



11262
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO 21

FACULTAD DE MEDICINA
SEDE: INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

Autoregistrada en la Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica

UNAM a través de la Secretaría de Investigación y Desarrollo Científico

Contenido: 100 páginas

ISBN: 978-970-30-0000-0

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A2 DEL ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE INTERLEUCINA 1 (IL-1ra A2) CON DISPLASIA BRONCOPULMONAR EN RECIEN NACIDOS CON PESO MENOR DE 1500 GRAMOS

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS
P R E S E N T A :
LIZBETH HERNÁNDEZ RONQUILLO

TUTOR:

Dr. JAVIER MANCILLA RAMÍREZ

Departamento de Infectología e Inmunología. Investigador titular C. Instituto Nacional de Perinatología

CO - TUTORES:

Dr. VIANNCY ORTIZ NAVARRETE

Dra. MA. TERESA MATA GONZÁLEZ



INPer

MEXICO, D. F.

AGOSTO 2003

D



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
SEDE: INSTITUTO NACIONAL DE PERINATOLOGÍA

**ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A2 DEL ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE
INTERLEUCINA 1 (IL-1ra A2) CON DISPLASIA BRONCOPULMONAR EN RECIEN
NACIDOS CON PESO MENOR DE 1500 GRAMOS**

**TESIS
QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS MEDICAS
PRESENTA:
LIZBETH HERNÁNDEZ RONQUILLO**

TUTOR

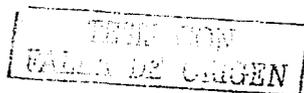
Dr. Javier Mancilla Ramírez

Departamento de Infectología e Inmunología. Investigador titular C. Instituto Nacional de
Perinatología

CO-TUTORES

Dr. Vianney Ortiz Navarrete

Dra. Ma. Teresa Mata González



FIRMAS

Dr. Rubén Bolaños Ancona

Director de enseñanza

Dr. Carlos Neri Méndez

Subdirector de Educación Profesional

Dr. Carlos Villanueva Díaz

Responsable de Unidad Operativa INPer

Asesor de Tesis

Dr. Javier Mancilla Ramírez

**Investigador. Departamento de Infectología e Inmunología
Instituto Nacional de Perinatología**

TESIS CON
FALLA DE CENGEN

INDICE

	Página
Abreviaturas	3
Resumen	5-6
Introducción	7-10
Justificación	11
Pregunta de investigación	11
Hipótesis	11
Objetivo	11
Metodología	12
Diseño del estudio	12
Lugar de realización	12
Población	12
Método de muestreo	12
Criterios	12
Tamaño de la muestra	13
Variable independiente.....	14
Variable dependiente.....	15
Otras variables	16-18
Material y métodos	18-21
Esquema del estudio	22
Análisis estadístico	22
Aspectos éticos	23
Resultados	24-40
Discusión	31-45
Bibliografía	46-50
Anexos	51-56



ABREVIATURAS

DBP	displasia broncopulmonar
IL-1ra	antagonista del receptor de interleucina 1
ADN	ácido desoxiribonucleico
PCR	reacción en cadena de polimerasa
Kb	kilobase
Pb	pares de bases
SIMV	ventilación mecánica sincronizada
PCA	persistencia del conducto arterioso
A	alelo
EMH	enfermedad de membrana hialina
IL	interleucina
nCPAP	presión nasal positiva continua de la vía aérea
AF	alveolitis fibrosante
RM	razón de momios
IC	intervalo de confianza
G-CSF	factor estimulante de colonias de granulocitos
AC	asisto control
VAFO	ventilación de alta frecuencia oscilatoria
CINVESTAV	centro de investigaciones avanzadas
UCIN	unidad de cuidados intensivos neonatales
TGF α	factor de crecimiento transformador α

RESUMEN

Introducción. La displasia broncopulmonar (DBP) es una enfermedad pulmonar que se caracteriza por la progresión de alteraciones radiológicas relacionadas con cambios patológicos de inflamación tanto aguda como crónica, fibrosis e hipertrofia de músculo liso a nivel bronquiolar.

Hasta el momento se desconoce el mecanismo exacto por el cual se producen estas alteraciones de la estructura y función pulmonar del neonato que desarrolla DBP, sin embargo todo indica que la inflamación es el proceso fundamental de esta lesión pulmonar. Existen estudios que indican que se encuentran involucrados factores genéticos que determinan la ausencia o presencia de la DBP.

Dentro de la inflamación existen polimorfismos que ejercen una acción reguladora sobre la producción de citocinas proinflamatorias, que hacen que los individuos que las tienen respondan en forma diferente al resto de individuos, resultando clínicamente en la presencia de diferentes enfermedades. De estas enfermedades, la que se relaciona con procesos pulmonares es la Alveolitis Fibrosante en la que la presencia del alelo A2 de IL-1ra se ha encontrado como factor de riesgo para padecer esta entidad.

El alelo A2 del receptor del antagonista de IL-1 (IL-1ra 2) ejerce una acción reguladora sobre la producción de interleucina 1 β (IL-1 β) incrementando la producción *in vitro* de esta importante citocina (IL-1 β) proinflamatoria.

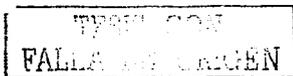
Actualmente no se ha investigado si existe asociación de este polimorfismo con la presencia de displasia broncopulmonar (DBP)

Objetivos. Determinar la frecuencia y asociación de IL-1ra A2 en neonatos menores de 1500 g que desarrollan DBP comparados con los que no la desarrollaron

Diseño. Estudio de casos y controles anidado en una cohorte.

Lugar. Servicio de neonatología, Instituto Nacional de Perinatología

Método. Se reclutaron 61 neonatos menores de 1500 g en forma consecutiva, que fueron sometidos a ventilación mecánica de los cuales se excluyeron de ellos fallecieron 3, quedando un grupo final de 44 neonatos. A todos se les tomó sangre periférica para extracción de ADN. A través de la amplificación por técnica de PCR se realizó la determinación de polimorfismo de IL-1ra. Se esperó cumplir los 28 días o a las 36 SEG corregida para el diagnóstico de DBP según los criterios de Bancalari y los grados del mismo con los criterios de Toce.



Análisis estadístico. 1. -Para la descripción general de las características de los neonatos se utilizó estadística descriptiva de acuerdo al nivel de medición de las variables. 2. -Se realizó un análisis bivariado con las variables que pudieran asociarse a la presencia de DBP. La significancia estadística de las asociaciones se evaluó mediante la prueba de Chi cuadrada y en los casos que no se pudo realizar, se aplicó la prueba exacta de Fisher, el nivel de significancia se ajustó a 0.05.

Resultados. Se obtuvieron muestras de un total de 61 pacientes, de los cuales 4 no se incluyeron por criterios de eliminación y 13 (21.3%) fallecieron antes del diagnóstico de DBP De los neonatos estudiados 20 (44%) presentaron DBP y 24 (46%) no la presentaron.

El número de homocigotos de A1 fue de 28/44 (64%), de A2 de 8/44 (18%) y de A4 de 1/44 (2%) Como heterocigotos se encontró A1-A2 en 5/44 pacientes (11%) y de A1-A4 de 2/44 (4.5%)

Del grupo con DBP tuvieron polimorfismo A2 de IL-1ra 5/20 neonatos (24%) Del grupo sin DBP, 6/24 tuvieron el polimorfismo A2 de IL-1ra (27%) Al realizar el análisis entre polimorfismo A2 y DBP no se encontró asociación (p: 0.78)

Conclusiones. La frecuencia del alelo A2 de IL-1ra es similar a la encontrada en estudios poblacionales en otros países. Sin embargo no se encontró asociación entre este polimorfismo y la presencia de DBP.

TESIS COM
FALLA DE CUREN

INTRODUCCION

La displasia broncopulmonar (DBP), descrita inicialmente en 1967 por Northway *et al*, ⁽¹⁾ es una enfermedad pulmonar crónica que se caracteriza por de alteraciones radiológicas progresivas relacionadas con cambios patológicos de inflamación tanto aguda como crónica, fibrosis e hipertrofia de músculo liso a nivel bronquiolar. ⁽²⁾

Con el incremento en la sobrevida de neonatos pretérmino en las terapias neonatales, se ha observado un aumento de enfermedades crónicas, cobrando así la DBP una gran importancia.

La DBP tiene una incidencia de 20% en los neonatos que requieren de ventilación mecánica y una incidencia de 15-47% en los neonatos que pesaron al nacimiento menos de 1500 g. ⁽³⁻⁵⁾ En el Instituto Nacional de Perinatología, la incidencia de DBP en lactantes con peso menor de 1500 g al nacer es de 20-40%, y de 40-60% en los menores de 1000 g. ⁽⁶⁾

Los neonatos que padecen DBP tienen 30% más posibilidades de morir durante el primer año de vida comparados con los neonatos de características similares sin DBP. Además presentan hiperreactividad bronquial con reportes de remisión alrededor de los 8 años de edad. ⁽⁷⁾ El desarrollo neurológico se ve afectado hasta en un 40% de los lactantes con DBP y se encuentran alteraciones motoras, auditivas y grave minusvalidez hasta en 16% de estos neonatos. ⁽⁸⁻¹⁰⁾ Las principales causas de muerte en este grupo de neonatos son la insuficiencia respiratoria, sepsis y cor pulmonale. ⁽⁷⁾ Las infecciones respiratorias son frecuentes durante los dos primeros años de vida en los neonatos con DBP siendo el principal agente el virus sincitial respiratorio (SRV) ⁽¹⁰⁾

Para el diagnóstico de DBP existen tres criterios fundamentales ⁽¹¹⁾: el apoyo ventilatorio, las características clínicas y las alteraciones radiológicas. El apoyo ventilatorio incluye la necesidad de ventilación con presión positiva intermitente durante la primera semana de vida, la necesidad de oxígeno suplementario y/o ventilación mecánica para mantener una PaO₂ por encima de 50 mmHg a los 28 días de vida extrauterina ⁽⁴⁾ o a las 36 semanas de edad gestacional corregida (EGC) ⁽¹²⁾ Se toma el criterio de aún a los 28 días cuando el peso al nacimiento fue mayor de 1500 g. El criterio de 36 semanas de EGC se aplica cuando el peso del neonato al nacimiento fue menor de 1500 g. Las características clínicas que se usan como criterios para el diagnóstico de DBP son la presencia de taquipnea, disnea, retracción intercostal y subcostal y estertores a la auscultación. ^(1-2, 4) A estos criterios propuestos por Bancalari *et al* ⁽¹¹⁾ para el diagnóstico de DBP, se agregan los datos

FALLA DE CUBIEN

radiológicos que son alteraciones difusas en la densidad de ambos pulmones, alternando con áreas normales o enfisematosas y zonas de formaciones bulosas. Estos criterios descritos por Tece *et al* ⁽¹³⁾ se utilizan para la clasificación de DBP, estadiando a la enfermedad en tres grados: leve, moderada o severa.

