

# Contribuciones del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias en investigación neumológica

## I. Introducción

HORACIO RUBIO MONTEVERDE\*

La investigación científica se genera en el territorio de la búsqueda. El hombre de ciencia es el eterno productor de interrogantes; ejercen su sabiduría en el ámbito del descubrimiento siempre irrepitible.

Durante la primera mitad de este siglo los problemas derivados fundamentalmente de la tuberculosis nutrieron la preocupación y ocuparon a nuestros colegas; por ello la fisiología era la especialidad que los agrupaba.

El período de la postguerra marca un nuevo interés en el conocimiento médico: la necesidad de investigar más a fondo en torno a la fisiología respiratoria.

Este avance en el conocimiento fisiológico aunado al perfeccionamiento de los sistemas de control de la tuberculosis, abren un amplio panorama para el especialista de pulmón, quien, con una nueva visión, incrementa sus estudios sobre las múltiples enfermedades de este órgano y se reconoce asimismo como neumotisiólogo.

La presencia de nuevas tecnologías en el diagnóstico y en el tratamiento de los enfermos, el análisis riguroso de las nuevas propuestas de reconocimiento de la problemática respiratoria, la evaluación rigurosa y permanente de un trabajo científico, que toma la riqueza de la interdisciplina como eje de su nuevo horizonte, cristalizan en la presencia del neumólogo que hoy determina los nuevos cauces de nuestra disciplina.

Para hacer un recuento de las contribuciones del INER a la investigación neumológica, es necesario retomar del tintero aún fresco, la historia que comienza hace más de 50 años, cuando se inaugura nuestro antiguo Hospital de Huipulco en 1936.

\* Coordinador del Simposio.

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Calz. de Tlalpan 4502, Deleg. Tlalpan 14080.

La búsqueda de los científicos de entonces, sus sueños y utopías son los cimientos sobre los que construimos nuestra búsqueda.

El trabajo de nuestros queridos profesores Donato Alarcón, Ismael Cosío Villegas, Alejandro Celis, Miguel Jiménez, Fernando Rébora Gutiérrez, Horacio Rubio Palacios entre otros, se desenvuelve en momentos poco favorables. Los residuos de una guerra, la enfermedad, la pobreza eran barreras duras de romper.

En estas circunstancias, ellos inician la escuela neumológica mexicana, ponen todo su empeño para ofrecer la mejor atención a la tuberculosis en su faceta más crítica.

Con sentido humanístico, una clara conciencia del papel social de la medicina y enorme interés en torno a las manifestaciones de la cultura y de la ciencia universal y nacional, dejan los cimientos para construir nuestra historia. La espléndida obra "Del Sanatorio de Huipulco al Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (50 años)", escrito por el doctor Enrique Cárdenas de la Peña, publicado en 1986, da testimonio de muchos de estos momentos.

El Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) se crea por decreto presidencial en diciembre de 1981 como organismo descentralizado con personalidad jurídica y patrimonio propios. Este nuevo concepto de descentralización coloca al INER ante el desafío de ofrecer asistencia médica de calidad, incrementar la formación de recursos humanos y desarrollar investigación de alto nivel aplicada a nuestro campo.

Cerca de 300 trabajos producidos en estos años, muchos de ellos publicados en revistas extranjeras, o bien presentados en diversos foros internacionales, son muestra de este desarrollo.

Las ponencias que a continuación presentarán en esta mesa el doctor Guillermo Carvajal sobre infecciones respiratorias y diabetes, el doctor José Pérez Neria sobre contaminación, tabaquismo y función respiratoria, el doctor Moisés Selman sobre enfermedades fibrosantes del pulmón y el doctor Jaime Villalba sobre trasplante pulmonar -a quienes agradezco su participación en este simposio- constituyen algunos de los programas de investigación que actualmente se realizan en el INER. Sus trabajos revisten gran importancia, no solamente por la dedicación y la profundidad que muestran en torno a la materia de los mismos, sino por la trascendencia de los resultados que han obtenido ponen al instituto entre los países en vías de desarrollo a la vanguardia en la investigación respiratoria.

## II. Infecciones respiratorias y diabetes

### GUILLERMO CARVAJAL SANDOVAL\*

La diabetes mellitus en sus dos formas principales (Tipos I y II) tiene, como una de sus variadas características, la de predisponer a las infecciones bacterianas, virales y micóticas.<sup>1</sup>

Siendo la diabetes una forma de envejecimiento acelerado que conduce a un aumento de las infecciones respiratorias, es muy sugerente que la facilitación a las infecciones sea consecuencia de la disminución de los mecanismos naturales de defensa.

Los estudios recientes de la fisiopatología de la diabetes indican que la hiperglicemia da lugar a la glicosilación de las proteínas.

Entre las proteínas que se glicosilan en forma no-enzimática consecuente a la hiperglicemia, están las inmunoglobulinas G y M (IgG e IgM),<sup>2</sup> lo que modifica su capacidad de reconocimiento molecular y su eficiencia como anticuerpos. Así, también se glicosilan las células que median la respuesta inmune celular: los macrófagos, los linfocitos y los neutrófilos polimorfonucleares,<sup>3</sup> lo que también modifica su función protectora en la defensa contra las infecciones.

Considerando lo anterior y dado que hemos estado estudiando la inhibición de la glicosilación en la diabetes con el amoníaco glicina, en el laboratorio desde hace nueve años en el INER hemos iniciado los estudios condu-

centes a demostrar el efecto de la glicina en la restauración de la inmunidad en el estado diabético, con el deseo de mejorar la capacidad de los enfermos para responder a la acción de los medicamentos antimicrobianos. Estos últimos estudios se han hecho con la colaboración de los doctores Pedro Zamudio, Gregorio de la Rosa y David García.

Brownlee y Cerami dicen: "aunque la deficiencia de insulina se puede aliviar por dieta, inyección de insulina o agentes hipoglucemiantes, el tratamiento estándar no ha impedido el desarrollo de las complicaciones crónicas que afectan a los ojos, a los riñones, a los nervios y a las arterias".<sup>4</sup>

Lo anterior, y el hecho de que la glicosilación no-enzimática de las proteínas puede explicar la mayoría de las complicaciones crónicas de la diabetes, así como nuestros resultados preliminares, evitando experimentalmente algunos de los daños crónicos, hacen especialmente sugerente que es posible la prevención y tal vez aún la regresión de algunos daños ya producidos que no sean anatómicamente irreversibles.<sup>5</sup>

Esquemáticamente, la Figura 1 presenta la reacción de glicosilación de las proteínas.

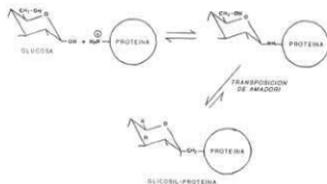


Fig. 1. Esquema de la glicosilación no-enzimática de las proteínas

En una revisión reciente se enlistan más de veinte proteínas glicosiladas en la forma indicada así como la función que tienen y que se altera como consecuencia de la glicosilación.<sup>6</sup>

La hemoglobina se glicosila dependiendo de la concentración de la glucosa circulante y los valores de la hemoglobina (Hb) glicosilada son el mejor indicador de la glicosilación de otras proteínas ya que la Hb tiene una vida media de 60 días, siendo intermedia entre proteínas como

\* Subdirección de Investigación, Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

la de suero albúmina de vida más corta y las de vida más larga como la colágena.<sup>7,8</sup>

Se considera que la determinación de las concentraciones de Hb glicosilada es uno de los logros en la década de 1980 que permiten conocer el grado de control de la glicemia a largo plazo.<sup>9</sup>

En nuestro laboratorio hemos podido establecer que la administración continua de glicina en el agua que beben ratas diabéticas, previene la glicosilación de la Hb, manteniéndolas con cifras normales de Hb glicosilada, aunque la hiperglicemia persista. En cambio, las personas diabéticas (Tipo I y II) tratadas cuatro veces al día con el aminoácido, bajan las cifras de Hb glicosilada, incluso a valores normales, siguiendo con su tratamiento habitual (hipoglucemiantes orales o insulina, para los tipos I y II respectivamente). En el tipo I sólo se observa una clara disminución de Hb glicosilada llegando en algunos casos a cifras normales.

Es interesante mencionar que en las de ratas diabéticas con estreptozotocina el tratamiento con glicina previene la neuropatía, trastorno que se puede juzgar por la disminución en la velocidad de conducción del nervio ciático.<sup>10</sup>

También hemos observado que las ratas mantenidas diabéticas con estreptozotocina durante más de cuatro meses y sin tratamiento alguno, presentan leucocoria. Esta lesión ocular, al ser estudiada histopatológicamente, demostró desorganización de las fibras del cristalino con abundantes glóbulos morgagnianos en casi toda su extensión. El diagnóstico oftalmopatológico es catarata. El hecho sorprendente fue que las cinco ratas diabéticas testigo presentaron cataratas y sólo una de cinco diabéticas que tomaron glicina presentó esta lesión.<sup>11</sup>

Es un hecho conocido que cuando los enfermos diabéticos padecen infecciones, éstas son más severas. Aunque se discute si hay mayor predisposición a las infecciones, es un hecho que son más difíciles de tratar.

En un grupo de diabéticos que se mantuvieron euglicémicos durante cinco días con un páncreas artificial externo, condujo a la normalización rápida de la respuesta de los linfocitos a un mitógeno y a los valores de marcadores membranales de individuos diabéticos previamente mal controlados.<sup>12</sup> Este hecho, así como la ya mencionada glicosilación de las inmunoglobulinas y su consecuente disminución en su capacidad como anticuerpos,<sup>2</sup> nos sugirió el que posiblemente la glicosilación de los anticuerpos y la de las membranas de las células que median la respuesta inmune celular, podrían explicar la menor respuesta defensiva de los diabéticos a las infecciones microbianas.

