



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
SECRETARIA DE SALUD
HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO
DIVISION DE PEDIATRIA

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E INMUNOLÓGICAS EN PACIENTES PEDIATRICOS CON INFLUENZA HUMANA H1N1

TESIS

QUE PARA OBTENER EL DIPLOMA DE:
ESPECIALISTA EN PEDIATRIA

PRESENTA:

DRA. DIANITZEL AGUILAR GASTALDI

ASESOR DE TESIS:

DR. JAIME MELLADO ABREGO



MEXICO, D.F.

FEBRERO 2010



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 esta 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.

DR. CARLOS VIVEROS CONTRERAS
JEFE DE LA UNIDAD DE ENSEÑANZA

DR. JORGE ALBERTO DEL CASTILLO MEDINA
JEFE DE LA DIVISION DE PEDIATRIA
PROFESOR TITULAR DEL CURSO UNIVERSITARIO DE
ESPECIALIZACION EN PEDIATRIA

DR. JAIME MELLADO ABREGO
ASESOR DE TESIS

NUMERO DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN:
HJM1807/10.01.26-R

DEDICATORIAS:

**A mi madre que me apoyo con amor y paciencia en todo el camino
emprendido hasta este logro.**

**A mi Tío Moisés por siempre estar presente y ser un ejemplo de una persona
intachable, que desde donde estés compartas este triunfo.**

AGRADECIMIENTOS:

Al Hospital Juárez de México que fue mi segunda casa, gracias por permitir mi desarrollo profesional y humano.

Al Dr. Jorge Alberto del Castillo Medina por ser una guía y ejemplo en el camino emprendido

Al Dr. Jaime Mellado Abrego por su apego y entrega para compartir sus conocimientos pero sobre todo por brindarme su sincera amistad y apoyo en este difícil camino.

Al Dr. Maximiliano de León González por ser el inspirador de este gran reto que hoy veo culminado.

A mis compañeros residentes del hospital por todo lo aprendido y vivido juntos.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	06
1.1 MECANISMOS INMUNOLOGICOS EN INFLUENZA	06
1.1.1 Estructura de los virus de influenza	07
1.2 Patogenia e inmunidad	09
1.3 Virus de la Influenza H1N1	12
1.4 Tormenta de citocinas	15
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	18
3. HIPOTESIS.....	19
4. OBJETIVOS	20
5. MATERIAL Y METODOS.....	21
5.1 Diseño de estudio.....	21
5.2 Criterios de selección	21
5.3 Técnicas.....	21
6. CONSIDERACIONES ETICAS	23
7. RESULTADOS.....	23
8. LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES.....	30
9. DISCUSIÓN.....	30
10. CONCLUSIONES.....	33
11. BIBLIOGRAFIA.....	34
12. ANEXOS.....	36

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E INMUNOLÓGICAS EN PACIENTES CON INFLUENZA HUMANA H1N1.

1. INTRODUCCION.

Durante el siglo XX se desarrollaron 3 pandemias de influenza: en 1918 (influenza “española”) producida por un virus H1N1, en 1957 (influenza “asiática”) por virus H2N2 y la de 1968 (influenza “de Hong Kong”) por virus H3N2. Estas pandemias ocasionaron múltiples muertes, sobre todo la de 1918 en donde se calcula que la mortalidad fue de centenares por cada 100 000 habitantes. Las pandemias de 1957 y 1968, aunque tuvieron una amplia distribución en el mundo no tuvieron la letalidad que se observó en 1918.^{1,2.}

Con respecto a la influenza de 1918, los estudios actuales han mostrado que se trato de una transmisión de ave a humano formando un virus H1N1. La pandemia de 1957 probablemente fue la combinación del virus H1N1 sobreviviente de 1918 y que se combinó con un virus aviar H2N2 formando un virus H2N2 humanizado. Por ultimo la pandemia de 1968 fue el resultado de la combinación de este virus H2N2 humanizado con un virus aviar H3, formándose un nuevo virus, el H3N2. En base a este comportamiento se esperaba que la siguiente pandemia de influenza fuera nuevamente la combinación de virus de influenza humanos y su combinación con virus de influenza aviar, sin embargo no fue así.²

El actual virus circulante en el mundo y ocasiono la primera pandemia de este siglo es un virus H1N1 que tiene elementos genéticos tanto humanos como porcinos y aviares.³

La gran mayoría de las infecciones de la nueva variante del virus de influenza H1N1 son leves y autolimitados en la naturaleza. Sin embargo, un pequeño porcentaje de los pacientes requieren hospitalización y atención especializada en unidades de cuidados intensivos. Muchos casos graves se producen en adultos jóvenes aparentemente sanos, un grupo de edad rara vez afectado por la influenza estacional. Si bien el embarazo y condiciones metabólicas (Incluyendo la obesidad y la diabetes) han sido identificados como factores de riesgo de las infecciones graves de la nueva variante del virus de influenza H1N1, solo en un 40 a 50% de los casos fatales no tienen documentada enfermedad medica subyacente.

1.1 MECANISMOS INMUNOLOGICOS EN INFLUENZA.

1.1.1 Estructura de los virus de influenza.

Los virus de influenza pertenecen a la familia Orthomyxoviridae, de los cuales los virus A, B y C constituyen tres géneros separados. La designación de los virus de influenza como tipos A, B o C se basa en características antigénicas de las nucleoproteínas y los antígenos proteínicos de la matriz. Los virus A además se subdividen también en base a los antígenos de hemaglutinina (H) y de neuroaminidasa.

El virus de la influenza A tiene 16 subtipos H y 9 subtipos N distintos, de los que sólo se han relacionado los subtipos H1, H2, H3, N1 y N2 con brotes extensos de enfermedad en seres humanos. Los virus B y C de la influenza se designan de manera semejante, pero los antígenos H Y N de estos virus no han recibido designaciones de subtipo porque las variaciones intratípicas de los antígenos de la influenza A quizá no los haya en otros virus de la influenza. Los viriones son partículas esféricas irregulares de 80 a 120 nm de diámetro y tienen una cubierta de lípidos desde cuya superficie se proyectan las glucoproteínas H y N.

La hemaglutinina es el sitio por el medio del cual el virus se fija a las células receptoras, en tanto que la neuroaminidasa degrada al receptor y desempeña una función de la descarga del virus desde las células infectadas después de haberse replicado en su interior. Los virus de la influenza ingresan en las células por endocitosis regulada por receptores, con formación de un endosoma que contiene a los virus. La hemaglutinina vírica regula la fusión de la membrana endosómica con la cubierta del virus, tras lo que se descargan las nucleocápsides víricas en el interior del citoplasma. Las respuestas inmunitarias contra el antígeno H constituyen los factores determinantes de la protección contra la infección por virus de influenza, en tanto que las que surgen contra el antígeno N limitan la propagación del virus y contribuyen a la disminución en la intensidad de la infección. La cubierta de lípidos del virus de influenza A también contiene proteínas M1 y M2 que participan en la estabilización de la cubierta y también en el ensamblado del virus. El virión contiene también el antígeno NP, que esta relacionado con el genoma vírico, así como con tres proteínas de polimerasa (P) que son esenciales para la transcripción y la síntesis de RNA vírico.

