismo grupo de estudio y de la misma población. Esto indica que hasta esos extremos de inflamación se puede llegar y que posiblemente la exposición a la contaminación del aire, se suma a otros problemas de salud como enfermedades cardiovasculares, arritmias, fallas del corazón y la propensión a la aterosclerosis (Brook *et al.*, 2004; Lanki *et al.*, 2006) e incluso a malos hábitos alimenticios como lo publica Frampton en 2001.

En cuanto a los intervalos de confianza obtenidos para la media poblacional, esta tesis presenta un intervalo de 14,78 pg/mL a 17,87 pg/mL para

IL-6, mientras que Delfino *et al.* 2008 un intervalo entre $2,95 \pm 2,32$ pg/mL, para sICAM-1 un intervalo entre 187,14 ng/mL y 215,86 ng/mL y Delfino *et al.* presenta un intervalo entre 155 ± 52 ng/mL, para sVCAM-1 este trabajo obtuvo un intervalo de confianza entre 511,50 ng/mL y 599,48 ng/mL, mientras que la publicación de Delfino *et al.* obtuvo un intervalo entre 787 ± 252 ng/mL y para sE-selectina, esta investigación obtuvo un intervalo entre 67,86 ng/mL y 75,54 ng/mL. Estos datos al igual que las medias anteriormente analizadas, son consistentes entre ellos, es decir, las concentraciones de IL-6 y sICAM-1 son más elevadas en la presente tesis y la concentración de sVCAM-1 es más elevada en el estudio realizado por Delfino *et al.* en el año 2008, indicando de esta manera que a pesar de que son estudios similares, las condiciones bajo las que se realizan los dos estudios son muy diferentes entre sí, llevando de esta manera a obtener otros valores.

Los intervalos de confianza para la desviación estándar, indican la desviación que este estudio encontró en la concentración de las moléculas estudiadas. Estos intervalos van a ser comparados con las desviaciones estándar encontradas en estudios realizados por R&D Systems en los años 2008 y 2009 en grupos de voluntarios aparentemente sanos, para determinar si estos intervalos encierran a los valores reportados por estas investigaciones. Esto se hace con la finalidad de entender si los valores de desviación estándar encontrados en este estudio son similares a otros estudios del mismo tipo y sobre todo para entender el grado de dispersión que tienen los datos con respecto a la concentración promedio obtenida.

La desviación estándar que reporta un estudio realizado en 54 voluntarios para sICAM-1 es de 40,7 ng/mL, un estudio realizado en 36 voluntarios para sVCAM-1 indica una desviación estándar de 139,6 ng/mL y se obtiene una desviación estándar de 14,9 ng/mL para un estudio realizado a 35 voluntarios de la molécula sE-selectina. Al comparar estos valores con los obtenidos en esta

tesis (tablas 3.8, 3.9 y 3.10) se puede observar que para la molécula sICAM-1 la desviación estándar es ligeramente más grande si analizamos el intervalo de confianza del grupo de casos, el intervalo de confianza de la molécula sVCAM-1 si encierra el valor reportado por R&D Systems cuando se analiza el intervalo del grupo de controles y para la molécula sE-selectina ocurre lo mismo, pero esta vez en los tres intervalos de confianza obtenidos. Lo que esto nos quiere decir en general es que los datos analizados en esta tesis son lo suficientemente consistentes como para trabajar con ellos y lograr resultados parecidos a otras investigaciones del mismo tipo.

Al analizar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las concentraciones promedio de las moléculas estudiadas, podemos notar que las concentraciones promedio de IL-6, sICAM-1 y sE-selectina para los casos y los controles son estadísticamente iguales, mientras que si existe diferencia estadística entre casos y controles para la molécula sVCAM-1. Esto quiere decir, que las evidentes diferencias entre casos y controles mostradas en la tabla 3.2 no son suficientes para estadísticamente poder concluir que en efecto existe una mayor concentración de las moléculas estudiadas en los casos o en los controles. El que no exista diferencia para 3 de las 4 moléculas puede deberse a que los dos grupos como población en general (policías de tránsito) tengan concentraciones similares de IL-6, sICAM-1 y sE-selectina; que los efectos de la materia particulada en la población estudiada van más allá de los años que han servido en las calles o incluso que existen factores externos que pueden influir en la producción de estas moléculas como por ejemplo el lugar donde viven estas personas, si son fumadores o no, hasta incluso una exposición a los contaminantes ambientales del aire en interiores (Lanki *et al.*, 2006; Brook *et al.*, 2004).