Planeamos producir un absceso cutáneo en ratas nor-

males, diabéticas y diabéticas tratadas con glicina. En tubos estos animales tratados con *Staphylococcus aureus* cuatro semanas después de producida la diabetes de tipo I con estreptozotocina, se determinó la inmunidad.

La humoral se estudió midiendo las concentraciones de inmunoglobulinas séricas, encontrándose concentraciones menores para las ratas diabéticas y más elevadas para las que tomaron glicina. Si bien los valores son más altos, no se alcanzan las cifras normales, quizás porque faltó más tiempo para restaurar las cifras normales debido al tiempo de recambio de estas proteínas.

Los resultados al determinar la inmunidad mediada por células fueron similares.

La cuenta diferencial de leucocitos indicó una marcada disminución de linfocitos y neutrófilos polimorfonucleares en el grupo de ratas diabéticas y un aumento significativo en el grupo de diabéticas que tomaron glicina, aunque los valores fueron algo menores que los de las ratas testigo normales.

La determinación de linfocitos T (mediante la técnica de las rosetas directas) produjo un 60 por ciento de rosetas para los animales normales y un 52 por ciento para las ratas diabéticas; en cambio las diabéticas que tomaron glicina, mostraron un valor de 58 por ciento.

Por último, el estudio de la estimulación de los leucocitos con mitógenos como el interferón gamma, demostró un claro aumento en la incorporación de timidina tritiada en las ratas diabéticas que tomaron glicina en comparación con las diabéticas testigo, aunque también la incorporación de la timidina tritiada fue algo menor que la observada en las ratas normales infectadas con el estafilococo. Resultados similares se obtuvieron con otros mitógenos como la fitohemaglutinina y la concanavalina.<sup>13</sup>

Estos resultados nos indican que es posible mejorar la inmunidad de los diabéticos con la administración de glicina. Esto nos sugirió el estudio que estamos iniciando en nuestro Instituto y que consiste en ver el efecto de la glicina en enfermos tuberculosos sometidos al tratamiento antimicrobiano quimioterapéutico usual.

Como se sabe, los diabéticos tuberculosos responden mal al tratamiento antimicrobiano; esto se puede deber a la disminución de la respuesta inmune en los enfermos como consecuencia de la diabetes subyacente.

De los pacientes tuberculosos que asisten al INER en un año, 13 por ciento son diabéticos y constituyen un problema por la pobre respuesta al tratamiento antimicrobiano. Estamos iniciando un protocolo en el que con la glicina esperamos que estos enfermos mejoren la respuesta a los medicamentos antimicrobianos. Más adelante informaremos a esta Academia de los resultados.

## Referencias

1. Foster DW. Diabetes mellitus. En: Wilson JD, Braunwald E, Isselbacher K y col. Harrison's Principles of Internal Medicine 12<sup>a</sup> ed New York Mc Graw-Hill inc., 1991:1756
2. Kaneshige H. Nonglycosylation of Serum IgG and its effect on Antibody Activity in Patients with Diabetes mellitus. *Diabetes* 1987;36:822-828
3. Bagdade JD, Stewart M and Walters E. Impaired Granulocyte Adherence a Reversible Defect in Host Defense in Patients with Poorly Controlled Diabetes. *Diabetes* 1978;27:677-681
4. Salam JI, Clot J, Andary M y col. Circulating Lymphocyte Subpopulations in Juvenile Insulin-dependent Diabetes; correlation of abnormalities by adequate blood glucose control. *Diabetologia* 1979;16:35-40
5. Brownlee M, Cerami A. The biochemistry of the complication of Diabetes mellitus. *Ann Rev Biochem* 1981;50:385-432
6. Carvajal G, Carvajal EJ, Ramos G y col. La prevención y posible regresión de los daños crónicos de la Diabetes mellitus, por inhibición de la glicosilación de las proteínas. XV Congreso Nacional Sociedad Mexicana Bioquímica AC. Morelia, Mich. 1984;1A-11:15
7. Carvajal G. La prevención y posible regresión de los daños crónicos de la Diabetes mellitus por inhibición de la glicosilación de las proteínas. SEP/COSNET Memoria de la Primera Reunión Nacional de Evaluación de Proyectos de Investigación y de Autoequipamiento. Instituto Tecnológico de Morelia, Mich., 27-30 Nov 1984.
8. Carvajal G. Inhibición de la Glicosilación de las proteínas en la Diabetes mellitus, 9-11 Dic. 1985. SEP/COSNET Programa Auditorial Académica y Seguimiento de Proyectos de Investigación. Grupo 2 Investigación orientada a los programas Sectoriales de Política Social. Mesa 7. Salud. Resumen No.3 183-184 Roque, Gto.
9. Carvajal G. Prevención de los daños crónicos. Symposium: Progresos en el conocimiento y tratamiento de la Diabetes mellitus. Academia Nacional de Medicina, 14 Nov 1984
10. Monnier VM, Cerami A. Nonglycosylation and Browning of Proteins In Vivo. En: Waller Gr y Feather Ms, ed The Maillard Reaction in Food and Nutrition, ACS Symposium Series 215. Washington DC: American Chemical Society 1983;431-449
11. McDonald JM, Bleichman M, Bunn Fh y col. Functional Properties of the Glycosylated Minor Components of Human Adult Hemoglobin. *J Biol Chem* 1979;254:702-707
12. McDonald JM, Shapiro R, Bleichman M y col Glycosylated Minor Components of Human Adult Hemoglobin. *J Biol Chem* 1978;253:2327-2332
13. Kennedy L, Lynos TJ. Non-enzymatic glycosylation. *Brit Med Bull* 1989;45:174-190
14. Velasco DE, De la Cruz LF, Chambert CG y col. Efecto protector de la glicina sobre la velocidad de conducción del nervio ciático de ratas diabéticas. Congreso Nacional de Ciencias Fisiológicas 11-16 agosto, 1985 Puebla, Pue. Trabajo No. 230.

15. Chevez MP; 1989: Comunicación personal

16. Martínez Rossier L; 1991. Comunicación personal

## III. Grupo de trasplante pulmonar

### JAIME VILLALBA CALOCA\*

El primer trasplante pulmonar clínico se practicó en junio de 1963 en la Universidad de Mississippi,<sup>1</sup> en una persona con cáncer pulmonar. Dieciocho días después falleció de insuficiencia renal. La autopsia demostró la evidencia de rechazo y una pequeña dehiscencia de la anastomosis bronquial.

Después de este primer trasplante hasta 1969 se practicarón 23.<sup>2</sup> Todos ellos fallecieron a los pocos días, excepto uno, practicado en Bélgica, que sobrevivió diez meses.<sup>3</sup>

Esta serie de intentos sin éxito provocó que se dejaran de hacer durante varios años, pero a la vez originó el incremento de la investigación para estudiar los problemas propios del trasplante. Así la información adquirida en los laboratorios de cirugía experimental y el descubrimiento de la ciclosporina-A en 1970 y su uso clínico en 1981,<sup>4</sup> indujeron a los interesados a reiniciar este tipo de medida terapéutica. A partir de 1983 ya se reportaron buenos resultados en trasplante pulmonar clínico.

En el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias se formuló el Programa de Trasplante Pulmonar en 1985 con el propósito de contar con esta alternativa para el manejo de pacientes con fibrosis pulmonar idiopática que cursan con insuficiencia respiratoria progresiva e irreversible.

El programa se dividió en dos fases:

- Trasplante pulmonar experimental
- Trasplante pulmonar clínico

La fase de trasplante pulmonar experimental implicó entrenamiento quirúrgico en animales de experimentación,<sup>5</sup> aprendizaje de las diferentes modalidades de rechazo con y sin inmunosupresores,<sup>6</sup> evaluación de las pruebas de laboratorio y gabinete en el diagnóstico de rechazo para precisar que sean específicas, sensibles y oportunas,<sup>7</sup> mejorar el manejo de complicaciones ya sean mecánicas, infecciosas o, del propio rechazo y establecer los esquemas de tratamiento más apropiados.<sup>8</sup>

La fase de trasplante pulmonar clínico se inició el 24 de enero de 1989.

\* Grupo de trasplante pulmonar del INER.

**Donador:** Individuo de 27 años de edad, con certificación de muerte cerebral, compatibilidad de grupo y similitud en el tamaño del tórax con el receptor, libre de infección y sin cortos circuitos funcionales.

**Receptor:** Paciente de 33 años con diagnóstico de fibrosis pulmonar idiopática, sin mejoría con el tratamiento de prednisona y penicilamida y con oxemia de 40mm Hg.

El caso fue estudiado por el comité de trasplante pulmonar y por el comité de ética y previa autorización del enfermo, fue aceptado para trasplante pulmonar.

### Técnica quirúrgica.

La anastomosis auricular es la primera en practicarse con sutura continua, evaginante de polipropilene 3-0. La anastomosis de la arteria pulmonar con polipropilene 5-0 con sutura continua y la anastomosis bronquial con poligactina 4-0 con puntos separados. Al último, la anastomosis bronquial se "envuelve" con epiplón previamente introducido al hemitórax izquierdo por el espacio retro-xifoideo.<sup>9</sup>

### Complicaciones

Con base en el cuadro clínico y en los datos radiográficos, se hizo el diagnóstico de rechazo en la primera semana de post-operatorio (Fig. 1); cedió con bolos de metilprednisolona de 1000 mgs c/24 horas por tres días consecutivos. En marzo, al practicar fibrobroncoscopia de control, se observó disminución de la luz a nivel de la anastomosis bronquial, que se resolvió con una férula endobronquial de silastic (Fig.2).