Los lactantes con DBP tienen en su mayoría el antecedente de haber sido prematuros, con manejo ventilatorio a presiones y volúmenes altos, concentraciones altas de oxígeno inspirado y apoyo ventilatorio por tiempo prolongado. La presencia de DBP se asocia a infección pulmonar o sistémica y al incremento del flujo sanguíneo pulmonar por persistencia del conducto arterioso (PCA) ^(14,16)

A pesar de la gran importancia que tiene la DBP en la población neonatal, hasta el momento se desconoce el mecanismo exacto por el cual se producen graves alteraciones en la estructura y función pulmonar del neonato que desarrolla esta entidad. La etiología de DBP se ha atribuido a numerosos factores que confluyen a un solo final que es la reacción inflamatoria a nivel pulmonar. Esta reacción inflamatoria es posible que comience "*in utero*" ⁽¹⁵⁾, pero, tras el nacimiento, otros factores entre los cuales se encuentran la hiperoxia y el barotrauma asociados a la ventilación mecánica, infección sistémica y deficiencia primaria de proteínas de surfactante o de factores nutricionales como vitamina A y E. ⁽¹⁰⁻¹⁴⁾ inducen una reacción inflamatoria mayor en los pulmones inmaduros de los pretérminos con síndrome de distres respiratorio y DBP. ⁽¹⁶⁾ Así los neonatos pretérmino con riesgo para el desarrollo de DBP tienen mayor reacción inflamatoria a nivel pulmonar con respecto a los neonatos que no presentan DBP, con una elevación de la permeabilidad de la microvasculatura pulmonar. ⁽¹⁷⁻¹⁸⁾ En la figura 1 se muestra gráficamente la patogénesis de la DBP.

Los datos que demuestran proceso inflamatorios bien establecido a nivel pulmonar provienen de estudios de lavados bronco-alveolares realizados en neonatos donde se observa un incremento en el número de células inflamatorias como neutrófilos y macrófagos, así como de las citocinas proinflamatorias principales: interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral α (TNF α) e interleucina 8 (IL-8) en neonatos que desarrollan DBP con respecto a los neonatos que no la desarrollan. ⁽¹⁷⁾ Los niveles de estas citocinas proinflamatorias se hallan elevados desde el primer día de vida en neonatos con DBP, manteniéndose en estas condiciones hasta por 3 a 5 semanas posteriores. Estos incrementos no se observan en lactantes sin DBP. ^(14, 19-23)



Así mismo se ha encontrado incremento de la actividad proteolítica de elastasas y del factor de crecimiento transformador β (TGFB β) y fibronectina. (17, 23-27)

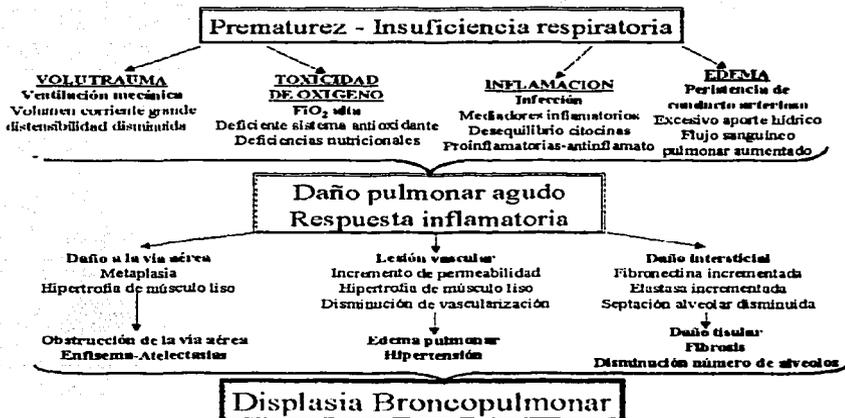
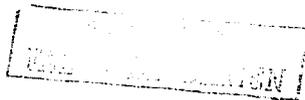


Figura 1.- Patogénesis de la Displasia Broncopulmonar.

Otro de los factores importantes involucrados en la etiología de la DBP son los factores genéticos ya que se ha demostrado en estudios realizados en gemelos que existe mayor predisposición a padecer DBP en neonatos cuyos gemelos padecen DBP.⁽²⁸⁾ Existen polimorfismos de citocinas que al presentarse en algunos individuos, su maquinaria inmunoreguladora es menos flexible



Los polimorfismos son la presencia de dos o más alelos mutantes en una población, que no pueden explicarse por una mutación recurrente. Los genes mutantes pueden encontrarse de forma homocigota cuando ambos genes, los aportados por el padre y por la madre, están afectados; o de forma heterocigota cuando solo un gen está modificado. ⁽²⁹⁾

Uno de los polimorfismos relacionados con enfermedades en donde la inflamación es el mecanismo fundamental, es la presencia del alelo A2 del antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra A2). La presencia del alelo A2 de IL-1ra se ha relacionado con enfermedades como: psoriasis, liquen escleroso, lupus eritematoso discoide, dermatitis herpética, eczema atópico, artritis reumatoide juvenil y polimiositis. ⁽³⁰⁾

Se ha comprobado que *in vitro* la presencia del alelo A2 de IL-1ra incrementa la concentración de IL-1 β . ⁽³¹⁾

El polimorfismo de IL-1ra consta de repeticiones de 36 pares de bases (pb) ordenadas una tras de otra, que se encuentran en diferentes alelos, los cuales se designan como A1-A5, con diferentes frecuencias de presentación en poblaciones de individuos sanos. Los tamaños de los alelos son 410, 240, 500, 325 y 595 pb y se encuentran con 4, 2, 5, 3 y 6 repeticiones respectivamente. ⁽³²⁾

La presentación del alelo A2 de IL-1ra se ha buscado en enfermedades pulmonares con incremento en el proceso inflamatorio a nivel pulmonar.

Entre estas enfermedades pulmonares se encuentran a la alveolitis fibrosante (AF), al asma y a la silicosis. ⁽³³⁻³⁵⁾

Se realizó un estudio en donde se comparan pacientes con AF y controles sanos en poblaciones de ingleses e italianos. En la población de ingleses se encontró una asociación entre pacientes homocigotos para el alelo 2 del gene de antagonista del receptor de IL-1 y el desarrollo de AF siendo significativa (RM 10.2, IC 95%, 1.26-81.4, p 0.03). Sin embargo al estudiar pacientes en la población italiana, se encontró esta misma asociación en homocigotos pero no significativa (RM 2.54; IC 95% 0.68-9.50; p= 0.2). ⁽³³⁾

En asma bronquial, la presencia de IL-1ra A2 se relacionó con la severidad del asma en pacientes blancos y negros. ⁽³⁴⁾ De la misma manera el polimorfismo A2 de IL-1ra en la silicosis se relaciona con severidad de la presentación de la enfermedad. ⁽³⁵⁾

IL-1 es una de las principales citocinas moduladoras, siendo el prototipo de citocina inductora de cambios inflamatorios agudos y crónicos.

RECIBIDO EN EL ARCHIVO DE HISTORIA CLINICA

Entre los efectos observados por IL-1 se encuentra la capacidad de incrementar la producción de otras citocinas como el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), TNF α , IL-6, IL-8, y de miembros homólogos de la familia de la quimiocinas como PDGF e IL-11. La actividad biológica de la IL-1 también se combina con otras citocinas como el TNF- α y la IL-6 incrementando la respuesta inflamatoria. (36)

JUSTIFICACION

La DBP se desarrolla en más de 40% de los neonatos de pretérmino menores de 1500 g de peso que requieren de ventilación mecánica asistida, lo cual constituye un problema de atención importante en las terapias neonatales de todos los hospitales que atienden a este tipo de neonatos. No se ha reportado previamente la asociación de polimorfismos y esta enfermedad. La posibilidad de encontrar alguna asociación del polimorfismo A2 de IL-1ra con la presencia de DBP sería de gran utilidad en la práctica clínica perinatal ya que podrá identificar pacientes con riesgo de DBP.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

- ¿Existe asociación entre la presencia del alelo A2 de IL-1ra y el desarrollo de DBP en neonatos menores de 1500 g de peso sometidos a ventilación mecánica?

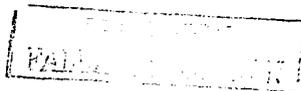
HIPÓTESIS

- El alelo A2 de IL-1ra se asocia a la presencia de DBP en los neonatos menores de 1500 g sometidos a ventilación mecánica.

OBJETIVOS

GENERAL

- Determinar la asociación de IL-1ra A2 en neonatos menores de 1500 g que desarrollan DBP, comparados con los que no la desarrollaron



ESPECÍFICOS

- Comparar la frecuencia de polimorfismo de IL-1ra A2 entre los pacientes con DBP y sus controles. Determinar si existe asociación entre otras variables y la frecuencia de DBP.

METODOLOGÍA

Diseño.

- De acuerdo a la estructura del diseño: estudio de cohortes.
- De acuerdo al propósito clínico de la investigación: Evaluación de la asociación entre un factor de riesgo y un desenlace.

LUGAR Y DURACION

Se llevó a cabo la captación de los pacientes en el área de cuidados intensivos neonatales del Instituto Nacional de Perinatología, del 1 de marzo del 2002 al 30 de mayo del 2003. La identificación de polimorfismo de IL-1 ra se realizó en el laboratorio del Dr. Vianney Navarrete Ortiz en CINVESTAV.

POBLACIÓN

Recién nacidos de peso menor a 1500 g que recibieron ventilación mecánica en el área de terapia intensiva neonatal (UCIN) del Instituto Nacional de Perinatología.

MÉTODO DE MUESTREO

Se utilizó un muestro no probabilístico de la variedad consecutiva de los pacientes que cumplieron con los criterios de selección, hasta alcanzar el tamaño de la muestra de recién nacidos pretérminos con peso menor de 1500 g que fueron manejados con ventilación mecánica en la UCIN del INPer.

CRITERIOS

DE INCLUSIÓN

- Recién nacidos en el INPer
- Peso igual o menor a 1500 g, adecuado a la edad gestacional
- De ambos sexos
- Con inicio de ventilación mecánica en las primeras 24 horas de vida



- Consentimiento informado por escrito del responsable legal.

NO INCLUSIÓN

- Malformaciones congénitas

ELIMINACION

- Falla técnica en la realización de reacción en cadena de polimerasa (PCR)

DE EXCLUSIÓN

- Muerte antes de los 28 días de vida
- Muerte antes del diagnóstico de DBP

TAMAÑO DE LA MUESTRA

Debido a que no había datos previos, no era posible calcular un tamaño de muestra. En DBP no se ha explorado nunca la frecuencia de polimorfismos y solo se podía calcular un tamaño tomando otra enfermedad como modelo que fuera parecida a la DBP.

Se consideró para estimar el tamaño de muestra un estudio previo en neonatos adultos con alveolitis fibrosante. ⁽³³⁾ En dicho estudio se observó el alelo A2 de IL-1ra en 39 de 88 neonatos ingleses (44%) y en 28 de 88 controles sanos (32%); también se observó en 35 de 61 neonatos italianos (57%) y en 37 de 103 controles sanos (36%) Para este estudio se consideró una frecuencia probable de 50% de la presencia del alelo A2 en los casos de DBP y de 35% en los controles para este estudio.