Hay dos proteínas no estructurales que funcionan como antagonista del interferón y reguladora postranscripcional (NS1) y como factor nuclear de exportación (NS2 o NEP).⁶

El genoma de los virus de la gripa A y B consta de 8 segmentos de RNA vírico monocatenario que codifican las proteínas estructurales y no estructurales. Como el genoma esta segmentado, la posibilidad de un reordenamiento de los genes durante la infección es elevada y este fenómeno se observa con frecuencia en células infectadas con más de un virus de influenza A.⁶

1.2 Patogenia e inmunidad.

En la influenza, el primer acontecimiento es la infección del epitelio respiratorio por el virus, que se adquiere a través de las secreciones respiratorias de los sujetos con infección aguda. Con toda seguridad, esto se produce a través de aerosoles originados por la tos y el estornudo, aunque también puede ocurrir por contacto mano a mano y por otros contactos personales e incluso por vectores pasivos. Los datos experimentales sugieren que la transmisión por aerosoles de partículas pequeñas (menos de 10 μm de diámetro) es más eficaz que la producida por gotitas mayores. Al principio la infección afecta a las células epiteliales cilíndricas ciliadas, pero también puede afectar a otras células del aparato respiratorio, como las células alveolares, las células de las glándulas mucosas y los macrófagos. En las células infectadas, la replicación vírica tiene lugar en 4 a 6 horas, transcurridas las cuales los virus son liberados e invaden a las células adyacentes o próximas. Esto lleva consigo la propagación de la

infección en cuestión de unas horas desde unos pocos focos hasta un gran número de células respiratorias. En la infección provocada experimentalmente, el periodo de incubación de la enfermedad varia entre 18 a 72 horas, dependiendo del tamaño del inóculo vírico. El estudio histopatológico revela cambios degenerativos en las células ciliadas infectadas, entre ellas granulaciones, vacuolización, edema y núcleos picnóticos. Finalmente, las células presentan necrosis, descamación y en algunas zonas, el epitelio cilíndrico inicial es sustituido por células epiteliales aplanadas y metaplásicas.

La gravedad de la enfermedad guarda relación con la cantidad de virus eliminado en las secreciones, lo que indica que por sí misma, la intensidad de la replicación vírica puede ser un mecanismo importante en la patogenia de la enfermedad. A pesar de la frecuencia con que se producen los síntomas y signos generales, como fiebre, cefalea y mialgias, los virus de la influenza rara vez se descubren fuera del pulmón, ni siquiera en el torrente sanguíneo. Las pruebas con que se cuenta sugieren que los síntomas generales de la influenza pueden estar relacionados con la inducción de ciertas citocinas, en particular el factor de necrosis tumoral alfa y las interleucinas 6 y 8, en las secreciones respiratorias y en la sangre.^{6,7}

La respuesta del hospedador a las infecciones gripales comprende una interacción compleja de anticuerpos humorales, anticuerpos locales, reacciones de inmunidad celular, interferón y otras defensas del hospedador. La respuesta de los anticuerpos séricos puede medirse con diversas técnicas y se detecta en la segunda semana de la infección primaria por el virus de la influenza. Esta respuesta puede medirse por inhibición de la hemoaglutinación (IH), fijación del

complemento, neutralización, prueba de inmunoadsorbencia ligado a enzimas (ELISA) y análisis de anticuerpos contra la neuroaminidasa. Los anticuerpos dirigidos contra la hemaglutinina son al parecer importantes como reguladores de la inmunidad y en varios estudios, los valores de IH de 40 o más se asocian con una protección frente a la infección. Los anticuerpos secretorios producidos por las vías respiratorias son sobre todo de la clase Ig A y también participan de manera importante en la protección contra la infección. Las concentraciones de neutralización de anticuerpos secretores iguales o superiores a 4 se han asociado con protección. Poco después del comienzo de la infección y dependiendo de la inmunidad previa del hospedador, se pueden detectar diversas respuestas de inmunidad celular, tanto específicas como inespecíficas para el antígeno, en las que intervienen células T proliferativas, células T citotóxicas y linfocitos NK. En el ser humano, las células CD8+, que son células T citotóxicas restringidas en el antígeno leucocitario humano (HLA) de clase I, están dirigidas hacia regiones conservadas de proteínas internas (NP, M y polimerasas), así como contra las proteínas de superficie (H y N). Poco después de iniciada la excreción del virus es posible identificar interferones en las secreciones respiratorias y las concentraciones crecientes de estos interferones coinciden con las disminuciones de la excreción.^{6,7}

No se ha precisado con exactitud los factores de defensa del hospedador que están a cargo del cese de la eliminación del virus y de la resolución de la enfermedad. La eliminación del virus generalmente se interrumpe dos a cinco días después del comienzo de los síntomas, a menudo cuando las respuestas de anticuerpos locales y séricos aun no se detectan con las técnicas convencionales,

aunque la elevación de los anticuerpos se puede identificar antes con técnicas muy sensibles, especialmente en sujetos con inmunidad previa al virus. Se ha sugerido que el interferón, las respuestas de inmunidad celular o las reacciones inflamatorias inespecíficas pueden tener importancia en la resolución de la enfermedad. Las reacciones de los linfocitos T citotóxicos pueden ser particularmente importantes a este respecto.

1.3 Virus de influenza H1N1.

Los virus de gripe de A (H1N1) primero fueron aislados de los cerdos en 1930 y han demostrado tener un alto parecido antigénico con el virus humano recientemente reconstruido A de 1918 (H1N1) y parte probable de un antepasado común. De 1930 a finales de los años 90 la gripe clásica de los cerdos se mantuvo circulando y permaneció antigénicamente estable.^{8,9}

En 1998 la gripe clásica de los cerdos se unió a un virus humano contemporáneo A (H3N2) y a un virus de gripe aviar de linaje americano de un subtipo desconocido, dando por resultado la aparición de un triple rearreglo: el H3N2 (rH3N2) en poblaciones de cerdos en Norteamérica. Poco después de la detección inicial del virus rH3N2, hubo un nuevo rearreglo entre el virus rH3N2 y el virus de los cerdos clásico, el H1N1, y se cree haber dado lugar a la generación de otros virus re arreglados triples A (H1N1) y de virus A (H1N2). Además de la detección de estos rearreglos triples en Norteamérica en poblaciones de cerdos desde el finales de los 90, se han detectado estos rearreglos triples en las poblaciones asiáticas de los cerdos. Desde 1999 ha habido divergencia antigénica dentro los rearreglos triples de los virus H1, como duplicar la diferencia de títulos del análisis de la inhibición de la hemoaglutinación (HI), que si fuera visto en virus humanos

sería suficiente para requerir una actualización de cambio antigénico de la vacuna de la gripe del ser humano estacional.^{8,9}