Fig. 2. Tomografía lineal de tórax que muestra la férula endotraqueal

**Resultado.**<sup>10</sup> La centelleografía perfusoria de febrero 1989 mostró 87.08 por ciento para el pulmón transplantado y 12.91 por ciento para el nativo. (Fig. 3); en abril de 1991, 89 por ciento para el pulmón transplantado y 11 por ciento para el nativo (Fig. 4).

El 10 de enero de 1989, un mes y medio antes del trasplante, la capacidad vital forzada (CVF) era de 1.010 y la velocidad de flujo esperatorio al 1º segundo (VEF<sub>1</sub>) de 0.790. Treinta meses después de CVF es de 3.29 y la VEF<sub>1</sub> de 2.22.

Las pruebas de esfuerzo iniciaron con un consumo máximo de oxígeno del miocardio (VMO<sub>2</sub>) de 182.00 mL 02/mil/kg hasta 354.20 ml 02/mil/kg (Cuadro I), lo que demuestra que el miocardio es capaz de consumir más oxígeno, y por tanto, de tolerar más ejercicio.



Fig. 1. Radiografía PA de tórax pos-operatoria

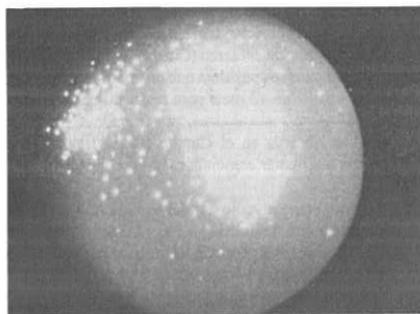


Fig. 3. Centelleografía perfusoria en febrero de 1989

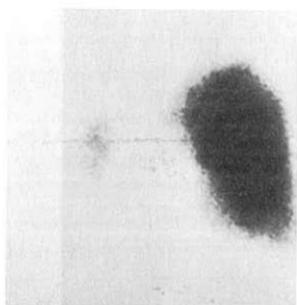
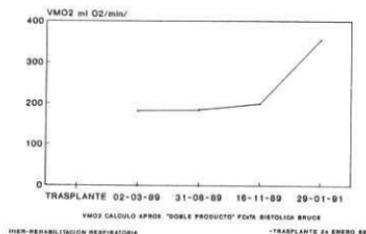


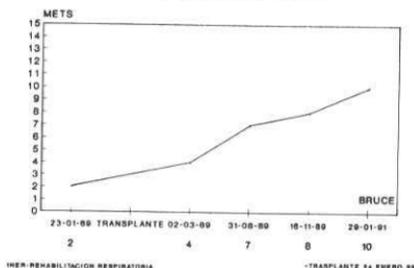
Fig. 4. Centelleografía perfusoria en abril de 1991

**Cuadro I. PRUEBA DE ESFUERZO**

**PROGRAMA DE RECONDICIONAMIENTO  
TRANSPLANTE PULMONAR**

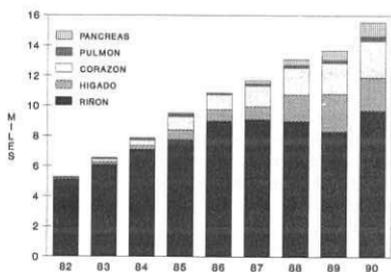


**Cuadro II. CUANTIFICACIÓN DE METS ANTES DEL TRANSPLANTE PULMONAR  
PROGRAMA DE RECONDICIONAMIENTO  
TRANSPLANTE PULMONAR**



**Cuadro III. TRANSPLANTE PULMONAR**

**TRANSPLANTE PULMONAR**



Antes del trasplante el paciente difícilmente toleraba dos mets, en contraposición con las diez mets que registró en la última prueba de esfuerzo (Cuadro II); este resultado es importante pues se considera que un hombre sano de 33 años tolera arriba de 12 mets para realizar una vida normal.

Como se observa en el Cuadro III los trasplantes pulmonares son numéricamente los menos; las causas son dos:

- La membrana alveolo-capilar es muy delicada y se deteriora con facilidad.
- El pulmón es el órgano conectado directamente a una máquina, por medio del tubo endotraqueal, hecho que favorece la presentación de infecciones en el árbol bronquial.

**Comentario**

El presente trasplante pulmonar clínico, primero en México y en América Latina, que se llevó a cabo en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias, es un éxito como se documenta en la correlación pre y postoperatoria de los datos espirométricos, gamagráficos y de acondicionamiento físico.

Además, la sobrevida de treinta meses (24-I-89 al 24-VIII-91) y la reintegración a la vida familiar y a su comunidad, sin ser un inválido respiratorio, es un logro significativo de la neumología mexicana.

**Grupo de Trasplante Pulmonar del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias**

Cirugía: doctores Jaime Villalba Caloca, Patricio Santillán Doherty, José Morales Gómez, Rogelio Jasso Victoria y José Luis Téllez Becerra.

Anestesia: doctores Gerardo Mac-Kinney Valencia, Ma. de los Angeles Corona Hernández y Patricia Ledezma.

Terapia I: doctores Octavio Narváez Porras, Miguel Angel Salazar Lezama y Juan O Galindo Galindo.

Rehabilitación respiratoria: doctores Ma. Eugenia Domínguez Flores, Carmen Gutiérrez de Velasco, Víctor Nogueraola Carrasco, Hugo Tello Fuentes, y Tec. Pedro Capellán.

Neumología clínica: doctores Rocío Chapela Mendoza, Rogelio Pérez Padilla, Jorge Salas Hernández, Guillermo Castillo, Mariano Sánchez y Moisés Selman.

Inmunología: doctor Luis Angel Terán Ortíz.

Infectología: doctor Eduardo Sada Díaz.

Medicina nuclear: doctores Miguel Papadakis Solís y Teodoro Celso Montes Reyes.

Radiología: doctor Ernesto Fernando Martín Biassoti

Psiquiatría: doctores Mario Torres Galindo, Edmundo Hernández, Jorge Cabrera Echeverri y Psic. Mónica Méndez.

Enfermería: enfermeras Irma Gonzaga Ramírez, Gloria Romero Salinas y Raquel Castro Pérez

Laboratorio: Q.F.B. Avelina Sotres

Director General del INER. doctor Horacio Rubio Monteverde.

## Referencias

- Hardy JD, Webb, Dalton ML Jr, Walker Gr Jr. Lung homotransplantation in man. *JAMA* 1963;186:1065-1074
- Wildevmer CR, Benfield Jr. A review of 23 human lung transplants by 20 surgeons. *And Thorac Surg.* 1970;9:489-515
- Derom F, Barbier F, Rengoir S y cols. Ten month survival after lung homotransplantation in man. *J thorac Cardiovas Surg* 1971;61:835-846
- Borel JE, Wiesinger D(1977) Effects of cyclosporin-A on murine lymphoid cells. In: Lucas Do, ed. regulatory mechanism in lymphocyte activation. New York Academic Press; 716.
- Villalba J, Jasso R, Morales J, Téllez JL, Martín FM, Santillán P. Autotrasplante de pulmón con anastomosis término-terminal auricular. *Rev Inst Enf Resp (Méx)* 1988;1:7-13
- Santillán - Doherty P, Oder-Morales A, Jasso-Vicoria R, y cols. Urinary thromboxane-B as an indicator of acute rejection in lung allo-transplantation. *Trasplantation* 1988;45:852-856.
- Jasso R, Santillán P, Coe Luna J, Papadakis M, Ríos B, Villalba J. Gammagrafía Pulmonar perfusoria dinámica durante el rechazo agudo en alotrasplante de pulmón. *Rev Ins Nal Enf Resp (Méx)*. 1988;1:85-88.
- Diagnosis and management of lung Allograft Rejection. Vol 11/number 2, June 1990. *Clinics in Chest Medicine*.
- Surgical aspects of single lung transplantation Clinics in Chest Medicine: Pulmonary consideration in trasplantation. June 1990.
- Grossman RF, Frost A, Zamel N, y cols. Results of single-lung trasplantation for bilateral fibrosis pulmonary N Eng J Med 1990;322:727-733

## IV. Enfermedades fibrosantes del pulmón.

MOISES SELMAN\*

### Introducción

La fibrosis pulmonar difusa constituye el camino final común de una gran variedad de padecimientos respiratorios agrupados bajo el término de "Enfermedades pulmonares intersticiales difusas" (EPID).<sup>1</sup> En la actualidad se han identificado más de 130 EPID que pueden evolucionar hacia la fibrosis con la subsecuente destrucción de la arquitectura normal del parénquima pulmonar, lo que se traduce en la aparición de insuficiencia respiratoria progresiva, incapacitante y letal en un plazo de tiempo relativamente breve.<sup>2</sup>

### Patogénesis de la fibrosis pulmonar difusa

Independientemente de su etiología, las EPID progresan hacia la fibrosis a través de la siguiente secuencia de sucesos:

- Daño pulmonar inicial
- Alveolitis
- Proliferación de fibroblastos y colapso alveolar
- Acumulación progresiva e irreversible de colágenas intersticiales.

Esta última alteración es considerada como una de las piezas clave en la patogénesis de la fibrosis pulmonar difusa y en este contexto constituye el núcleo de la presente comunicación.