Se aplicó una fórmula de diferencias de proporciones ⁽³⁷⁾ estimando una probabilidad de 50% de presentación del alelo A2 en los neonatos que presenten el evento DBP y de 35% en los que no presentan DBP.

$$P1 = 0.5 \quad \beta = 0.8$$

$$P2 = 0.35 \quad \alpha = 0.05$$

$$n \rightarrow \frac{[Z\alpha \sqrt{2(P1)(Q1)} - Z\beta \sqrt{P1(Q1)+P2(Q2)}]^2}{P1-P2}$$

$$n = \frac{[1.96\sqrt{2(0.5)(0.5)} - 0.84\sqrt{(0.5)(0.5)+0.35(0.65)}]^2}{0.15}$$



$$n = \frac{[1.96\sqrt{0.5} - 0.84\sqrt{.25 + .23}]^2}{0.15}$$

$$n = \frac{[1.96(0.70) - 0.84(.69)]^2}{0.15}$$

$$n = \frac{[1.37 - 0.58]^2}{0.15}$$

$$n = \frac{[0.79]^2}{0.15} = 28$$

Muestra de 28 neonatos para el evento esperado.

VARIABLES EN ESTUDIO.
INDEPENDIENTE

1. POLIMORFISMO DE IL-1ra

Categoría: cualitativa

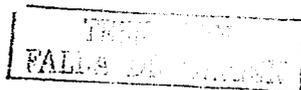
Escala de medición: nominal

Unidad de análisis: - presencia de los alelos A1- A5

combinaciones de alelos (homocigotos, heterocigotos)

Conceptual

Es la repetición de 86 pares de bases (pb) una delante de la otra, en el brazo largo del cromosoma 2, que se presenta en diferentes alelos, los cuales se designan como A1-A5, según sus frecuencias de presentación en poblaciones de individuos sanos (Cuadro 1). Los tamaños de los alelos son de 410, 240, 500, 325 y 595 pb y corresponden a 4, 2, 5, 3 y 6 repeticiones del fragmento de 86 pb, respectivamente.



Alelo	Frecuencia	Tamaño	No. Repeticiones
A1	0.736	410	4
A2	0.214	240	2
A3	0.036	500	5
A4	0.007	325	3
A5	0.007	595	6

Cuadro 1. Frecuencia de alelos de IL-1ra en población abierta. En este cuadro se muestra en la primera columna los diferentes alelos que se han encontrado. En la segunda columna la frecuencia que se encuentra en la población estudiada de cada uno de los alelos. En la tercera columna el tamaño en pares de bases de cada alelo y en la cuarta columna el número de las repeticiones de los 86 pares de bases una delante de la otra en cada alelo. Tomado de Tarlow y colaboradores. (21)

Operacional

Se tomó como la presencia de los alelos A1-A5 de IL-1ra, cuando a través de la amplificación por PCR y la electroforesis en agarosa al 1.5% teñida con 0.1% de bromuro de etidio se identificó un producto de amplificación correspondiente a los pesos descritos para cada uno de los alelos (410, 240, 500, 325 y 595 pb) Se describieron las frecuencias de las combinaciones que se observaron en el estudio, tanto de homocigotos como heterocigotos para cada alelo.

DEPENDIENTE

1.DBP

Categoría: cualitativa

Escala de medición: nominal

Unidad de análisis: tener o no tener la enfermedad

Conceptual

Es una enfermedad pulmonar que se caracteriza por la progresión de alteraciones radiológicas relacionadas con cambios histopatológicos de inflamación aguda y crónica, fibrosis e hipertrofia de músculo liso a nivel bronquiolar.

Operacional

Se consideró el diagnóstico de DBP en los pacientes de estudio cuando:



- Necesidad de ventilación con presión positiva intermitente durante la primera semana de vida y por un mínimo de 3 días
- Aparición de signos clínicos de enfermedad pulmonar crónica caracterizados por taquipnea, retracción intercostal y subcostal y estertores a la auscultación, todo ello durante el período superior a los 28 días.
- Necesidades de oxígeno suplementario durante más de 28 días para mantener una PaO₂ por encima de 50 mmHg.
- Radiografías de tórax mostrando alteraciones difusas en la densidad de ambos pulmones, alternando con áreas normales o enfisematosas. En algunos casos, estas áreas pueden confluir dando lugar a formaciones bulosas.
- Se tomó una placa antero-posterior de tórax la cual fue valorada por 3 médicos previamente estandarizados (Spermaan de 0.80) y se dio una clasificación según los criterios radiológicos de Toce *et al.* ⁽¹³⁾

OTRAS VARIABLES

1. EDAD GESTACIONAL

Categoría: cuantitativa

Escala de medición: continua, razón

Unidad de análisis: semanas de gestación

Conceptual

Tiempo de gestación transcurrido en semanas desde la fecha de la última menstruación antes del embarazo (FUM)

Operacional

Se consideró la edad gestacional tomando en cuenta la FUM en las madres y la valoración de Capurro en los neonatos. Se preferirá Capurro cuando la diferencia entre FUM y Capurro sea mayor de dos semanas.



2. USO DE SURFACTANTE

Categoría: cualitativa

Escala de medición: nominal

Unidad de análisis: sintético, sintético con SP B y natural

Conceptual

Aplicación de surfactante a través de cánula endotraqueal al nacimiento, ya sea como profiláctico o como tratamiento para enfermedad de membranas hialinas.

Operacional

Cuando se aplique surfactante en dosis de 5 ml / Kg o por lo menos la mitad de la dosis calculada para cada caso.

3. TIPO DE VENTILACIÓN

Categoría: cualitativa

Escala de medición: nominal

Unidad de análisis: - alta frecuencia oscilatoria (VAFO), asisto-control (A/C), ventilación mecánica sincronizada (SIMV), presión nasal positiva continua de la vía aérea nCPAP, nasofaríngea, puntas nasales con O₂, casco cefálico.
- Fase 1: casco cefálico, puntas nasales con O₂
Fase 2: nCPAP, ventilación nasofaríngea
Fase 3: A/C, SIMV, VAFO

Conceptual

Tipo de la acción y efecto de ventilar. Corriente de aire que se establece al ventilarlo.

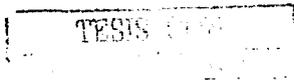
Operacional

Modalidad de ventilación que se utilizó en los neonatos durante su estancia en la UCIN.

4. DIAS DE VENTILACIÓN

Categoría: cuantitativa

Escala de medición: continua de razón



Unidad de análisis: número de días

Conceptual

Número de días necesarios en ventilador para la resolución de la dificultad respiratoria.

Operacional

Número de días que cada neonato se mantenga con ventilación mecánica a través de cánula endotraqueal.

5. PERSISTENCIA DEL CONDUCTO ARTERIOSO PERMEABLE TARDIA

Categoría: cualitativa

Escala de medición: nominal

Unidad de análisis: dicotómica

- presente, ausente
- temprana, tardía

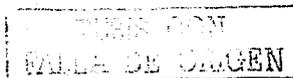
Conceptual

Cardiopatía congénita no cianógena que se caracteriza por la permanencia del conducto arterioso, por donde la sangre que proviene de la arteria pulmonar pasa a la aorta.

Operacional

Auscultación de soplo cardíaco compatible (soplo continuo en la región infraclavicular y en el borde izquierdo del esternón) con evidencia ecocardiográfica por Doppler de color bidimensional de un cortocircuito de izquierda a derecha a través del conducto arterioso, además de uno o más de los siguientes signos clínicos y radiológicos: hiperactividad precordial, pulsos saltones, edema pulmonar, cardiomegalia.

Se definió como PCA temprana o tardía cuando el diagnóstico se realizó antes o después de los 7 días de vida.



6. SEPSIS NEONATAL

Categoría: cualitativa

Tiempo de presentación de sepsis

Escala de medición: nominal

Unidad de análisis: dicotómica

- presente, ausente

- temprana, tardía

Conceptual

Infección sistémica documentada por cultivo positivo en el primer mes de vida, en presencia de datos clínicos de inflamación sistémica.

Operacional

Para el diagnóstico se consideró el criterio del médico a cargo siguiendo el siguiente protocolo.

Se consideró sepsis temprana cuando se presentó dentro de las primeras 72 h de vida y tardía cuando se presentó después de las 72 h de vida.

7. BRONCONEUMONIA

Categoría: cualitativa

Escala de medición: nominal

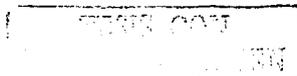
Unidad de análisis: dicotómica

Conceptual

Infección primaria o secundaria del parénquima pulmonar.

Operacional

Se consideró bronconeumonía cuando el médico a cargo del paciente encontraba presencia de signos clínicos de insuficiencia respiratoria y alteraciones radiológicas compatibles, con o sin aislamiento bacteriológico de lavado bronco-alveolar.



MATERIAL Y MÉTODOS

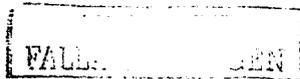
a) Para la recolección de la muestra de neonatos con ventilación mecánica se recurrió a la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales. Una vez captado el neonato se le pidió autorización al padre o tutor a participar en el estudio, explicándoles los motivos y la utilidad del estudio, además de que se les solicitó firmar una carta de consentimiento informado. (Ver anexo 1)

b) Una vez que se obtuvo la aceptación del padre o tutor, el primer paso fue la toma de muestra de 1.5 ml de sangre periférica de cada neonato. Estas muestras se procesaron durante las siguientes 8 horas, para la obtención de ácido desoxiribonucleico (ADN) con el siguiente método:

- En un tubo estéril de 15 ml Falcon se adiciona 3 ml de solución de lisis de eritrocitos (RBC)(MgCl₂ 5 mM; EDTA 1 mM pH 8.0)
- Transferir 1.5 ml de sangre al tubo anterior. Invertir para mezclar (vórtex 10-15 seg) e incubar por 10 min a temperatura ambiental. Invertir al menos una vez durante la incubación (a los 5 min)
- Centrifugar por 10 min a 3000 rpm. Retirar el sobrenadante, cuidando de no tocar el botón blanco para lo cual se dejan alrededor de 100 a 200 ml de líquido residual. Si no se ve bien, volver a poner RBC 3 ml, centrifugar y quitar sobrenadante.
- Mezclar vigorosamente (vórtex) para resuspender los leucocitos en el sobrenadante residual, esto facilita la lisis celular.
- Adicionar 3 ml de solución de lisis celular (Tris 10 mM, pH 5; EDTA 1 mM, pH 8; SDS al 1%) al tubo que contiene las células resuspendidas y pipetear varias veces para lisar las células. Generalmente, ninguna incubación es requerida; sin embargo, si se encuentran grumos celulares después de mezclar, se incuba a 37° C o a temperatura ambiental por 24 horas hasta que la solución sea homogénea. Las muestras son estables en esta solución por al menos 18 meses a temperatura ambiental.

