

11262

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

18



FACULTAD DE MEDICINA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS

COMPARACION DE NIVELES DE INTERLEUCINAS
1 Y 8 EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES DE
RECEN NACIDOS PRETERMINO CON Y SIN
DISPLASIA BRONCOPULMONAR

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS

P R E S E N T A :

DRA. JOSEFINA MONTOYA LOPEZ

TUTOR: D. EN C. MARIA ELENA YURIKO FURUYA MEGURO

COTUTORES: M. EN C. M. MIGUEL ANGEL VILLASIS KEEVER

D. EN C. JOSE ANTONIO ENCISO MORENO



IMSS

298533

MEXICO, D. F.

SEPTIEMBRE, 2001



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

OTROS INVESTIGADORES

DR. GUILLERMO RAMÓN GARCÍA

DR. GABRIEL LARA FLORES

DRA. LUZ ANGÉLICA RAMÍREZ GARCÍA

DR. ELÍAS AHUMADA RAMÍREZ

DR. EDUARDO ALVAREZ VÁZQUEZ

BIÓLOGA NORMA PERNA

AGRADECIMIENTOS

Deseo expresar mi más profundo agradecimiento a la Dra. María Elena Yurico Furuya Meguro por toda la confianza depositada en mi persona, por su gran apoyo constante y por la oportunidad de compartir su experiencia conmigo.

Así mismo, agradezco de manera muy especial a los Dres. Mario Humberto Vargas Becerra, Miguel Angel Villasis Keever y Dr. José Antonio Enciso Moreno por toda la paciencia y su apoyo recibido para la elaboración del presente trabajo.

Por otra parte, hago patente también mis agradecimientos al personal tanto médico como de enfermería de los hospitales participantes, quienes de una u otra forma me ayudaron con este trabajo.

A mis sinodales, por sus valiosos comentarios y paciencia, gracias.

Por último, con especial afecto, deseo dar gracias a mis compañeros de Maestría y a mis Maestros quienes con sus comentarios, observaciones y su tiempo enriquecieron mi trabajo.

DEDICATORIAS

A la memoria de mi padre Alejandro y a mi madre María Esther, por todo su amor y confianza hacia mí, por el gran sacrificio para mi formación.

A mi esposo Eduardo, por su entrega y gran amor, por robarle tiempo a su tiempo para compartirlo conmigo.

A mis tres grandes amores: Velia Quetzalli, Quilaztli Carolina y Quiahuitl Alejandra, por todo el tiempo robado a sus cuidados, porque desde el vientre siempre me acompañaron.

A la gran mujer-madre-amiga y guía de mi hogar, por toda su ayuda, mil gracias, Velia Rosario.

A mis hermanos por el gran cariño que nos une.

A todos los niños, quienes con su alegría iluminan nuestras vidas y con sus padecimientos iluminan nuestros conocimientos.

ÍNDICE

RESUMEN	6
ANTECEDENTES	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
HIPÓTESIS	11
OBJETIVOS	12
SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS	13
RESULTADOS	22
DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES	31
CUADROS Y FIGURAS	32
BIBLIOGRAFÍA	41

RESUMEN

TÍTULO: COMPARACIÓN DE NIVELES DE INTERLEUCINAS 1 Y 8 EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES DE RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO CON Y SIN DISPLASIA BRONCOPULMONAR.

OBJETIVO: Determinar el patrón que siguen las concentraciones de interleucinas 1 y 8 (IL-1 e IL-8) en lavados broncoalveolares de recién nacidos (RN) pretérmino bajo asistencia mecánica a la ventilación que desarrollan displasia broncopulmonar (DBP).

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un estudio multicéntrico, longitudinal, prolectivo, observacional y comparativo de noviembre de 1997 a marzo de 1999. Se incluyeron pacientes RN < de 37 semanas de gestación con síndrome de dificultad respiratoria (SDR), asistidos a la ventilación más allá de la primera semana de vida. Se realizaron lavados broncoalveolares en los días 1 al 7, 14, 21 y 28 de vida, o mientras se mantuvieron intubados con el fin de medir concentraciones de IL-1 e IL-8 mediante ELISA. Se consideró DBP si tenían por lo menos dos de los siguientes criterios: a) asistencia mecánica a la ventilación durante los primeros 7 días de vida o más, b) persistencia de síntomas respiratorios y dependencia a oxígeno suplementario al día 28 de vida ó a las 36 semanas de edad posgestacional; c) presencia de células displásicas clase III ó IV. Se realizó análisis descriptivo de las variables, U de Mann Whitney, prueba exacta de Fisher.

RESULTADOS: Se estudiaron 25 pacientes que formaron tres grupos: I pacientes con SDR que desarrollaron DBP (14); Grupo II, pacientes con SDR sin DBP (6) y Grupo III, recién nacidos a término con pulmón sano (5 como control de calidad externo). IL-1 fue similar en los pacientes de SDR con y sin DBP incrementando progresivamente hasta alcanzar picos máximos los días 5 y 3, respectivamente. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos I y II. IL-8 se elevó desde el primer día en los tres grupos y la tendencia fue mantenerse elevada durante el seguimiento, pero al comparar el grupo I vs II no hubo diferencias significativas. Tomando en cuenta infección se conformaron cuatro grupos: SDR conDBP con infección (6), SDR con DBP sin infección (8), SDR sin DBP con infección (3), y SDR sin DBP sin infección (3). No hubo diferencias significativas, sin embargo IL-1 se incrementó en los tres primeros grupos e IL-8 a partir de la segunda semana en los niños DBP infectados.

CONCLUSIONES: IL-1 e IL-8 se detectaron muy tempranamente en los pacientes que tienen SDR, sin importar si desarrollan o no DBP. Al subdividir los grupos en infectados y no infectados apreciamos que para ambas interleucinas, existió un incremento mayor en los que tenían DBP e infección, aunque no significativo. Los hallazgos sugieren que tanto IL-1 como IL-8 intervienen en la fisiopatología de DBP.

ANTECEDENTES

La displasia broncopulmonar (DBP) es la causa más frecuente de enfermedad pulmonar crónica en los lactantes¹. Esta enfermedad se desarrolla después del tratamiento de la insuficiencia respiratoria neonatal con asistencia mecánica a la ventilación, presión positiva y oxígeno suplementario²⁻⁵.

Si bien la inmadurez, el barotrauma y la toxicidad al oxígeno son factores que contribuyen al desarrollo de DBP, los mecanismos exactos se desconocen. Su fisiopatogenia se considera multifactorial y los factores más estudiados son: barotrauma,⁶⁻⁷ hiperoxia,⁸⁻¹² infección,¹³⁻¹⁵ nutrición¹⁶⁻¹⁸ y, primordialmente, inflamación.¹⁹

Los mecanismos de la lesión pulmonar aguda se desconocen, sin embargo, existe información de que esta enfermedad es el resultado de un proceso inflamatorio prolongado en el pulmón inmaduro. Este proceso se inicia con la presencia de radicales libres secundarios a la oxigenoterapia, barotrauma, agentes infecciosos y otros estímulos que dan como resultado el reclutamiento y activación de células y la liberación de marcadores inflamatorios como citocinas y mediadores lipídicos tales como leucotrienos, factor activador de plaquetas, tromboxano A₂ y prostaglandinas.¹⁹⁻²⁴

Las citocinas son péptidos regulatorios de bajo peso molecular; se han descrito más de 50 citocinas y muchas de ellas están involucradas en el control local o sistémico de inflamación, hemopoyesis y reparación de tejidos, incluyendo fibrosis. Estos péptidos regulatorios se liberan principalmente de los monocitos-macrófagos, linfocitos T y otros tipos de células en respuesta a endotoxinas, daño celular, hipoxia e hiperoxia.²⁰

Los neutrófilos y macrófagos son los leucocitos predominantemente activados en la DBP, estas células tienen la capacidad de liberar mediadores de inflamación, entre ellos el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), las interleucinas 1, 6 y 8 (IL-1, IL-6 e IL-8),²¹⁻²⁴ así como enzimas proteolíticas y metabolitos tóxicos derivados del ácido araquidónico. Estas sustancias son capaces de inducir la producción de otras citocinas, radicales libres, hidrolasas, elastasas, entre otras, que, en conjunto, contribuyen al daño del tejido conectivo, epitelio alveolar y al endotelio capilar, conduciendo a la formación de fibrosis pulmonar y dando como resultado terminal la DBP.^{19,25}

La participación de citocinas en la fisiopatogenia de la DBP ha propiciado múltiples investigaciones,²⁶⁻³⁰ de las que se desprende un papel protagónico de IL-1 e IL-8. IL-1 forma parte de una familia compuesta de tres polipéptidos estructuralmente relacionados: IL-1 α , IL-1 β y el antagonista de IL-1 (IL-1ra). IL-1, α y β son producto de genes separados, tienen diferentes secuencias de aminoácidos, pero están estructuralmente relacionadas a nivel tridimensional. Actúan a través de los mismos receptores de superficie celular y comparten actividades biológicas, ambas son sintetizadas por células mononucleares cuando se estimulan por productos microbianos o de inflamación. IL-1ra inhibe la actividad de IL-1.³¹