\*Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

#### a) Contenido de colágena y fibrosis pulmonar

A pesar de que el aumento de colágena es la marca bioquímica de la fibrosis en cualquier tejido, y de que las observaciones morfológicas en pulmones fibróticos siempre han sugerido que existe un incremento de estas moléculas y, con base en un solo reporte, durante muchos años se consideró, que este no era el caso en la fibrosis pulmonar difusa. Fulmer y col.<sup>3</sup> midieron la concentración de colágena en el pulmón de nueve pacientes con fibrosis pulmonar idiopática y los resultados se compararon con los de seis pulmones normales. Sorprendentemente no encontraron diferencias significativas y los autores propusieron que en la fibrosis pulmonar difusa no había aumento del contenido de colágena sino solamente cambios cualitativos que involucraban modificaciones en los diferentes tipos genéticos de la misma. Este concepto, aceptado por años con escaso juicio crítico, constituía una proposición asombrosa, pues asumía que la fibrosis pulmonar en su base más importante, esto es en el contenido de colágena, era diferente a la fibrosis de cualquier otro tejido.

Estimulados por esta controversia, decidimos cuantificar la concentración de colágena pulmonar en pacientes con fibrosis intersticial difusa de diferentes etiologías. En dos estudios secuenciales evaluamos, a través de la medición de hidroxiprolina, el contenido de colágena pulmonar en 22 pacientes y trece controles. Los resultados demostraron que esta proteína se encuentra significativamente elevada en los pulmones fibróticos.<sup>4,5</sup>

Kirk y cols reportaron más adelante un hallazgo similar.<sup>6</sup> Ellos encontraron además que el contenido de colágena aumenta progresivamente, ya que éste era mayor en los pulmones de sujetos estudiados post-mortem que en la biopsia realizada años antes del fallecimiento. Estos resultados concuerdan con los hallazgos en modelos experimentales de fibrosis pulmonar, donde la colágena se encuentra invariablemente elevada, y con las observaciones morfológicas en pulmones humanos. Ambos demuestran que la acumulación anormal de colágena es un mecanismo patológico fundamental durante el desarrollo de la fibrosis pulmonar.

#### b) Tipos genéticos de colágena y fibrosis pulmonar

Las colágenas están formadas por un grupo de proteínas codificado por una familia de genes, y comparten una estructura básica que permite clasificarlas pero presentan diferencias estructurales y funcionales.<sup>7</sup>

En la actualidad se conocen trece tipos genéticos diferentes de colágenas, de ellos al menos cinco se encuentran en el parénquima pulmonar.<sup>8</sup> Las colágenas tipo

I y tipo III son las más abundantes y forman parte de la matriz intersticial. La colágena tipo IV es uno de los componentes de las membranas basales del endotelio y del epitelio alveolar. La colágena tipo V se ubica pericelular e intersticialmente. En tiempos recientes se han descrito cantidades discretas de colágena tipo VI en la matriz intersticial normal.<sup>10</sup>

La interrogante que concierne a los posibles cambios en el contenido y distribución de los diferentes tipos genéticos de colágenas durante el desarrollo de la fibrosis pulmonar ha sido abordada mediante el uso de dos diferentes metodologías, cada una de ellas con ventajas y desventajas. El análisis inmunohistoquímico tiene la gran virtud de que permite observar la localización y distribución anatómica de los diferentes tipos de colágenas. Sin embargo, presenta tres limitaciones: 1) no es un método cuantitativo; 2) algunas proteínas pueden enmascarse debido a sus complejas interacciones con otras macromoléculas y en este contexto no se tiñen; 3) pueden existir diferencias en la especificidad y afinidad de los anticuerpos específicos utilizados para la reacción.

Las técnicas bioquímicas, basadas generalmente en la extracción de colágena a través de digestión con pepsina y en la separación de las cadenas alfa por cromatografía electroforesis en geles de SDS-poliacrilamida, permite mediciones cuantitativas, pero a su vez presenta dos problemas: 1) es muy difícil extraer de manera completa las colágenas del tejido pulmonar y además, algunos tipos genéticos de colágena se solubilizan más fácilmente que otros; 2) estos métodos no permiten analizar la ubicación topográfica de las colágenas en el parénquima pulmonar.

A pesar de estas limitaciones, diversos investigadores los han utilizado para estudiar posibles cambios en los diferentes tipos genéticos de colágena de la fibrosis pulmonar difusa.<sup>11-13</sup> Tomados en conjunto, todos ellos sugieren que durante la fibrogénesis pulmonar existe una redistribución dinámica de las colágenas intersticiales.

En un principio aumenta la colágena tipo III y después se acumula preferentemente la colágena tipo I y tal vez la tipo V. Asimismo, en un mismo pulmón se pueden encontrar diferencias en los tipos de colágenas que se depositan en uno u otro sitio. De manera característica, la colágena tipo III se acumula en las zonas donde las lesiones son más precoces, en cambio la colágena tipo I se observa fundamentalmente en los sitios de fibrosis avanzada.

Los mecanismos celulares y moleculares involucrados en este depósito diferencial de colágenas durante la progresión de la fibrosis pulmonar no se conocen con precisión, pero se ha postulado que puede ocurrir una de las dos situaciones siguientes: a) modificaciones en el

microambiente del parénquima pulmonar inducen cambios en un mismo fibroblasto de manera tal que, de producir sobre todo colágena tipo III, pasaría a sintetizar predominantemente colágena tipo I; b) en algún momento de la evolución de la fibrosis se estimulan la quimiotaxis y la proliferación de una subpoblación específica de fibroblastos que producen ante todo colágena tipo I. En cualquier caso, una de las consideraciones importantes en este aspecto es que el aumento de colágena tipo III ocurre en las etapas iniciales de la fibrogénesis y en este contexto, este hallazgo puede ser un marcador de buen pronóstico ya que hasta este punto la fibrosis podría ser reversible. En contraste, el incremento de la colágena tipo I ocurre en etapas más avanzadas y en general constituye un signo de mal pronóstico.

### c) Metabolismo de colágena y fibrosis pulmonar

En última instancia, la característica común de la fibrogénesis es el desequilibrio en la homeostasis de la colágena en forma tal que la síntesis excede a la degradación, lo que resulta en acumulación de esta familia de proteínas.

Estudios diversos, tanto en humanos como en animales experimentales, sugieren que aunque parezca ser un fenómeno transitorio existe un incremento en la producción de colágenas intersticiales. Así por ejemplo, dos investigaciones desarrolladas en fibrosis pulmonar idiopática humana<sup>3,5</sup> han demostrado que la síntesis de colágena estudiada en explantes tisulares, se puede encontrar dentro de límites normales. En ambos casos, los resultados pueden atribuirse a que la biosíntesis fue estudiada en etapas avanzadas de la enfermedad. Los trabajos de Kuhn y Selman apoyan esta línea de pensamiento.<sup>14,15</sup> Con el uso de anticuerpos específicos e inmunofluorescencia, Kuhn y cols.<sup>14</sup> reportaron que existe un número significativamente mayor de fibroblastos teñidos positivamente, esto es, produciendo colágenas en las etapas iniciales o intermedias del desarrollo de la fibrosis, en comparación con lo que ocurre en las etapas avanzadas. Por otro lado, Selman y cols.,<sup>15</sup> analizando el metabolismo de colágena en dieciocho pacientes con alveolitis alérgica extrínseca crónica, en ocho encontraron un aumento significativo de la síntesis, a pesar de lo cual varios de estos pacientes mejoraron o curaron. Asimismo, diversos estudios realizados en otros modelos experimentales,<sup>1</sup> demuestran un incremento inicial en la biosíntesis de colágena, la cual puede retornar a límites normales después de un tiempo variable. El aumento en la producción de moléculas de colágena se relaciona estrechamente con la fase fibroproliferativa de las enfermedades fibrosantes del pulmón; de hecho, la mayor parte

de los factores de crecimiento involucrados en la quimiotaxis y replicación de fibroblastos, situación previa al depósito anormal de colágenas intersticiales, se caracterizan por inducir el aumento de la síntesis de esta proteína.<sup>16,17</sup>

En contraste con la biosíntesis, que ha recibido gran atención, el papel que puedan desempeñar las alteraciones en la degradación de colágenas intersticiales en la patogénesis de la fibrosis ha sido muy poco estudiado. Esto resulta desafortunado si se considera que la actividad colagenolítica local es muy importante para regular el número de fibras de colágenas que se depositan en el espacio extracelular.

En una investigación inicial con pulmones de pacientes con fibrosis idiopáticas encontramos que en todos los casos existía una disminución significativa en la degradación de colágena endógena.<sup>5</sup> Sin embargo, como la mayoría de los pulmones analizados presentaban datos morfológicos de fibrosis avanzada, este estudio no permitía discernir en qué momento de la evolución del padecimiento había comenzado la disminución de la colagenólisis ni cuan relevante era para el desarrollo de la fibrosis. Buscando más respuesta se decidió abordar el problema mediante el análisis del metabolismo de colágenas en pacientes con alveolitis alérgica extrínseca, un padecimiento pulmonar inflamatorio que puede curar o bien evolucionar progresivamente hacia la fibrosis intersticial difusa.<sup>18</sup> Se examinó la actividad colagenolítica en fragmentos pulmonares de siete sujetos control dieciocho pacientes con alveolitis alérgica extrínseca antes de iniciar la terapia;<sup>15</sup> el tratamiento ulterior se llevó a la manera convencional con prednisona y el seguimiento fue por un período de dos a tres años. Al cabo de ese tiempo, cuatro pacientes cumplían con los criterios de curación, ocho habían mejorado clínica, radiológica y funcionalmente y seis enfermos habían empeorado. La relación entre la capacidad de degradación pulmonar de colágena y la evolución posterior del padecimiento fue altamente significativa. Así, los enfermos que curaron mostraban un notable incremento en la actividad colagenolítica, aquellos que mejoraron tenían valores normales o altos y cinco de los seis enfermos que empeoraron desarrollaron fibrosis pulmonar y presentaban disminución del catabolismo de colágena, de alrededor de 50 por ciento comparados con los pulmones control. Estos hallazgos apoyaron la hipótesis sobre cómo una disminución de la colagenólisis en el microambiente pulmonar podría constituir el momento crítico para la progresión hacia la fibrosis.