Esta aparente estabilidad antigénica de la gripe de cerdos clásica H1N1 duro hasta 1998 en donde se observó un cambio antigénico de H1 en seres humanos y esto creó un “boquete antigénico” substancial entre los virus de cerdo clásico H1 y los virus estacionales humanos H1. Así, los cerdos tienden a convertirse en depósito de los virus H1 con el potencial para causar brotes de influenza significativos o aún una pandemia en seres humanos.^{8,9}

En últimas décadas, la gripe clásica y la de rearrreglo triple de los cerdos se ha aislado de vez en cuando en los seres humanos. Aunque estas infecciones causan la enfermedad clínica, y en ocasiones hospitalizaciones y muertes, solamente se había documentado transmisión entre personas limitada.^{8,9}

En abril de 2009, un virus A sin descripción previa (H1N1) fue aislado de seres humanos en México y los EU. Para el 18 de mayo de 2009, había 8829 casos confirmados por laboratorio en 40 países, dando por resultado 74 muertes. De los virus 2009 A (H1N1) tenemos los genomas completos o parciales ordenados de 17 virus que se aislaron en México, y 59 a partir de 12 estados en los E.U.^{8,9}

El virus A (H1N1) contiene una combinación de segmentos de genes que no se ha divulgado previamente en cerdos o virus de gripe humanos en los EU o en otra parte. La NA y los segmentos del gen de M están en los cerdos de linaje genético eurasiáticos.^{8,9}

Dado la historia de los acontecimientos de los rearrreglos del virus de la gripe de cerdos, es probable hayan emergido rearrreglos que no se han muestreado. La vigilancia pobre para los virus de gripe de cerdos y la observación que el gen

ancestral más cercano para cada uno de los ocho segmentos del gen de cerdos sugiere que el origen de este virus pudiera haber pasado desapercibido entre los cerdos en alguna parte del mundo. Varios panoramas existen, incluyendo el rearreglo en Asia o en América, y desencadenaron los acontecimientos de los cuales han llevado a la génesis del virus 2009A(H1N1).^{8,9} (Figura 1)

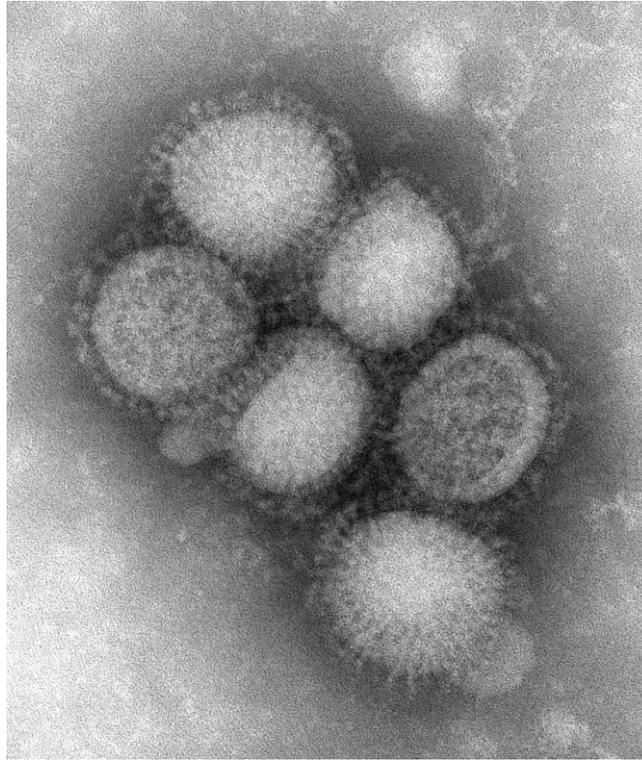


Figura 1. Imagen con microscopía electrónica del virus H1N1

Hasta la fecha no se han identificado molecularmente características demostradas previamente que confieren transmisibilidad creciente o virulencia en estudios de otros virus de la gripe A.^{8,9}

Los virus 2009 de gripe de A (H1N1) tienen el marcador genético (S31N en el M2) para la resistencia a la amantadina, y son sensibles al oseltamivir y al zanamivir.

La resistencia a la amantadina es un marcador característico del linaje eurasiático de los cerdos.^{8, 9, 10}

La circulación de un virus originado en el cerdo A (H1N1) dentro de los seres humanos son antigénicamente y genéticamente divergente, así como una composición genética previamente desconocida ha preocupado a los responsables de sanidad pública en todo el mundo. Que este virus parece fácilmente transmisible entre los seres humanos es más causa para la alarma. Las distancias evolutivas entre los segmentos genéticos de este virus y de sus parientes más cercanos indican una carencia de la vigilancia en las poblaciones de los cerdos y que se han convertido en una pandemia.^{8, 9}

1.4 Tormenta de citocinas.

En el año 2005 en el Sudeste asiático se presentó un brote de influenza producida por virus A (H5N1) obtenido por el humano a través del contacto con aves, ocasionando una alta mortalidad (en algunas series reportadas hasta del 100%) y que afortunadamente se pudo controlar, además que la transmisión humano a humano nunca se dio de manera sostenida por lo que el avance de este tipo de influenza se limitó a esa región mundial.¹¹

El estudio de este virus mostró que entre los factores de virulencia se incluían una hemaglutinina con alta afinidad que se activaba por múltiples proteasas celulares y que también le confería una alta resistencia a la inhibición por interferones y a TNF alfa.¹¹

La respuesta inmunológica del huésped fue difícil de valorar en estos pacientes afectados debido a su alta letalidad, por lo que los datos obtenidos hasta el momento se basan muchas veces en modelos animales.

La respuesta inmune innata puede contribuir a su patogénesis; en un experimento en el cual se infectaron ratones con virus de influenza H5N1 se encontró que tenían elevados niveles de interleucina 6, TNF-alfa, interferón gamma y receptor soluble de interleucina 2, así como niveles elevados de quimiocinas proteína 10 inducida por interferón, proteína 1 quimio atrayente de monocitos y monocina inducida por interferón gama. Estos hallazgos y la poca participación al parecer de células de la respuesta inmune como linfocitos han hecho pensar que la muerte de estos pacientes es debido a una inflamación sistémica sostenida que se le ha llamado “tormenta citocínica o de citocinas”.¹²

En una primera aproximación para entender el rol que juega la respuesta inmune del huésped en la evolución de la enfermedad grave y leve por la nueva variante del virus de influenza H1N1, se han evaluado los niveles sistémicos de quimiocinas y citocinas en el suero de pacientes hospitalizados y pacientes ambulatorios.

Una de las observaciones más interesantes que se han hallado es el dramático aumento de los mediadores que estimulan la respuesta Th-1 (IFN- ϕ , TNF- α , IL-15, IL-12p70) y Th-17 (IL-8, IL-9, IL-17, IL-6) en los pacientes graves. Th-1 es una respuesta importante de inmunidad adaptativa contra microbios intracelulares como los virus. Th-17 participa en la eliminación de patógenos durante las reacciones de defensa del huésped, pero también participa en la

inflamación de los tejidos en varias enfermedades autoinmunes, enfermedades alérgicas y el asma.

