

Análisis estadístico de los resultados de una investigación de los efectos de la influencia de la contaminación atmosférica sobre indicadores biológicos en escolares de sexo masculino

C. Silva¹, A. Trier², F. Ruiz³, N. Vargas⁴ y L.A. Videla⁵

ABSTRACT: *In search of human biological indicators of exposure to air pollution an exploratory analytical study was carried out. A population of male schoolchildren aged 10 to 14 has been investigated in downtown Santiago de Chile; a similar control group was investigated in a rural community. Volunteer groups numbering 114 and 51 respectively, were selected: samples of venous blood and of saliva were obtained from the subjects. Immunological and biochemical variables were determined in the samples; the immunological variables measured blood macrophage activity. Anthropometric measurements were made and Quetelet's index computed. Determinations of airborne particulate pollution were carried out by dichotomous sampling at both locations: air quality was found to be significantly different.*

Global results and their statistical analysis are summarized: three alternative methodologies are discussed which would allow for differences in nutritional status between the two populations affecting the response levels in the main variables. Immunoglobulin concentrations and complement factors C3 and C4 prove not to be effective biological indicators of exposure to airborne particles. On the other hand it cannot be ruled out that variables: phagocytosis index, % killing, plasma antioxidant capacity, methemoglobin, Fe concentration in blood dry matter and others may serve as such indicators. The joint variations of phagocytosis index and % killing indicate a significant oxidative stress.

RESUMEN: *Con el objeto de buscar indicadores biológicos humanos de los efectos de la contaminación atmosférica se ha ejecutado un proyecto analítico exploratorio con poblaciones escolares en el centro de la ciudad de Santiago y en la comuna rural de María Pinto (Región Metropolitana). Se trabajó con 114 voluntarios escolares varones entre 10 y 14 años en el Instituto Nacional en Santiago y con un grupo de control, similar, de 51 escolares en María Pinto. En sangre venosa y saliva obtenidas de estos voluntarios se hicieron determinaciones de variables inmunológicas, hematológicas y bioquímicas y medición de la actividad fagocítica del macrófago de sangre periférica. Se hicieron igualmente determinaciones antropométricas. Se determinó también factores de contaminación atmosférica por partículas en ambos lugares; se comprobó que la calidad de aire es significativamente diferente en ellos.*

Se resumen los resultados globales del proyecto y su análisis estadístico: se discuten tres metodologías alternativas que permitirían tomar en cuenta diferencias de estado nutricional entre ambas poblaciones que pudieran afectar los niveles de respuesta en las variables principales. Las concentraciones de inmunoglobulinas y los factores de complementos C3 y C4 no se muestran como indicadores biológicos efectivos de la contaminación por partículas en la atmósfera. Subsiste la posibilidad de que las variables: capacidad antioxidante del plasma, metahemoglobina, hematocrito, concentración de Fe en materia seca de sangre y otras puedan servir como tales indicadores. Las variaciones conjuntas del índice de fagocitosis y del % de killing evidencian un significativo stress oxidativo.

¹Departamento de Matemática y C.C. Facultad de Ciencia. U. de Santiago de Chile.

²Departamento de Física. Facultad de Ciencia. U. de Santiago de Chile.

³Departamento de Preclínicos (Unidad de Fisiopatología). Div. de Ciencias Médicas Occidente. Facultad de Medicina. U. de Chile.

⁴Departamento de Salud Pública. Div. de Ciencias Médicas Occidente. Facultad de Medicina. U. de Chile.

⁵Departamento de Ciencias Biológicas (Unidad de Bioquímica). Div. de Ciencias Médicas Occidente. Facultad de Medicina. U. de Chile.

Proyecto 1151/84 de FONDECYT

INTRODUCCIÓN

La contaminación atmosférica ha alcanzado, en la ciudad de Santiago de Chile, una intensidad que está motivando la intervención de organismos de Estado y que produce alarma en la opinión pública (1, 2, 3). Una interrogante, siempre presente, es el efecto que esta contaminación tiene sobre el estado de salud de la población (4). En relación con este problema se ha planteado la existencia de alteraciones significativas de ciertos indicadores fisiológicos, biológicos o químicos en poblaciones afectadas por contaminación atmosférica (5). En la presente investigación se exploró la

posibilidad de utilizar una variable fisiológica en el ser humano: la actividad fagocítica del macrófago, determinada en sangre venosa, como indicador de alteraciones debidas a la exposición a partículas respirables (6) en suspensión en la atmósfera. Fue necesario trabajar sobre el macrófago sanguíneo en vez del macrófago alveolar pulmonar por razones de disponibilidad de recursos experimentales y limitaciones de carácter ético. En conjunto con indicadores de la actividad del macrófago sanguíneo se han determinado otras variables —antropométricas, hematológicas y bioquímicas— cuyo conocimiento sirve propósitos de control. Las conclusiones del trabajo se basaron en la comparación de estos indicadores para las siguientes poblaciones:

I. Población de estudio: Escolares varones, entre 10 y 14 años, del Instituto Nacional (IN) en Santiago. Tamaño muestral: N = 114.

II. Población control: Escolares varones, en el mismo grupo de edad, de un establecimiento educacional municipal en la comuna rural de María Pinto (MP), Región Metropolitana. Tamaño muestral: N = 51.