A continuación se diseñó un estudio secuencial del metabolismo de colágena en un modelo experimental de fibrosis pulmonar en ratas utilizando paraquat e hiperoxia;<sup>19</sup> estos agresores combinados originan daño grave y

difuso al parénquima pulmonar, con inflamación intersticial e intra-alveolar, que progresa hacia la fibrosis.<sup>20</sup> El análisis de la actividad colagenolítica mostró que en la primera semana, cuando solamente se apreciaba inflamación focal y moderada, no se observaron modificaciones significativas. Durante la segunda semana la inflamación pulmonar era difusa e intensa y la mayoría de los animales exhibieron un incremento importante de la colagenolisis. Entre las semanas tercera y sexta se observó un comportamiento trimodal, esto es, algunos animales presentaban valores elevados, otros dentro de límites normales y otros disminuidos. Finalmente, a las ocho semanas, durante la fibrogénesis activa, la mayoría de los animales mostraron disminución estadísticamente significativa en la actividad colagenolítica pulmonar. Merced a un modelo de fibrosis inducido por sílice se alcanzan resultados similares.<sup>21</sup> Estos estudios secuenciales, demuestran tres comportamientos diferentes en el catabolismo de colágena durante la evolución de la enfermedad y sugieren que una disminución en la colagenolisis se asocia con fibrogénesis activa.

En resumen, es válido concluir que la acumulación exagerada de colágenas intersticiales en la fibrosis pulmonar difusa se debe a modificaciones globales de su metabolismo; en este contexto, existe un aumento en la biosíntesis, alteración que se observa especialmente durante la proliferación de fibroblastos, y una disminución en la degradación, fenómeno que puede ocurrir tempranamente en la evolución de las enfermedades fibrosantes del pulmón.

#### **d) Posibles mecanismos moleculares involucrados en la disminución de la actividad colagenolítica pulmonar**

La regulación de la actividad de las colagenasas depende de una compleja serie de situaciones que incluyen la biosíntesis y la secreción de la proenzima, la activación de la misma en el espacio extracelular y su interacción con inhibidores tisulares específicos.<sup>22</sup> En cada uno de estos puntos existe una rigurosa modulación y de su secuencia apropiada en el tiempo y en el espacio depende que se realice, de acuerdo a las necesidades fisiológicas de un tejido, la degradación de colágena.

En nuestro laboratorio estamos desarrollando varias investigaciones enfocadas con ópticas diferentes, con el objeto de conocer mejor los mecanismos moleculares involucrados en la disminución de la actividad colagenolítica que se observa en los pulmones de pacientes y animales experimentales con fibrosis pulmonar difusa.

Nuestra primera aproximación al problema fue el estudio de la actividad inhibitoria de colagenasa presente

en homogenados pulmonares de pacientes con fibrosis pulmonar idiopática y alveolitis alérgica extrínseca crónica. Nuestros resultados demostraron que en ambas enfermedades las unidades de inhibidores de colagenasa estaban significativamente elevadas en comparación con las de los pulmones control.<sup>23</sup> En el mismo estudio encontramos evidencias indirectas de que, además del exceso de inhibidores de la enzima, en los pulmones con fibrosis parecía existir una disminución de colagenasas intersticiales. En este sentido analizamos la producción de colagenasa y del inhibidor tisular de metaloproteínasa (TIMP) en cultivos de fibroblastos pulmonares de seis pacientes con fibrosis idiopática y de seis sujetos normales.<sup>24</sup> Encontramos tanto en los pulmones normales como en los fibróticos subpoblaciones celulares productoras de colagenasa y subpoblaciones que no la producen. Sin embargo, la comparación de niveles de enzimas recuperadas del medio de cultivo de fibroblastos productores, demostró que las células derivadas de los pulmones fibróticos sintetizan cantidades significativamente menores de colagenasa que las células obtenidas de pulmones normales. Así aunque todas las líneas de fibroblastos estudiadas producían TIMP, la relación molar TIMP/colagenasa fue siempre notablemente mayor en las células de pulmones con fibrosis pulmonar idiopática.

En conjunto, estos hallazgos sugieren que al menos dos alteraciones contribuyen a la disminución de la actividad colagenolítica pulmonar durante el desarrollo de la fibrosis intersticial difusa: a) una disminución en la síntesis y secreción de la enzima y b) un alto contenido de inhibidores de colagenasa.

#### **Referencias**

1. Barrios R, Selman M. Morphological aspects of interstitial lung diseases. En: *Interstitial Pulmonary Diseases: selected topics*. M. Selman & R. Barrios eds Florida, USA: CRC Press Inc., 1991.
2. Selman M. Pulmonary Fibrosis: Human and experimental disease. En: *connective Tissue in Health and Disease*. M: Rojkind ed Florida, USA: CRC Press Inc. 1990
3. Fulmer J, Bienkowsky R, Cowan M, Breuel S, Bradley K, Ferrans V y cols. Collagen concentration and rates of synthesis in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am Rev Resp Dis* 1980;122:289
4. Selman M, Montaña M, Chapela R, Soto H, Díaz L. Changes of collagen content in fibrotic lung disease. *Arch Invest Med* 1982;13:93
5. Selman M, Montaña R, Ramos C, Chapela R. Concentration, biosynthesis and degradation of collagen in idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 1986;41:355
6. Kirk J, Da Costa E, Turner-Warwick M, Littleton R, Lurent

- G. Biochemical evidence for an progressive deposition of collagen in lungs of patients with pulmonary fibrosis. *Clin Sci* 1986;70:39
7. Kelley J. Collagen. IN: Lung Cell Biology (Lung biology in health and disease; vol 41) Massaro D. ed. New York: Marcel Dekker Inc., 1989
  8. Crouch E. Pathobiology of pulmonary fibrosis. *Am J Physiol*, 1990; 259 (Lung Cell. Mol. Physiol. 3): L159
  9. Laurent G. Harrison N. McNulty R. The regulation of collagen production in normal lung and during interstitial lung disease. *Postgrad Med J* 1988;64:26
  10. Von der Mark H, Aumailley M. Wich G, Fleischmajer R. Timpl R. Immunohistochemistry, genuine size and tissue localization of collagen VI. *J. Biochem* 1984;142:493
  11. Kirk J, Herd B, Kerr I, Turner-Warwick M, Laurent G. Quantitation of types I and III collagen in biopsy lung samples from patients with cryptogenic fibrosing alveolitis. *coll Realt Res* 1984;4:169
  12. Raghu G, Striker L, Hudson L, Striker G. Extracellular matrix in normal and fibrotic human lung. *Am Rev Respir Dis* 1985;131:281
  13. Madri J, Furthmayr H. Collagen polymorphism in the lung. An immunohistochemical study of pulmonary fibrosis. *Hum Pathol* 1980;11:353
  14. Kuhn III C, Boldt J, King Jr. TE, Crouch E, Vartio T, McDonald JA. An immunohistochemical study of architectural remodeling and connective tissue synthesis in pulmonary fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 1989;140:1693
  15. Selman M, Montaño M, Ramos C, Chapela R, González G, Vadillo F. Lung collagen metabolism and the clinical course of hypersensitivity pneumonitis. *Chest* 1988;94:347
  16. Kelley J. Cytokines of the lung. *Am Rev Respir Dis* 1990;141:765
  17. Antoniadis H, Bravo M, Avila R, Galanopoulos T, Selman M. Platelet-derived growth factor in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *J Clin Invest* 1990;86:1055
  18. Selman M, Chapela R, Salas J, Sansores R, Carrillo G, Pérez-Padilla R, y col. Hypersensitivity Pneumonitis: Clinical approach and an integral concept about its pathogenesis: a mexican point of view. En: *Interstitial Pulmonary Disease: selected topics*. Selman M & Barrios R eds Florida, Usa: CRC Press Inc, 1991
  19. Selman M, Montaño M, Ramos C, Barrios R, Pérez-Tamayo R. Experimental pulmonary fibrosis induced by paraquat plus oxygen in rats: A morphologic and biochemical sequential study. *Exp Molec Pathol* 1989;50:147
  20. Selman M, Montaño M, Montfor I, Pérez Tamayo R. A new model of diffuse interstitial pulmonary fibrosis in the rat *Exp Mol Pathol* 1985;43:375
  21. Ramos C, Montaño M, González G, Vadillo F, Selman M. Collagen metabolism in experimental lung silicosis A trimodal behaviour of collagenolysis. *Lung* 1988;166:347
  22. Pardo A, Selman M. The collagenase gene family; relationships between collagenolytic activity and fibrogenesis. En: *Interstitial Pulmonary Diseases: selected topics*. Selman M, Barrios R. eds. Florida, USA: CARC Press Inc., 1991.
  23. Montaño M, Ramos C, González G, Vallido F, Pardo A, Selman M. Lung collagenase inhibitors and spontaneous and leant collagenase activity in idiopathic pulmonary fibrosis and hypersensitivity pneumotitis. *Chest* 198;96:1115
  24. Pardo A, Selman M, Ramirez R, Montaño M, Ramos C, Stricklin G, Raghu G. Production of collagenase and tissue inhibitor of metalloproteinases by fibroblasts derived from normal and idiopathic pulmonary fibrosis lung. *Am Rev Respir dis* 1991;143:322

## V. Contaminación atmosférica, tabaquismo y función respiratoria

JOSE PEREZ NERIA\*

### Antecedentes

Los efectos del tabaquismo sobre la salud han sido estudiados desde hace varias décadas y el número de investigaciones que demuestran fehacientemente su acción nociva es abrumador. El consenso médico general acepta sin reticencias que es un hábito estrechamente relacionado con el cáncer pulmonar, el enfisema, la bronquitis crónica, la isquemia del miocardio y el peso subnormal al nacimiento, por mencionar únicamente las alteraciones más importantes y frecuentes. En cambio, en lo que se refiere a los efectos de los contaminantes atmosféricos habituales de las grandes ciudades sobre la salud respiratoria las investigaciones son menos numerosas y los resultados discutibles y por lo tanto no existen criterios uniformes sobre el tema. La mayoría de las investigaciones relacionadas con la contaminación ambiental en México, se refieren a estudios físicos, meteorológicos, químicos o bioquímicos de la calidad del aire, del agua y del suelo. Pocos son las que abordan los efectos sobre la salud. De ellas la mayoría abordan el problema del plomo en la sangre. En el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias se abrieron recientemente líneas de investigación sobre tabaquismo, contaminación atmosférica y salud. Se han realizado estudios acerca del tabaquismo pasivo y las alteraciones funcionales tempranas consecutivas a este hábito dos aspectos de gran controversia sobre el tema. Asimismo se han

\*Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

diseñado otros respecto a la contaminación atmosférica y su repercusión sobre la salud respiratoria, investigando la probable correlación entre los niveles atmosféricos de ozono con la función respiratoria, o la frecuencia de las crisis de asma y su posible sinergismo con el hábito de fumar cigarrillos, entre otros. A continuación se comentan algunos de los trabajos ya concluidos en el Instituto.