Entre otras células, IL-1 es liberada por los macrófagos, tiene efectos proinflamatorios, estimula la secreción de endotelina y promueve el reclutamiento de leucocitos y su retención dentro del epitelio de la vía aérea.³²

IL-8 es una citocina producida por neumocitos tipo II, macrófagos alveolares, fibroblastos y células endoteliales, tiene una actividad quimiotáctica potente hacia los neutrófilos, activándolos e induciendo su degranulación y la generación de metabolitos de oxígeno tóxicos. Induce la migración transendotelial, eleva el calcio citoplásmico y contribuye a la extravasación de líquido durante la evolución de la enfermedad pulmonar crónica, ya que estimula a los neutrófilos a secretar factor activador de plaquetas, el cual incrementa la permeabilidad microvascular.³³⁻³⁵

En estudios hechos en animales, la importancia de IL-8 en la inflamación pulmonar ha sido demostrada mediante reperusión de pulmones dañados. La administración de anticuerpos anti-IL-8 inmediatamente antes de la reperusión previno el incremento de IL-8, del número de neutrófilos y el rompimiento de la arquitectura pulmonar.³⁶ En el humano existen estudios que muestran incrementos de IL-8 en lavados broncoalveolares (LBA), en daño pulmonar agudo, específicamente en el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda en adultos³⁷⁻⁴¹ y en la fibrosis pulmonar idiopática.⁴²⁻⁴³

La participación de estas interleucinas en el daño pulmonar ha sido demostrada:²⁶⁻³⁰ sin embargo, existen controversias en cuanto a su comportamiento en el tiempo, su cuantificación, los niveles máximos alcanzados y su relación con el desarrollo de DBP. Lo anterior apoya la necesidad de estudiar las concentraciones de dichas moléculas durante el primer mes de vida del neonato bajo asistencia mecánica a la ventilación.

El conocer su participación fisiopatogénica, así como el momento preciso de su incremento, permitirá establecer las bases racionales para indicar conductas preventivas, intervenciones terapéuticas y los momentos ideales de su administración.

Así mismo, en forma ideal, si se conoce adecuadamente el comportamiento de las diferentes interleucinas, será posible utilizar la determinación de sus concentraciones para identificar al neonato que desarrollará o no DBP y más aún, nos permitirá iniciar terapéuticas anti-inflamatorias oportunas para evitar el daño pulmonar.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los mecanismos fisiopatogénicos en DBP no han sido completamente elucidados. Se tienen suficientes pruebas de que la inflamación juega un papel primordial en el desarrollo de esta entidad, siendo un proceso complejo.

Después del daño pulmonar, se inicia el proceso de reparación con la participación de varios de los elementos sanguíneos como plaquetas, neutrófilos y macrófagos alveolares. Estas células además de contribuir en los procesos de curación, participan en mecanismos fisiopatológicos liberando enzimas proteolíticas, citocinas y radicales libres en concentraciones elevadas que pueden inducir daño pulmonar.

Si bien existe alguna evidencia del incremento de citocinas en el desarrollo de DBP, el conocimiento de cómo se comportan es incompleto; no hay un seguimiento temprano continuo y existe controversia del momento del incremento máximo de las mismas, motivo por el cual se plantea la pregunta:

¿CUÁL ES EL PATRÓN QUE SIGUEN LAS CONCENTRACIONES DE IL-1 E IL-8 EN LBA DURANTE EL PRIMER MES DE VIDA EN LOS RECIÉN NACIDOS PRETÉRMINO CON SÍNDROME DE DIFICULTAD RESPIRATORIA (SDR) SOMETIDOS A ASISTENCIA MECÁNICA A LA VENTILACIÓN QUE DESARROLLAN DBP COMPARADO CON LOS QUE NO LA DESARROLLAN?

HIPÓTESIS

1. Las concentraciones de IL-1 e IL-8 en lavados broncoalveolares de recién nacidos pretérmino que desarrollan DBP después de SDR y ventilación mecánica son mayores que en los neonatos que no desarrollan DBP.
2. Las concentraciones de IL-1 y de IL-8 en lavados broncoalveolares de recién nacidos pretérmino que desarrollan DBP después de SDR y asistencia mecánica a la ventilación aumentan en la primera semana de vida extrauterina y se mantienen elevadas por dos semanas.
- 3.- Las concentraciones de IL-1 y de IL-8 en lavados broncoalveolares de recién nacidos pretérmino con DBP e infección son mayores que aquellos pacientes con DBP sin infección.

OBJETIVOS

1. Cuantificar las concentraciones de IL-1 e IL-8 en lavados broncoalveolares de recién nacidos pretérmino con SDR bajo asistencia mecánica a la ventilación en los días 1 al 7, 14, 21 y 28 de vida extrauterina.
2. Comparar las concentraciones de IL-1 e IL-8 en lavados broncoalveolares de los recién nacidos pretérmino con SDR sometidos a asistencia mecánica a la ventilación que desarrollaron DBP con las concentraciones de neonatos que no desarrollan DBP.
3. Comparar las concentraciones de IL-1 e IL-8 en lavados broncoalveolares de los recién nacidos pretérmino con SDR con y sin DBP e infección.

SUJETOS, MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO: estudio multicéntrico longitudinal, prolectivo, observacional y comparativo que se llevó a cabo de noviembre de 1997 a marzo de 1999 en hospitales de tercer nivel de atención del Instituto Mexicano del Seguro Social: el Hospital de Pediatría del CMN “Siglo XXI”, el Hospital General del CMN “La Raza”, el Hospital de Gineco-obstetricia “Luis Castelazo Ayala”, y el Hospital de Gineco-obstetricia No. 3 del CMN “La Raza”.

El protocolo fue aceptado por los Comités de Investigación y de Ética. Las muestras obtenidas a los pacientes procedieron de las maniobras de higiene bronquial habituales que se les realizan a estos pacientes.

Se realizaron lavados broncoalveolares a pacientes prematuros admitidos en las Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales con el diagnóstico de síndrome de dificultad respiratoria que reunieron los siguientes criterios de selección.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN :

- a) Recién nacidos prematuros menores de 37 semanas de edad gestacional.
- b) Peso adecuado a la edad gestacional.
- c) Que ameritaran asistencia mecánica a la ventilación por insuficiencia respiratoria grave a partir del primer día de vida y por un mínimo de 7 días.
- d) Confirmación radiológica de síndrome de dificultad respiratoria.⁴⁴

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN:

1. Tratamiento con esteroides a la madre para inducir madurez pulmonar fetal.
2. Infección congénita documentada
3. Malformaciones congénitas pulmonares documentadas

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN:

1. Tratamiento con indometacina para cierre de conducto arterioso.
2. Fallecimiento antes de la primera semana de asistencia mecánica a la ventilación.
3. La obtención de menos de 5 muestras de LBA en el paciente
4. Asistencia mecánica a la ventilación menor de 7 días.

Esta población se conformó por:

Grupo I: Pacientes recién nacidos prematuros con SDR, quienes desarrollaron DBP.

Grupo II: Pacientes recién nacidos prematuros con SDR, quienes NO desarrollaron DBP.

Con la finalidad de determinar el patrón de interleucinas en LBA de pacientes recién nacidos a término con pulmón sano, se tomaron muestras a aquellos que requirieron ventilación mecánica por causas no respiratorias conformándose el grupo III o RNTPS (Recién nacidos a término con pulmón sano).

El diagnóstico de DBP^{2,45-47} se estableció cuando un paciente reunía por lo menos dos los siguientes criterios:

- a) Asistencia mecánica a la ventilación más allá de la primera semana de vida.
- b) Persistencia de signos de afección respiratoria (taquipnea, estertores, retracciones, cianosis, etc.) y dependencia a oxígeno suplementario a los 28 días de vida o a las 36 semanas de edad posgestacional.
- c) Presencia de células displásicas clase III ó IV en citología de las muestras de LBA

LAVADO BRONCOALVEOLAR

El lavado broncoalveolar (LBA) se llevó a cabo con una técnica estándar propuesta por Viscardi⁴⁸ con dos alícuotas de 1.0 ml de solución salina en los días 1 al 7, 14, 21 y 28, siempre y cuando el paciente estuviera intubado.

En posición supina, manteniendo la cabeza en la línea media, se instiló 1.0 ml de solución salina dentro del tubo endotraqueal, se conectó al ventilador y se administraron de tres a cinco ciclos de presión positiva intermitente. Posteriormente, se aspiró utilizando un catéter de succión tipo French 5 u 8 para succionar el contenido del LBA y se colectó en una trampa de Lucke. La succión se repitió con la cabeza volteando hacia el lado derecho e izquierdo. El catéter de succión se lavó con 0.5 ml de solución salina. Las muestras se almacenaron en hielo hasta que se procesaban (alrededor de 30 min). Se centrifugaron a

2000 rpm por 10 minutos a 4°C. El sobrenadante se removió y se almacenó a -70°C. Las muestras fueron tomadas exclusivamente por uno de los participantes en el estudio.

DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINAS

Todos los ensayos se realizaron en el laboratorio de Biología Molecular de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Infecciosas y Parasitarias del Hospital de Pediatría CMN "Siglo XXI".

Las concentraciones de IL-1 α y de IL-8 en los LBA se cuantificaron mediante la técnica de ELISA usando reactivos comerciales (R&D Systems, Minneapolis MN, USA). La sensibilidad de ambos ensayos es de 2 pg/ml.