En cuanto a la comparación de las concentraciones con los valores tomados como referencia (R&D Systems, 2008; R&D Systems, 2009), esta tesis

muestra que las concentraciones de sICAM-1 y sVCAM-1 no sobrepasan el valor referencia, pero que la concentración promedio de IL-6 y sE-selectina si sobrepasan estos valores; mostrando esto que, al hablar de inflamación en este caso, se habla de concentraciones altas de las moléculas IL-6 y sE-selectina en el suero de los policías de tránsito estudiados. Estos resultados son coherentes al momento de compararlos con los resultados obtenidos por Delfino *et al.* 2008. El estudio llevado a cabo por este investigador encuentra asociaciones positivas entre PCR, sTNF-RII, IL-6 y sP-selectina con la exposición a partículas cuasi-ultrafinas y coeficientes positivos pero no altamente significantes entre TNF- α , sVCAM-1 y sICAM-1, que es lo mismo que el presente estudio logró determinar, con una sola diferencia, esta tesis no estudió sP-selectina, y en su lugar estudió sE-selectina.

Lo que el estudio de Delfino *et al.* 2008 pretendió hacer al momento de analizar las concentraciones de sP-selectina es determinar mediante esta molécula la activación plaquetaria, mientras que este estudio pretendió determinar la activación del endotelio, ya que sE-selectina es un marcador de este proceso. Bajo la luz de esta evidencia, el estudio de Delfino *et al.* concluye que existe suficiente información para decir que las emisiones vehiculares de carbón orgánico primario y partículas cuasi-ultrafinas llevan a un incremento en la inflamación sistémica y la activación plaquetaria en ancianos con enfermedad de las arterias coronarias y siguiendo esta investigación, la presente tesis podría llegar a una conclusión del mismo tipo.

Por último se analizará la dependencia que tiene el tipo de trabajo realizado por los policías con su exposición a la contaminación ambiental del aire y la inflamación. Los resultados obtenidos muestran que las concentraciones de sICAM-1 y sE-selectina en los policías de tránsito estudiados, son independientes del trabajo realizado por los mismos, mientras que para las otras dos moléculas se

observa dependencia entre la concentración de IL-6 y sVCAM-1 y el trabajo realizado por los policías. Esto quiere decir, que la concentración de las dos últimas moléculas, depende de si el policía trabaja en las calles o en una oficina. Al haber destacado a sE-selectina como marcador de inflamación en este estudio, esta independencia explica que los dos grupos (casos y controles) están inflamados y que su estado inflamatorio puede deberse a que los policías que actualmente trabajan en oficinas (controles), algún momento estuvieron expuestos a la misma contaminación a la que están expuestos los que actualmente trabajan en las calles (casos), en razón de que durante muchos años de su vida también formaron parte de las filas policiales que trabajan en el control del tránsito en el DMQ.

La contribución que hace este estudio al entendimiento de los problemas que trae la contaminación ambiental del aire, es importante, puesto que un estudio similar no se ha realizado todavía en el país, convirtiéndose así esta tesis en la primera de este tipo realizada en el DMQ. Esta tesis es solo el principio y una pequeña muestra de lo que se puede hacer al respecto y sería importante tomar este estudio como partida para seguir estudiando este fenómeno y llevarla más allá del DMQ a otras ciudades contaminadas del país. Si esto se realiza, la vida que tenga esta tesis va a depender del afán que de otros investigadores tengan en seguir esta línea de investigación y contribuir al país con este conocimiento.

Una de las limitaciones que esta tesis puede presentar es que el número de personas con las que se trabajó es pequeño, ya que como estudio piloto que es, se analizó solo una pequeña muestra, para determinar si se podían seguir estudiando otras poblaciones con grupos de estudio más grandes. Esta es una limitación debido a que, mientras más grande es el número de individuos estudiados, las pruebas estadísticas realizadas son más exactas y la evidencia que se muestra es más consistente.

La dificultad de trabajar con policías, las innumerables autorizaciones y permisos que hay que conseguir para la colaboración de estas personas crean retrasos inesperados que repercuten posteriormente en el normal desenvolvimiento del estudio.