En un estudio realizado durante la primera ola pandémica en España de julio y agosto de 2009 dentro del Sistema Nacional de Salud Pública se reclutaron dos grupos tanto hospitalizado como ambulatorio en 10 hospitales diferentes. Se analizaron 29 citocinas y quimiocinas en el suero obtenido durante los primeros cinco días después del inicio de los síntomas. La carga viral fue analizada mediante la técnica de PCR en tiempo real.

Se observó un aumento de IFN- γ , IL-8, IL-9, IL-13 e IL-10, tanto en enfermedad crítica y en pacientes no hospitalizados con enfermedad crítica como con enfermedad leve lo cual indica que no constituyen características de la enfermedad grave. La IL-9 es una citoquina Th2 que induce la diferenciación de las células Th-17. La IL-10 y la IL-13 muestran propiedades inmunomoduladoras. Y las IL-13 y 17 atenúan la producción de citocinas.¹³

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La poca información bibliográfica y la novedad de virus emergentes, hacen indispensable obtener la mayor información en poco tiempo para poder establecer tratamientos efectivos y evaluar la respuesta de los virus a los tratamientos ya establecidos e identificar factores de riesgo para evaluar de mejor manera a población en riesgo.

¿Cuáles son las características clínicas e inmunológicas en pacientes con influenza humana H1N1?

3. HIPOTESIS.

La influenza H1N1 debido a sus características tiende a comportarse diferente a otros tipos de influenza clínica e inmunológicamente.

HIPÓTESIS NULA.

La influenza H1N1 no se comporta diferente a otros tipos de influenza ni clínica ni inmunológicamente.

4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL.

Determinar las características epidemiológicas de pacientes pediátricos con influenza humana H1N1.

OBJETIVOS ESPECIFICOS.

Determinar las características clínicas e inmunológicas de pacientes pediátricos con influenza humana H1N1.

5. MATERIAL Y METODOS.

5.1 DISEÑO DE ESTUDIO

Se trata de un estudio observacional, prospectivo, longitudinal y no experimental.

5.2 CRITERIOS DE SELECCION

Criterios de inclusión y exclusión.

Inclusión.

Paciente con sospecha de influenza humana.

Ingresados por urgencias pediátricas

Menores de 17 años.

Que acepten participar en el estudio previo consentimiento informado.

Exclusión.

Mayores de 17 años.

Que no acepten participar en el estudio.

5.3 TECNICAS

Se reclutaron pacientes que acudieron durante los meses de septiembre y octubre de 2009 al hospital por el servicio de urgencias pediátricas con sintomatología de infección de vías respiratorias (fiebre de difícil control, tos, inicio súbito de síntomas, obstrucción nasal, hiperemia conjuntival, dolor en tórax, odinofagia, hemoptisis, cefalea, cianosis, rinorrea, mialgias, ataque al estado general, disnea) o a que juicio del médico de urgencias se sospechara de cuadro de influenza. Previo consentimiento informado y firmado por padre o tutor se realizó el llenado de la hoja de datos anexos de manera directa y/o por familiar responsable, y se tomaron muestras de sangre venosa periférica de 3 a 5 ml

obtenida por venopunción colectada en tubos con EDTA como anticoagulante para la cuantificación de subpoblaciones de linfocitos T y B en los tubos sin anticoagulante para determinación de citocinas plasmáticas (IL 12p70, TNF alfa, IL-1b, IL- 6, IL- 8, IL- 10).

Las determinaciones de subpoblaciones de linfocitos y citocinas se realizaron por citometría de flujo utilizando un equipo FACSCalibur de 4 colores (Becton – Dickinson). Para la determinación de porcentajes y recuentos absolutos de las subpoblaciones de linfocitos T se usaron reactivos MultiTEST.

Para la detección de citocinas extracelulares se uso el método de CBA (Cytometric Bead Array) que consiste en un inmunoensayo en perla, capaz de detectar concentraciones de pg/MI; para la detección de las proteínas solubles se utilizo este método de acuerdo al procedimiento establecido por el fabricante. Las detecciones se hicieron a partir de los sueros congelados.

A los pacientes con sospecha de influenza se les realizó un hisopado nasofaríngeo para determinación de material genético del virus H1N1 mediante técnica de PCR en tiempo real. La muestra hisopada se envió al Instituto Nacional de Nutrición y Ciencias Medicas Salvador Zubiran.

A todos los pacientes además se les solicitó biometría hemática completa, química sanguínea que incluyó: glucosa, urea, creatinina, TGO, TGP, CK y fracción MB, lipasa, amilasa,

Los pacientes fueron valorados por el servicio de urgencias pediátricas quien determinó la necesidad de realizar otros estudios de laboratorio y gabinete (radiografía de tórax, gasometría arterial, etc.) y también estableció el tratamiento.

6. CONSIDERACIONES ETICAS

La investigación es de un tipo observacional no experimental. Se solicitó el consentimiento informado a los padres y/o tutores para la toma de una muestra de sangre venosa, manteniendo la confidencialidad de los pacientes durante todo el proceso del estudio.

7. RESULTADOS

Durante los meses de septiembre y octubre de 2009, se reclutaron un total de 32 pacientes con sospecha clínica de influenza H1N1, que aceptaron participar en el estudio. Sin embargo cuando se obtuvieron los resultados de PCR en tiempo real solo 18 pacientes se pudieron confirmar como enfermos de H1N1, además de un paciente positivo a influenza estacional (tipo A).

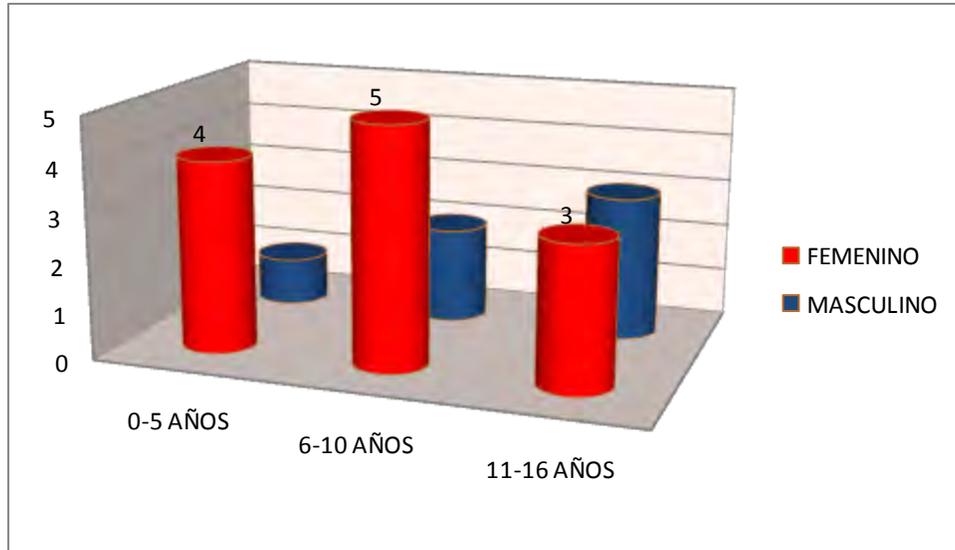
Los datos obtenidos de estos pacientes fueron vaciados en una hoja de cálculo (Excel. Microsoft Office) para su análisis y aplicación de estadística descriptiva.