El método consiste en utilizar anticuerpos específicos anti-IL-1 e IL-8 para detectar concentraciones de IL-1 e IL-8 en muestras por duplicado de LBA de 50 μ l cada una. La evaluación se realizó cegada ya que cada muestra se registró con un código que no permitía reconocer su origen.

Se realizó una curva estándar utilizando diferentes concentraciones conocidas de IL-1 (0, 10.24, 25.6, 64, 160, 400 pg/ml) y de IL-8 (0, 25.6, 64, 160, 400, 1000 pg/ml), se obtuvieron las lecturas de densidad óptica correspondientes a cada concentración y se llevó a cabo una regresión lineal cuyo coeficiente de correlación fue de 0.99. Para determinar las concentraciones de interleucinas de las muestras de LBA, los valores de densidad óptica de los duplicados obtenidos fueron interpolados en la curva estándar.

El ensayo de ELISA se basa en un ensayo de sandwich múltiple (usando dos anticuerpos específicos anti-IL-1 o anti IL-8 humanas). El sistema incluye como primer anticuerpo un monoclonal anti-IL-1 (o anti IL-8) y como segundo anticuerpo un policlonal de conejo anti-IL-1 (o anti IL-8). El conjugado de identificación usado (o tercer anticuerpo), fue un anticuerpo de cabra anti-inmunoglobulinas totales de conejo acoplado a fosfatasa alcalina. Para el revelado se usó una solución conteniendo fosfato de nitrofenilo y las lecturas de la

reacción se realizaron en un lector de placas de 96 pozos a 405 nm. Los coeficientes de variación intraensayo e interensayo fueron menores a 10%.

DEFINICIÓN DE VARIABLES

VARIABLE DEPENDIENTE:

DISPLASIA BRONCOPULMONAR. Definición conceptual: Enfermedad pulmonar crónica, que se presenta en recién nacidos primordialmente prematuros, asistidos a la ventilación por más de una semana y con factores de riesgo como infección, hiperoxemia, persistencia de conducto arterioso, hipervolemia, etc., caracterizada por datos de dificultad respiratoria y dependencia a oxígeno supraambiental (más de 21%) al día 28 de vida posnatal, acompañado de cambios radiológicos² y citológicos⁴⁶⁻⁴⁷.

Definición operacional: Se consideró el diagnóstico de la enfermedad en aquel paciente prematuro que habiendo recibido ventilación mecánica más allá de la primera semana de vida presentó datos de dificultad respiratoria y dependencia de oxígeno supraambiental a los 28 días de vida, acompañado o no de cambios citológicos. Todos los pacientes cumplieron con el criterio clínico, la dependencia a oxígeno supraambiental y el criterio citológico. En este estudio no se tomó en cuenta el criterio radiológico ya que las radiografías de tórax solo fueron evaluadas por médicos pediatras y/o neonatólogos.

Tipo: Cualitativa.

Escala: Nominal.

Categoría: Dicotómica: Presente, Ausente.

VARIABLES INDEPENDIENTES:

INTERLEUCINA 1 (IL-1): Definición conceptual: Citocina liberada por los macrófagos, entre otras células, tiene efectos proinflamatorios, estimula la secreción de endotelina y promueve el reclutamiento de los leucocitos y su retención dentro del epitelio de la vía aérea.

Definición operacional: Cuantificación por ELISA de IL-1 α en LBA de recién nacidos pretérmino asistidos a ventilación mecánica.

Tipo: Cuantitativa.

Escala: Razón.

Categoría: pg/ml.

INTERLEUCINA 8 (IL-8): Definición conceptual: Citocina producida localmente por células del sistema inmune y no inmune dentro de los pulmones, tiene una actividad quimiotáctica potente hacia los neutrófilos activándolos e induciendo su degranulación y la generación de metabolitos de oxígeno tóxicos.

Definición operacional: Cuantificación por ELISA de IL-8 en LBA de recién nacidos pretérmino asistidos a ventilación mecánica.

Tipo: Cuantitativa.

Escala: Razón.

Categoría: pg/ml.

VARIABLES DE CONFUSIÓN:

EDAD GESTACIONAL: Definición conceptual: Tiempo de duración de la gestación de un feto en el útero materno, a partir de la concepción, estimada a través de la fecha de última menstruación o del método de Ballard⁴⁹.

Definición operacional: Si la diferencia de edad determinada por ambos métodos fue mayor de dos semanas, se registró la determinada por el método de Ballard. Si fue igual o menor de dos semanas, se consideró como válida la obtenida por la fecha de última menstruación.

Tipo: Cuantitativa.

Escala: Continua.

Categoría: Semanas.

PESO: El peso determinado a través de una báscula, expresado en gramos, en el momento del nacimiento o del momento del ingreso al estudio.

Tipo: Cuantitativa.

Escala: Continua.

Categoría: Gramos.

EVALUACIÓN DE APGAR: Evaluación rápida y semicuantitativa del estado fisiológico del recién nacido, toma en consideración cinco variables (frecuencia cardiaca, esfuerzo respiratorio, tono muscular, irritabilidad refleja y coloración), con una puntuación para cada una que va de 0 a 2, se efectúa al minuto y 5 minutos del nacimiento.

Tipo: Cuantitativa

Escala: Continua

Escala: Calificación de 0 a 10

DÍAS DE ASISTENCIA MECÁNICA A LA VENTILACIÓN: Cantidad de días en que se requiere emplear un aparato de ventilación mecánica, para sustituir la función ventilatoria del niño.

Tipo: Cuantitativa.

Escala: Continua.

Categoría: Días.

SEXO: Condición orgánica que distingue lo masculino de lo femenino, determinado por características fenotípicas.

Tipo: Cualitativa.

Escala: Nominal binaria.

Categoría: Masculino, Femenino

PERSISTENCIA DEL CONDUCTO ARTERIOSO: Conducto arterioso que no se cierra funcionalmente al nacimiento. Entre los cambios hemodinámicos que se suceden al nacimiento y favorecen la persistencia del conducto arterioso permeable está la caída de la presión pulmonar, la cual es más intensa en el neonato pretérmino que en el de término con lo que se favorece el cortocircuito de izquierda a derecha a través del mismo.

Tipo: Cualitativa.

Escala: Nominal.

Categoría: Presente, ausente.

NEUMONIA NOSOCOMIAL: Presencia de infección de vías aéreas inferiores acompañada de estertores bronquioalveolares, datos radiológicos de ocupación alveolar y leucocitosis con neutrofilia, que se presenta después de tres días de hospitalización.

Tipo: Cualitativa.

Escala: Nominal.

Categoría: Presente, Ausente.

USO PRENATAL DE ESTEROIDES: Definición conceptual: Los esteroides son sustancias sintetizadas en la corteza suprarrenal cuyo intermediario obligado en su biosíntesis es el colesterol, con efectos numerosos y de amplios alcances. Influyen en el metabolismo de los hidratos de carbono, proteínas, lípidos y purinas; en el balance de electrolitos y agua y en las funciones del sistema cardiovascular, riñón, músculo esquelético, sistema nervioso y otros órganos y tejidos. Algunas de las potencias tanto de esteroides naturales como sintéticos son retención de sodio, depósito de glucógeno hepático y efecto antiinflamatorio.

Definición operacional: Utilización de esteroides vía sistémica (intramuscular) en la madre previo al parto.

Tipo: Cualitativa.

Escala: Nominal.

Categoría: Si, No.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Análisis descriptivo:

Para variables cualitativas se emplearon frecuencias y porcentajes.

Para variables cuantitativas se emplearon medianas y rangos.

Se realizaron pruebas de normalidad para definir la distribución de las variables.

Análisis inferencial:

La distribución de las variables cuantitativas (concentraciones de interleucinas) no tienen distribución normal por lo que solo se utilizó estadística no paramétrica.

Para evaluar diferencias de proporciones entre grupos de algunas variables cualitativas como sexo y presencia de PCA, se utilizó prueba exacta de Fisher porque en algunas de las casillas existía un valor esperado menor de cinco

Para diferencias en la concentración de interleucinas entre los grupos I y II se utilizó U de Mann-Whitney.

Se consideraron como valores de significancia aquellos con nivel $\alpha < 0.05$ bimarginal.

RESULTADOS

En el periodo comprendido de noviembre de 1997 a marzo de 1999, 44 pacientes con SDR y 11 recién nacidos ventilados por causas no pulmonares fueron candidatos para ingresar al estudio. Del grupo de SDR 12 fallecieron antes de la primera semana de vida, 11 tuvieron extubación antes de los 7 días y uno recibió indometacina para cierre de conducto arterioso, por lo que solo 20 pacientes completaron los criterios para su análisis. De la población de recién nacidos ventilados por razones no pulmonares se eliminaron cuatro por extubación temprana con menos de 5 muestras y dos por defunción..

La población estudiada quedó constituida por tres grupos: Grupo I formado por 14 pacientes con SDR que desarrollaron DBP; Grupo II formado por seis pacientes con SDR que no desarrollaron DBP y grupo III formado por cinco pacientes ventilados por causas no pulmonares (1 con enfermedad multiquística renal, 4 con defectos de pared abdominal). Dado que el grupo III corresponde a una población diferente, de pacientes a término, con peso igual o mayor a 2000 g, no se considera un adecuado grupo control. Sin embargo si corresponde a un control de calidad externo que permitió conocer el comportamiento de las interleucinas estudiadas en esta población.

