

Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Volumen
Volume **18**

Número
Number **3**

Julio-Septiembre
July-September **2005**

Artículo:

La función plaquetaria más allá de la hemostasis: participación en las enfermedades respiratorias

Derechos reservados, Copyright © 2005:
Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

Otras secciones de
este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

*Others sections in
this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



edigraphic.com

La función plaquetaria más allá de la hemostasis: participación en las enfermedades respiratorias

ALBERTO M. GUZMÁN GRENfell*

LUIS MALDONADO NORIEGA†

REXY MENDOZA ATENCIO§

JUAN JOSÉ HICKS GÓMEZ*

* Laboratorio de Bioquímica Inorgánica, INER.

† Jefe del Banco de Sangre, INER.

§ Clínica de Síndrome Metabólico y Enfermedades Respiratorias, INER.

Trabajo recibido: 13-IV-2005; aceptado: 07-VII-2005

RESUMEN

240

Actualmente se sabe que las plaquetas, además de almacenar diversos mediadores químicos, también tienen la capacidad de realizar síntesis de varios tipos

Palabras clave: Plaquetas, hemostasia, trombosis, inflamación, remodelación tisular, defensa innata.

Key words: Platelets, haemostasis, thrombosis, inflammation, tissue remodeling, innate defense.

de proteínas a partir de ARN preformados y de interaccionar con diversos tipos de partículas, con componentes de la matriz extracelular y con varios tipos celulares. Estas características posibilitan que las plaquetas intervengan activamente, no sólo en la hemostasis y trombosis, sino también en la inflamación, remodelación tisular y posiblemente en la defensa innata.

INTRODUCCIÓN

Las plaquetas, descubiertas en 1882 por Giulio Bizzozero, han sido tradicionalmente consideradas como "restos citoplasmáticos" anucleados de los megacariocitos, las células poliploides de las cuales se forman. Sin embargo, en la actualidad se considera que, además de su bien establecido papel en la hemostasis, participan también en procesos importantes como la trombosis, inflamación, remodelación tisular y posiblemente, en los mecanismos de defensa innata. Tal diversidad funcional es consistente con la idea de que las

ABSTRACT

Platelets store different chemical mediators and synthesize various types of proteins from preformed RNA; they also interact with different particles, components of the extracellular matrix and with different kinds of cells. This characteristics enable platelets to have important roles in hemostasis, thrombosis, inflammation, tissue remodeling and possibly in mechanisms of innate defense.

plaquetas en los mamíferos se originaron durante el curso de la evolución, a partir de un tipo de célula defensiva y multifuncional, representada filogenéticamente por los actuales trombocitos de los artrópodos, peces, aves y reptiles. Es posible realizar estas funciones tan variadas por la capacidad que tienen las plaquetas de establecer diversas interacciones intercelulares, tanto homotípicas como heterotípicas, y con moléculas de la matriz extracelular, así como por su capacidad de liberar potentes moléculas bioactivas que participan en los procesos de quimiotaxis, angiogénesis, degradación de la matriz extrace-

lular y regulación de diversas vías de señalización en varios tipos celulares. Estas características vinculan a las plaquetas con varios procesos como la enfermedad cardiovascular, aterosclerosis, diabetes, asma, enfermedad pulmonar obstrutiva crónica (EPOC) y las metástasis^{1,2} (Figura 1).

Desde el punto de vista morfológico, las plaquetas son pequeños elementos sanguíneos anucleados (1-3 μm), con una membrana celular que se invagina formando los llamados sistemas canicular abierto y el tubular denso. El primero constituye una serie de canales abiertos hacia el espacio exterior que facilitan el proceso de secreción y permiten el acceso de sustancias hacia el interior de la plaqueta. El sistema tubular denso se forma de componentes del retículo endoplásmico del megacariocito y constituye el sitio principal de almacenamiento de Ca^{2+} . Inmediatamente, por debajo y alrededor de toda la membrana plasmática se presenta un haz microtubular y una red de microfilamentos con propiedades contráctiles que constituyen el citoesqueleto de la plaqueta. En el citoplasma plaquetario se encuentran mitocondrias, peroxisomas, lisosomas, partículas de glucógeno y diferentes tipos de numerosos gránulos. Los gránulos densos contienen ADP, ATP, serotonina y Ca^{2+} , mientras que los llamados gránulos α (los más numerosos), contienen sustancias vasoactivas y diversas proteínas, como el factor de cre-

cimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante β (TGF- β), β -tromboglobulina (β -TG), fibrinógeno, los factores de coagulación V y VIII y proteínas de adhesión.