La elección de estas poblaciones estuvo basada en ciertas presunciones, algunas de las cuales se explicitan a continuación:

- a) La contaminación atmosférica es, cuantitativamente, menos intensa, cualitativamente distinta en medio rural que en medio urbano;
- b) Una población escolar es controlable y —a partir de cierta edad— abordable mediante encuestas y sensible a solicitudes de cooperación, en particular, la entrega voluntaria de muestras de sangre;

- c) Una población escolar de varones, entre los 10 y los 14 años de edad, incluye pocos púberes y fumadores habituales. Tal población no está afectada por fenómenos menstruales.

VARIABLES INVESTIGADAS

Las encuestas, la toma de muestras y las mediciones antropométricas se hicieron en abril y mayo de 1985 en MP y desde mayo a junio en IN. En noviembre de 1984 se hizo trabajo preliminar con un pequeño número de sujetos en IN. Las variables estudiadas y su expresión, se muestran en la Tabla 1. La medición de estas variables en las poblaciones descritas en la introducción se complementó con análisis elemental de partículas atmosféricas respirables e inhalables en MP y en IN, hechas entre abril y junio de 1984.

Como las variables antropométricas, peso y talla, podrían inducir diferencias significativas entre IN y MP en muchas de las variables investigadas, por ser aquéllas reflejo del estado de nutrición de los sujetos, se buscó incorporar directamente al análisis este aspecto. Para este propósito se computó en cada caso el índice de Quetelet (7, 8, 9, 10), definido por la relación $IQT = \text{peso} / (\text{talla})^2$. Para los análisis estadísticos se empleó el paquete SAS (Statistical Analysis System (11)).

TRABAJO DE CAMPO

- I. Determinaciones en partículas atmosféricas respirables. Se empleó muestreo dicotómico de aire (12, 13) con

Tabla 1
VARIABLES INVESTIGADAS Y SU EXPRESIÓN

Variables	Unidad
<i>Antropométricas</i>	
Peso	kg
Talla	cm
IQT	Convencional
<i>Hematológicas (en sangre venosa)</i>	
Hemoglobina	g/dl
Hematocrito	%
Leucocitos totales	#/mm ³
Basofilos	%
Eosinofilos	%
Baciliformes	%
Segmentados	%
Linfocitos	%
Monocitos	%
Metahemoglobina	% de Hemoglobina total
Índice de lipoperoxidación	nmol de Malondialdehidog/ Hemoglobina
Capacidad antioxidante del plasma	%
<i>Analíticas (en materia seca de sangre venosa)</i>	
Concentración de P, S, K, Fe, Cu	Convencional
<i>Inmunológicas (en sangre venosa)</i>	
Índice de fagocitosis	—
% de Killing	%
Factores de complemento C3 y C4	mg/dl
Inmunoglobulinas IGC, IGM e IGA	mg/dl
Inmunoglobulina IGAS (en muestras de saliva)	mg/dl

posterior análisis elemental por fluorescencia de rayos X (FRX).

II. Determinación de variables en escolares. Los sujetos fueron seleccionados mediante una encuesta especialmente preparada para el objeto, excluyendo a individuos enfermos agudos o crónicos, a aquellos que estaban ingiriendo medicamentos y a quienes admitieron fumar. A los sujetos seleccionados, que así lo aceptaron voluntariamente, se les extrajo una muestra de 10 ml de sangre venosa. Se les tomó también una muestra de saliva y se les determinó peso corporal y talla. A fin de asegurar resultados fidedignos se instaló, transitoriamente, un laboratorio de campaña en un consultorio de salud de la localidad de María Pinto.

MÉTODOS ESTADÍSTICOS

En este trabajo se enuncian algunos problemas de metodología estadística hallados en la investigación, de las soluciones planteadas y los principales resultados obtenidos. Se da sólo una breve discusión de los resultados, pues su fundamentación bioquímica detallada se presentó en publicación aparte (14).

Los resultados del análisis cualitativo de muestras de aire se presentan en la Tabla 2; no se dispone de mediciones comparativas de la concentración de masa de partículas atmosféricas. Se puede inferir (12, 13, 15) de la Tabla 2 que la concentración, en la fracción fina (respirable) de la materia atmosférica en suspensión, de partículas ricas en elementos de la corteza terrestre (en especial Si, K, Fe) es cerca de dos veces mayor en IN. La concentración de partículas ricas en sulfatos es casi un orden de magnitud mayor en IN. Se presenta en Tabla 3 el promedio aritmético, la desviación típica, la mediana y los valores extremos, respectivamente, para cada colección de observaciones. Se excluyen tres casos de IN que presentaron algunos valores anómalos. Las diferencias entre promedios y medianas indican asimetría de las distribuciones de casi todas las variables de ambos grupos. Para juzgar objetivamente la sospecha de no-normalidad se aplicó en cada caso la dócima de Kolmogorov-Smirnov (16), que se basa en la determinación de la máxima discrepancia, D, entre la función de distribución empírica $F_N(X)$ y la función de distribución teórica $F(X)$ de una variable, en la hipótesis que ella tenga un comportamiento normal (gaussiano) con esperanza y varianza iguales a las encontradas en la muestra estudiada:

$$D = \sup_X | F_N(X) - F(X) |$$

Tabla 2
ANÁLISIS CUALITATIVO DE MUESTRAS DE POLVO ATMOSFÉRICO
POR FLUORESCENCIA DE RAYOS X (FRX)

Comparación de los análisis de las fracciones fina (respirable) y gruesa (inhalable).