PRECIPITACIÓN DE PROTEÍNAS

- Adicionar 1 ml de la solución de precipitación de proteínas (acetato de amonio 7.5 mM) al lisado celular. Evitar que se forme espuma.
- Mezclar vigorosamente a alta velocidad por 20 seg para homogeneizar con el lisado celular
- Centrifugar por 10 min a 3000 rpm. Las proteínas precipitadas forman un botón color café oscuro.



PRECIPITACIÓN DE ADN

- Retirar el sobrenadante que contiene ADN cuidando de no tocar el botón de proteínas y las paredes del tubo y depositar en tubo limpio estéril Eppendorf que contenga 3 ml de isopropanol.
- Mezclar la muestra por inversión suave 50 veces hasta que las fibras de ADN formen un conglomerado.
- Centrifugar por 3 min a 3000rpm; el ADN debe visualizarse como un botón blanco
- Retirar el sobrenadante y secar el tubo en papel absorbente. Adicionar 3 ml de etanol al 70%. Invertir el tubo suavemente para lavar el botón de ADN.
- Centrifugar por 1 minuto a 3000 rpm el ADN deben visualizarse como un botón blanco. Retirar cuidadosamente el etanol. El botón puede perderse si el tubo se agita al retirar el etanol.
- Secar el tubo en papel absorbente y dejar secar la muestra a temperatura ambiente por 15 min o preferentemente a 65° C hasta ver el botón transparente.

HIDRATACIÓN DEL ADN

- Adicionar 250 µl de solución de hidratación (Tris 10 mM pH 7.5: EDTA 1 mM pH 8) En caso de que la cantidad de ADN obtenido fuese muy poco, el volumen de resuspensión puede ser menor.
- Dejar rehidratando el ADN toda la noche a temperatura ambiente. Alternativamente calentar a 65° C por 1 hora. Mover periódicamente el tubo para dispersar el ADN.
- Almacenar de 2 a 8° C.

c) En una tercera etapa se realizó PCR con el siguiente iniciador

Sentido: 5' CTC_AgCAACACTCCTAT 3'

Antisentido: 5' TCCT_gTCTgCaggTAA 3'

El ADN proveniente de cada paciente, se utilizó como templado en la reacción en cadena de polimerasa (PCR) bajo las siguientes condiciones, siempre utilizando un control positivo:

PCR-mix (1x)

REACTIVOS

VOLUMEN
FINAL (25 µl)

CONCENTRACIÓN FINAL.

PCR buffer 10x

2.5 µl



MgCl ₂ 25 mM	1 µl	1x (1 mM MgCl ₂)
DNTP's 10x (2mM de cada uno)	2.5 µl	0.2 mM (=200µM de cada uno)
Oligo 1 100 µM	0.125 µl	0.5 µM (=0.5 pmol/µl)
Oligo 2 100 µM	0.125 µl	0.5 µM (=0.5 pmol/µl)
*1Taq-polimerasa (3-5 U/µl)	0.25 µl	0.75-1.25 U/reacción
H ₂ O mQ estéril, hasta 24µl	18.5 µl	
Total =	24 µl	
Añadir	+ 1 µl ADN	
Volumen final =	25 µl	

Las condiciones de la reacción fueron:

96° C 1 min

35 ciclos de la siguiente serie:

94° C 1 min desnaturalización

62° C 1 min alineación

72° C 1 min extensión

seguido de una extensión final a 72° C empleando el termociclador Perkin Elmer

Se realizó cuantificación de ADN por espectrofotometría a 260 y 280 absorbancia y se tomó la siguiente regla para la cuantificación de ADN:

Concentración de ADN µg/µl = 260 abs X factor de dilución X 50

1000

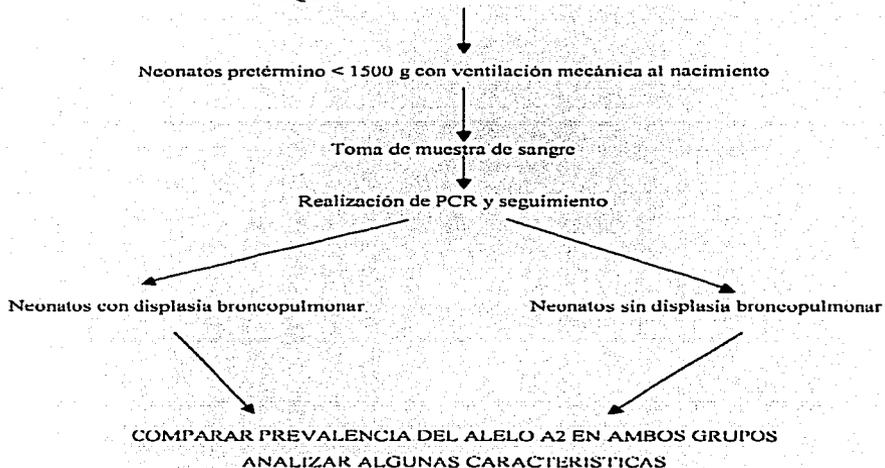
Además se realizó la diferencia entre abs 260 y 280 para pureza en cada una de las muestras.

Los productos de cada reacción se sometieron a corrimiento electroforético en geles de agarosa al 1.5%. La banda se comparo con marcadores de peso conocido (100 pb y 50 pb (Gibco-BRL)) para su caracterización.

*Taq polimerasa de la marca Invitrogen¹

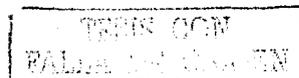


ESQUEMA GENERAL DEL ESTUDIO



ANALISIS ESTADISTICO

1. -Para la descripción general de las características de los neonatos se utilizó estadística descriptiva de acuerdo al nivel de medición de las variables utilizando media y desviación estándar.
2. - Para comparar la frecuencia del alelo A2 de IL-1ra entre los casos y los controles se utilizó la prueba de chi cuadrada, ya que la presencia de DBP se definió como variable dicotómica.
3. - La significación estadística de las asociaciones se evaluó mediante la prueba de chi cuadrada y en los casos que no se pudo realizar se utilizó la prueba exacta de Fisher, el nivel de medición se ajustó a 0.05. Y en las variables numéricas se realizó la prueba de T.



ASPECTOS ETICOS

Investigación con riesgo menor al mínimo ya que el volumen de sangre extraído a los neonatos fue de 1.5 ml, que no rebasa el 5% del volumen circulante del paciente ni incluyó maniobras que pusieran un riesgo a los pacientes. Se solicitó consentimiento por escrito al padre o responsable legal de los neonatos incluidos en este estudio fue aprobado por los comités de Investigación y Ética del INPer (registro



RESULTADOS

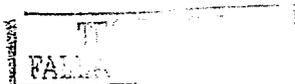
Descripción general de los pacientes. Se obtuvieron muestras de un total de 61 pacientes, de los cuales 4 no se incluyeron por criterios de eliminación y 13 (21.3%) fallecieron antes del diagnóstico de DBP. De los 4 pacientes eliminados, 2 se debieron principalmente a que el iniciador para la realización de PCR es muy inestable degradándose por lo general en la segunda semana después de su reconstitución en agua, no siendo posible correr las muestras. Otro caso motivo de eliminación fueron 2 pacientes de lo que no se obtuvieron los alelos debido a que el ADN genómico se encontraba muy compacto y no fue posible la realización de PCR en por lo menos 5 ocasiones a pesar de tratamiento antes de la reacción de PCR.

La población estudiada quedó constituida por un total de 44 pacientes de los cuales 20 neonatos presentaron DBP y 24 no presentaron DBP.



Fig. 1 Pacientes estudiados. Se muestra un total de 44 pacientes de los cuales 20 desarrollaron DBP (45%) y 24 no la desarrollaron (55%).

En las siguientes figuras se presentan una serie de fotografías de geles de agarosa al 1.5%. De lado izquierdo de cada figura se presenta los pesos moleculares conocidos, y de forma horizontal abajo de cada figura se presenta el número de carril que corresponde a un paciente cada uno



En la figura 2 se observa un ejemplo en el que se encuentran alelos homocigotos de A1 (410 pb) en carriles 2, 3 y 5 así como alelos heterocigoto de A2 (240 pb) y A1 en carril 1. En el carril 4 se observa un ejemplo de los pacientes eliminados debido a la compactación de ADN que no permitió la lectura de los alelos.

Fig. 2 Alelos A1 y A2 de IL-1ra



Fig. 2 Alelos A1 y A2 de IL-1ra. Fotografía de gel de agarosa con corrimiento electroforético en donde en el primer carril se observa los pesos conocidos mostrando la banda de 200 y 400pb. En el primer carril se observan 2 bandas, una arriba de la marca 240 pb mostrando el alelo A2 y otra banda en peso de 400 pb mostrando la banda del alelo A1 de 420 pb. En el carril 2, 3 y 5 con alelo A1; en el carril 4 es uno de los pacientes que no se pudo amplificar.

En la figura 3 se observan pacientes con alelo A1 homocigoto (carriles 1, 2, 3) y A2 homocigoto (carril 4,5)

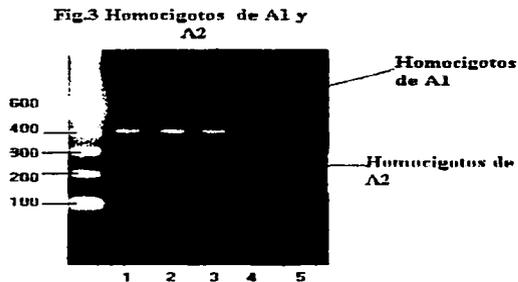


Fig.3 Homocigotos de A1 y A2. Fotografía de gel de agarosa al 1.5% con corrimiento electroforético de productos de PCR de muestras de neonatos. En el primer carril son pesos moleculares conocidos. En el carril 1,2 y 3 con bandas de 410 pb mostrando el alelo A1. En los carriles 4 y 5 bandas de 240 pb mostrando el alelo A2

TIEMPO COM
FALLA EN EL TIEMPO

En la figura 4 se observan los pacientes con alelos A4 (325 pb) y A1 heterocigotos (carriles 2 y 4), así como alelos homocigotos de A1 (carriles 1 y 3)

Fig. 4 Alelo A4 de IL-1ra

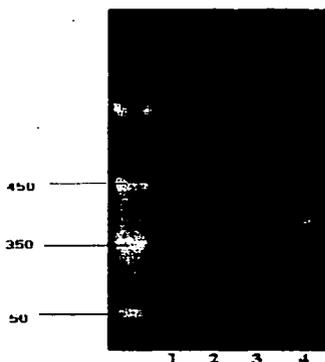


Fig.4 Alelo A4 de IL-1ra. Fotografía de gel de agarosa al 1.5%. Con corrimiento electroforético de productos de PCR de muestras de neonatos. En el primer carril son pesos moleculares conocidos. En los carriles 1, 2, 3 y 4 con bandas de 410 pb mostrando el alelo A1. En los carriles 2 y 4 además se observan bandas de 325 pb mostrando el alelo A4