El hecho de haber realizado toda la investigación con policías, no permitió desarrollar correctamente el diseño de casos y controles. La selección de estos dos grupos es vital para que un estudio de ese tipo brinde resultados que contrasten. En el caso de esta tesis, el haber seleccionado los dos grupos de la misma población, no permitió establecer diferencias marcadas entre ellos. Esta es una de las limitantes de este estudio porque los dos grupos seleccionados debieron estar bien separados para poder diferenciarlos.

Para finalizar, es trascendente indicar que esta tesis tiene un alcance nacional y regional muy importante ya que puede servir como base para otras investigaciones similares, como referente para nuevas ideas de investigación que puedan surgir con respecto a la contaminación ambiental o incluso como partida para estudiar otros tipos de contaminación como por ejemplo, la contaminación del agua o el suelo y relacionarlas con afecciones en la salud muy puntuales, para de esta manera seguir creando una conciencia ambiental y poco a poco ir demandando estándares más exigentes en cuanto a la tolerancia a los peligrosos contaminantes ambientales.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

1. Se estandarizó la técnica de microELISA para la medición de la concentración de las moléculas IL-6, sICAM-1, sVCAM-1 y sE-selectina, siguiendo cuidadosamente el procedimiento recomendado y manteniendo una temperatura constante en el laboratorio de 20°C.
2. Se determinó la concentración en sangre de las moléculas IL-6, sICAM-1, sVCAM-1 y sE-selectina en el personal policial con el que se trabajó.
3. Con un nivel de confianza del 95%, se puede afirmar que la concentración promedio de IL-6 en la población de casos está entre 10,50 pg/mL y 14,14 pg/mL.
4. La concentración promedio de IL-6 para la población del grupo control está en el intervalo de 19,74 pg/mL a 22,41 pg/mL. Afirmación realizada con un 95% de confianza.
5. Con un 95% de confianza, la concentración promedio de sICAM-1 en la población de casos está entre 184,17 ng/mL y 219,40 ng/mL.

6. La concentración promedio de sICAM-1 para la población de controles está en el intervalo de 176,92 ng/mL y 225,44 ng/mL. Con un 95% de confianza.
7. Con un 95% de confianza se puede decir que la concentración promedio de sVCAM-1 para la población de casos están entre 544,03 ng/mL y 678,11ng/mL.
8. Para la población de controles, la concentración promedio de sVCAM-1 está entre 441,98 ng/mL a 540,46 ng/mL.
9. La concentración promedio de sE-selectina para la población de casos están en el intervalo de 68,15 ng/mL a 78,71 ng/mL. Afirmación realizada con el 95% de confianza.
10. Con 95% de confianza se puede decir que la concentración promedio de sE-selectina para el grupo de controles se encuentra en el intervalo de 63,88 pg/mL a 75,52 pg/mL.
11. Para IL-6 y sVCAM-1 las varianzas de las dos poblaciones son estadísticamente diferentes, mientras que para sICAM-1 y sE-selectina son estadísticamente iguales.
12. Las concentraciones promedio de IL-6, sICAM-1 y sE-selectina para los casos y los controles son estadísticamente iguales.

13. La concentración promedio de sVCAM-1 en los casos, es estadísticamente diferente a la concentración de sVCAM-1 en los controles.
14. La concentración de sICAM-1, sVCAM-1 en las dos poblaciones, no sobrepasa el valor reportado como estándar.
15. La concentración promedio de IL-6 y sE-selectina para las dos poblaciones es más elevada que el valor reportado como estándar.
16. La concentración de sICAM-1 y sE-selectina en los policías de tránsito estudiados, es independiente del trabajo realizado por los mismos.
17. La concentración de IL-6 y sVCAM-1 depende del tipo de trabajo que realizan los policías de tránsito, es decir, de si trabajan en las calles o en oficina.
18. El análisis de las moléculas inflamatorias estudiadas, pudo probar que los sujetos de estudio presentan una inflamación; sin embargo este proceso es tan complejos, que habría que determinar su mecanismo biológico para establecer una verdadera relación entre contaminación e inflamación.