I. COEFICIENTES DE VARIACIÓN POR ELEMENTO

Fracción	Localidad	AL	SI	S	K	CA	TI	FE	ZN	PB	BR
F	MP	(B)	26	22	24	15	(B)	21	(C)	24	(C)
F	IN	54	42	38	33	28	12	39	47	35	34
G	MP	41	39	64	33	39	(B)	35	(C)	(C)	(C)
G	IN	48	48	40	34	41	36	39	65	32	30

II. RELACIÓN IN/MP DE PROMEDIOS DE INTENSIDADES NETAS FRX.

	SI	S	K	CA	FE	PB
F	2.5	7.6	2.0	1.8	1.7	4.9
G	1.0	7.6	0.8	1.8	1.0	(C)

(A) Se dispone de 16 muestras para IN y de 9 muestras para MP.

(B) No se determinó.

(C) No se detectó.

En la Tabla 4 se presentan los niveles de significación empíricos (valores P) hallados en cada una de las aplicaciones del método a los resultados obtenidos. Adoptando la convención de considerar evidencia de no-normalidad de la distribución poblacional de valores de una variable el tener, a partir de la muestra, un valor P menor o igual a 0.15, se tiene que, salvo talla e IGA, todas las variables estudiadas

presentan evidencia de no-normalidad en uno o en ambos grupos. Esta conclusión implica que sería impropio la aplicación de, por ejemplo, el análisis de correlación lineal de Pearson. Siendo de interés estudiar la asociación entre variables se ha recurrido al uso del coeficiente de correlación por rangos.

Tabla 3
PROMEDIOS, DESVIACIONES TÍPICAS, MEDIANAS,
MÍNIMOS Y MÁXIMOS SEGÚN LOCALIDAD

Variable	Loc	Promedio	Desviación Típica	Mediana	Mín.	Máx.
Peso	IN	51,5	7,95	50,7	34,8	79,3
	MP	37,7	7,20	35,5	28,6	59,3
Talla	IN	163,5	7,90	163,5	145,0	182,5
	MP	143,4	8,88	142,0	132,0	168,0
IQT	IN	19,2	2,07	18,7	15,5	24,9
	MP	18,2	1,53	17,8	15,5	23,0
C3	IN	96,7	14,60	100,0	56,4	143,0
	MP	92,6	14,00	93,7	39,5	136,0
C4	IN	24,6	8,78	23,3	9,3	54,2
	MP	26,7	7,18	27,2	14,2	42,3
IGG	IN	1.461	248	1.454	925	2.088
	MP	1.563	326	1.556	953	2.620
IGM	IN	151,6	40,70	145,0	78,0	276,0
	MP	161,6	43,80	151,0	87,0	280,0
IGA	IN	301,4	75,91	297,0	142,0	519,0
	MP	305,3	70,60	305,0	191,0	513,0
IGAS	IN	7,7	4,62	6,4	2,2	30,8
	MP	8,2	4,07	7,6	3,0	22,7
Hemoglobina	IN	16,0	2,84	16,0	10,3	25,0
	MP	16,1	4,34	14,0	10,6	29,0
Hematocrito	IN	47,4	5,22	48,0	36,0	59,0
	MP	41,7	5,84	42,0	23,0	52,0
Glóbulos blancos	IN	6.033	1.504	5.920	3.275	15.100
	MP	7.824	1.704	7.600	4.500	13.800
Eosinófilos	IN	3,2	2,48	3,0	0,0	15,0
	MP	6,3	4,35	6,0	0,0	22,0
Metahemoglobina	IN	0,72	0,62	0,50	0,04	2,40
	MP	1,33	0,75	1,30	0,14	2,80
Ind Fagocitosis	IN	1,8	0,83	1,7	0,3	4,1
	MP	3,5	0,52	3,6	2,5	4,6
% Killing	IN	20,3	17,20	14,9	1,3	89,1
	MP	8,9	4,28	8,5	1,9	23,3
X	IN	33,2	23,7	26,7	2,3	100,0
	MP	31,1	15,0	28,0	7,9	76,7
Ind Peroxidación	IN	11,4	4,83	10,1	5,0	28,0
	MP	10,2	3,44	9,2	4,8	20,6
Cap. antioxidante del plasma	IN	36,5	20,22	33,0	3,0	93,0
	MP	59,5	17,41	64,0	19,0	94,0
P	IN	470,1	105	480,0	271,0	821,0
	MP	175,5	72	164,0	46,0	463,0
S	IN	2.828	361	2.809	2.179	4.662
	MP	1.818	301	1.831	1.110	2.489
K	IN	2.216	241	2.204	1.462	3.205
	MP	1.668	257	1.687	970	2.464
FE	IN	2.735	357	2.703	1.776	4.154
	MP	2.566	368	2.476	1.951	4.010
CU	IN	127	19,0	127	74	238
	MP	125	17,1	126	78	169

Nota: X es el producto de % Killing e índice de fagocitosis.

En la Tabla 5 se presentan los valores de R para variables inmunológicas e IQT versus variables antropométricas y hematológicas. Se ha codificado el nivel de significación empírico en la siguiente forma: ** si $P < 0,01$; * $0,01$

Tabla 4
DOCIMAS DE NORMALIDAD.
VALORES P POR LOCALIDAD

Variable	Localidad	
Peso	0,01	< 0,01
Talla	> 0,15	0,15
IQT	< 0,01	0,12
C3	< 0,01	< 0,01
C4	< 0,01	0,01
IGG	> 0,15	0,13
IGM	0,10	0,05
IGA	> 0,15	> 0,15
IGAS	< 0,01	< 0,01
Hemoglobina	0,02	< 0,01
Hematocrito	0,04	0,02
Glóbulos blancos	< 0,01	0,04
Eosinofilos	< 0,01	< 0,01
Metahemoglobina	< 0,01	0,03
Índice fagocitosis	0,01	0,14
Porcentaje Killing	< 0,01	< 0,01
X	< 0,01	> 0,15
Índice Peroxidación	< 0,01	0,02
Cap antioxid plasma	< 0,01	< 0,01
P	> 0,15	0,03
S	0,01	> 0,15
K	0,06	> 0,15
FE	0,06	< 0,01
CU	0,01	> 0,15

Nota 1: Se rechaza la hipótesis de normalidad si $P < 0,15$.