#### **Alteraciones funcionales pulmonares tempranas en el fumador detectadas mediante la prueba de volumen de isoflujo**

El objetivo de este estudio fue demostrar que en la historia natural de los daños a la salud respiratoria causados por el tabaquismo las alteraciones se inician en las vías aéreas de transición,<sup>1</sup> es decir, bronquiolos respiratorios y conductos alveolares.<sup>2</sup> Debido a sus características morfométricas,<sup>3</sup> esta zona no manifiesta sus alteraciones en la clínica, la radiología o en las pruebas rutinarias de función pulmonar, y para estudiarla se han diseñado técnicas especiales, un tanto sofisticadas, como la frecuencia dependencia de la distensibilidad pulmonar,<sup>4</sup> o la prueba del volumen de isoflujo.<sup>5</sup> Esta última fue la que se utilizó en este trabajo; consiste en realizar consecutivamente dos curvas flujo-volumen, la primera respirando aire y la segunda respirando helio. Por ser éste un gas menos denso, en la curva con helio el flujo espiratorio es superior al de la curva con aire y por lo tanto su registro es más alto a lo largo de todo el trayecto espiratorio. En cambio, cuando las vías aéreas transicionales están obstruidas, la curva del helio se iguala con la del aire antes de que termine la espiración y en este punto se mide el volumen de isoflujo que normalmente no debe ser mayor del 10 por ciento de la capacidad vital. Se estudiaron 256 personas inscritas en la Clínica de Tabaquismo del INER; 29 resultaron asintomáticas y con estudios radiológicos y funcionales normales. Dieciseis tuvieron volumen de isoflujo igual o menor al 10 por ciento y trece entre 17 y 39 por ciento, lo que se considera anormal y se interpreta como obstrucción de las vías aéreas de la zona de transición. Se concluyó que el tabaquismo lesiona inicialmente las vías aéreas transicionales y que la medición del volumen de isoflujo es un procedimiento útil para estudiar estas alteraciones tempranas.

#### **Tabaquismo pasivo en asmáticos**

El objetivo de este estudio fue investigar el posible desarrollo de obstrucción bronquial en un grupo de asmáticos estables al exponerlos a un ambiente contaminado con humo de cigarrillo. Nuestras hipótesis planteaban que la exposición aguda les produciría disminución igual o mayor

al 20 por ciento del volumen espiratorio forzado del primer segundo y del flujo espiratorio 50, causándoles un aumento igual o mayor al 20 por ciento de la resistencia específica de las vías aéreas.

La mayor parte de los trabajos sobre tabaquismo pasivo han buscado conocer sobre su influencia en la morbilidad respiratoria. Son menos numerosos los protocolos orientados a indagar su efecto sobre la función pulmonar.

En relación al primer tipo de estudio, los resultados concuerdan en que el tabaquismo pasivo incrementa la morbilidad respiratoria.

Pedreira y col.<sup>6</sup> registraron la incidencia de enfermedades respiratorias durante el primer año de vida en 1,144 infantes. Sus resultados refieren mayor número de casos con traqueobronquitis aguda así como mortalidad por esta patología en los hijos de fumadores, aunque no encontraron correlación con la intensidad del hábito.

Charlton y col.<sup>7</sup> encontraron conexión entre el tabaquismo pasivo y la frecuencia de tos en los niños. Síntoma más frecuente si la madre era la fumadora y más aún cuando ambos padres fumaban.

Kabat y Winder<sup>8</sup> analizaron los expedientes de 2,668 enfermos de cáncer pulmonar y concluyeron que el riesgo que corren los no fumadores de presentar esta patología es dos veces mayor cuando el cónyuge es fumador.

El presente estudio estudió 202 voluntarios no fumadores de ambos sexos; 112 tenían diagnóstico de asma y 90 se juzgaron como controles sanos.

El grupo de asmáticos se compone de 40 adultos, con edades entre 21 y 32 años y 72 niños de 8 a 14 años.

El grupo control lo formaron 40 adultos de 20 a 31 años y 50 niños de 8 a 14 años.

El diagnóstico de asma se basó en el cuadro clínico característico, los antecedentes familiares y personales positivos, IgE sérica elevada, hiperreactividad bronquial clínica y funcional, obstrucción bronquial y atrapamiento de aire reversibles por administración de un broncodilatador. Se excluyeron asmáticos en período sintomático. La medicación broncodilatadora se suspendió cuando menos 24 horas antes del estudio. Por cuanto a la administración de esteroides sólo se aceptaron para el estudio pacientes asmáticos que no los hubieran recibido cuatro semanas antes del mismo.

Los criterios de inclusión para el grupo control, precisaron carecer de patología respiratoria, torácica o de columna vertebral.

No se aceptaron a quienes tuvieran antecedentes de alguna neumopatía importante.

Como no fumador se juzgó a quien con base en su declaración no había fumado más de cincuenta cigarrillos a la fecha.

Se utilizó un pletismógrafo corporal Jaeger, Bodytest OM/04; un registrador X-Y Hewlett-Packard; cigarrillos convencionales, sin filtro, de 8 cm de longitud, una habitación de 4 x 4 x 3 m, (48 m<sup>3</sup>) con una puerta de 2 m<sup>2</sup> abierta a un pasillo interior.

A todos los voluntarios se les practicó pletismografía corporal basal y para registro de la curva flujo-volumen, el volumen respiratorio forzado del primer segundo (VEF 1), el volumen residual (VR) y la resistencia específica de las vías aéreas (sRaw).

Con la curva flujo-volumen se midieron la capacidad vital forzada (CVF), el flujo espiratorio máximo (Vmax), el flujo espiratorio 50 (V50) y el flujo espiratorio 25 (V25).

Inmediatamente después de la medición basal, pasaron a la habitación en donde permanecieron sentados, conversando con un fumador voluntario, quien consumió dos cigarrillos convencionales. Al terminar cada cigarrillo, el fumador lo apagó de la manera habitual. El fumador evitó dirigir el humo espirado directamente hacia el voluntario no fumador. La distancia aproximada entre ambos fue de un metro.

Dentro de los quince minutos siguientes a la exposición pasiva al humo del tabaco se les repitió la pletismografía a los voluntarios.

El procedimiento se siguió de igual manera con los cuatro grupos de voluntarios: adultos y niños, asmáticos y controles.

Los parámetros pre y post inhalación pasiva del humo del tabaco, se analizaron estadísticamente empleando la T de Student.

Comparando los resultados post con los pre exposición pasiva al humo del tabaco del grupo de asmáticos, diez y seis de los 72 niños (22%) y cuatro de los 40 adultos (10%) mostraron disminución igual o mayor al 20 por ciento de su VEF 1 y de su V 50 y aumento igual o superior al 20 por ciento de su sRaw. Tres niños y cuatro adultos solamente mostraron disminución aislada en más del 20 por ciento de su VEF 1.

En los registros restantes (CVF, VR, Vmax y V 25) no se observaron diferencias superiores al 20 por ciento.

Los principales cambios fueron disminución de 37 por ciento del VEF 1 en un niño y caída en 31 por ciento del mismo parámetro en un adulto.

Ninguno de los 50 niños ni de los 40 adultos del grupo control mostraron cambios iguales o mayores al 20 por ciento de los valores medidos.

Con base en estos resultados se concluyó que la exposición pasiva al humo de tabaco desencadenó broncoespasmo en el 10 por ciento de los adultos y el 22 por ciento de los niños asmáticos pero no causó alteraciones en los resultados de la pletismografía del grupo control.

## Efectos sinérgicos del tabaquismo y la contaminación atmosférica sobre la función pulmonar

Existen pocos reportes en la literatura sobre los probables efectos sinérgicos del tabaquismo y la contaminación atmosférica.<sup>9</sup> Por ese motivo consideramos importante investigar la posible potencialización de los efectos del tabaquismo y la contaminación atmosférica sobre la salud respiratoria de un grupo de residentes en la Ciudad de México, lo cual constituyó el objetivo de este trabajo.

La hipótesis era que los fumadores en la Ciudad de México tenían menor capacidad vital forzada (FVC), flujo espiratorio máximo (Vmax) y volumen espiratorio forzado del primer segundo (VEF1) de la que se podría esperar como resultado de la suma aritmética de los efectos por separado del tabaquismo y la contaminación atmosférica. Este planteamiento presuma que ambos agresores por sí solos producirían reducción de estos parámetros espirométricos.