La edad promedio de los pacientes fue de 9 años (el menor de 8 meses y el mayor de 16 años).

El promedio entre el inicio de síntomas y la asistencia médica en este hospital fue de 3.5 días. (El rango fue de 1 a 15 días)

La distribución de los pacientes por sexo fue de 12 pacientes femeninos y 6 masculinos (grafica 1). Los pacientes en edad escolar representaron la mayor población afectada.

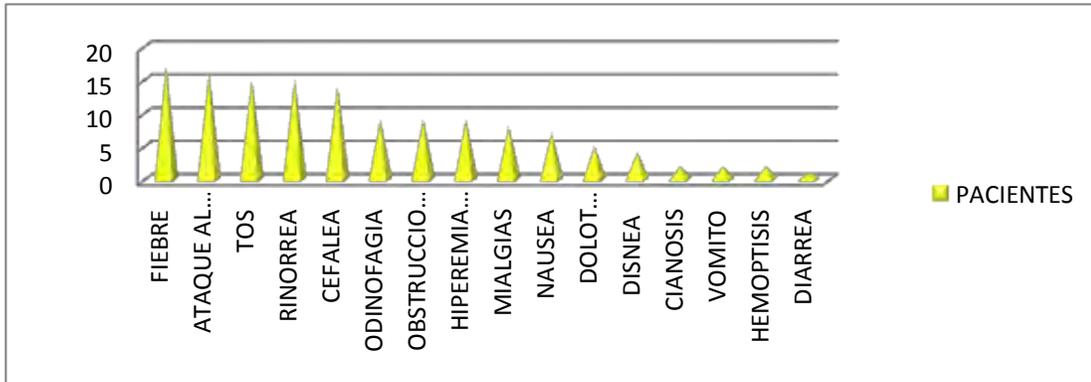
GRAFICO 1. DISTRIBUCIÓN POR SEXO Y EDAD DE PACIENTES CON INFLUENZA H1N1 EN SERVICIO DE URGENCIAS PEDIATRÍA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2009.



Fuente: Hoja de captura de datos de protocolo. Servicio de urgencias pediatría. Hospital Juárez de México. Septiembre-octubre 2009.

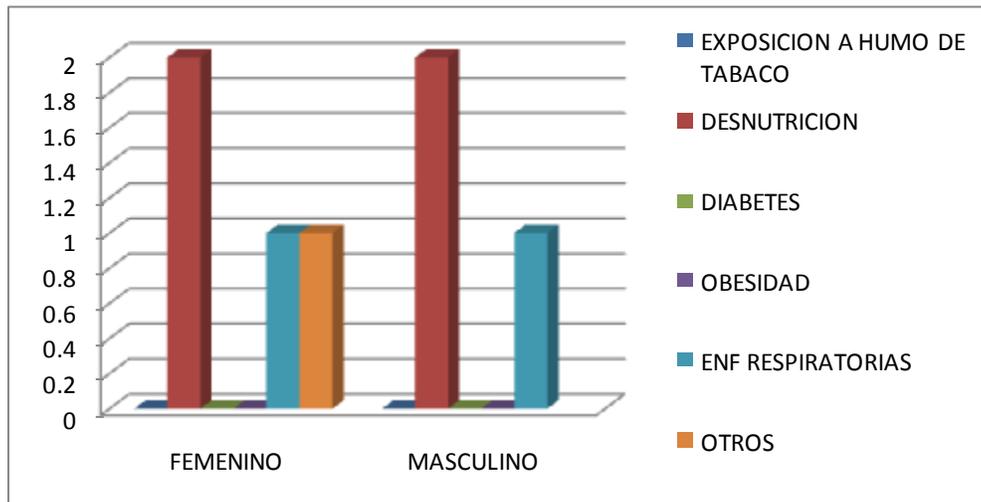
Con respecto a los síntomas y signos los síntomas más frecuentes fue la fiebre, seguido del ataque al estado general, así como tos, rinorrea y cefalea, siendo infrecuente la diarrea, vomito, hemoptisis y cianosis. (Grafica 2)

GRAFICO 2. FRECUENCIA DE SIGNOS Y SINTOMAS DE PACIENTES CON INFLUENZA H1N1 EN EL SERVICIO DE URGENCIAS PEDIATRÍA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2009.



Fuente: Hoja de captura de datos de protocolo. Servicio de urgencias pediatria. Hospital Juárez de México. Septiembre-octubre 2009.

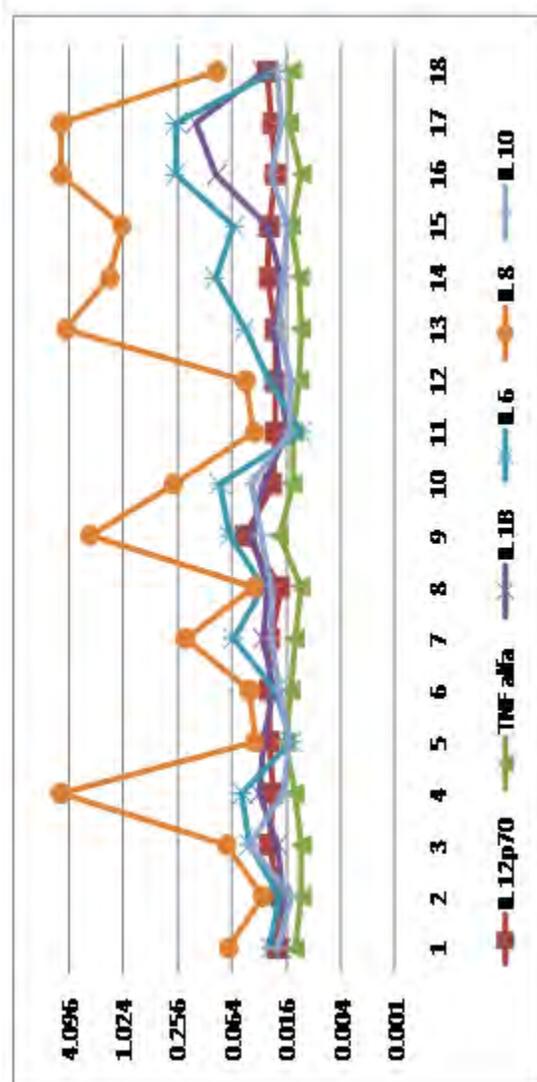
GRAFICO 3. FRECUENCIA DE FACTORES ASOCIADOS EN PACIENTES CON INFLUENZA H1N1 EN EL SERVICIO DE URGENCIAS PEDIATRÍA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2009



Fuente: Hoja de captura de datos de protocolo. Servicio de urgencias pediatria. Hospital Juárez de México. Septiembre-octubre 2009.