Nota 2: X = producto de % Killing e índice de fagocitosis.

< $P < 0,05$ y blanco en otro caso. Destacan en esta tabla las asociaciones de IQT con peso y talla —de esperar— y con hematocrito; de IGAS con hematocrito y con metahe-moglobina (en direcciones opuestas); de IGC con glóbulos blancos y con índice de fagocitosis; y de C3 con IQT y con peso. En la Tabla 6 se muestran los valores de R para variables bioquímicas, antropométricas, hematológicas e inmunológicas, codificando P en la forma ya descrita.

En estas tablas se observa:

- La asociación de Fe con las variables antropométricas, además de hematocrito y de metahemoglobina;
- La asociación de P, S y K con las variables antropométricas y hematológicas, salvo hemoglobina e índice de peroxidación; y
- Ciertas asociaciones de las variables inmunológicas índice de fagocitosis y % de Killing con las variables hematológicas capacidad antioxidante de plasma e índice de liperoxidación.

Es de interés fundamental en este trabajo detectar el efecto diferencial de la contaminación ambiental sobre los indicadores fisiológicos, biológicos o químicos en el ser humano. Deben ser comparados, entonces, los grupos IN y MP para cada uno de tales indicadores. Se trata de determinar si la distribución de valores de un indicador, digamos X, en IN es claramente distinguible de la distribución de los valores de X en la población MP. No estando, en general, las variables distribuidas normalmente en ambas poblaciones debe recurrirse a algún procedimiento no-paramétrico de comparación, por ejemplo la dódima de suma de rangos de Wilcoxon (6). Ésta consiste, básicamente, en asignar rangos —de menor a mayor— a las observaciones de ambas muestras (IN y MP) reunidas, sumar los rangos correspondientes a cada una de las muestras, calcular la estadística S (la menor de estas dos sumas) y determinar el nivel de significación empírico correspondiente bajo el supuesto de igualdad de ambas distribuciones. Para un número N de observaciones suficientemente grande la distribución de una función sencilla y conocida de S puede

Tabla 5
DÓCIMAS DE ASOCIACIÓN. CORRELACIONES DE SPEARMAN
(I PARTE)

	C3	C4	IGG	IGM	IGA	IGAS	IQT	CAP	X
IQT	0,36**	0,08	0,04	0,02	-0,08	-0,09	—	-0,05	0,13
Peso	0,31**	-0,01	-0,04	-0,02	-0,02	-0,09	0,70**	-0,26**	-0,01
Talla	0,15*	-0,07	-0,09	-0,03	0,04	-0,07	0,31**	-0,36**	-0,10
Hemoglobina	-0,04	0,08	-0,02	0,03	-0,02	-0,14	0,08	-0,27**	0,20*
Hematocrito	0,02	-0,06	-0,19*	-0,00	-0,00	-0,27**	0,22**	-0,27**	0,03
Glóbulos blancos	0,03	0,17*	0,25**	0,11	0,06	0,07	-0,02	0,33**	0,12
Eosinofilos	0,07	-0,08	0,00	-0,05	-0,05	0,02	0,17*	-0,15	0,11
Metahemoglobina	-0,04	0,10	0,13	0,15	0,14	0,26**	-0,07	0,14	0,13
Índice fagocitosis	-0,21*	0,14	0,24**	0,17*	0,08	-0,07	-0,13	0,33**	0,24**
Porcentaje Killing	-0,07	-0,18*	-0,09	0,03	0,00	0,09	0,19*	-0,35**	0,72**
Índice peroxidación	0,06	-0,06	-0,08	-0,04	-0,05	-0,01	-0,00	0,06	-0,32**
Cap antioxid. plasma	0,07	0,11	0,09	0,08	0,13	-0,01	-0,05	—	-0,16*

Nota 1: ** indica que $P < 0,01$; * indica que $0,01 < P < 0,05$.

Nota 2: X = producto de % Killing e índice de fagocitosis.

Tabla 6
DÓCIMAS DE ASOCIACIÓN
CORRELACIÓN DE SPEARMAN (II PARTE)

Variable	P	S	K	FE	CU
IQT	0,16	0,26**	0,22**	0,23**	-0,04
Peso	0,60**	0,60**	0,62**	0,39**	-0,08
Talla	0,65**	0,63**	0,67**	0,35**	-0,05
Hemoglobina	0,06	0,01	0,07	0,08	-0,08
Hematocrito	0,42**	0,32**	0,41**	0,29**	0,10
Glóbulos blancos	-0,40**	-0,36**	0,29**	-0,07	-0,12
Eosinófilos	0,24**	0,22**	0,20*	0,07	0,09
Metahemoglobina	-0,41**	-0,37**	-0,30**	-0,10	-0,12
Índice fagocitosis	-0,65**	-0,64**	-0,56**	-0,24**	0,01
Porcentaje Killing	0,40**	0,36**	0,33**	0,16	-0,05
X	-0,05	-0,08	-0,03	-0,07	-0,06
Índice Peroxidación	0,13	0,23**	0,12	0,08	0,09
Cap. antiox. plasma	-0,36**	-0,37**	-0,30**	-0,14	0,06
C3	0,17*	0,15	0,19*	0,16	-0,10
C4	0,16*	-0,22**	-0,16*	-0,03	-0,06
IGG	-0,10	-0,06	-0,06	-0,05	-0,10
IGM	-0,07	-0,03	-0,06	-0,06	0,03
IGA	0,01	-0,02	-0,04	0,10	0,05
IGAS	-0,06	-0,04	-0,02	0,03	-0,10

Nota 1: **indica que $P < 0,01$; * indica que $0,01 < P < 0,05$.