CAPÍTULO 6: RECOMENDACIONES

1. Es importante seguir cuidadosamente el procedimiento propuesto en el Capítulo 2 para una correcta lectura de los datos y mantener una temperatura constante en el lugar de trabajo de 20°C, puesto que la variación de temperatura afecta las reacciones que se producen.
2. Al momento de realizar el lavado de las placas que indica el método, es de vital importancia realizarlo correctamente pero siempre teniendo en cuenta que si se lo hace bruscamente, el anticuerpo y el analito unidos al microplato se pueden desprender.
3. En el caso de la molécula sICAM-1 es indispensable que la primera incubación se la realice en un agitador horizontal orbital que provea de una órbita de 3mm y 500±50 rpm ya que la agitación que provee ese equipo brinda las condiciones necesarias para una completa reacción.
4. Es clave procesar la sangre obtenida de los pacientes lo más pronto posible, es decir, separar el suero pronto para que las moléculas que se van a estudiar no se desnaturalicen.
5. Es importante el trato que se le dé al suero con el que se va a trabajar, ya que repetidas descongelaciones pueden ir dañando la molécula

estudiada. Por esta razón se recomienda realizar varias alícuotas de la misma muestra para evitar este inconveniente.

6. Sería importante que se realicen más investigaciones del mismo tipo en otras poblaciones para determinar si existe o no relación entre inflamación y contaminación ambiental del aire. Otras poblaciones podrían ser vendedores ambulantes e inclusive niños, para determinar con estos últimos desde qué edad puede comenzar este problema.

7. Para completar el estudio, sería importante realizar una cuantificación de la expresión de los genes que codifican para la producción de estas moléculas mediante PCR en tiempo real cuantitativa, para así poder explicar desde este punto de vista la reacción inflamatoria.

CAPÍTULO 7: BIBLIOGRAFÍA

1. Abbas A, Lichtman A. 2004. Inmunología celular y molecular. Quinta edición. Editorial Elsevier. Madrid, España.
2. Abraham Consuelo. 2006. Moléculas de adhesión. Importancia en la respuesta inmune e inflamatoria [en línea]. (Cuba), Enero 2009 – [ref. de 22 de febrero de 2006]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol22_2_06/hih03206.html
3. Agencia de Protección Ambiental del EE. UU. Monóxido de Carbono (CO). 2010 [en línea] Aérea Interior de Calidad. Disponible en: http://www.epa.gov/iaq/co_sp.html
4. Auchincloss A, Diez Roux A, Dvorchak T, Brown P, Barr G, Daviglius M, et. al. Associations between Recent Exposure to Ambient Fine Particulate Matter and Blood Pressure in the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). Environmental Health Perspectives. Abril 2008. Volumen 116. Número 4: 486-491.
5. Brook R, Franklin B, Cascio W, Hong Y, Howard G, Lipsett M, et. al. Air Pollution and Cardiovascular Disease. A Statement for Healthcare Professionals from the Expert Panel on Population and Prevention Science of the American Heart Association. 2004.

6. CONSEJO NACIONAL DEL AMBIENTE. Los contaminantes del aire: material particulado [en línea]. Lima – Perú, Octubre 2008 - [ref. de 28 de mayo de 2008]. Disponible en: <http://www.conam.gob.pe/aire/abc/particulado.htm>

7. CORPORACIÓN MUNICIPAL PARA EL MEJORAMIENTO DEL AIRE DE QUITO. Metales traza en MP10 [en línea]. Quito, 2009. Disponible en: <http://sites.google.com/site/redesmanualesypasivas/metales-traza-en-pm10>

8. CORPORACIÓN MUNICIPAL PARA EL MEJORAMIENTO DEL AIRE DE QUITO. Informe Calidad del Aire 2009 [en línea]. Quito, 2010a. Disponible en: [http://remmaq.corpaire.org/paginas/articulos/Informe calidad del aire 2009.zip](http://remmaq.corpaire.org/paginas/articulos/Informe%20calidad%20del%20aire%202009.zip)

9. CORPORACIÓN MUNICIPAL PARA EL MEJORAMIENTO DEL AIRE DE QUITO. Los contaminantes comunes del aire y sus efectos en la salud humana [en línea]. Quito, 2010b. Disponible en: <http://remmaq.corpaire.org/paginas/articulos/efectos.pdf>