PROPIEDADES FAGOCÍTICAS DE LAS PLAQUETAS

Desde hace varias décadas se ha puesto en evidencia la capacidad que tienen las plaquetas de interaccionar con diversos tipos de material particulado, incluyendo partículas abioticas (dióxido de torio coloidal, sílica, esferas de látex), así como virus, bacterias y ciertos parásitos³⁻⁶.

Existe controversia acerca de si las plaquetas deben de ser consideradas como verdaderos fagocitos (macrófagos y granulocitos), pues presentan algunas de sus características, tales como predisposición para interaccionar con material particulado, la presencia de productos lisosomales en su citoplasma capaz de ser liberados, después de su activación y productos metabólicos que pueden actuar como mediadores del proceso inflamatorio⁷.

241

PRODUCCIÓN DE FACTORES MEDIADORES DE LA INFLAMACIÓN

A pesar de su pequeño volumen, las plaquetas también participan en el proceso inflama-

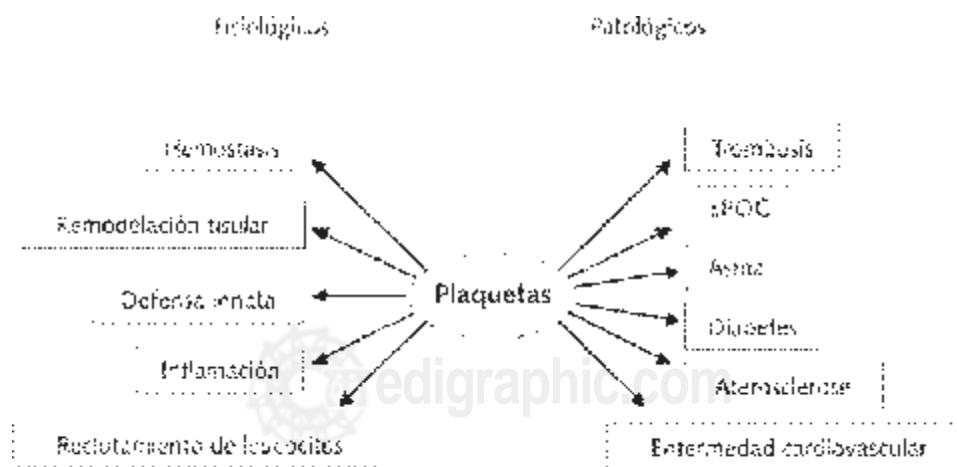


Figura 1. Procesos fisiológicos y patológicos en los que las plaquetas están involucradas.

torio, ya que representan una fuente importante de mediadores de este proceso. El número de moléculas que secretan es extenso e incluyen una amplia gama de factores que intervienen en diversas asociaciones intercelulares, en la quimiotaxis, angiogénesis, la degradación de la matriz extracelular y en diversos eventos de señalización en células blanco (Tabla I). Los factores liberados por las plaquetas provienen de sus gránulos de almacenamiento, de la síntesis de eicosanoides y fosfolípidos o como recientemente se ha demostrado, de la síntesis de proteínas a partir de ARN mensajeros constitutivos^{1,8}.

Las plaquetas son unas de las primeras células que se acumulan en los sitios de daño tisular, liberando factores que inician una cascada inflamatoria que atrae a leucocitos, activa células blanco y estimula el crecimiento y reparación del vaso dañado. Entre los factores inflamatorios producidos por las plaquetas activadas se encuentran varios tipos de quimiocinas que incluyen a las RANTES (Regulated upon Activation Normal T cells Expressed and Secreted; CCL5), ENA-78 (CXCL5), MIP-1 α (CCL3) y PF4 (CXCL4), las cuales se consideran como unas de las más potentes moléculas de señalización secretadas por las plaquetas. Las RANTES se pueden unir al endotelio y formar un puente entre células mononucleares y la pared vascular en los sitios de daño; además, también pueden activar la expresión de

genes en leucocitos que participan en el control del proceso inflamatorio. La quimiocina ENA-78 induce modificaciones en las integrinas β_2 para aumentar la adhesión de neutrófilos a la superficie endotelial. La quimiocina MIP-1 α , es un potente mediador de la inflamación inducida por virus, y la PF-4 facilita la formación de nuevos macrófagos durante el proceso inflamatorio⁸.