En el cuadro 1 se muestran algunas características clínicas de los grupos. Solo los días de ventilación mecánica del grupo I fueron significativamente mayores comparados con los grupos II.

Se recolectaron un total de 200 muestras de LBA de los 25 pacientes estudiados, con una mediana de 8 muestras por paciente.

DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINAS

Interleucina 1 α

La figura 1. muestra el comportamiento de las concentraciones de IL-1 en los tres grupos; la mediana del Grupo I, muestra un incremento progresivo a partir del primer día de vida con un pico en el quinto día y disminución progresiva hasta el día 21 y estabilidad final. En el Grupo II, la mediana de los niveles de IL-1 mostró un incremento progresivo con pico en el tercer día y disminución progresiva hasta el día 21, mostrando un patrón similar al grupo de pacientes que desarrolló DBP pero con niveles más bajos a partir del día 4. Si

bien existe un nivel mayor en el grupo que desarrolló DBP comparado con el de SDR que no la desarrolló, estas diferencias no alcanzaron significancia. En el cuadro 2 se muestran los valores de IL-1 en los diferentes grupos.

Interleucina 8

El comportamiento de las concentraciones de IL-8 se muestra en la figura 2 mientras que los diferentes valores en pg/ml y sus diferencias se presentan en el cuadro 3. En todos los grupos el patrón fue similar con detección desde la primera muestra, manteniéndose elevados durante todos los días de seguimiento. Esta elevación fue mayor en el grupo que desarrolló DBP. No se encontraron diferencias significativas al comparar a los pacientes con SDR que desarrollaron DBP contra los que no la desarrollaron.

Interleucinas e infección

Con el fin de analizar la participación de la infección en nuestros pacientes como posible factor que modificara el comportamiento y la concentración de las interleucinas, se estratificó de acuerdo a la presencia o ausencia de infección y se conformaron cuatro grupos: SDR con DBP con infección (n=6), SDR con DBP sin infección (n=8), SDR sin DBP con infección (n=3), y SDR sin DBP sin infección (n=3)

La figura 3 muestra las concentraciones de IL-1 en estos cuatro grupos, pudiéndose apreciar que todos presentaron el mismo comportamiento, pero en el último grupo las concentraciones fueron más bajas. El cuadro 4 muestra los valores encontrados. No se encontraron diferencias significativas al comparar los grupos.

La figura 4 muestra el comportamiento de IL-8, con concentraciones mayores para el grupo de displásicos no infectados. No se encontraron diferencias significativas entre los grupos. A partir de la segunda semana los niños displásicos infectados presentaron elevación importante de esta citocina por arriba de los pacientes no infectados. Estos datos se muestran en el cuadro 5.

DISCUSIÓN

En este estudio se mostró la participación temprana de IL-1 e IL-8 en LBA como marcadores de inflamación en los recién nacidos pretérmino con SDR y DBP con ventilación mecánica. Además se pudo establecer la posible participación fisiopatogénica en el desarrollo de DBP, ya que las cifras fueron superiores en los pacientes que la desarrollaron. Desafortunadamente la diferencia no fue estadísticamente significativa, pero el patrón de concentraciones de estas interleucinas fue definitivamente más elevado que el que presentan los pacientes a término sin patología pulmonar.

La DBP es más frecuente en niños con pulmones inmaduros, se presenta comúnmente en prematuros con edad gestacional menor de 32 semanas y con peso menor a 1500 g al nacimiento. Ambos, edad gestacional y peso son considerados como factores de riesgo para el desarrollo de DBP ya que la prematurez determina la deficiencia de surfactante e inadecuado funcionamiento de los mecanismos antioxidantes⁵⁰⁻⁵¹ haciendo al tejido pulmonar más susceptible a la lesión por ventilación mecánica producida por oxigenoterapia y presión positiva. Lo anterior se corroboró en nuestro estudio ya que los niños más prematuros y de menor peso al nacimiento son los que desarrollaron con más frecuencia DBP. El sexo masculino tiene un riesgo más alto de dependencia a oxígeno en otros estudios,⁵²⁻⁵³ en nuestra población hubo preponderancia de este sexo en los displásicos.

La asistencia mecánica a la ventilación y la persistencia de conducto arterioso son otros factores de riesgo estudiados con antelación. En nuestra serie, los pacientes que desarrollaron DBP tuvieron significativamente una duración mayor de ventilación mecánica.

Se ha encontrado que el riesgo de enfermedad pulmonar crónica incrementa con la presencia de PCA ya que en esta patología se afecta la distensibilidad pulmonar y el intercambio de gases, e incrementa el flujo pulmonar⁵⁴⁻⁵⁶ Tanto IL-1 y IL-8 se han encontrado en grandes concentraciones en aspirado traqueal correlacionado dicha elevación con el incremento en la incidencia de persistencia de conducto arterioso y subsecuente desarrollo de DBP.⁵⁷ En nuestra población se corroboró que el 50% de el grupo de niños con DBP presentó PCA comparado con solo el 16% de los que no la

desarrollaron, nuevamente sin significancia estadística, probablemente por el tamaño de la muestra.

INTERLEUCINAS

La detección de estas sustancias se ha llevado a cabo a través de técnicas de ELISA, radioinmunoensayo, biología molecular RT-PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa-Transcriptasa Reversa), demostrando que células recuperadas de los compartimentos proximal y distal de la vía aérea, son fuente de citocinas, entre ellas IL-1 α , IL-1 β e IL-8. Lo Monaco demostró que se podían detectar citocinas tanto con la técnica de aspirado traqueal como de lavado pulmonar profundo, sus datos apoyaron que hubo mayor concentración mediante la técnica de aspirado traqueal,⁵⁸ la cual fue la utilizada en el presente estudio. Estas citocinas median muchas de las reacciones tisulares y síntomas presentes en infecciones e inflamación.⁵⁹⁻⁶¹

IL-1

La interleucina 1, tanto α como β participan en la respuesta inflamatoria, actúan como mediadores de varios cambios sistémicos asociados con infección y daño tisular, tales como fiebre, neutrofilia, aumento de la síntesis de proteínas reactantes de fase aguda e hipotensión; así mismo niveles elevados de IL-1 se han encontrado en una variedad de situaciones clínicas, sugiriendo su participación en la respuesta del huésped al desarrollo de la enfermedad.^{31,62-63} IL-1 es una potente inductora de sí misma así como de IL-6 e IL-8.⁶⁴ La producción de IL-1 en los tejidos se ha relacionado a efectos locales tales como fibrosis, ruptura de la matriz tisular y el reclutamiento de células inflamatorias.³¹

Diversos modelos experimentales han mostrado que su administración produce daño pulmonar grave, infiltración de neutrófilos y daño secundario a la presencia de radicales libres, así como a la progresión de la fibrosis.⁶⁵⁻⁶⁶

Los estudios relacionados a la presencia de IL-1 en pacientes recién nacidos pretérmino que desarrollan DBP son muy escasos, la mayoría de los que nos anteceden han sido realizados con IL-1 β . En nuestro estudio se cuantificó IL-1 α .

Jones en un estudio de seguimiento en las primeras 96 h de vida de recién nacidos prematuros y de término detecta la presencia de IL-1 β en LBA con niveles muy bajos en

los prematuros, comparados con pacientes a término, sin analizar cuantos de estos pacientes desarrollaron o no DBP e ignorando la evolución posterior por lo que no podemos compararlo con los resultados de nuestro trabajo. Además solo estudio 5 pacientes en cada grupo, y tuvo mucha variabilidad por lo que es difícil sacar conclusiones.²⁹ Tullus analiza en un estudio transversal a diferentes edades, la presencia de esta citocina en 15 niños con SDR, 15 controles que correspondieron a pacientes de término postoperados de patología digestiva y 17 displásicos, 9 con tratamiento esteroideo y 8 sin tratamiento esteroideo, encontrando en forma significativa los niveles más altos en el grupo de DBP sin tratamiento esteroideo, apoyando la participación de mediadores de inflamación en estos pacientes.²⁸ A diferencia de nuestra serie, este autor no realizó muestras seriadas y los pacientes fueron de diferentes edades biológicas. Murch⁶⁷ realiza la dterminación secuencial durante las primeras tres semanas de vida en 30 niños con SDR de los cuales 13 desarrollaron DBP y 17 no, así como en 7 controles que correspondieron a pacientes prematuros, intubados por otras causas que no fueran membrana hialina. Tomó muestras cada 1 a 2 días mientras estuvieran intubados con un máximo de 21 días, y a los controles solo 2 tomas. Este autor mostró elevación significativa durante la primera semana desde etapas muy tempranas, apoyando nuestros hallazgos. Recientemente Kazzi⁶⁸ determinó IL - 1 β en muestras seriadas durante los primeros 28 días de vida, de pacientes con riesgo de desarrollo de DBP con requerimiento bajo (FiO₂ <35%) y alto (> 35%) de oxígeno no encontrando ninguna diferencia en ambos grupos de pacientes.