Nota 2: X = Producto de % Killing e índice de fagocitosis.

aproximarse mediante una distribución normal reducida (Z) (16).

En la Tabla 7, primera columna, se señalan las diferencias significativas entre IN y MP en términos de cada variable (usando la codificación ya descrita). Se observa que la población MP está en un nivel significativamente inferior a la población IN respecto a las variables IQT, Peso, Talla, Hematocrito, % Killing, Fagocitos, P, S, K y Fe; la situación se invierte (MP > IN) para los indicadores glóbulos blancos, eosinófilos, metahemoglobina, índice de fagocitosis y capacidad antioxidante de plasma.

Como se detectó asociación significativa entre estado nutricional (medido por IQT) y las variables hematocrito, % Killing, S, K, Fe y C3, se podría sospechar que las diferencias significativas (entre IN y MP) para estas variables son atribuibles sólo a diferencias en IQT. Análisis de covarianza adicionales, usando IQT como covariable, disipan esta duda. Por ejemplo, en la Figura 1 se grafican las observaciones de % Killing versus IQT y las medianas de ambos grupos. Para "limpiar" el % Killing de la influencia lineal de IQT podemos ajustar mediante cuadrados mínimos un modelo que relacione ambas variables y, a continuación, determinar si los residuos (% Killing ajustado por IQT) correspondientes a ambos grupos (graficados en la Figura 2) difieren significativamente en posición relativa (dócima de Wilcoxon). Este tipo de análisis fue aplicado a las principales variables del estudio y sus resultados se registran en la segunda columna de la Tabla 7. Comparando esta columna con la precedente observamos que, en general, no hay cambios en cuáles son las variables que difieren significativamente de una población a la otra. Esto muestra-

ría desde una perspectiva estadística que no han sido la diferencia en IQT y la asociación de IQT con las otras variables —principalmente las inmunológicas— las causantes de las diferencias mostradas en la primera columna. Esto es consecuente con los hallazgos clínicos que muestran que la nutrición influye en la actividad inmunológica sólo en casos de desnutrición extrema (17), los que no se hacen presente en este estudio.

Se intentaron análisis de covarianza similares utilizando peso y talla, conjuntamente y por separado, como covariables; para ilustración se resumen en la tercera columna de la Tabla 7 los resultados obtenidos usando talla como covariable. Se observa que muchas diferencias que aparecían como significativas ya no lo son; cabe preguntarse si no se habrá caído en un sobreajuste. Las Figuras 3 y 4 aclaran este punto: en la primera se nota una clara distinción, en talla, entre ambos grupos y una falta de paralelismo entre las tendencias al interior de ellos. Por tales razones, el ajuste por una recta trata las muestras desigualmente produciendo un enmascaramiento de la diferencia en % Killing como se observa en Figura 4.

Una alternativa de análisis muy conveniente y fácilmente aprehensible fue propuesta por Roberts (18). Subdividida la muestra conjunta en varios grupos de acuerdo al valor de la covariable que se considera relevante, se utilizan el promedio y la desviación típica de la variable bajo análisis para tipificarla dentro de cada grupo en particular. Es decir, se sustituye valores $Y_{(i)}^{(K)}$ por nuevos valores $Z_{(i)}^{(K)}$ ($Y_{(i)} - Y_{(i)}/S_{(i)}$) donde I identifica al grupo definido por los valores de X, J identifica al individuo dentro de ese grupo y K identifica a la población.

Tabla 7
COMPARACIÓN DE LAS DOS MUESTRAS
VALORES Z

Variable	(A)	(B)	(C)
IQT	-3,08**	—	1,04
Peso	-8,12**	-8,54**	1,74
Talla	-9,04**	-8,78**	—
Hemoglobina	-1,56	-1,69	2,67**
Hematocrito	-5,14**	-4,51**	0,59
Glóbulos blancos	6,67**	6,41**	2,77*
Eosinófilos	5,22**	4,89**	1,85
Metahemoglobina	5,14**	5,12**	1,50
Índice fagocitosis	8,85**	8,39**	4,50**
Porcentaje Killing	-5,54**	-4,57**	0,20
Fagocitos	6,35**	6,00**	3,01**
% Killing · Fagocitos	-2,84*	-2,38*	0,85
Índice Peroxidación	-0,96	-0,69	-0,09*
Cap. antioxid. plasma	6,21**	6,30**	3,45**
P	-9,68**	-9,61**	5,25**
S	-9,79**	-9,49**	4,86**
K	-8,73**	-8,43**	3,57**
FE	-3,70**	-3,29**	0,45
CU	-0,72	-0,98	1,10
C3	-1,83	-0,45	0,52
C4	2,01*	2,30*	1,90
IGG	1,77	2,02*	0,57
IGM	1,31	1,41	1,06
IGA	0,36	0,12	1,16
IGAS	2,25*	0,87	0,79

Nota **indica que $P < 0,01$; * indica que $0,01 < P < 0,05$.