10. CORPORACIÓN MUNICIPAL PARA EL MEJORAMIENTO DEL AIRE DE QUITO. Caracterización física y química del material particulado PM10 [en línea]. Quito, 2011. Disponible en: <http://sites.google.com/site/redesmanualesypasivas/caracterizacion-quimica-y-fisica-de-material-particulado-pm10>

11. Cuclis, A. Particulate Matter: What floats in the air? [en línea] Houston Advanced Research Center, 2006. Disponible en: www.ruf.rice.edu/~eesi/scs/Cuclis.ppt
12. Delfino R, Sioutas C, Malik. Potential Role of Ultrafine Particles in Associations between Airborne Particle Mass and Cardiovascular Health. 2005. Volumen 113. Número 8.
13. Delfino R, Staimer N, Tjoa T, Polidori A, Arhami M, Guillen D, *et. al.* Circulating Biomarkers of Inflammation, Antioxidant Activity, and Platelet Activation Are Associated with Primary Combustion Aerosols in Subjects with Coronary Artery Disease. *Environmental Health Perspectives*. Julio 2008. Volumen 116. Número 7: 898-906.
14. Diario La Hora. (Quito-Ecuador). 2008. Contaminación y tráfico están presentes en Quito [en línea]. Septiembre 2008 - [ref. de 30 de septiembre de 2008]. Disponible en: www.lahora.com.ec/frontEnd/main.php?idSeccion=775037
15. European Bioinformatics Institute. EBI. 2011. Interleukin 6 (interferon, beta 2) [*Homo sapiens*]. Gene and Protein Summary [en línea], Disponible en: <http://www.ebi.ac.uk/s4/summary/molecular/gene?ref=2il6&term=il6&classification=9606&tid=nameOrgENSMUSG00000025746>
16. European Bioinformatics Institute/ UniProtKB/Swiss-Prot. 2011. IL6_HUMAN. Entrada P05231. Base de Datos [en línea], Disponible en: <http://www.expasy.ch/cgi-bin/get-sprot-entry?P05231>

17. European Bioinformatics Institute. EBI. 2011. Intercellular adhesion molecule 1 [*Homo sapiens*]. Gene and Protein Summary [en línea], Disponible en: <http://www.ebi.ac.uk/s4/summary/molecular?term=ICAM-1&classification=9606&tid=synENSMUSG00000037405>

18. European Bioinformatics Institute/ UniProtKB/Swiss-Prot. 2011. ICAM1_HUMAN. Entrada P05362. Base de Datos [en línea], Disponible en: <http://www.uniprot.org/uniprot/P05362>

19. European Bioinformatics Institute. EBI. 2011. Vascular cell adhesion molecule 1 [*Homo sapiens*]. Gene and Protein Summary [en línea], Disponible en: <http://www.ebi.ac.uk/s4/summary/molecular?term=vcam-1&classification=9606&tid=synENSMUSG00000027962>

20. European Bioinformatics Institute/ UniProtKB/Swiss-Prot. 2011. VCAM1_HUMAN. Entrada P19320. Base de Datos [en línea], Disponible en: <http://www.uniprot.org/uniprot/P19320>

21. European Bioinformatics Institute. EBI. 2011. Selectin E [*Homo sapiens*]. Gene and Protein Summary [en línea], Disponible en: <http://www.ebi.ac.uk/s4/summary/molecular/gene?ref=1g1t&term=e-selectin&classification=9606&tid=protOrthLYAM2HUMAN>

22. European Bioinformatics Institute/ UniProtKB/Swiss-Prot. 2011. LYAM2_HUMAN. Entrada P16581. Base de Datos [en línea], Disponible en: <http://www.uniprot.org/uniprot/P16581>
23. Frampton M. Systemic and Cardiovascular Effects of Airway injury and Inflammation: Ultrafine Particle Exposure in Humans. 2001. Volumen 109. Suplemento 4.
24. Hansson G. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. Abril 2005. The New England Journal of Medicine 352:1685-1695.
25. Lanki T, Haríog J, Heinrich J, Hoek G, Janssen N, Peíers A, et. al. Can We Identify Sources of Fine Particles Responstble for Exercise-Induced Ischemia on Days with Elevated Air Pollution? The ULTRA Study. 2006. Volumen 114. Número 5.
26. MedlinePlus. Ozono [en línea] Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU. 2010. Disponible en: <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ozone.html>
27. Minguillón, M. Composición y fuentes de material particulado atmosférico en la zona cerámica de Castellón. Impacto de la introducción de las mejores técnicas disponibles [en línea] España. Dialnet. 2007. Disponible en: <http://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=6881>