Los alelos que se identificaron en los 44 pacientes solo fueron A1, A2 y A4 no se encontró A3 ni A5. El número de homocigotos de A1 fue de 28/44 (64%), de A2 fue de 8/44 (18%) y de A4 fue de 1/44 (2%) Como heterocigotos se encontraron A1-A2 en 5/44 pacientes (11%) y de A1-A4 de 2/44 (4.5%)

Fig.5 Distribución de polimorfismos de IL-1 ra (n= 44)

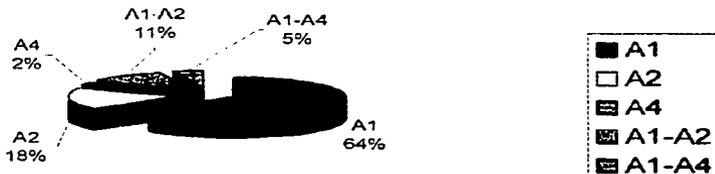


Fig. 5 Distribución de polimorfismos de IL-1ra en la población total. Se muestra los alelos encontrados en la población total. El número de homocigotos de A1 fue de 28/44 (64%), de A2 fue de 8/44 (18%) y de A4 fue de 1/44 (2%) Como heterocigotos se encontraron A1-A2 en 5/44 pacientes (11%) y de A1-A4 de 2/44 (4.5%)



La distribución de polimorfismos en pacientes con diagnóstico de DBP fue de la siguiente manera: neonatos con alelos homocigotos de A1 fueron 12/20 (60%) y de A2 5/20 (25%) De los alelos heterocigotos se encontraron A1-A2 en 1/20 (5%) y A1-A4 en 2/20 (10%)

Fig.6 Neonatos con DBP y la distribución de alelos

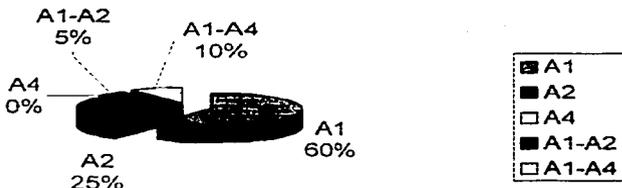


Fig. 6 Neonatos con DBP y la distribución de alelos. En esta figura se encuentran únicamente los pacientes con diagnósticos de DBP (n = 20) y como se distribuyen los diferentes alelos. Neonatos con alelos homocigotos de A1 fueron 12/20 (60%) y de A2 5/20 (25%) De los alelos heterocigotos se encontraron A1-A2 en 1/20 (5%) y A1-A4 en 2/20 (10%)

La distribución de polimorfismos en pacientes sin DBP se presentó como sigue: neonatos con alelos homocigotos de A1 fueron 16/24 (67%) y de A2 3/24 (13%) De los alelos heterocigotos se encontraron A1-A2 en 1/24 (4%) y A1-A4 en 4/20 (17%)

Fig. 7 Neonatos sin DBP y la distribución de alelos

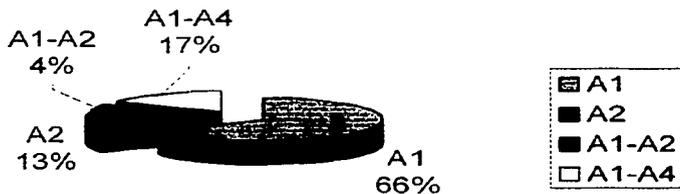


Fig. 7 Neonatos sin DBP y la distribución de alelos. En esta figura se encuentran únicamente los pacientes que no desarrollaron DBP (n = 24) y como se distribuyen los diferentes alelos

Neonatos con alelos homocigotos de A1 fueron 16/24 (67%) y de A2 3/24 (13%) De los alelos heterocigotos se encontraron A1-A2 en 1/24 (4%) y A1-A4 en 4/20 (17%)

En el cuadro 2 se presenta los alelos encontrados de acuerdo a la presencia y la ausencia de DBP. Se observan los alelos encontrados A1, A2, y A4 así como si son homocigotos o heterocigotos. También se puede ver la ausencia de asociación con los alelos A2 y la presencia o ausencia de DBP.

Se utilizó la prueba de χ^2 cuadrada y en los alelos A1 y A2 se tomó la corrección de Yates. En los alelos siguientes se tomó la prueba exacta de Fisher.

Cuadro 2. Alelos en los neonatos con DBP y sin

	DBP (n = 20)	Sin DBP (n = 24)	p
Alelo A1	12	16	0.88
Alelo A2	5	3	0.08
Alelo A4	0	1	1
Alelo A1-A2	1	4	0.35
Alelo A1-A4	2	0	0.20

Cuadro 2. Alelos en los neonatos con DBP y sin. Se observan los diferentes alelos encontrados así como si es homocigoto y heterocigoto. Además de mostrar el resultado de análisis de χ^2 cuadrada dando los valores de p. En los primeros 2 alelos se da resultado con la corrección de Yates. En los 3 últimos alelos se usó la prueba exacta de Fisher debido a que su distribución no es normal.

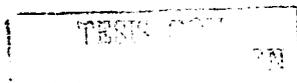


En el cuadro 3 se presentan las características generales de los pacientes estudiados. Como se observa no se encontraron diferencias en la edad gestacional y el peso entre los pacientes con DBP y los que no desarrollaron DBP. Se encontró un predominio del sexo masculino en ambos grupos y la talla en centímetros del grupo sin DBP fue mayor sin significancia estadística comparada con el grupo con DBP. Se realizó prueba de t- en variables numéricas y prueba de chi-cuadrada con prueba exacta de Fisher en variable de género.

Cuadro 3. Características generales de los neonatos con DBP y sin

	DBP (n = 20)	Sin DBP (n =24)	p
Edad gestacional al nacer (semanas)	29,0 ± 1.56	30 ± 1.40	0.09
Peso al nacer (gramos)	1113 ± 241	1170 ± 294	0.49
Talla al nacimiento (cm)	36.7 ± 3.53	38.1 ± 1.91	0.05
Masculino: Femenino	1.8: 1	1.4: 1	0.35

Cuadro 3. Características generales de los neonatos con y sin DBP. Se observó el peso, edad gestacional, talla y sexo. Se dan los valores de media y desviación estándar de cada variable numérica. Se realiza prueba de t en las variables numéricas y chi-cuadrada con prueba exacta de Fisher en la variable nominal. todos con su valor de p



Debido que la asociación que se estaba buscando era con el alelo A2, y es con este alelo con el que se ha encontrado relación con el incremento en la síntesis de IL-1 β , los siguientes análisis se basan en la presencia y ausencia del alelo A2 de IL-1ra, ya sea como homocigoto o heterocigoto. En el cuadro 4 se presentan las características generales de los pacientes estudiados con respecto a la presencia del alelo A2 de IL-1 ra. Como se observa, no se encontraron diferencias entre los pacientes con la presencia de alelos A2 y la presencia de otros alelos. Se encontró un predominio del sexo masculino en ambos grupos lo mismo que sucede cuando se comparan con respecto a la presencia o ausencia de DBP. Se realiza prueba de T para comparar a las variables numéricas y chi-cuadrada con prueba exacta de Fisher para variable nominal.

Cuadro 4. Características generales de los neonatos con A2 y otros alelos (A1-A4) de IL-1ra

	A2 (n = 13)	Otros (n = 31)	p
Edad gestacional al nacimiento (semanas)	29. \pm 1.36	29.6 \pm 1.54	0.14
Peso al nacimiento (gramos)	1120 \pm 228	1154 \pm 288	0.70
Talla al nacimiento (cm)	37.2 \pm 2.48	37.4 \pm 2.2	0.43
Masculino: Femenino	1.2: 1	1: 0.3	0.23

Cuadro 4. Características generales de los neonatos con el alelo A2 y el resto de alelos. Se muestran las características generales de los neonatos divididos con respecto a si tiene el alelo A2 y si no lo tienen. Se dan las medias y desviación estándar de cada una de las variables. Con prueba de T se dan la diferencia con su valor de p para variables numéricas y la prueba de chi-cuadrada para variable nominal.

RECIBIDO EN
 TALLA DE ORIGEN

34

En el cuadro 5 se presentan las intervenciones realizadas a los neonatos durante su estancia en el hospital, antes de su diagnóstico de DBP y que son importantes como factores de riesgo para esta. Se observa que no existen diferencia con respecto al uso de surfactante, transfusiones y el tipo de ventilación utilizada el primer día, siendo la principal forma de ventilación la sincronizada (SIMV). En el día 7 de vida de los neonatos se observa mayor número de pacientes que tenían fase 3 de ventilación que posteriormente desarrollaron DBP en comparación con los pacientes que no desarrollaron DBP, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. También se observa predominio de la fase 2 de ventilación en los pacientes que no desarrollaron DBP, sin embargo esta diferencia no es significativa. Se realizaron cuadros de 2 x 2 con corrección de Yates en las que fue necesario.

Cuadro 5. Maniobras terapéuticas realizadas en los neonatos con y sin DBP

	DBP (n = 20)	Sin DBP (n = 24)	p
Uso de surfactante	15 (75%)	13 (54%)	0.30
Transfusiones	15 (75%)	16 (67%)	1
Tipo de ventilación mecánica el primer día			
*SIMV	10 (50%)	18 (75%)	0.16
Tipo de ventilación día 7			
Fase 2	8 (40%)	12 (50%)	0.95
Fase 3	8 (40%)	3 (12.5%)	0.08

* Ventilación mecánica sincronizada

Cuadro 5. Maniobras terapéuticas en pacientes con y sin DBP. Se muestran diferentes intervenciones terapéuticas realizadas a los pacientes durante su estancia en la UCIN. Se muestra el número de pacientes a los que se realizó así como el porcentaje que representa en cada subpoblación. Se realizaron cuadros de 2 x 2 con su correspondiente significancia.



En el cuadro 6 se presentan las intervenciones realizadas a los neonatos, comparados con la presencia o ausencia del alelo A2 de II-1 ra.

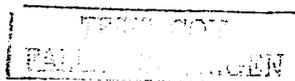
No se observa diferencia en ninguna variable con respecto a las variables uso de surfactante, transfusiones y el tipo de ventilación utilizada el primer día. Se encuentra predominio de pacientes en fase 3 de ventilación el primer día de vida, siendo el principal modo de ventilación la sincronizada (SIMV) Se realizaron cuadros de 2 x 2 con corrección de Yates y Prueba exacta de Fisher cuando así se requirió.

Cuadro 6. Maniobras terapéuticas realizadas en los neonatos con el alelo A2 y otros

	A2 (n = 13)	Otros (n = 31)	p
Uso de surfactante	12 (92%)	24 (77%)	0.40
Transfusiones	10 (77%)	21(68%)	0.72
Tipo de ventilación el primer día			
*SIMV	8 (61.5%)	20 (64.5%)	1
Fase de ventilación 7 día			
Fase 1	1 (8%)	4 (13%)	1

* Ventilación mecánica sincronizada

Cuadro 6. Maniobras terapéuticas en pacientes con alelo A2 y otros. Se muestran diferentes intervenciones terapéuticas realizadas a los pacientes durante su estancia en la UCIN. Se muestra el número de pacientes a los que se realizó así como el porcentaje que representa en cada subpoblación.. Se realizaron cuadros de 2 x 2 con corrección de Yates y Prueba exacta de Fisher cuando así se requirió.