En nuestro estudio el patrón de IL-1 α fue caracterizado por la presencia de esta citocina desde el primer día, predominando en el grupo que desarrolló DBP. Los niveles tuvieron el pico máximo en el día cinco de vida, este mismo fenómeno ocurrió en el grupo de SDR sin DBP aunque con niveles más bajos. Lo anterior es similar a otros estudios que apoyan la respuesta inflamatoria pero, a diferencia de ellos, la toma diaria de muestras durante la primera semana de vida permitió detectar su elevación en una etapa más temprana de la que ha sido reportada previamente, en la mayoría de los estudios.^{28,29,64} El comportamiento posterior fue con una caída rápida y progresiva cuyo significado es desconocido, igual a lo reportado por Kotecha, quien explica este fenómeno probablemente relacionado a apoptosis (fenómeno detectado en sus estudios) en pulmones de recién nacidos.⁶⁴

Nuestro hallazgo apoyaría la contribución fisiopatológica de IL-1 α en el daño pulmonar producido, debido a que las concentraciones elevadas en comparación con los otros dos grupos y el patrón encontrado demuestra participación de estos mediadores de inflamación y aunque las diferencias no fueron significativas, seguramente dado el número pequeño de la muestra estudiada, su comportamiento fue totalmente diferente al patrón encontrado en los pacientes del control externo.

IL-1 e infección

En modelos experimentales animales se ha visto que IL-1 α y β inducen una serie de cambios fisiológicos en la respuesta de fase aguda a la infección, por lo que se han considerado pro-inflamatorias junto con IL-6 e IL-8.^{66,69} Estos cambios, que incluyen fiebre, síntesis de proteínas reactivas de fase aguda en el hígado y disminución plasmática de hierro, son benéficos para el hospedero por incremento de opsonización de micro-organismos y por inhibición de crecimiento microbiano. Por esto, la síntesis y secreción de IL-1 representa la primera línea de respuesta contra la infección aguda, sus efectos locales y sistémicos pueden ayudar a movilizar mecanismos de defensa no específicos.

El comportamiento de citocinas pro - inflamatorias en infección ha sido estudiado por varios autores, con el fin de apoyar el diagnóstico de sepsis neonatal, o de detectarla en forma temprana, o bien para identificar qué recién nacidos tienen mayor factor de riesgo para desarrollarla. Con relación a IL- 1 la información es contradictoria y ningún estudio ha estado relacionado con el desarrollo de DBP, sino con sepsis neonatal.^{70,71}

Tomando en cuenta la infección, el presente estudio es el único en el que hasta el momento se analiza la determinación de IL- 1 α en pacientes con y sin desarrollo de infección y DBP. El 36% de esta serie presentó septicemia y/o neumonía, lo que permitió estratificar los grupos, aunque con números pequeños, y encontrar que, los niños que desarrollaron DBP e infección tuvieron prácticamente el mismo comportamiento de IL-1 α aunque los niveles más altos fueron del grupo de DBP. Los valores más bajos de esta citocina en todos los días estudiados a partir del segundo día de vida se presentaron en los pacientes con SDR que no desarrollaron DBP ni infección, en cambio los valores más altos se presentaron en los grupos con infección con y sin DBP. Lo anterior apoya que el

incremento es debido tanto a inflamación como a la infección, sin poder definir cuánto corresponde a cada fenómeno. De los 6 pacientes con DBP e infección, 5 la desarrollaron en los primeros días de vida y las cifras más elevadas se presentaron en aquellos con mayor número de complicaciones como PCA, neumotórax e infección persistente. En los pacientes con SDR la infección temprana estuvo presente en todos los casos. Ambos grupos presentaron el pico máximo de elevación al 5 día lo que apoya la participación de esta citocina en infección.

IL-8

IL-8 es un poderoso quimioattractante de polimorfonucleares y esto ha sido demostrado al inducir acumulación de neutrófilos en tráquea canina,⁷² así como en líquido pleural de pacientes con empiema,⁷³ su papel en inflamación es inhibido con dexametasona.²⁷⁻²⁸ En pacientes adultos con síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRPA) la IL-8 se ha encontrado elevada en LBA, al igual que otras citocinas.³⁷⁻⁴¹ Comparando con la literatura que nos antecede en la población pediátrica, los autores realizaron determinaciones únicas²⁸, o menos frecuentes. Una característica común de los resultados en estudios semejantes al nuestro es la gran variabilidad de los resultados, ya que algunos autores refieren detecciones muy tempranas dentro del primer día de vida^{26,29,74} y otros muestran el pico máximo dentro de la segunda semana^{25,30} A pesar de esta variabilidad, todos han identificado niveles elevados de IL-8, con patrones diferentes. En nuestro grupo la elevación fue muy temprana desde el primer día de vida como lo referido por McColm, quien sugiere a esta interleucina como un posible indicador pronóstico muy temprano del desarrollo de DBP.²⁶ Sin embargo, contrario a los otros estudios las diferencias no fueron significativas entre los niños con SDR que desarrollaron DBP y los que no, aunque los niveles fueron más altos en los que desarrollaron DBP, pudiendo ser este esto secundario al tamaño de la muestra.

Los hallazgos de este trabajo apoyan que un incremento temprano de las concentraciones de IL-8, y su persistente elevación en aquellos niños que desarrollaron DBP, puede ser un mecanismo que inicie y sostenga una actividad quimiotáctica pronunciada,⁷⁵ promoviendo

la liberación de enzimas proteolíticas,³⁵ determinando daño pulmonar con desarrollo subsecuente de enfermedad pulmonar crónica.

IL-8 e infección.

Además de inflamación, se ha demostrado que hiperoxia y endotoxinas bacterianas son potentes inductores de IL-8.^{69,76} Tanto la infección como el desarrollo de DBP incrementaron los niveles de IL-8. En el comportamiento de la curva en las tomas secuenciales tardías de los días 14 al 28 se encontró una elevación importante de IL-8 triplicando su valor, aunque esto no obtuvo significancia estadística. Esto podemos explicarlo ya que de los 6 pacientes displásicos con infección, solos dos presentaron infección persistente y otras complicaciones en las tomas tardías. Estos pacientes tuvieron las concentraciones más altas de IL8 y permanecieron así en todas las determinaciones (ver cuadro 5).

Este trabajo permitió conocer el comportamiento de IL-1 α , y de IL8 durante el primer mes de vida, así como evidenciar su presencia en niveles mucho mayores en pacientes con SDR que desarrollan DBP, observándose un comportamiento de elevación mayor y persistente de la IL-8 en los niños DBP.

Si bien las concentraciones de interleucinas difieren parcialmente a lo referido previamente, el comportamiento de las curvas es similar a lo ya conocido. Kotecha y cols utilizando la técnica de RT-PCR cuantificó mRNA de IL-1, 6 y 8 encontrando niveles semejantes de IL-1 y 8 entre los niños con SDR que desarrollaron o no DBP y con niveles más elevados de IL6 en los DBP, especuló que la fuente celular de IL-6 es generada por células alveolares o de la vía aérea que son fácilmente liberadas a la luz de la misma y que por lo tanto son más accesibles de obtenerse mediante el lavado broncoalveolar. A diferencia de ello IL-1 e IL-8 resultarán de la sobreproducción de otras células no recuperadas en el LBA primordialmente de células epiteliales que han mostrado tener las tres interleucinas.⁶⁴

Como lo corroboran todos los estudios, cada paciente tiene su propio curso de expresión de la respuesta inflamatoria y por lo tanto de sus mediadores, sin embargo podemos afirmar que su participación consiste en una mayor elevación en los pacientes que desarrollan

DBP. Existe concordancia en todos los trabajos que nos anteceden y el nuestro de la gran variabilidad de las concentraciones encontradas; sin embargo las tendencias y curvas de comportamiento entre los pacientes son similares.

Por razones éticas, a pesar de no poder contar con muestras de LBA en pacientes del grupo de recién nacidos a término con pulmón sano, ya que estaban extubados, este estudio proporcionó información relevante del comportamiento de IL-1 α e IL-8 en el tiempo y en presencia o no de infección, apoyando que inflamación juega un importante y temprano papel en la patogénesis de DBP.

CONCLUSIONES

En la población estudiada:

1. IL-1 α e IL-8 se detectaron muy tempranamente en los pacientes que tienen SDR no importando si desarrollan o no DBP, apoyando la participación temprana de marcadores de inflamación.
2. En el grupo de DBP, el pico máximo de IL-1 α fue al 5 día de vida, con caída progresiva, mientras que IL-8 mantuvo niveles elevados durante todo el seguimiento.
3. Al subdividir los grupos en infectados y no infectados se observó que para IL-1 α , la elevación mayor se encontró en los que tenían DBP e infección, comparados contra los que tenían SDR solo, apoyando que además de inflamación, la infección juega también un papel muy importante.
4. Los hallazgos sugieren que tanto IL-1 α e IL-8 intervienen en la fisiopatología de DBP.
5. Se requieren más estudios para definir el grado de participación de cada citocina, así como su interacción con otros determinantes de su elevación en este tipo de pacientes.