Los factores asociados en los pacientes con influenza H1N1 fueron desnutrición y exposición a humo de tabaco (Grafica 3)

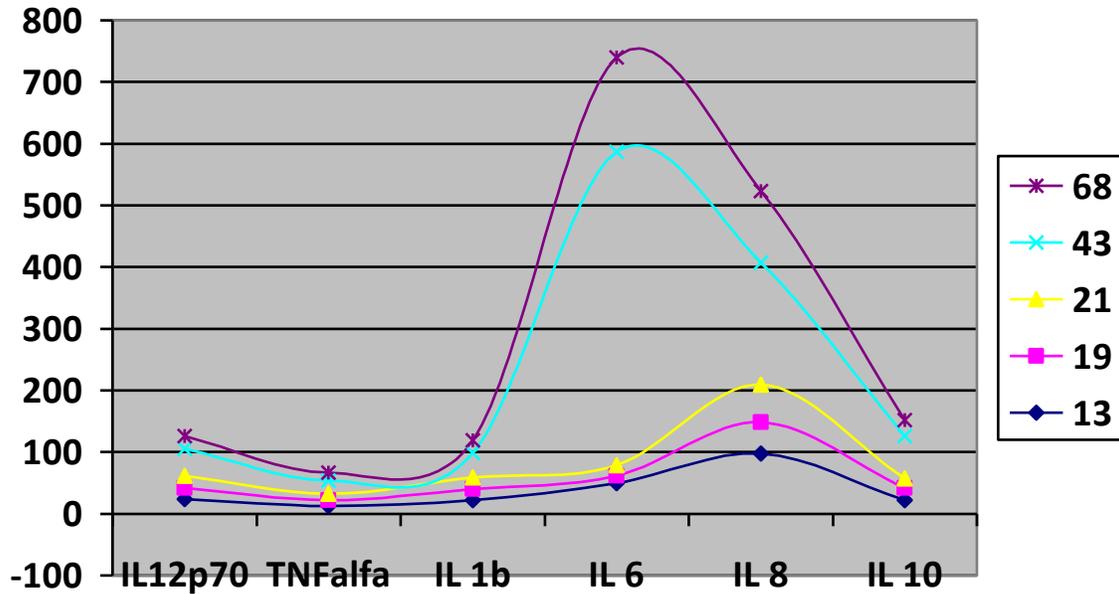
GRAFICO 4. DISTRIBUCION DE CITOCINAS EN PACIENTES CON INFLUENZA H1N1 EN EL SERVICIO DE URGENCIAS PEDIATRÍA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2009



Fuente: Hoja de captura de datos de protocolo. Servicio de urgencias pediatria. Hospital Juárez de México. Septiembre-octubre 2009.

Dentro de las citocinas medidas se observa un claro aumento de la IL-8, seguida de la IL-6 y en algunos pacientes IL-12 e IL-10. El resto de citocinas se comportaron de manera homogénea. (Gráfica 4)

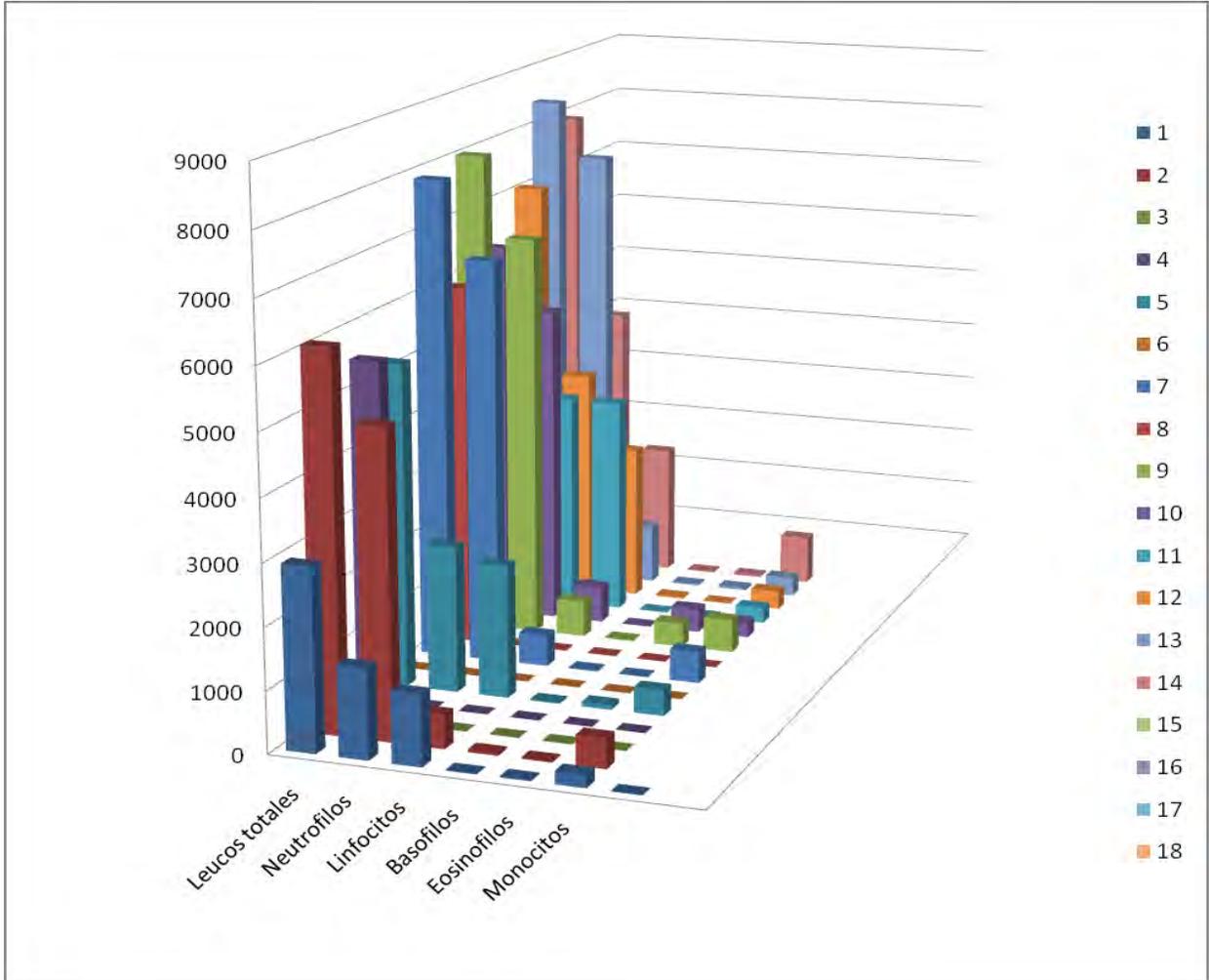
GRAFICO 5. DISTRIBUCION DE CITOCINAS EN PACIENTES NEGATIVOS A INFLUENZA H1N1 EN EL SERVICIO DE URGENCIAS PEDIATRÍA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2009



Fuente: Hoja de captura de datos de protocolo. Servicio de urgencias pediatria. Hospital Juárez de México. Septiembre-octubre 2009.