SÍNTESIS DE PROTEÍNAS

Desde los años ochenta se ha demostrado que las plaquetas sintetizan proteínas constitutivas a partir de mARN estable, utilizando para ello la maquinaria biosintética requerida que retienen cuando las plaquetas surgen a partir de los megacariocitos que las originan⁹. Análisis más recientes de los ARN han mostrado que las plaquetas expresan cientos de mARN estable, indicando que las plaquetas activadas son capaces de sintetizar una amplia gama de proteínas, aunque algunas de ellas no han sido identificadas¹⁰. Se sabe que las plaquetas en reposo sintetizan una variedad de proteínas, incluyendo las proteínas trombostenina, glicoproteínas membranales (GPIb, IIb y IIIa), fibrinógeno, trombospondina, albúmina y el factor von Willebrand¹¹.

En relación con la existencia de mecanismos que regulan la síntesis de proteínas, estudios recientes han confirmado que las plaquetas po-

Tabla I. Mediadores de la inflamación almacenados y/o producidos por las plaquetas^{1,8}.

Quimiocinas	RANTES (CCL5), ENA-78 (CXCL5), MIP-1 α (CCL3) y PF4 (CXCL4)
Lípidos proinflamatorios	Ácido araquidónico, tromboxanos, factor activador de plaquetas (PAF)
Factores proangiogénicos	Factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) Factor de crecimiento de fibroblastos (bFGF) Angiopoyetina-1 Factor de crecimiento epidermal (EGF) Factor de crecimiento insulinoide-1 y 2 (IGF-1 y 2) Factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) Timosina β_4
Factores inhibidores de la angiogénesis	PF4 Trombospondina (TSP-1) Factor de crecimiento transformante- β_1 (TGF- β_1)
Metaloproteínasas	MMP-1 y MMP-2

seen proteínas involucradas en el control de la traducción genética. La síntesis de Bcl-3 e IL-1 β son ejemplos de proteínas que son sintetizadas bajo el control de vías de señalización especializadas, las cuales a su vez se encuentran reguladas por diversas señales externas^{12,13}. El sistema mTOR (Mammalian Target of Rapamycin) lo constituye una proteína cinasa involucrada en las respuestas celulares a diversos estímulos, tales como mitógenos, factores de crecimiento y nutrientes; regulando la traducción de aproximadamente el 10-15% de la poza total de mRNA en diversas células nucleadas¹⁴. El grupo de Weyrich, ha señalado que un número similar de transcritos se encuentran bajo el control de la proteína cinasa mTOR en las plaquetas y que esta proteína es una de las más abundantes en ellas¹⁵.

Otro mecanismo importante del control de la traducción genética lo constituye la proteína p38 MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase), proteína cinasa que interviene en las principales vías de señalización estimuladas por mitógenos y diversos tipos de estrés, tales como choque osmótico y radiación ultravioleta¹⁶. En la plaqueta, la proteína cinasa p38 MAPK es activada por agonistas de la activación plaquetaria¹⁷.

Las integrinas plaquetarias participan también en la regulación de la síntesis de ciertas proteínas. La interacción del fibrinógeno con la integrina $\alpha_{IIb}\beta_3$ presente en las plaquetas activadas, activa vías de señalización que inducen la síntesis de varios productos plaquetarios, incluyendo a Bcl-2 e IL-1 β ¹⁵. Como dato de interés, aun cuando las plaquetas carecen de núcleo, durante su almacenamiento expresan los factores proapoptóticos Bax y Bak¹⁸.

EL PAPEL DE LA PLAQUETA EN LA INFLAMACIÓN PULMONAR

Las interacciones intercelulares tienen un papel fundamental en la patogénesis de las enfermedades inflamatorias. También es reconocido el hecho de que los leucocitos circulantes se adhieren a las células endoteliales, con la participación de moléculas de adhesión y en respuesta a estímulos inflamatorios, para posteriormente transmigrar hacia los tejidos alte-

rados. La participación de las plaquetas en estos procesos se ha inferido porque se acumulan, junto con los leucocitos, en los sitios donde hay lesiones inflamatorias. En concordancia con esta hipótesis, recientemente se ha demostrado que las plaquetas humanas activadas presentan un tipo de quimiotaxis que utiliza receptores funcionales para péptidos N-formilados liberados por las mitocondrias de células necróticas¹⁹.