CUADRO 1
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA*
(n=25)

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS	SDR CON DBP (n=14)	SDR SIN DBP (n=6)	P	RNTPS*** (n=5)
Edad gestacional (sem.)	29 (26-34)	33 (30-35)	0.06+	38 (38-39)
Peso al nacimiento (g)	1075 (500-2550)	1600 (1100-2250)	0.07+	2225 (2000-3100)
Sexo				
• Masculino	10	2	0.16++	1
• Femenino	4	4		4
Apgar				
• 1 minuto	5 (1-7)	5 (2-7)	0.08+	7 (4-8)
• 5 minutos	7 (4-8)	7 (5-8)	0.09+	9 (7-9)
Ventilación mecánica (días)	38 (10-103)	15 (8-21)	0.01+	13 (7-19)
PCA**	7	1	0.32++	0
Infección				
• Sepsis	2	2		
• Neumonía	1	1		
• Neumonía + sepsis	3	0		
• Total	6	3	1.0++	0

*Los datos se expresan como medianas (rangos), o bien como números absolutos.

**Persistencia de conducto arterioso

*** Recién nacidos a término con pulmón sano.

p significancia al comparar grupos SDR con DBP vs SDR sin DBP (+ U de Mann Whitney, ++ prueba exacta de Fisher)

CUADRO 2

COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE IL-1 (pg/ml) EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES EN LOS GRUPOS ESTUDIADOS*

EDAD (Días)	GRUPO I SDR CON DBP (n=14)	GRUPO II SDR SIN DBP (n=6)	P	GRUPO III RNTPS*** (n=5)
1	35.5(0-372)	18(3-110)	0.86	**
2	175(11-343)	193.5(7-434)	0.97	52(31-131)
3	214(32-634)	340.5(166-504)	0.40	96(71-332)
4	382(35-630)	337(27-432)	0.49	106(49-193)
5	469(41-915)	252(94-465)	0.15	98(80-182)
6	282.5(29-705)	252(132-398)	0.62	119(108-144)
7	309.5(31-706)	259.5(121-346)	0.49	131(116-182)
14	72(0-530)	67.5(35-207)	0.77	125(123-316)
21	55(19-537)	31	0.12	**
28	100(9-222)	**		**

* Los datos se presentan como medianas (rangos)

** Sin muestras

*** Recién nacido a término con pulmón sano.

P significancia entre los grupos I y II, U de Mann Whitney.

CUADRO 3

**COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE IL-8 (pg/ml) EN LAVADOS
BRONCOALVEOLARES DE LOS GRUPOS ESTUDIADOS***

Edad (Días)	GRUPO I SDR CON DBP (n=14)	GRUPO II SDR SIN DBP (n=6)	P	GRUPO III RNTPS*** (n=5)
1	1190(592-5918)	1072(959-1265)	0.23	**
2	1251(1055-6141)	1108.5(789-1268)	0.11	901(886-940)
3	1223(1054-5915)	1143.5(637-1298)	0.27	749(412-901)
4	1170(377-6043)	1131.5(773-1337)	0.49	858(655-983)
5	1138.5(456-5923)	1112(706-1295)	0.44	892(816-925)
6	1168.5(328-6033)	1116(1072-1308)	0.75	872(834-934)
7	1183(169-5089)	1120(807-1280)	0.27	761(658-940)
14	1270(1077-5571)	1270(1198-1296)	1.00	719(649-901)
21	1249(1058-5741)	1269		**
28	1188(1030-5902)	**		**

* Los datos se presentan como medianas (rangos)

**Sin muestras

*** Recién nacido a término con pulmón sano.

P significancia entre los grupos I y II (U de Mann Whitney)

CUADRO 4

**COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE IL-1(pg/ml) EN LAVADOS
BRONCOALVEOLARES DE RECIÉN NACIDOS CON Y SIN DBP INFECTADOS
Y NO INFECTADOS***

Edad (Días)	(DBP Infectado) (n=6)	(DBP no infectado) (n=8)	(SDR sin DBP, infectado) (n=3)	(SDR sin DBP, no infectado) (n=3)	p
1	13 (0-93)	101.5 (0-372)	59 (8-110)	32 (18-46)	0.71
2	124 (11-312)	202 (17-343)	262 (7-434)	125 (45-267)	0.69
3	213 (118-541)	225.5 (32-634)	452 (256-504)	284 (166-397)	0.61
4	382 (276-484)†	381 (35-630)	393 (391-432)	165 (27-283)	0.18
5	469 (57-659)	477 (41-915)	398 (161-465)	173 (94-331)	0.46
6	440.5 (48-680)	233 (29-705)	375 (155-421)	181 (110-252)	0.24
7	309.5 (31-706)	291.5 (115-664)	311 (180-344)	208 (121-346)	0.86
14	0 (0-396)	166 (25-530)	207	67.5 (35-100)	0.35
21	70.5 (47-147)	34.5 (19-537)	31		
28	110 (95-222)	56.5 (9-134)			

* Los datos son presentan como medianas (rangos)

p significancia entre en los grupos: Kruskal-Wallis

CUADRO 5

**COMPARACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE IL-8 (pg/ml) EN LAVADOS
BRONCOALVEOLARES DE RECIÉN NACIDOS CON Y SIN DBP INFECTADOS
Y NO INFECTADOS***

Edad (Días)	(DBP Infectado) (n=6)	(DBP no infectado) (n=8)	(SDR sin DBP, infectado) (n=3)	(SDR sin DBP, no infectado) (n=3)	p
1	1074.5 (592-5918)	1271 (1095-2661)	1072 (1059-1265)	1053.5 (959-1148)	0.33
2	1144 (1055-6141)	1266 (1078-5676)	1087 (1082-1268)	1130 (789-1168)	0.41
3	1130 (1057-5915)	1296.5 (1054-4922)	1084 (1084-1298)	1203 (637-1257)	0.67
4	1115.5 (377-2740)	1292 (1100-6043)	1113 (1054-1299)	1150 (773-1337)	0.36
5	1104 (456-5753)	1292 (1063-5923)	1079 (1051-1295)	1145 (706-1285)	0.50
6	1083 (328-2481)	1283.5 (1086-6033)	1104 (1072-1308)	1195.5 (1116-1275)	0.21
7	1094 (169-5089)	1281.5 (1059-4265)	1093 (1054-1280)	1147 (807-1276)	0.26
14	1632 (1077-2432)	1270 (1086-5571)	1270	1247 (1198-1296)	0.98
21	3215.5 (1058-5350)	1249 (1070-5741)	1269		1.0
28	2784 (1048-5902)	1188 (1030-4396)			0.46

* Los datos se presentan como medianas (rangos)

p significancia entre los grupos: Kruskal-Wallis

Figura 1
CONCENTRACIONES DE IL-1 EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES DE
RECIÉN NACIDOS CON DBP, SDR Y RNTPS

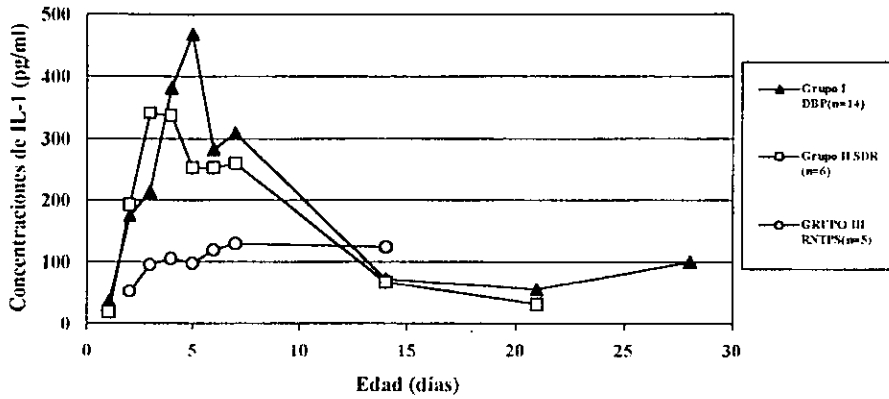


Figura 2
CONCENTRACIONES DE IL-8 EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES DE
RECIÉN NACIDOS CON DBP, SDR Y RNTPS