(A) Aprox. normal para análisis de varianza no paramétrico (Wilcoxon).

(B) Aprox. normal para análisis de covarianza no paramétrico basado en IQT.

(C) Aprox. normal para análisis de covarianza no paramétrico basado en TALLA.

En nuestra situación subdividimos los casos (de ambas poblaciones) aproximadamente en cuartas partes referidas a valores enteros de IQT (Tabla 8). Los promedios y desviaciones típicas correspondientes a % Killing en cada uno de estos grupos demuestran en la Tabla 8.

Los valores tipificados tuvieron un promedio 0,24 en los 99 casos de IN y -0,46 en MP con desviaciones típicas de 1,13 y 0,31, respectivamente, resultando así $Z = -4,75$ ($P 0,78 0,0001$, décima de Wilcoxon). Esto confirma los resultados presentados previamente y es aplicable, en forma similar, a las otras variables de interés.

DISCUSIÓN

Las tres estrategias de análisis estadístico descritas presentan ventajas y desventajas:

- I. La comparación directa de las poblaciones en cuanto a posición por el método de Wilcoxon obvia el problema de falta de normalidad de las distribuciones de datos pero puede ignorar, inadvertidamente, la presencia de alguna covariable muy influyente.
- II. El análisis de covarianza combinado con la décima de

Tabla 8
PUNTAJES TIPIFICADOS DE % KILLING
CONTROLANDO POR IQT

Tramos	N	Pro-medio	Desv. típica	% Killing tipificado	
				IN	MP
IQT ≤ 17	24	13,8	14,8	—	—
17 < IQT ≤ 18	40	12,2	9,9	—	—
18 < IQT ≤ 20	58	19,4	16,9	—	—
IQT > 20	40	18,2	16,3	—	—
Total	—	—	—	0,24(1,13)	-0,46(0,31)

Wilcoxon controla tanto la influencia de la covariable como la no-normalidad, pero puede producir sobrecorrección o distorsión si las muestras difieren en el nivel de la covariable o si no hay paralelismo en las relaciones variable versus covariable entre ambos grupos:

- III. Los valores estandarizados pueden cumplir una función equivalente al análisis de covarianza con limitaciones similares y un mayor requerimiento de trabajo aritmético previo.

En resumen estas metodologías estadísticas permiten salvar algunas dificultades inherentes a los datos analizados en ésta u otras situaciones similares, pero demandan un cuidadoso análisis preliminar de sus potenciales ventajas o desventajas en el caso particular que se enfrenta.

Desde el punto de vista biológico el presente estudio mostró (14) que los estudiantes expuestos a mayor contaminación tienen mayor actividad de macrófagos sanguíneos periféricos al mismo tiempo que un índice de fagocitosis más bajo. Estos estudiantes (son los de la ciudad de Santiago) muestran también una capacidad antioxidante del plasma (CAP) significativamente menor, lo que podría indicar la aparición de stress oxidativo. Por lo demás, hay que anotar que las diferencias de estado nutricional entre ambas poblaciones hacían esperar una relación de CAP justamente inversa.

Los resultados obtenidos no permiten sostener la hipótesis de que las variables: concentración de inmunoglobulinas y factores de complemento pueden servir como indicadores de alteraciones debidas a exposición a partículas respirables. Subsiste, sin embargo, la posibilidad de que las variables índice de fagocitosis, % de Killing, capacidad antioxidante del plasma, hematocrito, concentración de Fe en materia seca de sangre y otras, incluyendo algunas no estudiadas en el presente trabajo, puedan servir como tales indicadores. Estas consideraciones señalan el camino para investigaciones adicionales.

La indudable asociación entre muchas de las variables estudiadas plantea un desafío de análisis estadístico multivariante. Los respectivos métodos requieren, típicamente, una distribución normal de los datos, condición que no se da para las variables investigadas aquí. Se necesitaría, por lo tanto, un estudio previo de transformaciones normalizadoras, afectando la interpretabilidad directa de algunos resultados. El análisis multivariante se presenta así como una tarea diferente en naturaleza y en contenido a la que se resume en el presente trabajo.

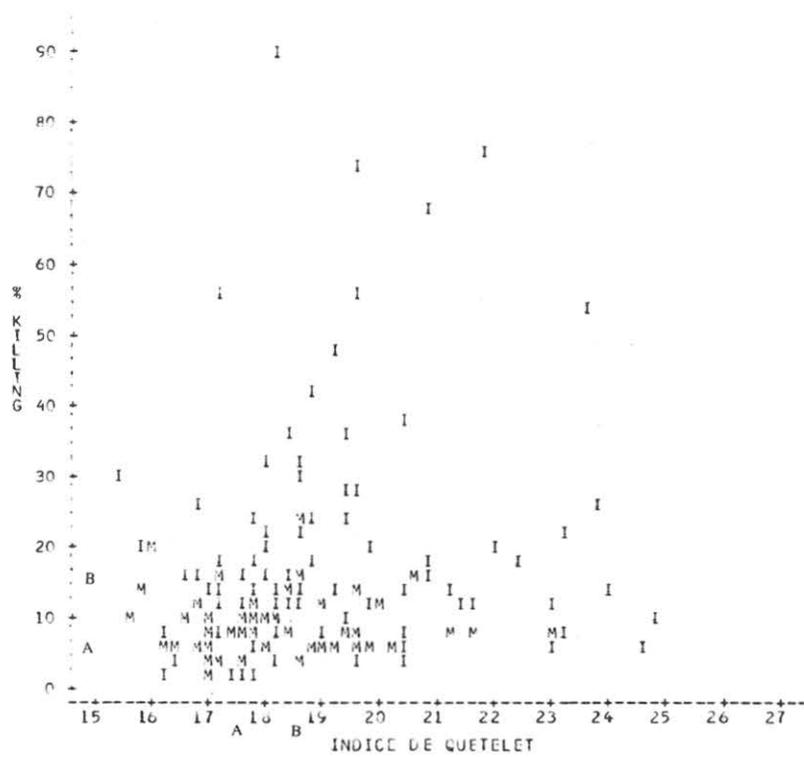


Figura 1. Porcentaje de Killing vs. índice de Quetelet según localidad.
 A: Mediana en María Pinto.
 B: Mediana en Instituto Nacional.