Dentro de las citocinas medidas en el grupo control se observa un también un aumento de la IL-8, seguida de la IL-6, ambas no específicas de patología. El resto de citocinas se comportaron de manera homogénea.

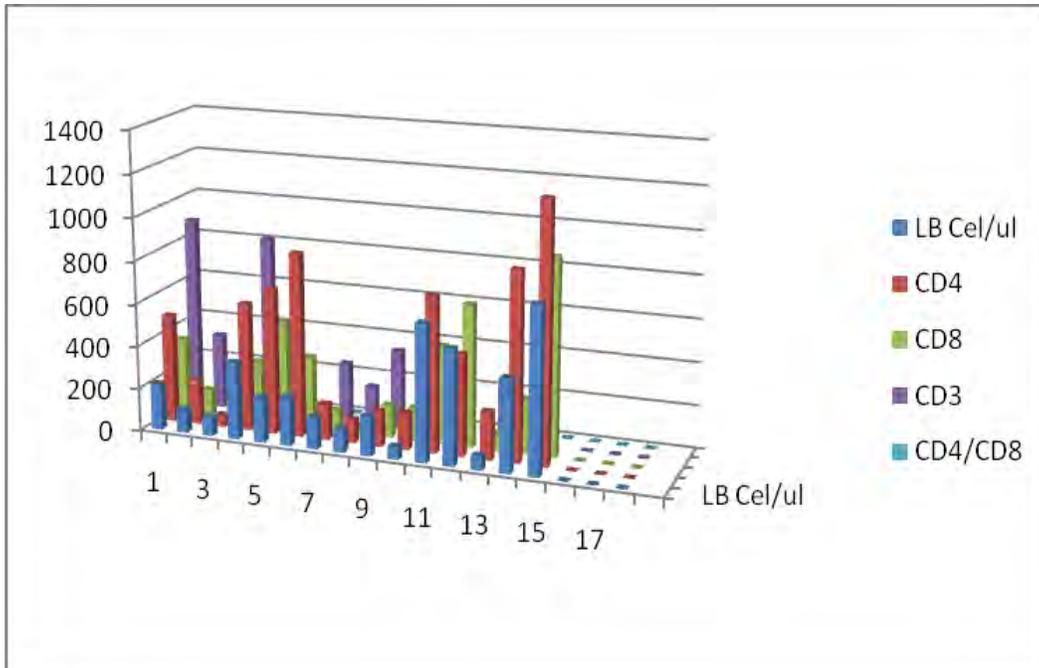
GRAFICO 6. RECUENTO DE LEUCOCITOS EN PACIENTES CON INFLUENZA H1N1 EN EL SERVICIO DE URGENCIAS PEDIATRÍA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2009



Fuente: Hoja de captura de datos de protocolo. Servicio de urgencias pediatria. Hospital Juárez de México. Septiembre-octubre 2009.

Los pacientes presentaron dentro de los hallazgos de la biometría hemática una cuenta leucocitaria prácticamente dentro de rangos de normalidad para edad y sexo, sin embargo se observó un predominio de neutrofilia y algunos con leucopenia. (Grafica 4)

GRAFICO 7. RECUENTO DE SUBPOBLACIONES DE CELULAS T Y B EN PACIENTES CON INFLUENZA H1N1 EN EL SERVICIO DE URGENCIAS PEDIATRÍA EN EL HOSPITAL JUÁREZ DE MÉXICO. SEPTIEMBRE-OCTUBRE 2009



Fuente: Hoja de captura de datos de protocolo. Servicio de urgencias pediatria. Hospital Juárez de México. Septiembre-octubre 2009.

El recuento de linfocitos T y B que se observa en la gráfica 5, tuvo valores promedio dentro de la normalidad para edad.

8. LIMITACIONES Y RECOMENDACIONES.

La limitación de recursos para el estudio de esta epidemia (por ejemplo: el no tomar muestras de hisopado el fin de semana, la escasez de reactivos, la falta de recursos humanos suficientes) hicieron que no se ingresaran al protocolo al real número de pacientes que acudieron a esta unidad para su atención, lo que limita aún más poder establecer bases diagnóstico terapéuticas y/o preventivas.

9. DISCUSIÓN.

En el estudio se observó un predominio de la edad escolar, esto probablemente sea secundario a que son niños los cuales se encuentran en actividades relacionadas con mayor número de personas a comparación del lactante que solo convive con su círculo familiar.

Otro punto evaluado fue la fecha de inicio de la sintomatología y la atención en este hospital, el promedio de atención fue de 3.5 días. Esto es explicado debido a que los pacientes por lo regular acudían con un médico de primer contacto quien establecía un tratamiento y al no tener mejoría acudían al hospital. Conforme avanzó el protocolo el número de días disminuyó probablemente secundario a la campaña masiva de información que hubo por parte de las autoridades de salud que hicieron que los pacientes acudieran más expeditamente a recibir atención.

De los pacientes analizados en los cuales se esperaba encontrar la triada clínica clásica de un enfermo con influenza (coriza, fiebre y cefalea) se presentó en el 55.5% de los pacientes, sin embargo la triada de fiebre, tos y ataque al estado general se presentó en el 66.6% de los casos. A pesar de que se ha descrito una

sintomatología agregada al cuadro respiratorio (como mialgias, vomito y diarrea) estos se presentaron con poca frecuencia.

Los factores de probable riesgo para la obtención de la enfermedad como tabaquismo, desnutrición, diabetes u obesidad no se observaron en esta serie, sin embargo la muestra es muy pobre para poder establecer asociaciones para determinar factores de riesgo.

Con respecto a los niveles de citocinas cuantificados en estos pacientes la que presento una elevación evidente fue la IL-8 (que en realidad es una quimiocina perteneciente a la familia CXC). Esta interleucina puede ser producida por monocitos, neutrofilos, células dendríticas, natural killer, fibroblastos, células endoteliales, queratinocitos y célula epiteliales, en respuesta a liberación de lipopolisacaridos bacterianos, IL-1, factor de necrosis tumoral α , interferon γ y otras señales altamente específicas de lesión o distres tisular; por lo que se considera una quimiocina proinflamatoria poco específica. El efecto final de la producción de IL-8 es facilitar la migración de neutrofilos desde la médula ósea a los sitios de inflamación (lo que explicaría la neutrofilia y la linfopenia relativa encontrada en estos pacientes).

Otra citocina que se encontró elevada aunque en rangos menores fue la IL-6 de la cual sus actividades principales incluyen su acción sinérgica con IL-1 y TNF α para promover la activación de células T mediante células presentadoras de antígeno; induciendo respuesta de fase aguda; la replicación, diferenciación y producción de inmunoglobulinas en células B; y la promoción de la hematopoyesis y trombopoyesis. La IL-6 no induce la producción de ninguna otra citocina y ejerce

un efecto mínimo directo sobre las células inmunes a concentraciones fisiológicas, lo que sugiere que su función inmunológica principal es potenciar los efectos de otras citocinas; se produce en muchos tipos de células, incluyendo células T y B, monocitos y células endoteliales activadas. La IL-6 debido a sus funciones actuó en estos pacientes como sinérgica de IL-1 y además es un activador del sistema adquirido. En el estudio español mencionado en la introducción, se encontraron niveles elevados también de IL-8 e IL-6 que guardaron una correlación inversa con los niveles de presión arterial de oxígeno.