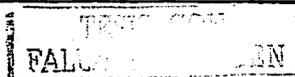
En el cuadro 7 se presentan enfermedades y estado patológicos que se han encontrado como factores de riesgo para DBP y que presentaron durante su seguimiento. No se observan diferencias en neumonía y sepsis. Se encontró diferencia significativa en la presencia de apnea, enfermedad de membrana hialina y el diagnóstico de PCA en esta última con predominio de la PCA tardía.

Cuadro 7. Enfermedades y estado patológicos en los neonatos con y sin DBP

	DBP (n = 20)	Sin DBP (n = 24)	p
Sepsis	18 (90%)	18 (75%)	0.18
Neumonía	7 (35%)	8 (33%)	0.98
Apnea	17 (85%)	14 (58.3%)	0.04
Enf. Membrana Hialina	20 (100%)	20 (83%)	0.02
**PCA	7 (35%)	2 (8%)	0.02
**PCA tardía	3 (15%)	0	0.04

**Persistencia del Conducto Arterioso

Cuadro 7. Enfermedades y estados patológicos de los neonatos con y sin DBP. Se observa la presencia de enfermedades que presentaron los neonatos durante su estancia en la UCIN y antes del diagnóstico de DBP. Se muestra el número de pacientes que presentaron cada entidad así como el porcentaje que representa. También se muestra la diferencia estadística de cada una de las variables.



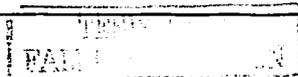
En el cuadro 8 se presentan enfermedades y estado patológicos que se presentaron en los neonatos comparados con presencia y ausencia del alelo A2. No se observan diferencias significativas en ninguna variable. Se utilizaron cuadros de 2×2 y se utilizaron cuadros de 2×2 en todas se realizó prueba exacta de Fisher en todas se realizó prueba exacta de Fisher.

Cuadro 8. Enfermedades y estado patológicos en los neonatos con y sin Alelo A2 de IL-1 ra

	A2 (n = 13)	Otros (n = 31)	p
Sepsis	11 (85%)	25 (81%)	1
Neumonía	3 (23%)	12 (39%)	0.48
Apnea	10 (77%)	21 (68%)	0.72
Enf. Membrana Hialina	11 (85%)	29 (93.4%)	0.57
**PCA	1 (7.6%)	8 (26%)	0.24
**PCA tardía	2 (15%)	6 (19%)	1

**Persistencia del Conducto Arterioso

Cuadro 8. Enfermedades y estados patológicos de los neonatos con y sin Alelo A2. Se observa la presencia de enfermedades que presentaron los neonatos durante su estancia en la UCIN y antes del diagnóstico de DBP. Se muestra el número de pacientes que presentaron cada entidad así como el porcentaje que representa. También se muestra la diferencia estadística de cada una de las variables.



En el cuadro 9 se presentan las características de los parámetros ventilatorios usados durante su tratamiento en terapias intensivas en paciente con y sin DBP. Se tomaron los parámetros más importante relacionado con la presencia de DBP (el volutrauma, barotrauma, FiO₂) sin embargo no se observan diferencias significativas entre los dos grupos. A pesar de solo mostrar el día 1 y 7 se corrieron análisis estadístico de todos los días y no se encuentran diferencias significativas. Se realizó prueba T y prueba U de Mann-Whitney cuando así se requirió.

Cuadro 9. Características de los parámetros del ventilador de los neonatos con DBP y sin

	DBP (n = 20)	Sin DBP (n =24)	p
Presión pico			
día 1	20 ± 6.5	18.2±4.9	0.51
día 7	15 ± 2.6	12.7 ± 6.4	0.17
Presión media de la vía aérea			
Día 1	8.2 ± 2.5	7.2 ± 1.7	0.26
Día 7	5.7 ± 1.9	5.6 ± 2.7	0.11
Presión al final de la espiración			
Día 1	3.8 ± 0.4	3.8 ± 0.4	0.74
Día 7	3.4 ± 0.7	3.1 ± 0.4	0.17
Fracción inspirada de oxígeno			
Día 1	52.9 ± 28	68.1 ± 21.9	0.32
Días 7	39.7 ± 14.1	32.9 ± 16.3	0.34
Ciclados por minuto			
Día 1	46.8 ± 17.3	46.0 ± 14.8	0.87
Día 7	47.5 ± 19.1	39 ± 19.0	0.32

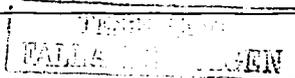
Cuadro 9. Características de los parámetros del ventilador de los neonatos con DBP y sin. Se muestran los parámetros utilizados durante su estancia en la UCIN dando la media y desviación estándar de cada una de las variables contándose la prueba T de student y prueba U de Mann-Whitney para las diferencias de cada variable.

En el cuadro 10 se presenta los parámetros de ventilación comparados con la presencia o ausencia de A2 de IL-1 ra. No se observan diferencias significativas en estos parámetros. Lo mismo que en el anterior análisis se realizaron todos los días y no se encontró diferencias significativas. Se realizó prueba T y prueba U de Mann-Whitney cuando así se requirió.

Cuadro 10. Características del ventilador de los neonatos con el alelo A2 y otros

	A2 (n = 13)	Otros (n = 31)	p
Presión pico			
día 1	18.0 ± 2.9	19.3 ± 6.5	0.53
día 7	15.2 ± 3.0	11.3 ± 5.8	0.06
Presión media de la vía aérea			
Día 1	8.0 ± 1.4	7.5 ± 2.3	0.53
Día 7	4 ± 0.2	6.2 ± 2.2	0.06
Presión al final de la espiración			
Día 1	3.9 ± 0.3	3.8 ± 0.4	0.46
Día 7	3.4 ± 0.5	3 ± 0.8	0.19
Fracción inspirada de oxígeno			
Día 1	65 ± 7.16	70 ± 4	0.72
Día 7	32.5 ± 2.53	40 ± 2.11	0.10
Ciclados por minuto			
Día 1	50 ± 15.7	45 ± 16	0.34
Día 7	33.7 ± 24.3	47.1 ± 23.3	0.33

Cuadro 10. Características de los parámetros del ventilador de los neonatos con alelo A2 y otros. Se muestran los parámetros utilizados durante su estancia en la UCIN dando la media y desviación estándar de cada una de las variables así como la diferencia estadística de cada una de ellas



En el cuadro 11 es el cuadro más importante debido a que se analiza la asociación entre el alelo A2 de IL-1 y la presencia de DBP, para este fin se realizó la prueba de chi-cuadrada con corrección de Yates. También se analiza el grado de DBP con el alelo A2 de IL-1 ra con prueba exacta de Fisher a dos colas. No se encuentra ninguna asociación ni con la presencia de DBP ni el grado del mismo.

Cuadro 11. Asociación entre el alelo A2 de IL-1 ra y DBP

	A2 (n = 13)	Otros (n = 31)	p
DBP	6	14	
Sin DBP	7	17	0.78
Grado de la enfermedad	N = 5	N = 15	
Leve	3	10	
Moderada	3	4	0.61

Cuadro 11. Asociación entre el alelo A2 de IL-1 ra y DBP. Se muestra el cuadro de chi cuadrada para comparar presencia y ausencia de DBP y la presencia de alelo A2 con chi-cuadrada y prueba exacta de Fisher.

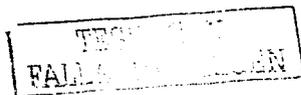
TESIS COMPLETADA
FALLA DE LA INGENIERIA

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El síndrome clínico de la DBP en niño pretérmino resulta básicamente de la interrupción del desarrollo vascular y alveolar del pulmón. Los principales mediadores son las citocinas proinflamatorias que son inducidas por exposición prenatal a la infección, ventilación posnatal y/o exposición al oxígeno. Nuevos datos epidemiológicos nuevos sugieren que los intentos de abandonar la intubación y la ventilación son el mejor camino para que desaparezca la DBP severa, así como cualquier estrategia para mantener abiertos los alveolos pulmonares y minimizar volúmenes excesivos.

La descripción original patológica de la DBP por Northway *et al* ⁽¹⁾ en 1967 pone hincapié en la lesión de la vía aérea con metaplasia epitelial, inflamación pulmonar poco uniforme con una combinación de enfisema, fibrosis e inflamación. Sin embargo, la enfermedad ahora ocurre principalmente en prematuros menores de 1000 g, y el diagnóstico clínico ahora es básicamente la necesidad suplementaria de oxígeno a las 36 semanas de gestación. ⁽¹²⁾ El compendio de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos responsables del consenso en DBP contiene una definición de DBP que combina las necesidades de ventilación con presión positiva, CPAP u oxígeno, y edad gestacional para caracterizar mejor la severidad de DBP. ⁽³⁸⁾

Los hallazgos patológicos encontrados en los pulmones de los niños que murieron en los años recientes con DBP difieren de los reportados por Northway *et al*. ⁽¹⁾ Ahora los pulmones de los pacientes extremadamente pretérminos que tenían DBP presentan una inflamación más homogénea y una lesión mínima a la vía aérea o fibrosis. La mayor anomalía es un decremento en el número de alveolos, referidos como una hipoplasia alveolar. ⁽³⁹⁾ La patología puede ser entendida desde la perspectiva de cómo se desarrolla el pulmón humano. El pulmón fetal está justo al final del estadio canalicular de la proliferación vascular en el mesenquima a la semana 26. ⁽⁴⁰⁾ Los espacios aéreos potenciales distales son saculares e inician alrededor de la semana 24 de gestación. El alveolo no aparece sino hasta después de la semana 30 de gestación. Es por ello que el pulmón del neonato pretérmino que provee el intercambio gaseoso después de la semana 26 de gestación son los saculos que funcionan como alveolos. Este pulmón fetal debe continuar su desarrollo para sobrevivir del neonato. Coalson *et al* ⁽⁴¹⁾ demostraron que la ventilación de monos por 1 a 2 meses de duración resulta en un efecto parecido a la hipoplasia alveolar, fibrosis variable de la pared sacular y lesión



mínima de la vía aérea. Los pulmones también mostraban un desarrollo disminuido y dismórfico de los capilares, y los espacios aéreos contenían células inflamatorias y citocinas proinflamatorias. Los niños con DBP también tienen mediadores proinflamatorios en la vía aérea. ⁽⁴²⁾ Albertine *et al* ⁽⁴³⁾ demostró la inhibición del desarrollo alveolar con la alteración de la angiogénesis microvascular pulmonar. La relación recíproca entre animales de experimentación y el humano, también ha demostrado experimentalmente: inhibición de la angiogénesis y disminución de la alveolización en la rata. ⁽⁴⁴⁾ En ratones transgénicos que sobre expresan citocinas proinflamatorias como TNF α , factor transformador del crecimiento, IL-6 o IL-1 presentan disminución de la alveolización durante el periodo alveolar al secular del desarrollo pulmonar. ⁽⁴⁵⁾ Las citocinas en los pulmones de pretérminos se originan del parénquima y de las células inflamatorias reclutadas en los pulmones. Los neutrófilos son reclutados en los pulmones de los corderos con lesión, y Ferreira *et al* ⁽⁴⁶⁾ encontró que los niños con una enfermedad pulmonar grave tenían disminución en los neutrófilos periféricos después del nacimiento. Los glucocorticoides antenatales y posnatales, la exposición al oxígeno o una pobre nutrición, también pueden interrumpir la alveolización. ⁽⁴⁷⁾