El asma bronquial es una enfermedad inflamatoria crónica, en la que se presenta daño del epitelio de vías aéreas asociado con la infiltración bronquial de eosinófilos, linfocitos T y células cebadas. Una de las primeras evidencias de la posible participación de las plaquetas en el asma surge a partir del descubrimiento de la existencia de grandes cantidades de megacariocitos en biopsias de pulmón, obtenidas de pacientes fallecidos por *status asthmaticus*, y de la presencia de agregados plaquetarios con fibrina en la superficie luminal de las vías aéreas dañadas de estos pacientes^{20,21}. Consistente con esta teoría, otros estudios han mostrado activación plaquetaria, tanto en lavados broncoalveolares como en sangre periférica de pacientes alérgicos con asma^{22,23}. Además, es muy importante el papel de las plaquetas en la adhesión y el reclutamiento de los leucocitos en el asma bronquial²⁴; las plaquetas son requeridas para el reclutamiento de leucocitos en las vías aéreas en modelos experimentales de asma bronquial y hay una interacción entre leucocitos, plaquetas y células del endotelio vascular en esta enfermedad²⁵. Otros estudios han mostrado la participación de la P-selectina expresada en las plaquetas en el fenómeno del reclutamiento de eosinófilos, promoviendo la unión de estas células al endotelio vascular²⁶.

PARTICIPACIÓN PLAQUETARIA EN EL PROCESO DE REMODELACIÓN DE LAS VÍAS AÉREAS

La estructura y función de los tejidos comúnmente están alteradas en los procesos inflamatorios crónicos. En el asma bronquial, la inflamación crónica puede contribuir a cambios

en la arquitectura de las vías aéreas conocidos como remodelamiento de las vías aéreas y que, en el paciente asmático, se manifiestan como hipertrofia e hiperplasia de la musculatura lisa, hiperplasia epitelial, engrosamiento de la membrana basal epitelial asociada con depósito de inmunoglobulinas, fibronectina y colágenas tipo I y III. Debido a que las plaquetas contribuyen en la remodelación y reparación en otros órganos, desde hace tiempo se ha sugerido que también podrían participar en la remodelación tisular asociada al asma²⁷. La contracción de geles de colágena ha sido un modelo *in vitro* para el estudio de factores que participan en este proceso²⁸; utilizando este modelo, se ha podido establecer que la actividad de los fibroblastos para modificar componentes de la matriz extracelular depende de la interacción con macrófagos y plaquetas a través de los factores de crecimiento PDGF y TGF- β ^{29,30}. Más recientemente, utilizando ratones expuestos a ovoalbúmina aerosolizada, como modelo de inflamación alérgica crónica de vías aéreas, se ha demostrado que se requiere de la actividad plaquetaria para el remodelamiento de las vías aéreas en este modelo³¹.

ENFERMEDAD PULMONAR OBSTRUCTIVA CRÓNICA

La historia clínica de pacientes con EPOC muestra que aproximadamente 28% de ellos desarrolla complicaciones trombóticas en los vasos sanguíneos pulmonares, porcentaje que es mucho mayor cuando la EPOC está asociada a enfermedades cardiovasculares; se desconocen los mecanismos responsables de esta asociación, pero dos grupos de investigadores han vinculado la trombosis de pacientes con EPOC con un estado de hiperactivación plaquetaria³²⁻³⁴. Estudios posteriores de este mismo grupo, encontraron que algunas moléculas de origen plaquetario (y marcadoras de la actividad plaquetaria), tales como el deshidro-11-tromboxano B₂ (principal metabolito del tromboxano A₂ en orina) y la P-selectina soluble en plasma sanguíneo, se encuentran elevadas en estos pacientes^{35,36}.

Es muy probable que las alteraciones plaquetarias relacionadas con la EPOC involucren una

falla en la regulación de la actividad plaquetaria por parte del óxido nítrico. Actualmente se sabe que el óxido nítrico (NO), antes conocido como el factor relajante derivado del endotelio, es sintetizado por varias isoenzimas conocidas como las óxido nítrico sintetasas, presentes no sólo en el endotelio vascular, sino en una gran variedad de tejidos y células, incluyendo a las plaquetas³⁷. El NO· regula una gran diversidad de funciones, entre las que destaca la de inhibir la agregación y el reclutamiento de las plaquetas³⁸. En pacientes fumadores, se ha demostrado la existencia de un estado de hiperagregabilidad plaquetaria *in vitro* debida, al menos en parte, a una disminución en la formación de NO· por parte de las plaquetas, o a su inactivación por una excesiva producción de anión superóxido en dichos pacientes^{39,40}.