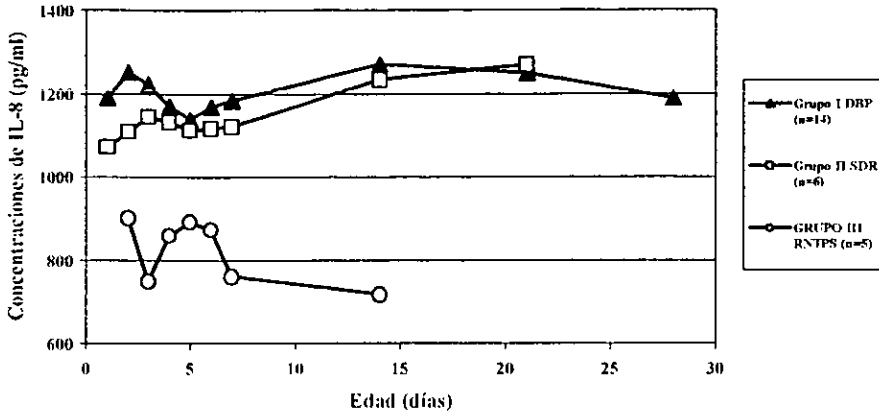
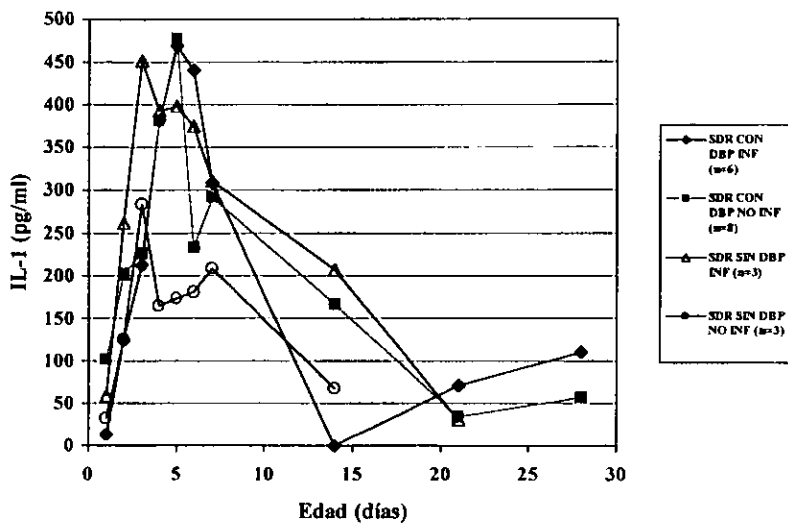
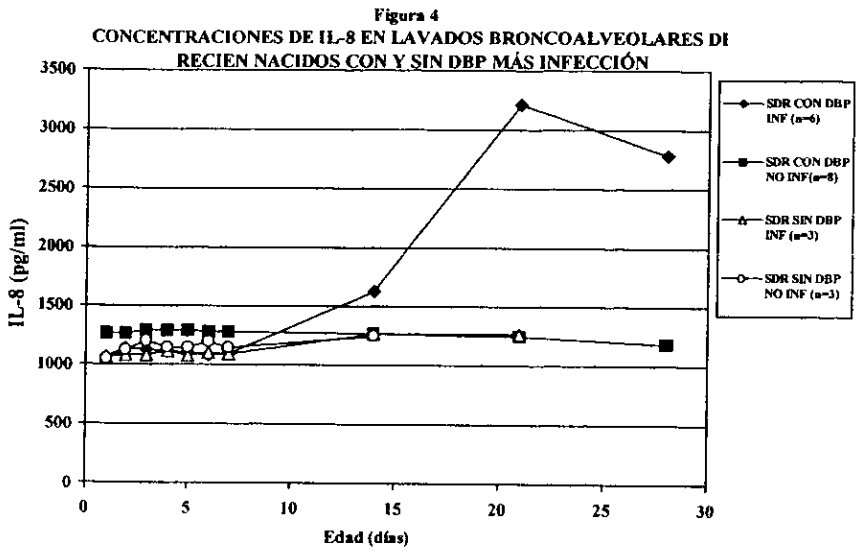


Figura 3
CONCENTRACIONES DE IL-1 EN LAVADOS BRONCOALVEOLARES
DE RECIÉN NACIDOS CON Y SIN DBP MÁS INFECCIÓN



**ESTA TESIS NO SALE
 DE LA BIBLIOTECA**



BIBLIOGRAFÍA

1. Northway Jr WH. Bronchopulmonary dysplasia: then and now. *Arch Dis Child* 1990;65:1076-81.
- 2.- Northway WH, Rosan C, Porter DY. Pulmonary disease following respiratory therapy of hyaline-membrane disease. *N Engl J Med* 1967; 276:357-68.
3. Bacalari E, Gerhardt T. Displasia Broncopulmonar. *Clin Ped North Am* 1986;1:3-27.
4. Holtzman R, Frank L. Displasia Broncopulmonar. *Clin Perinat North Am* 1993; 8:481-99.
5. Nilsson R, Grossman G, Robertson B. Lung surfactant and the pathogenesis of neonatal bronchiolar lesions induced by artificial ventilation. *Pediatr Res* 1978;12:249-55.
6. Davis JM, Metlay L, Dickerson B, Penney DY, Notter RH. Early pulmonary changes associated with high-frequency jet ventilation in newborn piglets. *Pediatr Res* 1990;27:460-5.
7. Davis JM, Dickerson B, Metlay L, Penney DP. Differential effects of oxygen and barotrauma on lung injury in the neonatal piglet. *Pediatr Pulmonol* 1991; 10:157-63.
8. Frank L, Groseclose EE. Preparation for birth into an O₂ rich environment: the antioxidant enzymes in the developing rabbit lung. *Pediatr Res* 1984;18:240-4.
9. Crapo J, Barry B, Foscue H, Shelburne J. Structural and biochemical changes in rat lungs occurring during exposure to lethal and adaptive doses of oxygen. *Am Rev Respir Dis* 1980; 122:123-43.
10. Turrens JF, Crapo JD, Freeman BA. Protection against oxygen toxicity by intravenous injection of liposome-entrapped catalase and superoxide dismutase. *J Clin Invest* 1984;73:87-95.
11. Padmanabhan RV, Gudapaty R, Leiner JE, Schwartz BA, Hoidal JR. Protection against pulmonary oxygen toxicity in rats by the intratracheal administration of liposome-encapsulated superoxide dismutase or catalase. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:164-7.
12. Ogihara T, Okamoto R, Kim HS, Nagai A, Morinobu T, Moji H. New evidence for the involvement of oxygen radicals in triggering neonatal chronic lung disease. *Pediatr Res* 1996;39:117-9.

13. Cassell GH, Waites KB, Crouse DT. Association of ureaplasma urealyticum infection of the lower respiratory tract with chronic lung disease and death in very low birth weight infants. *Lancet* 1988;2:240-4.
14. Wang EEL, Frayha H, Watts J, Hammerberg O. Role of Ureaplasma urealyticum colonization and other pathogens in the development of chronic lung disease in prematurity. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7:547-50.
15. Desilva NS, Quinn PA. Phospholipase A and C activity in ureaplasma urealyticum. *J Clin Microbiol* 1986; 23:354-8.
16. Frank L, Groseclose EE. Oxygen toxicity in newborn rats; the adverse effects of under nutrition. *J Appl Physiol* 1982;53:1248-53.
17. Forman HJ, Rotman EI, Fisher AB. Roles of selenium and sulfur containing amino acids in protection against oxygen toxicity. *Lab Invest* 1983; 49:148-52.
18. O'Dell BL, Kilburn KH, McKenzie WN, Thurston RJ. The lung of the copper deficient rat: a model for developmental pulmonary emphysema. *Am J Pathol* 1978;91:413-32.
19. Pierce MR, Bancalari E. The role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Pulmonology* 1995;19:371-5.
20. Özdemir Ali, Brown MA, Morgan WJ. Markers and mediators of inflammation in neonatal lung disease. *Pediatric Pulmonology* 1997;23:292-306.
21. Merrit TA, Cochrane CG, Holcomb K. Elastase and alpha 1 proteinase inhibitor activity in tracheal aspirates during respiratory distress syndrome. Role of inflammation in the pathogenesis of bronchopulmonary dysplasia. *J Clin Invest* 1983;72:656-66.
22. Malik AB, Perlman MB, Cooper JA, Noonan T, Vizois R. Pulmonary microvascular effects of arachinodinc acid metabolites and the role in lung vascular injury. *Fed Proc* 1985; 44:36-42.
23. Fantone JC, Feltner DE, Brieland JK, Ward PA. Phagocytic cell-derive inflammatory mediators and lung disease. *Chest* 1981;91:428-35.
24. Stenmark KR, Eyzaguirre M, Westcott JY, Henson PM, Murphy RC. Potential role of eicosanoids and PAF in the physiology of bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis* 1987; 136:770-2.
25. Groneck P, Gotze- Speer B, Opperman M, Effert H, Speer CP. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the

development of BPD: A sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high risk preterm neonates. *Pediatrics* 1994; 93:712-8.

26. McColm JR, Mcintosh N. Interleukin-8 in bronchoalveolar lavage samples as predictor of chronic lung disease in premature infants (letter). *Lancet* 1994;343:729.

27. Groneck P, Reuss D, Götze-Speer B, Speer C. Effects of dexamethasone on chemotactic activity and inflammatory mediators in tracheobronchial aspirates of preterm infants at risk for chronic lung disease. *J Pediatr* 1993;122:938-44.

28. Tullus K, Noack GW, Burman LG, Nilsson R, Wretling B, Brauner A. Elevated cytokine levels in tracheobronchial aspirate fluids from ventilator treated neonates with bronchopulmonary dysplasia. *Eur J Pediatr* 1996;155:112-6.

29. Craig AJ, Cayabyab RG, Kwong KYC, Stotts C, Wong B, Hamdan H, Minoo P, deLemos RA. Undetectable interleukin-10 and persistent IL-8 expression early in hyaline membrane disease: A possible developmental basis for the predisposition to chronic lung inflammation in preterm newborns. *Pediatr Res* 1996;39:966-75.

30. Kotecha S, Chan B, Azam N, Silverman M, Shaw RJ. Increase in interleukin-8 and soluble intercellular adhesion molecule-1 in bronchoalveolar lavage fluid from premature infants who develop chronic lung disease. *Arch Dis Child* 1995;72:F90-6.