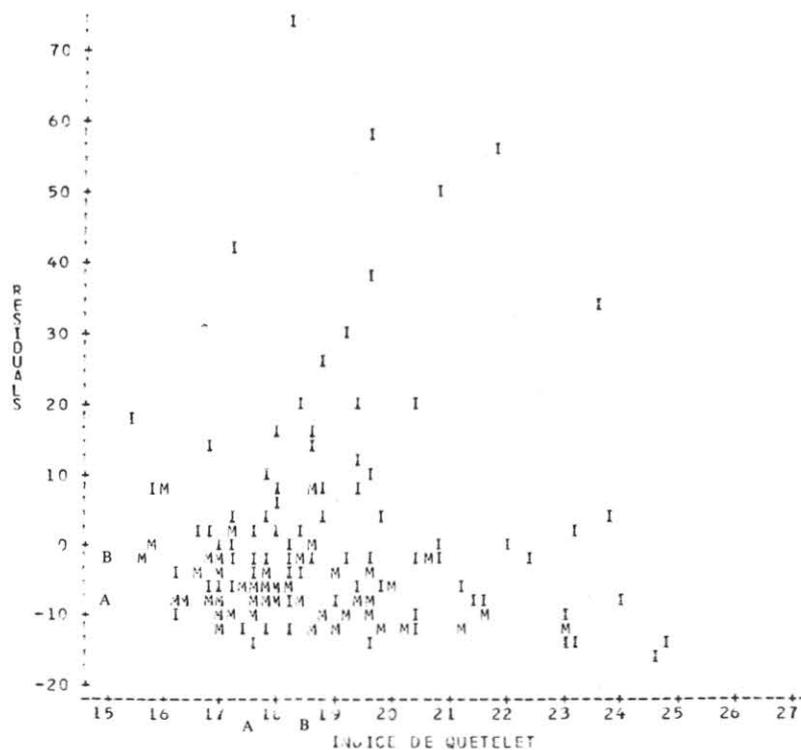


Figura 2. Residuo de la regresión de % Killing sobre índice de Quetelet graficado vs. ese índice.
 A: Mediana en María Pinto.
 B: Mediana en Instituto Nacional.

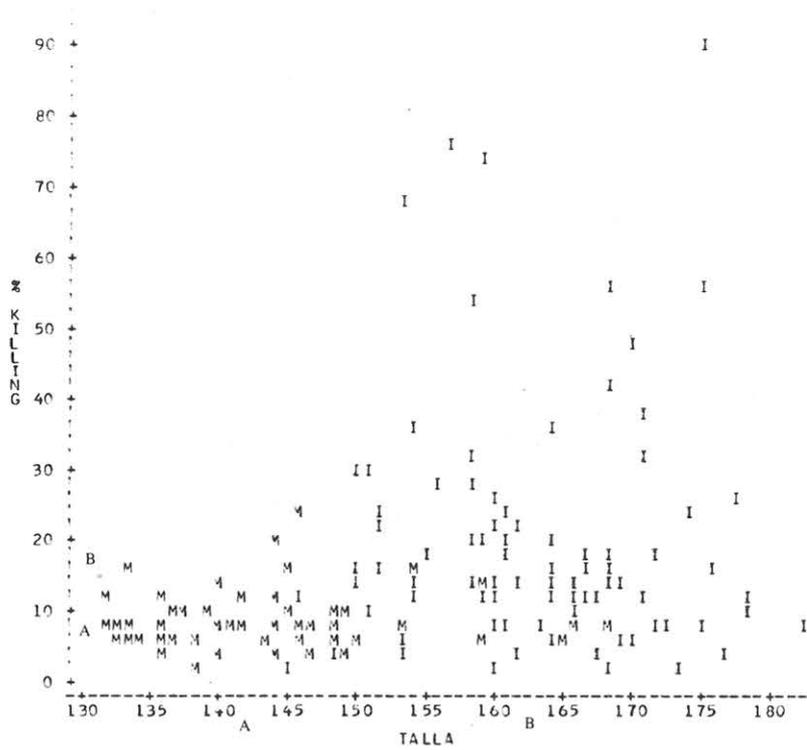


Figura 3. Porcentaje de Killing vs. talla.
 A: Mediana en María Pinto.
 B: Mediana en Instituto Nacional.