Otra interleucina la cual se elevó en rangos no tan altos pero sí significativos fue IL-1 la cual puede promover directamente el crecimiento y la diferenciación de células B, activar neutrofilos y macrófagos, estimular la hematopoyesis y producir un rango amplio de efectos sobre tipos de células no hematopoyéticas. También induce la expresión de muchas otras citocinas y mediadores que promueven la inflamación y por tanto, se le conoce como citocina proinflamatoria; no obstante, su importancia principal en la inmunidad se basa en su capacidad para inducir la activación de linfocitos T cooperadores por medio de células presentadoras de antígenos. IL-1 actúa de forma autocrina para así inducir o incrementar la expresión de diversas moléculas de adhesión, receptores para $IFN\alpha$ y proteínas clase II del MHC localizados en la superficie de las APC, y de esta manera incrementar la eficiencia con la que las APC pueden unirse y activar a las células TH. La IL1 también actúa de manera paracrina sobre células TH, aumentando la secreción de IL-2 y la expresión de receptores de superficie para IL-2 e $INF\gamma$; otros

eventos finalmente conducirán a la proliferación clonal de células T. Como resultado, la IL-1 contribuye al inicio de las respuestas inmunes tanto humorales como celulares. Aun cuando esta citocina puede funcionar de manera independiente, también trabaja de manera sinérgica con $TNF\alpha$ o con IL-6 con el fin de producir efectos notablemente aumentados. En el caso de los pacientes estudiados la elevación de IL-1 ayuda a la sinergia con IL-6 para despertar una respuesta inmune del sistema adaptativo, pero también ayudo a la proliferación de macrófagos y otras células que promueven la inflamación.

La elevación consistente de estas tres citocinas nos habla acerca de la activación del sistema innato que como era de esperar se activaría primero y en gran magnitud (tormenta de citocinas) en respuesta a un antígeno desconocido y contra el cual no existía inmunidad adquirida.

10. CONCLUSIONES.

Ante la primera pandemia del siglo XXI era importante conocer las características clínicas e inmunológicas de este virus emergente, ya que al no tenerse conocimientos previos se tenía que establecer los mecanismos patogénicos del mismo. El poder realizar este tipo de estudios en nuestra población nos permitirá compararlos con estudios similares nacionales e internacionales.

Los resultados de este estudio son coincidentes con lo reportado en la literatura mundial, sin embargo no se pueden establecer recomendaciones para el diagnóstico, manejo y prevención que sean 100% confiables debido a que la población estudiada es muy poca y probablemente no representativa.

11. BIBLIOGRAFIA.

1. Osterholm M. Preparing for the next pandemic. NEJM 2005; 352(18):1839-1842.
2. Belshe R. The Origins of Pandemic Influenza-Lesson from the 1918 virus. NEJM 2005; 353(21):2209-2211.
3. Shinde V, Bridges C, Uyeki T, *et al.* Triple Reassortant Swine Influenza A (H1) in Humans in the United States, 2005-2009. NEJM 2009; 360(25): 2616-2625.
4. Epidemic and Pandemic Alert and response (EPR)
http://www.who.int/csr/don/2009_06_15/en/index.html
5. Novel Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. NEJM 2009; 360 (25): 2605-2615.
6. Jawetz, Melnick in: Adelberg's Medical Microbiology. 24th edition. 2007. Mc Graw Hill.
7. Simmons C, Farrar J, Phil D. Insights into inflammation and Influenza. NEJM 2008; 359(15): 1621-1623.
8. Fraser C, Donnelly C, Cauchemez S *et al.* Pandemic Potencial of a Strain of Influenza A (H1N1): Early Findings. Scienceexpress.org/11may2009/page 1/10.1126/science.1176062.
9. Garten R, ToddDavis C, Russell C, *et al.* Antigenic and genetic characteristics of Swine Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses circulating in Humans. Scienceexpress.org/22may2009/page1/10.1126/science.1176225.
10. Dharan NJ, Gubareva LV, Meyer JJ *et al.* Infections with oseltamivir-resistant influenza A (H1N1) virus in the United States. JAMA 2009; 301: 1034.

11. The Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A/H5. Avian Influenza A (H5N1) infection in Humans. *NEJM* 2005; 353(13):1374-1386.

12. Szretter K, Gangappa S, Lu X, *et al.* Role of host cytokine responses in the pathogenesis of avian H5N1 influenza viruses in mice. *J. Virol* 2007;81(6):2736-2744.

13. Jesus B, Raul O, Tomas P, *et al.* Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza, *Critical Care* 2009;13 (6): 1-11.

12. ANEXOS

HOJA DE CAPTURA DE DATOS. PACIENTES CON SOSPECHA DE INFLUENZA HUMANA.

DATOS GENERALES.

Fecha.
 Iniciales de paciente.
 Sexo. M F
 Edad.
 Fecha de inicio de síntomas.

FACTORES DE RIESGO.

Exposición a humo de tabaco	Si	No	Índice tabáquico.
Desnutrición.	Si	No	Índice de masa corporal
Diabetes.	Si	No	Años de diagnóstico.
Obesidad.	Si	No	Índice de masa corporal
Dislipidemia.	Si	No	¿Qué tipo?
Padecimientos autoinmunes.	Si	No	¿Cuál?
Neoplasias.	Si	No	¿Cuál?
Padecimientos infecciosos.	Si	No	¿Cuál?
Padecimientos respiratorios.	Si	No	¿Cuál?
Padecimientos cardiovasculares.	Si	No	¿Cuál?
Otros padecimientos.	Si	No	¿Cuál?

SINTOMAS.

Definir: ¿Cuál(es) fue (ron) el(los) primer(os) síntoma(s)?

Nausea.	Si	No
Obstrucción nasal.	Si	No
Hiperemia conjuntival.	Si	No
Diarrea.	Si	No
Vomito.	Si	No
Dolor en tórax.	Si	No
Odinofagia.	Si	No
Hemoptisis.	Si	No
Cefalea.	Si	No
Cianosis.	Si	No
Rinorrea.	Si	No
Mialgias.	Si	No
Ataque al estado general.	Si	No
Disnea.	Si	No
Fiebre.	Si	No
Tos.	Si	No

EXPLORACION FISICA.

Signos vitales.

Frecuencia cardiaca.	por minuto
Frecuencia respiratoria.	por minuto
Temperatura.	°C.
Tensión arterial.	mm Hg.
Hiperemia conjuntival.	Si No
Rinorrea.	Si No
Hiperemia faríngea.	Si No
Adenopatía cervical	Si No
Estertores	Si No

RESULTADOS DE LABORATORIO.

- CD4
- CD8
- CD3
- TNF alfa
- IL 1
- IL 6
- Cd 19
- CD 20
- CD 56
- IL 12
- IL 8