31. Dinarello CA. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 1991;77:1627-52.

32. Shelhamer JH, Levine SJ, Wu T, Jacoby DB, Kaliner MA, Rennard SI. Airway inflammation. *Ann Intern Med* 1995;123:288-304.

33. Kunkel SL, Standifor T, Kasahara K, Strieter RM. Interleukin-8: the major neutrophil chemotactic factor in the lung. *Exp Lung Res* 1991;17:17-23.

34. Bussolino F, Sironi M, Bocchietto E, Mantovani A. Synthesis of platelet-activation factor by polymorphonuclear neutrophils stimulated with interleukin-8. *J Biol Chem* 1992;267:598-603.

35. Baggiolini M, Walz A, Kunkel SL. Neutrophil-activating peptide-1/IL-8, a novel cytokine that activates neutrophils. *J Clin Invest* 1989;84:1045-9.

36. Sekido N, Mukaida N, Harada A, Nakanishi Y, Watanabe Y, Matsushima K. Prevention of lung perfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8. *Nature* 1993;365:654-7.

37. Suter PM, Suter S, Girardin E, Roux-Lombard P, Grau GE, Dayer JM. High bronchoalveolar levels of tumor necrosis factor and its inhibitors, interleukin-1, interferon, and elastase in patients with adults respiratory distress syndrome after trauma, shock or sepsis. *Am Rev Respir Dis* 1992;145:1016-22.
38. Donnelly SC, Strieter RM, Kunkel SL, Walz A, Robertson CR, Carter DC, Interleukin-8 and development of adult respiratory distress syndrome in at-risk patient groups. *Lancet* 1993;341:643-7.
39. Goodman RB, Strieter RM, Martin DP, Steinberg KP, Milberg JA, Maunder RJ. Inflammatory cytokines in patients with persistence of the acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:602-11.
40. Martin SC, Jourdain B, Gibert C, Elbim C, Chastre J, and Gougerot-Pocidal MA. Interactions between neutrophils and cytokines in blood and alveolar spaces during ARDS. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;153:594-601.
41. Meduri GU, Headley S, Kohler G, Stentz F, Tolley E, Umberger R. Persistent elevation of inflammatory cytokines predicts a poor outcome in ARDS. Plasma IL-1B and IL-6 levels are consistent and efficient predictors of outcome over time. *Chest* 1995;107:1062-73.
42. Carre PC, Mortenson RL, King Jr TE, Noble PW, Sable CL, Riches DW. Increased expression of the interleukin-8 gene by alveolar macrophages in idiopathic pulmonary fibrosis. *J Clin Invest* 1991;88:1802-10.
43. Martinet Y, Menard O, Vaillant P, Vignaud JM, Martinet N. Cytokines in human lung fibrosis. *Arch Toxicol Suppl* 1996;18:127-39.
44. Wolfson SL, Frech R, Hewitt C, Shanklin DR. Radiographic diagnosis of hyaline membrane disease. *Radiol* 1969;93:339-43.
45. Bancalari ER, Abdenour GE, Feller R. Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. *J Pediatr* 1979; 95:819-41.
46. Merrit TA, Stuard ID, Puccia J, Wood B, Edwards DK, Finkelstein J. Newborn tracheal aspirate cytology: Classification during respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1981; 98:949-56.

47. Merrit TA, Puccia JM, Stuard ID. Cytologic evaluation of pulmonary effluent in neonates with respiratory distress syndrome and bronchopulmonary dysplasia. *Acta Cytol* 1981; 25:631-9.
48. Viscardi RM, Broderick K, Sun CHJ, Yale-Loehr AJ, Hessamfar A, Taciak V. Disordered pathways of fibrin turnover in lung lavage of premature infants with respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:492-9.
49. Ballard JL, Khoury JC, Wedig K, Wang L, Eilers-Walsman BL, Lipp R. New Ballard score, expanded to include extremely premature infants. *J Pediatr* 1991;119:417-23.
50. Frank Ñ. Antioxidants nutrition and DBP. *Clin Perinatol* 1992;10:541-62.
51. Cummings CK, D'Eugenio RA, Gross SJ. Controlled trial of dexamethasone in preterm infants at high risk for bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1989;320:1505-10.
52. O'Brodovich H, Mellins R. State of the art: bronchopulmonary dysplasia. *Am Rev Respir Dis* 1985;132:694-709.
53. Horbar J, McAuliffe T, Adler S. Variability in 28-day outcomes for very low birth weight infants: an analysis of 11 neonatal intensive care units. *Pediatrics* 1988;82:554-9
54. Gerhardt T, Bancalari E. Lung compliance in newborns with patent ductus arteriosus before and after surgical ligation. *Biol Neonate* 1980;38:96-105.
55. Stefano JL, Abbasi S, Pearlman SA. Closure of the ductus arteriosus with indomethacin in ventilated neonates with respiratory distress syndrome: effects on pulmonary compliance and ventilation. *Am Rev Respir Dis* 1991;143:236-9.
56. González A, Sosenko RS, Chandar J, Hummler H, Claire N, Bancalari E. Influence of infection on patent ductus arteriosus and chronic lung disease in premature infants weighing 1000 grams or less. *J Pediatr* 1996;128:470-8.
57. Watterberg KL, Scott SM, Backstrom C, Gifford KL, Cook KL. Links between early adrenal function and respiratory outcome in preterm infants: airway inflammation and patent ductus arteriosus. *Pediatrics* 2000;105:320-4.
58. LoMonaco MB, Barber CM, Sinkin RA. Differential cytokine mRNA expression by neonatal pulmonary cells. *Pediatr Res* 1996;39:248-52.
59. Dinarello CA. The proinflammatory cytokines interleukin-1 and tumor necrosis factor and treatment of the septic shock syndrome. *J Infect Dis* 1991;163.1177-84.

60. Dinarello CA, Wolff SM. The role of interleukin-1 in disease. *N Engl J Med* 1993;328:106-113.
61. Schröder JM. Interleukin-8. *Advances neuroimmunol.* 1992;2:109-24.
62. Dinarello CA. Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv Immunol* 1989;44:153-205.
63. Dinarello CA, Cannon JG, Wolff SM. New concepts on the pathogenesis of fever. *Rev Infect Dis* 1988;10:168-89.
64. Kotecha S, Wilson L.; Wangoo A, Silverman M, Shaw RJ. Increase in Interleukin (IL)-1[β] and IL-6 in Bronchoalveolar Lavage Fluid Obtained from Infants with Chronic Lung Disease of Prematurity. *Pediatric Research*© International Pediatrics Research Foundation, Inc. 1996; 40:250-6
65. Eichacker PQ, Hoffman WD, Farese A. TNF but not IL-1 in dogs causes lethal lung injury and multiple organ dysfunction similar to human sepsis. *J Appl Physiol* 1991;71:1979-89.
66. Leff JA, Baer JW, Bodman ME, Kirkman JM, Shanley PF, Patton LM, Beehler CJ, McCord JM, Repine JE. Interleukin-1-induced lung neutrophil accumulation and oxygen metabolite-mediated lung leak in rats. *Am J Physiol* 1994;266:L2-L8
67. Murch SH, Costeloe K, Klein NJ, MacDonald TT. Early production of macrophage inflammatory protein-1 α occurs in respiratory distress syndrome and is associated with poor outcome. *Pediatr Res* 1996;40:490-7.
68. Kassi SN, Romero R, McLaughlin K, Ager J, Janisse J. Serial changes in levels of IL-6 and IL-1 β in premature infants at risk for bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric Pulmonology* 2001;31:220-6.
69. Strieter RM, Lukacs NW, Standiford TJ, Kunkel S. Cytokine and lung inflammation: mechanisms of neutrophil recruitment to the lung. *Thorax* 1993;48:765-9.
70. Atici A, Satar M, Alparslan N. Serum interleukin-1 beta in neonatal sepsis. *Acta Paediatr* 1996;85:371-4.
71. Mancilla J, Garcia P, Dinarello CA. The interleukin-1 receptor antagonist can either reduce or enhance the lethality of *Klebsiella pneumoniae* sepsis in newborn rats. *Infection Immunity* 1993;61:926-32.

72. Jorens PG, Richmaneisenstat JBY, Housset BP. Interleukin -8 induces neutrophil accumulation but not protease secretion in the canine trachea. *Am J Physiol* 1992;6:L708-13.
73. Broaddus VC, Hébert CA, Vitangcol RV, Hoeffel JM, Bernstein MS, Boylan AM. Interleukin-8 is a major neutrophil chemotactic factor in pleural liquid of patients with empyema. *Am Rev Respir Dis* 1992;146:825-30.
74. Munshi UK, Niu JO, Siddiq MM, Parton LA. Elevation of interleukin-8 and interleukin-6 precedes the influx of neutrophils in tracheal aspirates from preterm infants who develop bronchopulmonary dysplasia. *Pediatric pulmonology* 1997;24:331-6.
75. Yoshimura T, Matsushima K, Tanaka S. Purification of a human monocyte-derived neutrophil chemotactic factor that has peptide sequence similarity to other host defense cytokines. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987;84:9233-7.
76. Metinko AP, Kunkel SL, Standiford TJ, Strieter RM. Anoxia-hyperoxia induces monocyte-derived interleukin-8. *J Clin Invest* 1992;90:791-8.