Los nuevos conceptos indican que la DBP en el pretérmino extremo son básicamente un síndrome con alteraciones en el desarrollo pulmonar y mediadores proinflamatorios que pueden causar el desarrollo anormal. En el pulmón adulto lesionado, la ventilación puede resultar en el incremento de mediadores inflamatorios en la circulación sistémica, los cuales pueden causar disfunción a otros órganos o sistemas. ⁽⁴⁸⁻⁴⁹⁾ En experimentos en donde a un cordero pretérmino ventilado se le aplica surfactante y endotoxinas endotraqueales, se encuentra que estas endotoxinas entran a la circulación sistémica del cordero y causan una respuesta sistémica inflamatoria a pesar de la ventilación gentil. El conocimiento de la superposición de la lesión en el desarrollo pulmonar pudo ser la clave para identificar cuales factores interfieren con la vasculogénesis y alveolización. ⁽⁵⁰⁾

Sin embargo hasta el momento y a pesar del conocimiento obtenido se desconoce la etiología exacta de la DBP. Se han investigado factores genéticos como causas de DBP. En un estudio realizado para identificar factores de riesgo genético para DBP se reclutaron 108 pares de gemelos con peso menor o igual a 1500 g. Se encontró que cuando ocurría DBP en el primer gemelo (n = 23), la DBP ocurría en el 65% (n =15) del segundo gemelo, y cuando no ocurría DBP en el primer gemelo, la DBP solo se presentaba en el 8% (n=7) con una RR de 20.9. Después de ajustar esta RR a otros factores de riesgo (peso, edad gestacional, sexo, diagnóstico de FMH, pneumotórax, PCA, y



año de admisión), la presencia de DBP en el primer gemelo era un factor de riesgo significativamente fuerte para DBP en el segundo gemelo (RR =12.3, $p < 0.001$)⁽²⁸⁾

Debido a que los antecedentes apoyan a factores genéticos como posibles causas de la DBP, en nuestro estudio se investigó la presencia del alelo A2 de IL-1ra. En la búsqueda de estos polimorfismos se realizó con la extracción de ADN y a través de la amplificación de un fragmento de ADN con técnica de PCR. Se identificó el alelo de cada paciente en agarosa al 1.5% y electroforesis. Los alelos que se identificaron solo fueron A1, A2 y A4 no se encontraron A3 ni A5. Los porcentajes encontrados para cada uno de los polimorfismos de IL-1ra son muy parecidos a los que se han encontrado en población abierta estadounidense⁽³¹⁾ con excepción de los alelos A3 y A5, por lo tanto se puede afirmar que en nuestro estudio con nuestra población, la distribución de los polimorfismos de IL-1ra es parecida a lo encontrado en población abierta con pacientes estadounidenses.

Probablemente en nuestra población no existan los alelos A3 y A5, sin embargo para responder a esta pregunta se requiere de un estudio con mayor tamaño de muestra para identificar estos alelos en nuestra población.

De las principal ventajas que tiene este estudio es la certeza diagnóstica de las variables debido a que:

- es un estudio anidado en una cohorte
- los datos se obtuvieron por seguimiento
- los casos son incidentes
- los controles cumplieron los mismos criterios generales de inclusión y exclusión que los casos
- los controles fueron seleccionados a partir de la misma cohorte en el mismo momento en que surgieron los casos.
- los controles se sometieron a las mismas condiciones de ventilación y de procedimiento de terapia intensiva que tuvieron los casos
- diagnóstico de DBP se realizó a ciegas debido a que las muestras de los pacientes se tomaron los primeros días de vida, y se esperó para el diagnóstico de DBP a las 36 semanas. En este momento los médicos que estandarizaron el diagnóstico de DBP previamente, desconocían el resultado del estudio de PCR lo mismo que el investigador desconocía el diagnóstico de DBP. Con esto se evitaron los sesgos de selección y medición.



En este estudio, el diagnóstico de DBP se encontró en el 45% de los pacientes, igual al reportado en un estudio previo en la misma terapia ⁽⁶⁾ que nos habla de que la incidencia de DBP no ha disminuido desde 1994 manteniéndose igual a la fecha.

Se observa una discreta tendencia en los pacientes con diagnóstico de DBP a presentar una edad gestacional menor así como una talla menor los que se refiere con anterioridad en estudios epidemiológicos sobre el tema. El peso y el sexo son variables que se distribuyen igual en la población estudiada.

De los factores de riesgo clásicos relacionado con la presencia de DBP como son la apnea y la EMH ⁽⁵¹⁻⁵³⁾ en este estudio se observan tendencias a ser más frecuentes en los pacientes con DBP sin llegar a tener una significancia estadística importante. Al comparar los grupos seleccionados con respecto a la presencia o ausencia del alelo 2 IL-1ra, no se observan las tendencias mencionadas. Esto podría hacer pensar que existe poca relación con la presencia del alelo A2 de IL-1ra y procesos inflamatorios que se presenta por los niños a nivel pulmonar y con relación a la DBP.

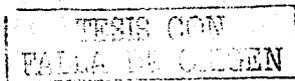
Otras variables que también se han encontrado consistentemente en otros estudios de factores de riesgo para DBP son las transfusiones sanguíneas, sepsis, y neumonía, todas estas relacionadas con procesos que incrementa el fenómeno inflamatorio a nivel pulmonar. En nuestro estudio no se encuentran como factores de riesgo para DBP. Esto podría explicarse por la n pequeña.

Se buscó asociación de factores de riesgo para DBP con la presencia de los alelos A2 de IL-1ra, no encontrándose alguna.

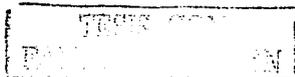
Con respecto a la ventilación se encuentran diferencias significativas de pacientes con y sin DBP con el tipo de ventilación que mantiene cada grupo a los siete días de vida siendo la mayor diferencia que los pacientes con DBP tienen más frecuentemente fase 3 de ventilación con respecto a los pacientes sin DBP, esto descrito también por otros estudios. ⁽⁵²⁻⁵⁴⁾ Sin embargo no se encuentran diferencias significativas en parámetros ventilatorios. Tampoco diferencia significativa al separar los grupos con respecto a la presencia o ausencia del alelo A2 de IL-1ra.

La asociación principal entre el alelo A2 de IL-1ra y la presencia de DBP no se encontró como significativa. Con respecto a la presencia de polimorfismo, no se encuentra como un factor de riesgo debido a que no existen diferencias entre los dos grupos (paciente con DBP y sin DBP)

Con los resultados presentados no se encuentra relación de A2 de IL-1ra con DBP ni con algún estado inflamatorio tradicionalmente relacionado con DBP. Estos resultados podrían ser debido a que el número de pacientes fue pequeño, sin embargo no se observan ni siquiera tendencias

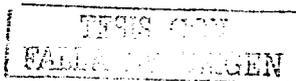


para el mismo. Se deben confirmar los resultados con un número mayor de pacientes. Además de investigar el resto de interleucinas proinflamatorias principales involucradas en el proceso inflamatorio.



BIBLIOGRAFIA

1. Northway WH, Rosan R and Porter D. Pulmonary disease following respiratory therapy on hyaline-membrane disease: Bronchopulmonary Dysplasia. *New Engl J Med* 1967; 276:357-364.
2. Edwards D, Colby T and Northway W. Radiographic-pathologic correlation in bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1979; 95: 834-841.
3. Avery ME, Tooley WH, S  ller JB, et al. Is chronic lung disease in low birth weight infants preventable? A survey of eight centers. *Pediatrics* 1987; 79: 26-30.
4. Bancalari E. Epidemiology and risk factors for the "new" bronchopulmonary dysplasia. *Pediatr Neorev*. 2000; 1: e1-e5.
5. Farstad T, Bratlid D. Incidence and prediction of bronchopulmonary dysplasia in a cohort of premature infants. *Acta Paediatr* 1994; 83:19-24.
6. Cardona J, Benitez G, Romero S, Salinas V, Morales M. Morbilidad neonatal en pacientes de muy bajo peso sometidos a ventilación mecánica. *Perinatol Reprod Hum* 1994; 8: 147-152.
7. Northway WH, Moss RB, Carlisle KB, Parker BR, Popp RL, et al. Late pulmonary sequelae of bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 1990; 323:1793-1799.
8. Fernández Carrocera LA. Neurodesarrollo y displasia broncopulmonar. En: Jasso GL. *Temas de Pediatría. Asociación Mexicana de Pediatría. A.C. Neonatología.* Nueva Editorial Panamericana. México. 1996: 13-21.
9. Barrera-Reyes RH, Fernández-Carrocera LA, Ortigosa CE, Martínez CC, Rodríguez PL, et al. Comparación del neurodesarrollo al año y dos años de vida en pacientes con displasia broncopulmonar con y sin hemorragia subependimaria intraventricular. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1999; 56:550-556.
10. Singer L, Yamashita T, Lilien L, Collin M, Baley J. A longitudinal study of developmental outcome of infants with bronchopulmonary dysplasia and very low birth weight. *Pediatrics* 1997; 100:987-993.