28. Ministerio del Ambiente. Diagnóstico Preliminar – Gestión de la Calidad del Aire. Libro VI - Anexo 4. Ecuador: Ministerio del Ambiente. 2003.
29. Ministry of the Environment Ontario. Fine Particulate Matter [en línea] Ontario, Canadá. 2006. Disponible en:
<http://www.airqualityontario.com/science/pollutants/particulates.cfm>
30. National Center for Biotechnology Information. NCBI. 2011. IL6 interleukin 6 (interferon, beta 2) [*Homo sapiens*]. Entrada 3569 Base de Datos [en línea], Disponible en:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene&cmd=retrieve&dopt=default&rn=1&list_uids=3569
31. National Center for Biotechnology Information. NCBI. 2011. ICAM1 intercellular adhesion molecule 1 [*Homo sapiens*]. Entrada 3383 Base de Datos [en línea], Disponible en:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene&cmd=Retrieve&dopt=full_report&list_uids=3383
32. National Center for Biotechnology Information. NCBI. 2011. VCAM1 vascular cell adhesion molecule 1 [*Homo sapiens*]. Entrada 7412 Base de Datos [en línea], Disponible en:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene&cmd=retrieve&dopt=default&rn=1&list_uids=7412

33. National Center for Biotechnology Information. NCBI. 2011. SELE selectin E [*Homo sapiens*]. Entrada 6401 Base de Datos [en línea], Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=gene&cmd=retrieve&dopt=defult&rn=1&list_uids=6401
34. Peretz A, Sullivan J, Leotta D, Trenga C, Sands F, Allen J, et. al. Diesel Exhaust Inhalation Elicits Acute Vasoconstriction in Vivo. Environmental Health Perspectives. Julio 2008. Volume 116. Número 7: 937-942.
35. Real Academia Española. Diccionario de la Lengua Española [en línea]. Vigésima segunda edición. España. 2005. Disponible en: <http://www.rae.es/rae.html>
36. Red Metropolitana de Monitoreo Atmosférico [en línea]. CORPORACIÓN MUNICIPAL PARA EL MEJORAMIENTO DEL AIRE DE QUITO (Quito-Ecuador), Septiembre 2008 - [ref. de 3 de octubre de 2008]. Disponible en: http://www.corpaire.org/siteCorpaire_v1.64/indexx.jsp
37. Riediker M, Cascio WE, Griggs TR, Herbst MC, Bromberg PA, Neas L, et. al. Particulate matter exposure in cars is associated with cardiovascular effects in healthy young men. 2004.
38. R&D Systems. Tools for Cell Biology Research. Quantikine Human IL-6. 2008. Número de catálogo D6050 – S6050 – PD 6050.

39. R&D Systems. Tools for Cell Biology Research. Quantikine Human sICAM-1/CD54. 2009. Número de catálogo DCD540 – SCD540 – PDCD540.
40. R&D Systems. Tools for Cell Biology Research. Quantikine Human sVCAM-1. 2009. Número de catálogo DVC00 – SVC00 – PDVC00.
41. R&D Systems. Tools for Cell Biology Research. Quantikine Human sE-Selectin/CD62E. 2008. Número de catálogo DSLE00.
42. Totlandsdal A, Refsnes M, Skomedal T, Osnes J-B, Schwarse P, Låg M. Particle-Induced Cytokine Responses in Cardiac Cell Cultures—the Effect of Particles versus Soluble Mediators Released by Particle-Exposed Lung Cells. 2008. *Toxicological Sciences* 106(1): 233–241
43. Totlandsdal A, Skomedal T, Låg M, Osnes J-B, Refsnes M. Pro-inflammatory potential of ultrafine particles in mono- and co-cultures of primary cardiac cells. 2008. *Toxicology* 247: 23-32.
44. Wikipedia La enciclopedia libre. Contaminación atmosférica. 2011 [en línea]. Disponible en:
http://es.wikipedia.org/wiki/Contaminaci%C3%B3n_atmosf%C3%A9rica