CONCLUSIÓN

En la actualidad, con la información que existe, se reconoce que las plaquetas intervienen de manera activa en diversos procesos fisiológicos y patológicos vinculados con la inflamación, la remodelación tisular y la defensa innata contra microorganismos. Estas características sugieren que las plaquetas también tienen una participación importante en patologías pulmonares, tales como el asma y la EPOC. La relativa sencillez en la obtención y manejo de las plaquetas las hace interesantes y atractivas para los estudios básicos de los mecanismos moleculares responsables de las alteraciones bioquímicas asociadas con diversas enfermedades respiratorias.

REFERENCIAS

1. Weyrich AS, Lindemann S, Zimmerman GA. *The evolving role of platelets in inflammation*. J Thromb Haemost 2003;1:1897-1905.
2. Weyrich AS, Zimmerman GA. *Platelets: signaling cells in the immune continuum*. Trends Immunol 2004;25:489-495.
3. Lewis JC, Maldonado JE, Mann KG. *Phagocytosis in human platelets: localization of acid phosphatase-positive phagosomes following latex uptake*. Blood 1976;47:833-840.
4. Zucker-Franklin. *Endocytosis by human platelets: metabolic and freeze-fracture studies*. J Cell Biol 1981;91:706-715.

5. Clawson CC, Rao GHR, White JG. *Platelet interaction with bacteria. IV. Stimulation of the release reaction.* Am J Pathol 1975;81:411-420.
6. Joseph M, Auriault C, Capron A, Vorng H, Viens P. *A new function of platelets: IgE-dependent killing of schistosomes.* Nature 1984;302:810-812.
7. Mesenguer J, Esteban MA, Rodríguez A. *Are thrombocytes and platelets true phagocytes?* Microsc Res Tech 2002;57:491-497.
8. Gear AR, Camerini D. *Platelet chemokines and chemokine receptors: linking hemostasis, inflammation, and host defense.* Microcirculation 2003;10:335-350.
9. Booyse FM, Rafelson ME. *Stable messenger RNA in the synthesis of contractile proteins in human platelets.* Biochim Biophys Acta 1967;145:188-190.
10. Gnatenko DV, Dunn JJ, McCorkle SR, Weissmann D, Perrotta PL, Bahou WF. *Transcript profiling of human platelets using microarray and serial analysis of gene expression.* Blood 2003;101:2285-2293.
11. Kieffer N, Guichard J, Farcet JP, Vainchenker W, Breton-Gorius J. *Biosynthesis of major platelets proteins in human blood platelets.* Eur J Biochem 1987; 164:189-195.
12. Lindemann S, Tolley ND, Dixon DA, et al. *Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1beta synthesis.* J Cell Biol 2001; 154:485-490.
13. Rosenwald IB, Pechet L, Han A, et al. *Expression and translation initiation factors e1F-4E and e1F-2alpha and a potential physiologic role of continuous protein synthesis in human platelets.* Thromb Haemost 2001; 85:142-151.
14. Brown EJ, Schreiber SL. *A signaling pathway to translational control.* Cell 1996; 86: 517-520.
15. Lindemann S, Tolley ND, Eyre JR, Kraiss LW, Mahoney TM, Weyrich AS. *Integrins regulates the intracellular distribution of eukaryotic initiation factor 4E in platelets: a checkpoint for translational control.* J Biol Chem 2001;276:33947-33951.
16. Paul A, Wilson S, Belham CM, et al. *Stress-activated protein kinases: activation, regulation and function.* Cell Signal 1997;9:403-410.
17. Kramer RM, Roberts EF, Strifler BA, Johnstone EM. *Thrombin induces activation of p38 MAP kinase in human platelets.* J Biol Chem 1995;270:27395-27398.
18. Brown SB, Clarke MC, Magowan L, Sanderson H, Savill J. *Constitutive death of platelets leading to scavenger receptor-mediated phagocytosis: a caspase-independent cell clearance program.* J Biol Chem 2000;275:5987-5996.
19. Czapiga M, Gao JL, Kirk A, Lekstrom-Himes J. *Human platelets exhibit chemotaxis using functional N-formyl peptide receptors.* Exp Hematol 2005;33:73-84.
20. Martin JF, Slater DN, Trowbridge EA. *Abnormal intra-pulmonary platelet production: a possible cause of vascular and lung disease.* Lancet 1983;1:793-796.