Se estudiaron 215 fumadores de ambos sexos de 20 a 40 años de edad, sin antecedentes personales o familiares de enfermedad cardiopulmonar, otorrinolaringológica o deformidades torácicas.

Se integraron cuatro grupos:

- 65 fumadores de la zona suroeste de la Ciudad de México; en promedio fumaban veinte cigarrillos al día desde cinco años antes y todos residían permanentemente en la ciudad.
- 50 fumadores de la población rural Metepec, Estado de México, con las mismas características tabáquicas del grupo A.
- 50 no fumadores de la zona suroeste de la ciudad de México
- 50 no fumadores de Metepec, con las mismas características somáticas, culturales y socioeconómicas de los otros grupos.

En todos se realizó espirometría cronometrada mediante la técnica habitual con el mismo espirómetro y supervisado por el mismo investigador.<sup>10</sup>

Durante las dos semanas de enero de 1990 en que se llevó a cabo este estudio no se registraron niveles superiores a la norma de ozono, bióxido de azufre y monóxido de carbono en la población de Metepec. En cambio, en la zona suroeste de la Ciudad de México la norma se sobrepasó, catorce días para el ozono (las dos semanas de estudio), un día para el monóxido de carbono y cero días para el bióxido de azufre.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante el análisis de varianza y la T de Student.

El promedio de la desviación estándar de la edad fueron similares en todos los grupos. Lo mismo sucedió con la distribución de sexos.

En promedio la CVF fue menor en el grupo A y más alto en el C, sin embargo la diferencia no es estadísticamente significativa.

En lo que respecta al Vmax y al VEF 1, los promedios del grupo A resultaron inferiores a los correspondientes en los demás grupos  $p < 0.01$ .

Los resultados espirométricos no fueron distintos entre fumadores y no fumadores de Metepec ni tampoco entre no fumadores de Metepec y los de la Ciudad de México.

En cambio la reducción del VEFA en el grupo de fumadores de la Ciudad de México resultó indiscutible; esto sugiere que la exposición crónica a los contaminantes habituales de la atmósfera en la Ciudad de México produce alteraciones de la espirometría en los fumadores.

Este análisis estadístico, que muestra  $p < 0.001$  al comparar fumadores de la Ciudad de México con otros grupos, apoya la conclusión referida.

Si se tiene en cuenta que el VEF 1 y el Vmax son parámetros que presentan indirectamente el calibre de las vías aéreas, estos resultados se pueden interpretar como leve patrón obstructivo, probablemente causado por la exposición crónica y simultánea al tabaquismo y a la contaminación atmosférica.

#### **Niveles de ozono en la atmósfera y demanda de atención médica por infección respiratoria aguda, neumonía y crisis de asma en el servicio de urgencias**

Este trabajo investigó la frecuencia de la demanda de atención médica por infección respiratoria aguda, neumonía y crisis de asma en el servicio de urgencias durante 1986, 1987 y 1988, comparada con el comportamiento diario de los niveles de ozono registrados en la zona suroeste de la Ciudad de México.

Se observó que durante esos tres años la frecuencia de las crisis de asma aumentó entre julio y octubre. En cambio las infecciones respiratorias agudas y las neumonías predominaron en los meses de invierno, guardando proporción con la mayor demanda asistencial registrada en el Instituto.

De estas observaciones se concluye que, al igual que en otras regiones del mundo, las crisis de asma se presentan más a menudo durante los períodos de lluvia debido tal vez al incremento de humedad ambiental y a que posiblemente este comportamiento se relaciona con el aumento en

la concentración de hongos en el aire. No se observó relación entre frecuencia de las crisis de asma con la mayor concentración de ozono en la atmósfera de la zona suroeste de la Ciudad de México, lo cual ocurre durante los meses de invierno.

#### **Ozono e hiperreactividad de las vías aéreas en los cobayos**

En este estudio se investigó *in vivo* e *in vitro*, el efecto de la exposición de 3 ppm de ozono durante una hora sobre la reactividad de las vías aéreas de cobayos sensibilizados y no sensibilizados. El modelo de cobayo asmático se logró provocando la inhalación repetida de ovalbúmina durante tres semanas.<sup>11</sup> En el estudio *in vivo* se midió el aumento de la resistencia elástica pulmonar del cobayo como respuesta a la excitación del sistema no-adrenérgico, no-colinérgico con histamina.<sup>12</sup> El estudio *in vitro* cuantificó la contracción de fragmentos de tráqueas con y sin epitelio y de parénquimas pulmonares de los cobayos sensibilizados y no sensibilizados.<sup>13</sup> Además se practicó lavado broncoalveolar 16 a 18 horas después de la exposición al ozono tanto en cobayos asmáticos como en los no sensibilizados.

Los resultados probaron que la exposición de cobayos a 3 ppm de ozono durante una hora: 1) Aumenta el contenido de neutrófilos en el lavado broncoalveolar realizado 16 a 18 horas después de la exposición, tanto en cobayos sensibilizados como en los no asmáticos. 2) Produce hiperreactividad de la tráquea del cobayo no sensibilizado como respuesta al estímulo del sistema no-adrenérgico, no-colinérgico. Sin embargo, mientras que la sensibilización del cobayo aumenta su reactividad al estímulo no-adrenérgico no-colinérgico, la combinación ozono más sensibilización paradójicamente suprime esta hiperreactividad. 3) Aumenta *in vivo* la respuesta broncoconstrictora a la histamina. 4) No modifica la reactividad a la histamina de tráqueas con y sin epitelio; además, la remoción del epitelio produjo hiperreactividad a la histamina aún en las tráqueas expuestas al ozono. 5) Produce hiperreactividad a la histamina en fragmentos de parénquima pulmonar tanto en los cobayos asmáticos como en los no sensibilizados lo cual sugiere que el ozono induce hiperreactividad a la histamina y al sistema no-adrenérgico no-colinérgico después de 16 a 18 horas de la exposición. Es posible que esta hiperreactividad se deba, al menos en parte, a la inflamación neutrofílica que se localiza principalmente en las vías aéreas periféricas. 6) El ozono no indujo disminución del factor relajante derivado del epitelio traqueal.

## Relación entre función pulmonar y exposición crónica a la mezcla de contaminantes de la atmósfera de la Ciudad de México

El propósito de este trabajo prospectivo fue investigar si el humano, al exponerse de manera crónica a la mezcla de contaminantes habituales de la atmósfera en la zona metropolitana de la Ciudad de México influyó sobre los siguientes parámetros espirométricos:

Capacidad vital forzada (CVF), flujo espiratorio máximo ( $V_{max}$ ), volumen espiratorio forzado del primer segundo (VEF1) y flujo espiratorio forzado 25-75% (FEF 25-75%).

El efecto de la contaminación atmosférica sobre la salud respiratoria, especialmente cuando la exposición es crónica da tema de controversia. La diversidad cualitativa y cuantitativa de las variables y sus combinaciones, siempre presentes, introduce "ruido" cuando se trata de interpretar los resultados de estudios de investigación relacionados con esta materia.

Estas variables se pueden controlar en estudios realizados con animales de laboratorio o en estudios *in vitro* en cuyo caso las conclusiones deberán extrapolarse al humano; además, los residentes de la Ciudad de México están expuestos a una mezcla de contaminantes, no a un contaminante aislado, e interesa investigar precisamente los efectos de la exposición a esta mezcla dentro del entorno climatológico característico de la zona metropolitana.

Por otra parte, hasta la fecha ni los niveles de concentración de los contaminantes ni la duración de las transgresiones a las "normas" han sido de magnitud tal que influyan sobre la morbilidad o la mortalidad de las enfermedades relacionadas con el aumento repentino de los contaminantes.

De hecho, en la Ciudad de México no se ha podido demostrar correlación entre incremento de contaminantes atmosféricos y aumento de la morbilidad respiratoria.

En razón de estas consideraciones se justifican los estudios que utilizan como indicadores parámetros de función pulmonar, cuyas alteraciones tempranas pueden interpretarse como estados previos a la enfermedad.

Entre las pruebas de función pulmonar que se pueden utilizar destaca la espirometría por accesible y suficientemente reproducible. Cuando este estudio se aplica en grandes grupos de población resulta más útil, confiable y, sobre todo, más práctico que otros estudios de función pulmonar más sofisticados.

El análisis se realizó con cuatrocientos alumnos del Colegio de Ciencias y Humanidades, planteles sur y noroeste, de la UNAM, de ambos sexos y de 18 a 28 años de edad.

Se utilizaron tres espirómetros digitales y computarizados, modelo PONY de la marca COSMED; se registraron CVF, VEF 1,  $V_{max}$  y FEF 25-75%. Los resultados quedaron almacenados en la memoria de los espirómetros. Por otra parte, se anotó cuando los cuatro contaminantes más importantes de la atmósfera de la Ciudad de México (ozono, bióxido de nitrógeno, bióxido de azufre, y monóxido de carbono) superaron las normas. El estudio está en la fase de análisis estadístico.

## Efectos de la exposición crónica a contaminantes atmosféricos en población humana. Seguimiento durante tres años

Este proyecto de investigación es prospectivo, longitudinal y a largo plazo. La propuesta es registrar durante tres años la morbilidad y la función respiratoria en un grupo de médicos residentes de provincia que realizan estudios de especialización en la Ciudad de México. El grupo control está constituido por un grupo similar de médicos procedentes de la propia ciudad.

Como existe el antecedente de que las alteraciones causadas por exposición crónica a los contaminantes atmosféricos no son concluyentes para alterar las pruebas funcionales pulmonares rutinarias, el proyecto es determinarlas mediante parámetros más sensibles como son la capacidad de difusión pulmonar y el volumen de isoflujo entre otros.