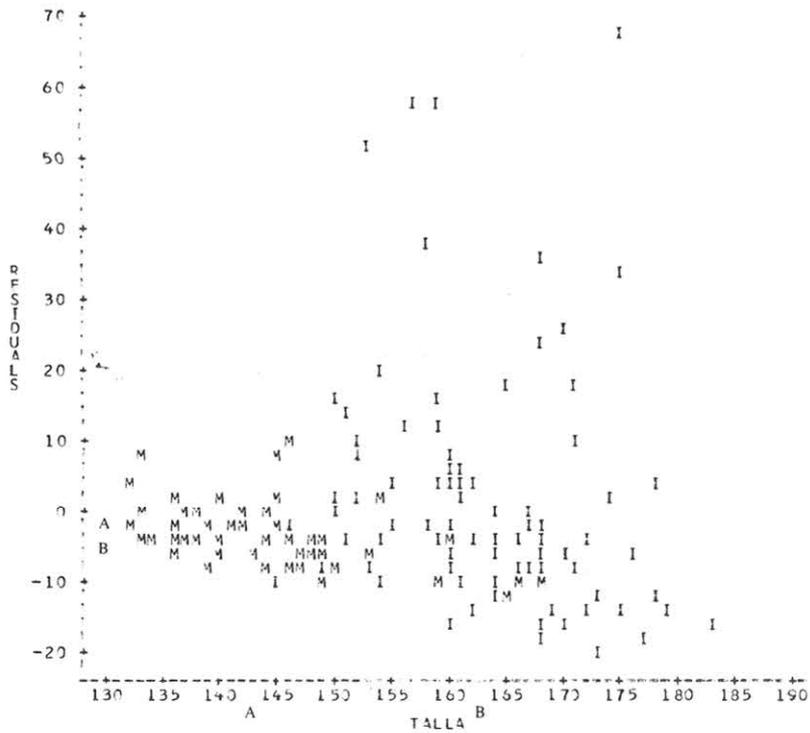


Figura 4. Residuo de la regresión de % Killing sobre talla graficado vs. talla.
 A: Mediana en María Pinto.
 B: Mediana en Instituto Nacional.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer el apoyo otorgado por la señora Secretaria Ministerial Regional de Educación, el señor Alcalde y funcionarios municipales de la comuna de María Pinto, el señor Rector de Instituto Nacional, la señora Directora de la Escuela Municipal de María Pinto y el personal así como los alumnos de ambos establecimientos. Desean agradecer especialmente a los 165 voluntarios escolares que aportaron las muestras de sangre y saliva que permitieron realizar el trabajo aquí presentado.

Este trabajo fue financiado con aportes del Fondo Nacional (Proyecto 1151/84 (A.T.)), del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Santiago de Chile (C.S.; A.T.), y el Departamento de Investigaciones y Bibliotecas de la Universidad de Chile (proyecto B - 1860 (L.A.V.)).

Los autores desean expresar su aprecio por la importante cooperación y colaboración prestadas por las siguientes personas: Dras. A. Carretero y X. Rodríguez, Profs. M.E. Cantillano, C. Rojas P., J.E. Valdés, M.A. Parra, Internos de Medicina: Srs. C. Aguilar, P. Lorca, F. Maluenda, G. Orellana, Ayudantes técnicos: Srs. C. Almeyda, C. Cid y F. González.

REFERENCIAS

1. PRÉNDEZ, M., ORTIZ, J.L., CORTÉS S.E. y CASSORLA, V. *J.A.P.C.A.* 34, (1984), 54.
2. ESCUDERO, J., SANDOVAL, H. y ULRIKSEN, P. *Rev. Ing. Sist.* 3(1983) 28, Santiago de Chile.
3. TRIER, A. *Memoria final, Tercero Encuentro Nacional Universitario sobre el Medio Ambiente*, Santiago de Chile, 11/1984, p. 497.
4. MUÑOZ, M., COREY, F., SILO, C. BARRAZA, E. y VOLLAIRE, J. *Actas el IV Simposio sobre Contaminación Ambiental*, Estación Experimental la Platina (Santiago de Chile), 8/1985, Tomo II, p. 46.
5. MEDEIROS, M.H.G., BECHARA, E.J.H., NAOUM, P.C. y MOPURA O., C.A. *Arch. Environ. Health* 38 (1983), 11.
6. *Technical Report Series* N° 179, I.A.E.A., Vienna, 1979.
7. KILLEEN, J., VANDERBURG, D. y HARLAN, W. J. *Chronic Dis.* 31 (1978) 529.
8. HAVLIK, R., HUBERT, H. FABSITZ, R. y FEINLEIB, M. *Annals Int. Med.* 98 (1983) 855.
9. FLEWELLEN, E. y BEE, D. *J.A.M.A.* 241 (1979) 884.
10. NORERO, C., SAITO, R., BARRERA, M., VARGAS, N., BARRÍA, M. y MONTI, A. *XV Congreso Nacional de Pediatría*, La Serena, Chile, 12/1984.
11. SAS Institute, Inc. *SAS User's Guide: Statistics*, 1982 Edition, Cary, NC, USA.
12. TRIER, A. *J. Aerosol Sci.* 15 (1984) 419.
13. TRIER, A., CANTILLANO, M.E., ROJAS, P.C. y VALDÉS, L.J.. Ref. 4, p. 81.
14. RUIZ, F. *et al. Arch. Env. Health.* 43 (1988), 286.
15. SILO, C., LISSI, E. y RUBIO, M.A. *Actas V Congreso del aire limpio*, Buenos Aires, R.A., 1982, p. 328.
16. CONOVER, W.J. *Practical Nonparametric Statistics*. John Wiley & Sons, 1971.
17. SUSKIND, R.M., Editor. *Malnutrition and the Immune Response*. Kroc Foundation Series, Vol. 7. New York: Raven Press Publ., 1977.
18. KLEINBAUM, D. and KUPPER, L. *Applied Regression Analysis and other Multivariable Methods*. Duxbury Press, 1978.