21. Beasley R, Roche WR, Roberts JA, Holgate ST. *Cellular events in the bronchi in mild asthma and after bronchial provocation.* Am Rev Respir Dis 1989; 139:806-817.
22. Metzger WJ, Sjoerdsma K, Richerson HB, et al. *Platelets in bronchoalveolar lavage from asthmatic patients and allergic rabbits with allergen-induced late phase responses.* Agents Actions Suppl 1987; 21:151-159.
23. Gresele P, Dottorini M, Selli ML, et al. *Altered platelet function associated with the bronchial hyper-responsiveness accompanying nocturnal asthma.* J Allergy Clin Immunol 1993;91:894-902.
24. Coyle AJ, Page CP, Atkinson L, Flanagan R, Metzger WJ. *The requirement for platelets in allergen-induced late asthmatic airway obstruction. Eosinophil infiltration and heightened airway responsiveness in allergic rabbits.* Am Rev Respir Dis 1990;142:587-593.
25. Pitchford SC, Yano H, Lever R, et al. *Platelets are essential for leukocyte recruitment in allergic inflammation.* J Allergy Clin Immunol 2003;112:109-118.
26. Ulfman LH, Joosten DP, van Aalst CW, et al. *Platelets promote eosinophil adhesion of patients with asthma to endothelium under flow conditions.* Am J Respir Cell Mol Biol 2003;28:512-519.
27. Morley J, Sanjar S, Page CP. *The platelet in asthma.* Lancet 1984;1:1142-1144.
28. Clark RA, Folkvord JM, Hart CE, Murray MJ, McPherson JM. *Platelet isoforms of platelet-derived growth factor stimulate fibroblasts to contract collagen matrices.* J Clin Invest 1989;84:1036-1040.
29. Zhu Y, Skold CM, Liu X, et al. *Fibroblast and monocyte macrophages contract and degrade three-dimensional collagen gels in extended co-culture.* Respir Res 2001;2:295-299.
30. Zagai U, Fredriksson K, Rennard SI, Lundahl J, Skold M. *Platelets stimulate fibroblast-mediated contraction of collagen gels.* Respir Res 2003;4:13.
31. Pitchford SC, Riffo-Vasquez Y, Sousa A, et al. *Platelets are necessary for airwall remodeling in a murine model of chronic allergic inflammation.* Blood 2004; 103:639-647.
32. Wedzicha JA, Syndercombe-Court D, Tan KC. *Increased platelet aggregate formation in patients with chronic airflow obstruction and hypoxemia.* Thorax 1991; 46:504-507.
33. Ferroni P, Basili S, Pulcinelli FM, et al. *In vivo thrombin generation and platelet hyperactivity in patients with chronic obstructive pulmonary disease.* Platelets 1994;5:276-277.
34. Basili S, Ferroni P, Pulcinelli FM, et al. *Potential usefulness of antiplatelet agents in patients with chronic obstructive pulmonary disease.* Thromb Res 1996; 4:279-284.
35. Davi G, Basili S, Vieri M, et al. *Enhanced thromboxane biosynthesis in patients with chronic obstructive pulmonary disease.* Am J Crit Care Med 1997;156:1794-1799.
36. Ferroni P, Basili S, Martini F, et al. *Soluble P-selectin as a marker of platelet hyperactivity in patients with chronic obstructive pulmonary disease.* J Investing Med 2000;48:21-27.
37. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. *An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelet regulates aggregation.* Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:5193-5197.

38. Freedman JE, Loscalzo J, Barnard MR, Alpert C, Keaney JF, Michelson AD. *Nitric oxide released from activated platelets inhibits platelet recruitment*. J Clin Invest 1997;100:350-356.
39. Ichiki K, Ikeda H, Haramaki N, Ueno T, Imaizumi T. *Long-term smoking impairs platelet-derived nitric oxide release*. Circulation 1996;94:3109-3114.
40. Takajo Y, Ikeda H, Haramaki N, Murohara T, Imaizumi T. *Augmented oxidative stress of platelets in chronic smokers. Mechanisms of impaired platelet-derived nitric oxide bioactivity and augmented platelet aggregability*. J Am Coll Cardiol 2001;38:1320-1327.

Correspondencia:

Dr. Alberto M. Guzmán Grenfell,
Laboratorio de Bioquímica
Inorgánica. Departamento de
Investigación en Contaminación
del Aire y Salud Respiratoria.
Instituto Nacional de Enfermedades
Respiratorias, Calzada de Tlalpan
4502, colonia Sección XVI. México,
D.F. 14080.
e-mail: aguzman@iner.gob.mx