## Contaminación atmosférica en espacios interiores. Efectos sobre la salud y la función respiratoria

Este proyecto tiene el propósito de investigar si existen diferencias importantes en cuanto a morbilidad respiratoria y función pulmonar entre las personas que permanecen la mayor parte del tiempo en interiores en comparación con las que desarrollan la mayor parte de sus actividades en el exterior.

En síntesis, esta presentación fue una relación resumida de las principales líneas de investigación sobre contaminación atmosférica y salud respiratoria que recientemente se han desarrollado en el INER.

## Referencias

1. Rubio-Monteverde H, Pérez-Neria Jm Selman-Lama M. Alteraciones funcionales respiratorias tempranas secundarias al tabaquismo. *Gac Méd Méx* 1990;126:191
2. Macklem PT. Obstruction in small airways; A challenge to medicine. *Am J Med* 1972;52:721
3. Martínez CD, Pérez-Neria J, Rojas-González A, Chapela

- R, Selman-Lama M. Vía área periférica y zona de transición en fibrosis pulmonar idiopática y alveolitis alérgica extrínseca. *Neumol Cir Tórax* 1984;44:31
4. Pérez-Neria J, Selman-Lama M, Rubio-Montevedre H, Ocaña-Servin H, Chapela-Mendoza R, Mendoza-Mendoza A. Relationship between lung inflammation or fibrosis and frequency dependence of compliance in interstitial pulmonary diseases. *Respiration* 1987;52:254
  5. Hutcheon M, Griffin P, Levison H, Zamel N. Volumen of iso-flow. A new test in detection of mild abnormalities of lung mechanics. *Am Rev Respir Dis* 1974;110:458
  6. Pedreira FA, Guandolo VL, Fevoli EJ. Involuntary smoking and incidence of respiratory illness during the first year of life. *Pediatrics* 1985;75:594
  7. Charlton A. Children's coughs related to parental smoking. *Br Med J* 1984;288:1647
  8. Kabat GC, Wynder EL. Lung cancer in non smokers. *Cancer* 1984;53:1214
  9. Detels R, Sagre JW. Respiratory effect of long-term exposure to photochemical oxidants, nitrogen dioxides and sulfates on current and newer smokers. *Am Rev Respir Dis* 1981;124:673
  10. Pérez Neria J. Pruebas de función pulmonar. *Rev Inst Nal Enf Resp (Méx)* 1989;2:50
  11. Vargas MH, Montaña LM, Páramo I, Selman M. An inhalatory method using ovalbumin and *Bordetella pertussis* for inducing allergic bronchoconstriction in guinea pigs. *Med Science Res* 1987;15:179
  12. Vargas MH, Montaña LM, Banda B, Segura P, Selman M. Pharmacological characterization of mediators and vagal influence in the acute allergic bronchoconstriction in guinea pigs. *Arch Pharmacol* 1990;342:278
  13. Montaña LM, Campos G, Segura P, Vargas MH, Ponce H, Bravo JL, Selman M. Effect of ozone exposure on the *in vivo* and *in vitro* responsiveness of guinea pigs airways. *Amer Rev Respir Dis* 1990;141:476

## VI. Conclusiones

### HORACIO RUBIO MONTEVERDE

Acabamos de presentar una parte importante de los proyectos de investigación que se llevan a cabo en el INER.

Sin embargo, nuestras líneas de investigación abarcan un abanico temático que va desde la tuberculosis pulmonar hasta la susceptibilidad genética y la patología respiratoria.

\* Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias.

Todos los programas que acabamos de enumerar están inmersos en una red de proyectos interrelacionados que a su vez son analizados cuidadosamente mediante la visión de diferentes disciplinas científicas para responder las múltiples incógnitas que generan los conocimientos recientes.

El desarrollo que se ha logrado gracias a la descentralización ha propiciado el florecimiento de todos estos programas.

El reto es mutuo: dar libertad de autogestión y compartir la enorme responsabilidad del ejercicio.

Esta libertad sólo es válida si se traduce en hechos concretos. El proceso de descentralización plantea desde sus inicios un desafío para nuestro Instituto que se ve claramente plasmado en el incremento de investigadores de carrera que trabajan en el INER, y cuando menos la mitad de los cuales ya forma parte del Sistema Nacional de Investigadores. Asimismo, es notable el creciente número de publicaciones producido desde entonces a la fecha. La diapositiva demuestra que una tercera parte de las mismas se publicaron en revistas internacionales.

El trabajo de nuestros investigadores ha sido motivo de numerosos premios nacionales relacionados con la investigación biomédica. Entre otros destacan el Premio Rosenkranz en los años 1985 y 1988, el Premio Nacional de Cirugía Francisco Montes de Oca 1985 y 1987, el Premio sobre Investigación en Cáncer Aida Weiss en 1988 y 1990, así como el Premio Nacional de Administración Pública por ser la primera vez que se otorga a una institución médica y que el Presidente de la República entregó personalmente al grupo de investigación que realizó el primer trasplante pulmonar.

Una de las preocupaciones fundamentales del INER en los últimos diez años ha sido la formación de recursos humanos.

En Estados Unidos estiman que debería haber un neumólogo por cada 50 mil habitantes; en Canadá se plantea la necesidad de uno por 60 mil habitantes. Si en México el criterio fuese tener un neumólogo por cada 100 mil habitantes, necesitaríamos 800 neumólogos y sólo contamos con alrededor de 500.

La diapositiva presenta cómo en los últimos diez años han egresado del INER 153 neumólogos; de 1987 a 1991 diez y seis otorrinolaringólogos y en la reciente cirugía neumológica se han formado seis especialistas.

La excelencia en la formación de recursos humanos es una meta en vías de alcanzarse. Se ha establecido un importante programa de maestrías y doctorados y ya son 30 los médicos acreditados en el INER.

Difundir los conocimientos confronta el desarrollo de nuestra labor como investigadores a la luz de nuestros

colegas en México y el mundo. Y es una responsabilidad de todos los miembros de la comunidad científica porque sólo así están abiertos a un diálogo permanente. Como se dijo antes el INER ha generado alrededor de 300 publicaciones en revistas nacionales e internacionales y se ha hecho un gran esfuerzo para publicar sistemáticamente nuestra revista, que también se ha convertido en foro para muchos investigadores de otras instituciones.

Esta transformación vivida en el INER a partir de la descentralización, es producto de muchos días de trabajo. La trama y la urdimbre de ideas puestas en marcha, de nuevas investigaciones, del reconocimiento del trabajo en el ámbito internacional, de momentos difíciles muchas veces sin la infraestructura suficiente para seguir adelante, pero siempre con espíritu creador, de compañerismo y de equipo, le han dado cuerpo.

El desarrollo se ha logrado también gracias al apoyo y estímulo que hemos recibido siempre por parte del doctor Jesús Kumate, primero como Coordinador de los Institutos y actualmente como Secretario de Salud, del doctor Soberón, Ex-secretario de Salud, del doctor Méndez Coordinador de los Institutos durante muchos de estos años y el

doctor Carlos Pacheco, actualmente Coordinador de los Institutos de Salud.

Los cambios en la ciencia no son aislados, se nutren de las circunstancias sociales, culturales y económicas siempre cambiantes. En este sentido el futuro está lleno de metas por alcanzar, es necesario llenar enormes lagunas en el conocimiento neumológico, mejorar las medidas terapéuticas y los estudios de factores pronósticos para los pacientes con enfermedades crónico-degenerativas, realizar nuevos trasplantes en humanos, poner en marcha nuevos métodos diagnósticos para la tuberculosis, sensibles, rápidos y específicos, diseñar proyectos de investigación que permitan responder a si la contaminación ambiental produce a largo plazo daño respiratorio, etc.

Sabemos que en nuestro trabajo el tiempo no existe; llegar a alguna orilla es partir hacia un nuevo horizonte, pero el motor que nos une y nos identifica como profesionistas es la intención de mejorar la atención a los pacientes.

La relación con los seres humanos nos revela día con día que no hay ciencia sin humanismo y sin cultura.



**LA GERENCIA  
DE SERVICIOS MEDICOS  
DE PETROLEOS MEXICANOS**



**y**

**LA ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA**

**INVITAN A UD.(S) AL**

**" 1er. SEMINARIO SOBRE DIAGNOSTICO  
Y TERAPEUTICA DE VANGUARDIA "**

**QUE SE REALIZARA DEL 25 AL 26 DE AGOSTO DE 1993.**

**OBJETIVO GENERAL:**

**Establecer criterios de vanguardia para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades en los tres niveles de atención.**

**DIRIGIDO A:**

**Médicos Generales, Especialistas y Profesores de Facultades y Escuelas de Medicina.**

**LUGAR:**

**Auditorio del Museo Tecnológico de la Comisión Federal de Electricidad.  
Chapultepec 2ª Sección, México, D.F.**

**METODOLOGIA:**

**Conferencias y Simposia.**

**CUOTA DE INSCRIPCION:**

**Médicos: N\$ 250.00**

**Médicos Residentes: N\$ 200.00**

**INFORMES E INSCRIPCIONES:**

**UNIDAD NACIONAL DE ENSEÑANZA**

**Ejército Nacional No. 418, 7o. Piso**

**Col. Chapultepec Morales, C.P. 11670**

**México, D.F.**

**Tel.: 264-16-32**

**Tel.: 260-26-11 Ext. 324-17**

**Fax: 260-26-11 Ext. 323-77**

**Y EN LAS OFICINAS DE ENSEÑANZA DE LOS  
HOSPITALES CENTRALES, REGIONALES Y  
GENERALES DE PETROLEOS MEXICANOS.**