11. Bancalari E, Ardenaor GE, Feller R, Gannon J. Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation *J Pediatr* 1979; 95: 819-823.
12. Shennan AT, Dunn MS, Ohlsson A, Lennox K, Hoskins EM. Abnormal pulmonary outcomes in premature infants: prediction from oxygen requirement in the neonatal period. *Pediatrics* 1988; 82:527-532.
13. T'occo S, Farrell P, Leavitt L, Samuels D, Edwards D. Clinical and roentgenographic scoring system for assessing bronchopulmonary dysplasia. *AJDC* 1984; 138: 581-585
14. Alport R, Allen J, Suhidlow D. Bronchopulmonary dysplasia. En: Hillman BC, ed. *Pediatric respiratory disease: Diagnosis and treatment*. Philadelphia: W.B. Saunders, 1993: 440-457
15. Casanova Román M, García del Río M, Martínez León M, Martínez Valverde A. Importancia de la inflamación en la displasia broncopulmonar. *Arch Pediatr* 1998; 49: 158-68.
16. Speer CP, Groncek P. Oxygen radicals, cytokines, adhesion molecules and lung injury in neonates. *Semin Neonatol* 1998, 3: 219-28.
17. Groncek P, Götz B, Opperman M, Effer H, Spper C. Association of pulmonary inflammation and increased microvascular permeability during the development of DBP. A sequential analysis of inflammatory mediators in respiratory fluids of high risk preterm neonates. *Pediatrics* 1994; 93: 712-717.
18. Casanova Ramón M, García del Río M., Martínez León M, Martínez Valverde A. Displasia broncopulmonar: aspectos etiopatogénicos. *Arch Pediatr* 1998; 49: 158-68.
19. Dusik AM. Medical outcomes in preterm infants. *Semin Perinatol* 1997; 21:164-177.
20. Little S, Dean T, Bevin S, Hall M, Ashton M, Church M, Warner J, Shute J. Role of elevated plasma soluble ICAM-1 and bronchial lavage fluid IL-8 levels as markers of chronic lung disease in premature infants. *Thorax*. 1995; 50: 1073-1079.
21. Kotecha S, Chan B, Azam N, Silverman M, Shavv R. Increase in IL-8 and soluble intercellular adhesion molecule-I in bronchoalveolar lavage fluid from premature infants who develop chronic lung disease. *Arch Dis Child*. 1995; 72: F90-F96
22. Burger D, Dayer J. Inhibitory cytokines and cytokine inhibitors. *Neurology*. 1995; 45: S39-S43.



23. Rindfleisch M, Hasday J, Taciak V, Broderick K, Viscardi R. Potential role of interleukin-1 in the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Interferon Cytokine Res* 1996; 16: 365-373.
24. Welty S. Is oxidant stress in the causal pathway to bronchopulmonary dysplasia?. *Neoreviews* 2000; 1: e6-e10.
25. Tullus K, Noack G, Burman L, 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: 112-116
26. Ogden B, Murphy S, Saunders G, Pathak D, Johnson J. Neonatal lung neutrophils and elastase-proteinase imbalance. *Am Rev Respir Dis*. 1984; 130: 817-821
27. Watterberg K, Carmichael D, Gerdes J, Werner S, Backstrom C, Murphy S. Secretory leukocytes protease inhibitor and inflammation in developing bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr*. 1994; 125: 264-269.
28. Parker RA, Lindstrom DP, Cotton RB. Evidence from twin study implies possible genetic susceptibility to bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 1996 Jun; 20 (3): 206-9
29. Lewin B. Isolating the gene. In: Lewin B. *Genes V*. Oxford University Press Editorial United States. 1994: pp 127-158.
30. Weckmann A and Alcocer J. Cytokine inhibitors in autoimmune disease. *Semin Arthritis Rheum* 1996; 26: 539-557.
31. Santilla S, Savinainen K, Hurme M. Presence of IL-1RA allele 2 is associated with enhanced IL-1beta production in vitro. *Scand J Immunol* 1998; 47: 195-8
32. Tarlow J, Blakemore A, Lennard A. Polymorphism in human IL-1 receptor antagonist gene intron 2 is caused by variable numbers of an 86 bp tandem repeat. *Hum Genet* 1993; 91: 403-404.
33. Whyte M, Hubbard R, Meliconi R, Whidborne M, Eaton V and et al. Increased risk of fibrosing alveolitis associated with interleukin-1 receptor antagonist and tumor necrosis factor- α gene polymorphisms. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 162: 755-758.
34. Pillay V, Gaillard M, Halkas A, Song E, Dewar J. Differences in the genotypes and plasma concentrations of the interleukin-1 antagonist in black and white south African asthmatics and control subjects. *Cytokine* 2000; 12: 819-21.

35. Yucesoy B, Vallyathan V, Landsittel D, Sharp D, Weston A, Burluso, Simeonova P, McKinstry M, Luster M. Association of tumor necrosis factor and interleukin 1 to polymorphisms with silicosis. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 172: 75-82.
36. Roux-Lombard P. The interleukin-1 family. *European Cytokine Network* 1998; 9: 565-76
37. Greenberg R, Daniels S, Flanders D, Eley J, Boring J, editores. *Medical Epidemiology*. 3e US: Lange medical books/McGraw-Hill.; 2001. p. 201-202
38. Jobe AH, Bancalari E. Summary of NIKHD/NHLBI/ORD workshop on BDP. *Am J Respir Crit Care Med*
39. Hussain NA, Siddiqui NH, Stocker JR. Pathology of arrested acinar development in postsurfactant bronchopulmonary dysplasia. *Hum Pathol*. 1998, 29: 710-717
40. Jobe AH. The respiratory system: lung development . En *Neonatal perinatal medicine, diseases of the fetus and infant*. Editada por Fanaroff A. Cleveland, Ohio, Mosby, Inc; 1997
41. Coalson JJ, Winter VT, Siler-Khodr T, et al. Natal chronic lung disease in extremely immature baboons. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 160: 1333-1346.
42. Groneck P, Speer CP. Inflammatory mediators and bronchopulmonary dysplasia. *Arch Dis Child* 1995, 73: F1-F3.
43. Albertine KH, Jones GP, Starcher BC, et al. Chronic lung injury in preterm lambs. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 159: 945-958.
44. Jakkula M, Le Cras TD, Gebb S, et al. Inhibition of angiogenesis decreases alveolarization in the developing rat lung. *Am J Physiol* 2000, 279: L600-607.
45. Jobe AH, Ikegami M. Lung development and function in preterm infant in the surfactant treatment era. *Annu Rev Physiol* 2000, 62: 825-846
46. Ferreira PJ, Bunch TJ, Albertine KH, et al. Circulating neutrophil concentration and respiratory distress in premature infants. *J pediatr* 2000, 136: 466-472.
47. Carlton DP, Albertine KH, Cho SC, et al. Role of neutrophils in lung vascular injury and edema after premature infants. *J Appl Physiol* 1997, 83: 1307-1317.
48. Chiumello D, Pristine G, Slutsky AS: Mechanical ventilation affects local and systemic cytokines in an animal model of acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med* 1999, 160: 109-116.



49. Tremblay LN, Slutsky AS, Dreyfuss D, et al. Ventilator induce lung injury: mechanisms and clinical correlates. En: Physiological basis of ventilatory support. Edit Marinni JJ, Slutsky AS. New York: Marcel Dekker, Inc.: 1998: 395-451.
50. Jobe AH: The new DBP: an arrest of lung development. *Pediatr Res* 1999, 46: 641-643.
51. Yucesoy B, Vallyathan V, Landsittel D, Sharp DS, Matheson J et al. Polymorphisms of the IL-1 gene complex in coal miners with silicosis. *Am. J. Ind. Med.* 2001 39: 286-291
52. Tooley WH: Epidemiology of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 1978; 95: 851-855
53. Korhonen P, Tammela O, Koivisto A-M, Laippala P, Ikonen S. Frequency and risk factors in bronchopulmonary dysplasia in a cohort of very low birth weight infants. *Early Human Development* 1999;54:245-258.
54. Hernández Ronquillo L, Téllez-Zenteno JF, Salinas-Ramírez V, Zapata-Pallagi, J. Factores de riesgo para displasia broncopulmonar. *Bol Med Hosp Inf Mex* 2002;59:461-471.



Anexos

TESIS C.C.
FACULTAD DE CIENCIAS

ANEXO 1

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Proyecto: ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A2 DEL RECEPTOR DEL ANTAGONISTA DE INTERLEUCINA 1 (IL-1raA2) CON BRONCODISPLASIA PULMONAR EN RECIEN NACIDOS CON PESO MENOR DE 1500 GRAMOS

México, D. F. a de de 2002.

En el Instituto Nacional de Perinatología se está llevando a cabo una investigación cuya finalidad es identificar un factor hereditario (gen) existente desde antes del nacimiento en los recién nacidos que requieren ayuda de aparatos para respirar. Este factor se hereda del padre y la madre y puede ser de mucha utilidad para identificar una enfermedad pulmonar (displasia broncopulmonar) que se presenta un mes después del nacimiento y que exige al neonato continuar con el uso de oxígeno.

El estudio consiste en tomar una muestra de sangre del cordón umbilical del niño, con la cual se hará una prueba de laboratorio para identificar al factor hereditario con el que se ha relacionado la displasia broncopulmonar. La prueba se hará en el laboratorio de investigación en Inmunología de este Instituto. No será necesario puncionar ni a la madre ni al bebé, debido a que la sangre se toma del cordón umbilical. También se tomará moco obtenido por aspirado del tubo con el que está conectado su bebé al aparato que le ayuda a respirar, para realizar pruebas que permiten conocer el estado inflamatorio del pulmón de su bebé en ese momento.

Hasta ahora no se conoce la forma de evitar la displasia broncopulmonar. En este estudio se pretende identificar algunos factores de riesgo que permitan evitar o prevenir esta enfermedad en un futuro, por lo que en este momento carece de beneficios para su bebé.

Su bebé nació antes de los nueve meses y pesa menos de 1500 g, siendo un candidato a participar en esta investigación. Por lo que le solicitamos su consentimiento para que participe en ella.

Todos los neonatos de este estudio seguirán recibiendo la atención médica habitual en el INPer. Los resultados que se obtengan son absolutamente confidenciales y solo serán informados a los padres y a su médico al terminar el estudio o antes si fuesen útiles para el tratamiento del neonato.

El estudio no tiene costo adicional y solo se solicita su autorización. Si usted tiene alguna duda antes de aceptar o durante el desarrollo del estudio, la Dra. Lizbeth Hernández Ronquillo está en la disposición de aclarar y explicarle lo que usted requiera saber. Ella se encuentra en el servicio de Infectología e Inmunología del edificio de investigación o en la extensión 321 o 334.

Yo
después de haber leído y después de que me explicaron los riesgos y beneficios, acepto que mi hijo
(a) participe en este estudio.

Nombre del RN:

Registro:

Domicilio:

Teléfono:

Investigador: Dra. Lizbeth Hernández Ronquillo.

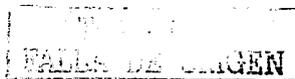
Firma:

Testigo 1:

Firma:

Testigo 2:

Firma:



ANEXO 2

Instituto Nacional de Perinatología

Proyecto de Tesis de Maestría

ASOCIACIÓN DEL POLIMORFISMO A2 DEL RECEPTOR DEL ANTAGONISTA DE INTERLEUCINA 1 (IL-1raA2) CON BRONCODISPLASIA PULMONAR EN RECIEN NACIDOS CON PESO MENOR DE 1500

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NOMBRE: _____

REGISTRO: _____

EDAD: _____

SEXO:

Femenino

Masculino

Peso al nacimiento: _____

APGAR:

1°

5°

Momento de la intubación: _____

minutos u horas de vida

Uso de surfactante

si

no

Número de dosis de surfactante: _____

Tipo de ventilación

controlada

asistida

Parámetros del ventilador y pCO₂ por día

DÍA

MAP

PIP

FiO₂

pCO₂

DÍA	MAP	PIP	FiO ₂	pCO ₂

